

平成 21 年度清涼飲料水中の
汚染物質に係る食品健康影響評価に
関する情報収集調査報告書

フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)

目次

	頁
○ 検討会委員名簿	2
○ 要約	3
I. 調査対象物質の概要	4
1. 用途	4
2. 一般名	4
3. 化学名	4
4. 分子式	4
5. 分子量	4
6. 構造式	4
7. 物理化学的性状	4
8. 現行規制等	5
II. 安全性に係る知見の概要	6
1. 毒性に関する科学的知見	6
(1) 体内動態	6
(2) 実験動物等への影響	10
(3) ヒトへの影響	61
2. 国際機関等の評価	63
3. 曝露状況	67
III. 調査結果のまとめ	68
・ 参照	76

<検討会委員名簿>

太田敏博

渋谷淳

広瀬明彦

要 約

清涼飲料水の規格基準改正に係る化学物質として、フタル酸ジ (2-エチルヘキシル) (DEHP) の健康影響について調査を行った。

調査した試験成績は、急性毒性試験 (マウス、ラット、ウサギ)、亜急性毒性試験 (ラット、サル)、慢性毒性試験及び発がん性試験 (マウス、ラット、モルモット)、神経毒性試験 (マウス、ラット)、免疫毒性試験 (マウス、ラット)、生殖・発生毒性試験 (マウス、ラット、ブタ、サル)、遺伝毒性試験等である。

DEHP は動物実験で肝臓や腎臓、副腎への影響が見られており、ラットやマウスに精巣毒性、生殖発生毒性を示す。

遺伝毒性試験は原核生物に対する突然変異試験では陰性であり、哺乳類細胞を用いた遺伝毒性試験でも、形質転換試験以外は陰性である。*in vivo* の遺伝毒性試験では陰性と陽性が混交しているが、総合的にみると、DEHP は変異原ではないと考えられる。

以上のことから、DEHP については耐容一日摂取量 (TDI) を試算することが適切であると判断される。

最も低値である、妊娠 6 日～授乳期のラットへの一連の強制経口投与試験における、性成熟した雄児ラットでの停留精巣及び雄幼若ラットにおける精巣重量増加に基づく NOAEL 1.215 mg/kg 体重/日に、不確実係数 100 (種差 10、個体差 10) を適用し、DEHP の非発がん毒性の耐容一日摂取量 (TDI) を 0.012 mg/kg 体重/日と試算した。

I. 調査対象物質の概要**1. 用途**

プラスチック添加剤（可塑剤）として使用される。（H4 専門委員会監視項目）
塩化ビニル、ニトロセルロース、メタクリル酸、塩化ゴムに良好な相溶性がある。
特に塩化ビニル製品にはよく、主としてシート、レザー、電波被覆材、農ビ用フィルム、ペーストに適する（参照 1）。

2. 一般名

フタル酸ジ (2-エチルヘキシル)

3. 化学名

IUPAC

和名： フタル酸ジ (2-エチルヘキシル)

英名： bis(2-ethylhexyl) benzene-1,2-dicarboxylate

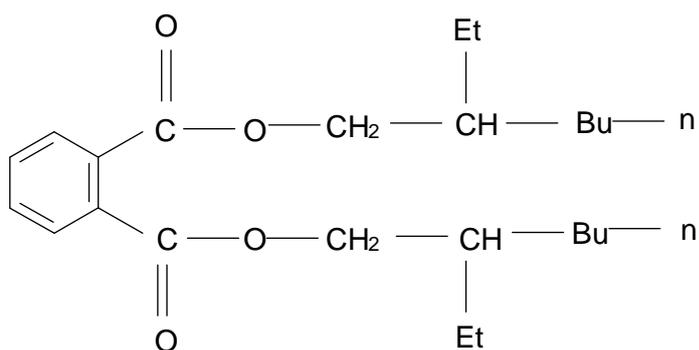
CAS No. : 117-81-7

4. 分子式

$C_{24}H_{38}O_4 / C_6H_4(COOC_8H_{17})_2$

5. 分子量

390.6

6. 構造式**7. 物理化学的性状**

物理的性状： 特徴的な臭気のある、無色～淡色の粘稠液体

融点 (°C) : -50

沸点 (°C) : 385

比重 (水=1) : 0.986

水への溶解性：溶けない
水オクタノール分配係数 (log Pow) : 5.03
蒸気圧 (kPa (20°C)) : 0.001

8. 現行規制等

(1) 法令の規制値等

水質基準値 (mg/L) : なし
水質管理目標値 (mg/L) : 0.1
環境基準値 (mg/L) : なし
要監視項目指針値 (mg/L) : 0.06
その他基準：給水装置の構造及び材質の基準 なし
労働安全衛生法；作業環境評価基準 なし

(2) 諸外国等の水質基準値またはガイドライン値

WHO (mg/L) : 0.008 (第3版)
EU (mg/L) : なし
US EPA (mg/L) : 0.006 (Maximum Contaminant Level)
欧州大気質ガイドライン (参照2) : なし

II. 安全性に係る知見の概要

WHO 飲料水水質ガイドライン、EPA/IRIS のリスト、IARC のモノグラフ、EU のリスク評価書、ATSDR の毒性学的プロファイル、JECFA の評価レポート等を基に、毒性に関する主な科学的知見を整理した (参照 3~9)。

1. 毒性に関する科学的知見

(1) 体内動態

① 吸収

DEHP は主にモノ (2-エチルヘキシル) フタレート (MEHP)、2-エチルヘキサノール (2-EH) に分解されて吸収されるが、高濃度曝露時には加水分解されていない DEHP も少量、吸収される (参照 7)。2,000 mg/kg の DEHP を経口投与されたラットでは少なくとも 55% (胆汁排泄があるので、実際にはそれ以上) が吸収された (参照 10) が、サルでの吸収率はラットより低いようである (参照 10、11)。DEHP に経口曝露されたヒトにおける消化管からの吸収率は、尿及び胆汁への排泄量から、投与量の約 20~25% と推定されている (参照 7) 一方、約 200 mg/kg 体重までの DEHP 投与では、ヒトを含む霊長類でもラットと同様に吸収率は約 50% とした報告もある (参照 5)。また、強制経口投与された DEHP の吸収率は若いラットで高いことが報告されている (参照 12、13)。

② 分布

げっ歯類において、DEHP 及びその代謝物は体中の広範な組織、器官に分布し、中でも肝臓及び脂肪組織の濃度が高い (参照 8) と報告されている。また、DEHP は体内組織にほとんど蓄積せず、ラットにおける推定半減期は脂肪組織で 3~5 日、その他の組織で 1~2 日 (参照 9) との報告もある。DEHP は乳汁に分泌され、哺乳を介して児 (の肝臓) に移行することが指摘されており (参照 5)、例えば Dostal ら (参照 14) は、SD 系ラットに DEHP (2,000 mg/kg、3 回/日) 強制経口投与し、最後の投与から 6 時間後に採取した乳汁中に、DEHP (216 µg/mL) 及び MEHP (25 µg/mL) を検出したことを報告し (参照 14)、Zhu ら (参照 15) はヒト (21 人) の母乳 (86 サンプル、アメリカ) 中に平均 222 ng/g の DEHP が検出されたことを、Latini ら (参照 16) は南イタリアに住む分娩後 7 日以内の健康な女性 62 人から集めた母乳の全サンプルに MEHP が検出され、中央値は 8.4 µg/L であったこと、及び代謝物 IV、VI、IX は検出限界 (0.3 µg/L) 未満で、代謝物 V のみが 1 サンプルに 0.6 µg/L で検出されたことを報告している。また DEHP は胎盤を通過する可能性があることも指摘されており (参照 5)、Stroheker ら (参照 17) は DEHP (750 mg/kg 体重/日) を妊娠 14 日から強制経口投与したラットの胎児の肝臓、性腺等に、母動物の血中濃度より 1 桁~2 桁低い濃度で見られたことを報告している。この他、DEHP (11~300 mg/kg 体重/日) を妊娠 7 日から強制経口投与された雌 SD 系ラットの尿、羊水中の MEHP 濃度は、DEHP 曝露量と有意に相関する (MEHP は主に尿中では抱合体、羊水中では非抱合体) ことが報告されており (参照 18)、ヒトの羊水 (54 サンプル) の一部 (24%) に MEHP が非常に低濃度だが検出され

た (最大濃度 ; 2.8 ng/mL) との報告もある (参照 19) 。また、24 組の母子を対象に DEHP、MEHP が検出されるか調べたイタリアの試験で、母親の血液サンプルの 70.8% (平均濃度 1.15 $\mu\text{g/mL}$) 、75% (平均濃度 0.68 $\mu\text{g/mL}$) に、そして臍帯血サンプルの各 44% (平均濃度 2.05 $\mu\text{g/mL}$) 、72% (平均濃度 0.68 $\mu\text{g/mL}$) に見られ、母親と胎児の曝露には密接な関連があることが示唆されている (参照 20) 。なお最近のレビューでは、ヒトの唾液 (39 サンプル) や胎便 (5 サンプル) 、精液中にも DEHP の代謝物が見られることが報告されているが、いずれも非常に低濃度であった (参照 21) 。

ラット、マーモセットに ^{14}C 標識した DEHP (2,000 mg/kg 体重/日) を 14 日間経口投与した試験では、肝臓の DEHP 濃度が最も高く、続いて腎臓、血液、精巣の順で見られ、この分布パターンは両者で共通であったが、濃度はマーモセットではラットの 10~15% であった。同用量の DEHP をマーモセットに単回投与し、7 日後に組織内分布を調べたところ、精巣の濃度が肝臓及び腎臓より高く、血液中の濃度は肝臓及び腎臓の 50% 未満であった (参照 10) 。

マウスにおける放射活性物質で標識した DEHP (0.7 mg/kg 体重) の単回経口投与試験では、脳組織への分布が肝臓に対する分布の 1/10 以下であること、投与 7 日後には肝臓、脳ともに検出量が顕著に減少して脳では検出限界以下になることが観察されている (参照 22) 。

ヒトについては、剖検された脂肪組織、腎臓に DEHP が検出されたとの報告があるが、DEHP は実験過程で試料に容易に混入し得るため、その影響かもしれないことが指摘されている (参照 7) 。

③ 代謝

ヒト試験および動物試験のデータに基づくと、DEHP の代謝には、30 又はそれ以上の代謝産物が生成される一連の複雑な反応が関係する (参照 7) 。

DEHP はまずリパーゼにより加水分解され、MEHP と 2-EH が生成される。リパーゼは多くの組織に存在するが、特に脾臓に多く含まれており (参照 23) 、ほとんどの DEHP は小腸内で代謝されることが示唆される。リパーゼの活性には動物種間でかなりばらつきがあり、マウスが最も高く、次いでラット、モルモット、ハムスターと続き、ヒト及び霊長類での加水分解はラットより遅い (参照 10、23、24) 。これは、Ito ら (参照 25) がマウス、ラット、マーモセットを用いてリパーゼの活性を比較した結果、種間で 27~357 倍異なっており、マウスの小腸が最も高く、マーモセットの肺で最も低かったことから支持される。

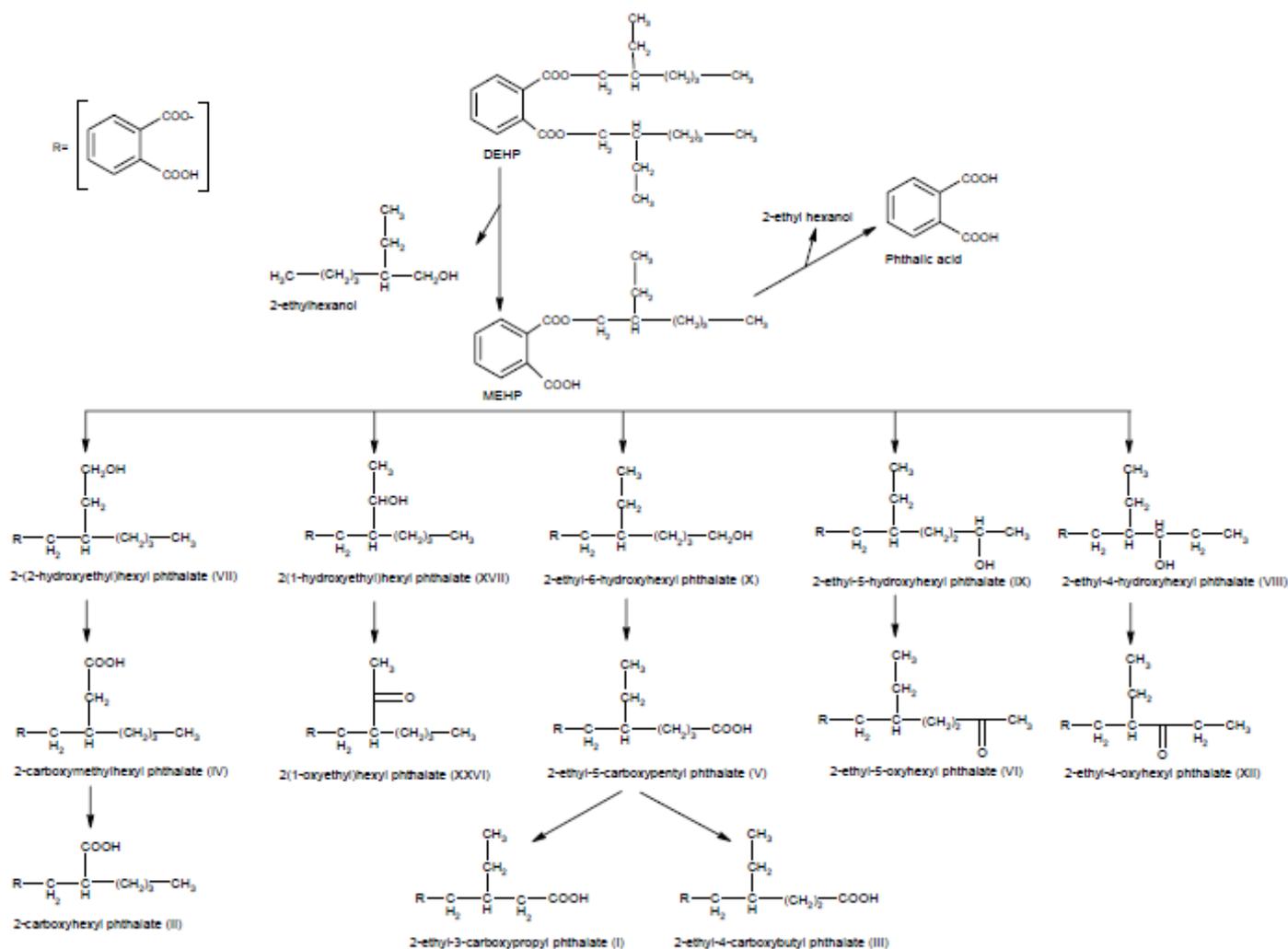
MEHP からフタル酸に加水分解されるのはごくわずかで、大部分の MEHP は肝臓で脂肪族側鎖の ω - (オメガ) 及び ω -1-酸化作用を受けた後、2-エチルヘキシル側鎖の α -もしくは β -酸化を受け、より鎖長が短い diacid となる。MEHP の代謝産物を図 1 に示す。

ヒトでの代謝については、健康な男性ボランティア 2 人に DEHP (30 mg) を単回経口摂取させ、尿中の代謝物を調べた試験において、MEHP が 6~13%、代謝産物 VI が約 20%、代謝産物 IX が約 30%、代謝産物 V が約 30% であり、代謝産物 I、

II、III、IV、VII及びVIIIは各5%未満であった(参照26)。Kochら(参照27)は、重水素で標識されたDEHP(0.64 mg/kg体重)をパンに塗って単回経口摂取した男性ボランティア1人の血中には主にMEHPが、尿中には主に代謝産物VI、IXが検出され、これらの代謝産物の血中半減期はいずれも2時間未満と推算されたとの報告に続き、2005年に、DEHPを単回経口摂取した男性ボランティア1人の尿中に代謝産物IV、V、VI、IXが検出されたと報告している(参照28)。そして2006年には、ヒトでのDEHP代謝に関するレビューにおいて、投与量の67%が24時間後までに尿中へ排泄されること、代謝物IX(23.3%)、代謝物V(18.5%)、代謝物VI(15%)、MEHP(5.9%)、代謝物IV(4.2%)の5物質が主要な代謝物であること、半減期は代謝物IV(24時間)、V(12~15時間)で長く、代謝物VI、IXで短い(10時間)こと等を報告している(参照29)。この他、ドイツ郊外に居住し、フタレート類に職業曝露されていない健康な14~60歳の女性27人、男性23人から8日間連続して採取した尿中の代謝物に関する疫学研究等がある(参照30)。

ラットでは、DEHP(180 mg/kg体重)を単回経口投与した場合の尿中代謝物は75%がジカルボキシル酸(代謝産物Vが約50%、代謝産物Iが約17%、代謝産物II、III、IVが各1~3%)であり、MEHPは検出されなかった(参照5)。一方、マウスとモルモットでは尿中にMEHPが検出されている(参照5)。

MEHPの酸化物は排泄される前に、さらにグルクロン酸と抱合することがある(参照23)。グルクロン酸抱合体として排泄される代謝産物の割合は、サルとヒトでは尿中代謝物の60%でほぼ同様であったが、モルモット、ハムスター及びマウスでは低く、ラットの尿中には全く認められなかった(参照24)。この他、ヒトにおける尿中代謝産物のグルクロニド抱合体の割合については、約65%(参照26)、約84%(参照21)との報告がある。なお、ラットではMEHP及びその代謝物が腸肝循環する可能性が指摘されている(参照5)。



※Albro(参照 23)を改変。なお、上図は 1 つの炭素のみが酸化された場合の代謝経路についての記載であり、2 つの炭素が酸化された場合の代謝物については記載していない。

図 1 DEHP の代謝経路 (参照 7)

④ 排泄

DEHP とその代謝産物は経口曝露後、尿及び糞便に排泄されることが動物試験のデータから示されている。雄ラット及び雄サルに ^{14}C 標識された DEHP (100 mg/kg 体重) を単回経口投与した試験で、いずれの動物種でも投与 96 時間後までに尿に約 30%、糞便に約 50%が排泄され (参照 31)、雄のラット、サル、マウスを用いて同様に曝露した試験でも同様の排泄パターンが観察された (参照 11)。イヌでは糞便へ、ブタでは尿への排泄 (投与 4 日後) が主体 (各 75%、79%) との報告もある (参照 32)。投与後 24 時間以内に排泄された量はラット及びマウスの 85~90% に対し、サルでは 50~80%と低かった (参照 11)。最近のレビューで、DEHP を単回経口摂取したヒトでは投与後 24 時間以内に約 71%が排泄されると報告されている (参照 21)。

反復曝露については、雌雄のラット、サルにおける DEHP (2,000 mg/kg 体重/

日) の 14 日間強制経口投与試験で、尿に排泄される割合がラット約 50%、サル 2% 以下で、残りは糞便中に排泄された (参照 10)。また、DEHP を 21 日間混餌投与された雄ラットにおける尿への排泄は約 50~70%、糞便への排泄は 20~40% であり、曝露量の増加に伴い尿への排泄量増加と糞便への排泄量減少の傾向がみられた (参照 31) との報告もある。

ヒトについては、単回経口摂取した場合の DEHP 及びその代謝物の尿への排泄は 10~15% (参照 26)、慢性的な投与後の尿への排泄は 15~25% (参照 26) との報告がある。また、男性ボランティア 1 人に重水素で標識された DEHP (0.64 mg/kg 体重) をパンに塗って単回経口摂取させた試験では、摂取 44 時間後までに 47% が尿に排泄されたと報告されている (参照 27)。

多くの試験で尿、糞便からの回収率が 100% に到達せず組織への明らかな残留も認められないことから、胆汁への排泄が指摘されており (参照 5)、ラットでの胆汁への排泄は 1% 未満であるが、イヌではかなりの割合が、ブタではそれより少ない量が胆汁中に排泄される (参照 32) との報告がある。

なお、ラットに DEHP を経口投与した場合の血中及び精巣内の DEHP、MEHP 濃度を予測する Keys ら (参照 33) の生理学的薬物動態 (PBPK) モデルを ATSDR (参照 7) が紹介している他、DEHP 投与後の血中及び尿中の代謝物 (MEHP、代謝物 IV、V、VI、IX) を予測する Lorber ら (参照 34) の薬物動態 (PK) モデル等も報告されている。

(2) 実験動物等への影響

① 急性毒性試験

DEHP の単回経口投与における LD₅₀ は、ラット 30.6 g/kg 体重 (参照 35)、マウス 49.7 mL/kg 体重 (参照 36)、ウサギ 33.9 g/kg 体重 (参照 35) 等の報告がある。

② 亜急性毒性試験

a. 4 日間亜急性毒性試験 (ラット)

Sprague-Dawley (SD) 系ラット (雌雄、各投与群 12 匹 (36 日齢)、15 匹 (56 日齢)) における DEHP (0、750 mg/kg 体重/日) の 4 日間強制経口投与試験、及び SD 系ラット (雌雄、各投与群 8 匹、16 日齢) における DEHP (0、500 mg/kg 体重/日) の 4 日間強制経口投与試験が行われた。さらに、これらのラットから副腎皮質細胞を単離して影響を調べた。

500 mg/kg 体重/日の DEHP を投与された 20 日齢のラット、750 mg/kg 体重/日の DEHP を投与された 40 日齢のラットにおける血漿中の副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) 及びコルチコステロン濃度が増加した ($p < 0.05$)。DEHP に曝露された 20 日齢及び 40 日齢のラットから単離された副腎皮質細胞は ACTH (1 ng/mL 以上)、ジブチリル cAMP (cyclic adenosine monophosphate)、22R-

ヒドロキシコレステロールの刺激によりコルチコステロン産生量が増加し、その増加幅は対照群より大きかった ($p<0.05$)。またこれらの細胞では、ACTH 刺激による内在コレステロールのミトコンドリアへの輸送も対照群に比べて増加した ($p<0.05$)。

なお、20、40、60 日齢のラットから副腎皮質細胞を単離し、*in vitro* で 10 μM の DEHP に 24 時間曝露させた試験では、ステロイド産生の増強は見られなかった。

以上より著者らは、DEHP は *in vivo* の脳下垂体-副腎皮質軸及び *ex vivo* の副腎皮質でのステロイド産生に対して年齢依存的に影響を及ぼすことが示唆されるとしている (参照 37)。

b. 7 日間亜急性毒性試験 (ラット)

SD 系ラット (性別及び動物数不明) における DEHP (0、50、100、500 mg/kg 餌 : 0、2.5、5 mg/kg 体重/日 WHO 換算 (参照 9)、25 mg/kg 体重/日 本報告換算) の 7 日間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 1 に示す。

血清トリグリセリド値の有意な低下が 50、100、500 mg/kg 餌の DEHP 投与にてみられ、ペルオキシソーム増殖 (ペルオキシソームに関連する酵素活性の変化、極微な変化に基づく) の NOAEL は 50 mg/kg 餌 (2.5 mg/kg 体重/日)、LOAEL は 100 mg/kg 餌 (5 mg/kg 体重/日) であった (参照 38)。

WHO (参照 9) では、肝臓におけるペルオキシソーム増殖の NOAEL 2.5 mg/kg 体重/日を TDI 算出に用いている。

表 1 ラット 7 日間亜急性毒性試験

投与群	雌雄
100 mg/kg 餌 (5 mg/kg 体重/日)	ペルオキシソーム増殖
50 mg/kg 餌 (2.5 mg/kg 体重/日)以上	血清トリグリセリド値の有意な低下

c. 2 週間/4 週間亜急性毒性試験 (ラット)

SD 系ラット (雌、各投与群 10 匹) における DEHP (0、300、1,000、3,000 mg/kg¹) の 2 週間あるいは 4 週間経口投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 2 に示す。

4 週間 3,000 mg/kg の DEHP を投与された群で、体重減少が見られた。2 週間 1,000 mg/kg 以上投与群及び 4 週間の全投与群で肝臓重量が用量依存的に増加し、肝臓肥大が見られた。また両期間ともに 300 mg/kg 以上投与群で好酸性変化を伴

¹ 原著において用量は「mg/kg」、投与経路は「経口」と記載されているのみで、「mg/kg体重/日」、「mg/kg餌/日」、「mg/kg水/日」の判別ができないことから、原著の「mg/kg」のまま記載した。

う肝細胞肥大が、3,000 mg/kg 投与群で肝細胞の壊死が見られた。副腎については 2 週間 3,000 mg/kg の DEHP を投与されたラットで肥大及び束状帯細胞の分裂増加が、4 週間 1,000 mg/kg 以上投与群で副腎球状帯細胞の空胞変性、3,000 mg/kg 投与群で束状帯細胞の肥大が観察された。腎臓については 2 週間 1,000 mg/kg 以上投与群及び 4 週間 300 mg/kg 以上投与群に近位尿細管の好酸性変化が、4 週間 3,000 mg/kg 投与群に腎臓の退色や拡張及び腎盂の拡張と移行上皮の過形成がみられた。下垂体については両期間の 3,000 mg/kg 投与群で重量が減少し、4 週間投与群ではさらに好酸性顆粒が減少していた (参照 39)。

以上より、この報告ではこの試験の LOAEL を 300 mg/kg と推定した。

表 2 ラット 2 週間/4 週間亜急性毒性試験

投与群	雌 (2 週間)	雌 (4 週間)
3,000 mg/kg	肝細胞壊死 副腎肥大、束状帯細胞分裂増加 下垂体重量減少	体重減少、肝細胞壊死 副腎束状帯細胞肥大 腎臓の退色、拡張、腎盂の拡張、移行上皮過形成 下垂体重量減少、好酸性顆粒減少
1,000 mg/kg 以上	肝重量増加、肝臓肥大 近位尿細管の好酸性変化	副腎球状帯細胞空胞変性
300 mg/kg 以上	肝細胞肥大	肝重量増加、肝臓肥大、肝細胞肥大 近位尿細管の好酸性変化

d. 13 週間亜急性毒性試験 (ラット)

SD 系ラット (雌雄、各投与群 10 匹) における DEHP (0、5、50、500、5,000 ppm : 雄 0、0.4、3.7、37.6、375.2 mg/kg 体重/日、雌 0、0.4、4.2、42.2、419.3 mg/kg 体重/日) の 13 週間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 3 に示す。

5,000 ppm 投与群の雌雄ラットに肝重量及び腎重量の増加 ($p < 0.05$)、肝肥大、肝のペルオキシソーム増殖、甲状腺における軽度の組織変化 (濾胞サイズの減少、コロイド密度の低下) が認められた。5,000 ppm 投与群の雄ラットでは赤血球数及びヘモグロビン値が減少 ($p < 0.01$) し、血清中のアルブミン、カリウムの増加 ($p < 0.05$)、血清アミノトランスフェラーゼの減少 ($p < 0.01$) も観察された (参照 40)。

ATSDR (参照 7) は、肝臓、腎臓、血液系の慢性毒性に係る NOAEL を 37.6 mg/kg 体重/日、LOAEL を 375 mg/kg 体重/日としている。EU (参照 5) も、腎臓影響の NOAEL を 37.6 mg/kg 体重/日と推定している。

表3 ラット 13 週間亜急性毒性試験

投与群	雄	雌
5,000 ppm (雄 ; 375.2 mg/kg 体重/日、 雌 ; 419.3 mg/kg 体重/日)	肝臓重量の増加、肝肥大、肝のペル オキシソーム増殖 腎臓重量の増加 甲状腺の軽度な組織変化 赤血球数、ヘモグロビン値の減少	肝臓重量の増加、肝肥大、 肝のペルオキシソーム増殖 腎臓重量の増加 甲状腺の軽度な組織変化
500 ppm (雄 ; 37.6 mg/kg 体重/日、 雌 ; 42.2 mg/kg 体重/日) 以下	—	—

e. 3日~9ヶ月間亜急性毒性試験 (ラット)

Wistar 系ラット (雌雄、対照群 6 匹、各投与群 4 匹) における DEHP (0 (対照群)、50、200、1,000 mg/kg 体重/日) の 3、7、14、28 日および 9 ヶ月間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 4 に示す。

肝臓ペルオキシソームの増殖は、DEHP への 3 日間曝露では 200 mg/kg 体重/日以上投与群の雄で、14 日間曝露では 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌及び全投与群の雄で、9 ヶ月間曝露では全投与群の雌雄で観察された。9 ヶ月間 DEHP に曝露されたラットでは、肝重量が全投与群の雄及び 200 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で増加し、200 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌でグルコース-6-ホスファターゼ (G6Pase) 活性が低下した。肝細胞の肥大は DEHP に 28 日間以上曝露されたラットで用量依存的に見られた。肝臓での DNA 合成は雌雄とも、1,000 mg/kg 体重/日の DEHP 投与 3 日後に最も増加した後、増加幅は縮小し、投与 14 日後には対照群との有意差が見られなくなった。肝臓における脂質を含むリソソームの蓄積は、9 か月間、200 mg/kg 体重/日以上の DEHP を投与された雌雄ラットで増加した (参照 41)。

ATSDR (参照 7) 及び EU (参照 5) は、この試験における肝臓影響の LOAEL を 50 mg/kg 体重/日としている。

表4 ラット 3日~9ヶ月間亜急性毒性試験

投与群	雄	雌
1,000 mg/kg 体重/日	肝ペルオキシソーム増殖 (3 日間以上)、肝重量増加、G6Pase 活性低下、肝細胞肥大、肝臓での脂質含有リソソーム蓄積増加	肝ペルオキシソーム増殖 (14 日間以上)、肝重量増加、G6Pase 活性低下、肝細胞肥大、肝臓での脂質含有リソソーム蓄積増加
200 mg/kg 体重/日	肝ペルオキシソーム増殖 (3 日間以上)、肝重量増加、G6Pase 活性低下、肝細胞肥大、肝臓での脂質含有リソソーム蓄積増加	肝ペルオキシソーム増殖 (9 ヶ月間)、肝重量増加、肝細胞肥大、肝臓での脂質含有リソソーム蓄積増加
50 mg/kg 体重/日	肝ペルオキシソーム増殖 (14 日間以上)、肝重量増加、肝細胞肥大	肝ペルオキシソーム増殖 (9 ヶ月間)、肝細胞肥大

f. 14 日間亜急性毒性試験 (サル)

カニクイザル (雄、各投与群 4 匹、若い成熟サル) における DEHP (0 (対照群; 0.5%メチルセルロース)、500 mg/kg 体重/日) の 14 日間強制経口投与試験が行われた。体重、肝重量に影響は認められず、組織学的検査でも肝臓、腎臓、精巣に変化は認められなかった。また、肝のペルオキシソーム増殖マーカー (ペルオキシソームの β 酸化、DNA 複製) にも変化は認められなかった。尿検査、血液検査、生化学検査でも毒性学的に重要な変化は生じなかった。著者らは、ヒトでは DEHP 投与によるペルオキシソーム増殖に関連した肝臓影響、肝癌は生じないように思われ、げっ歯類はヒト等の霊長類での肝臓影響を推測する動物モデルとして適さないことが示唆されると結論している (参照 42)。

ATSDR (参照 7) はこの試験の NOAEL を 500 mg/kg 体重/日としている。

g. 13 週間亜急性毒性試験 (サル)

マーモセット (雌雄、各投与群 4 匹) における DEHP (0、100、500、2,500 mg/kg 体重/日) の 13 週間強制経口投与試験が行われ、血液生化学所見、組織への影響、血中ホルモンレベル、肝ペルオキシソームの容積や活性について調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表 5 に示す。

2,500 mg/kg 体重/日投与群の雄では体重増加抑制が有意に認められたが、肝臓、膵臓等の臓器に重量変化や組織所見は認められず、血液生化学所見もみられなかった。全投与群の雄で脾臓重量の減少が用量依存的に認められたが、病理組織学的変化が認められず対照群の脾臓重量がバックグラウンドデータよりも高いことから、著者らは、この重量変化に毒性学的意義はないと考えられるとしている。500 mg/kg 体重/日以上投与群の雄ではペルオキシソームの容積が対照群に比べて 1.3~1.4 倍に増大したが、酵素活性には変化がみられなかった。100 mg/kg 体重/日投与群の雌を除く全群でシトクロム P-450 の増大傾向が見られたが、統計学的有意差は認められなかった (参照 43)。

ATSDR は全器官 (呼吸器、循環器、肝臓、腎臓、血液、内分泌等) の NOAEL を 2,500 mg/kg 体重/日とし、サルはラットやマウスに比べて DEHP 曝露による肝臓への影響の感受性が低いように思われると記載されている (参照 7)。

表 5 サル 13 週間亜急性毒性試験

投与群	雄	雌
2,500 mg/kg 体重/日	体重増加抑制	
500 mg/kg 体重/日以上	酵素活性の変化を伴わない肝ペルオキシソーム容積増大	シトクロム P-450 の増大傾向 (有意差なし)
100 mg/kg 体重/日以上	シトクロム P-450 の増大傾向 (有意差なし)、脾臓重量の減少 (毒性学的意義なし)	—

③ 慢性毒性試験及び発がん性試験

a. 103 週間慢性毒性／発がん性併合試験 (マウス)

NTP により DEHP の発がん性試験が実施された。B6C3F₁ 系マウス (雌雄、各投与群 50 匹) における DEHP (0、3,000、6,000 ppm : 雄 0、672、1,325 mg/kg 体重/日、雌 0、799、1,821 mg/kg 体重/日) の 103 週間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 6 に示す。

投与群の雌雄マウスで肝癌が用量依存的に増加した (低用量群の雄以外は対照群との統計学的有意差あり)。肝癌と肝臓の腺腫を併せた発生頻度が全投与群で増加した。高用量群の雄マウスでは腎臓の慢性炎症が増加した (参照 44、45)。

ATSDR (参照 7) は、腎臓の慢性炎症に基づき、腎臓影響の NOAEL を 672 mg/kg 体重/日、LOAEL を 1,325 mg/kg 体重/日とし、また発がんの LOAEL を、肝細胞癌に基づき 672 mg/kg 体重/日としている。EU (参照 5) も発がん性の LOAEL を 3,000 ppm (670 mg/kg 体重/日) としている。

表 6 マウス 103 週間慢性毒性／発がん性併合試験

投与群	雄	雌
6,000 ppm (雄; 1,325 mg/kg 体重/日、 雌; 1,821 mg/kg 体重/日)	肝癌増加 (19/50 匹; 38%)、肝 癌又は腺腫増加 (29/50 匹; 58%) 腎臓の慢性炎症増加 (10/50 匹; 20%)	肝癌増加 (17/50 匹; 34%)、肝 癌又は腺腫増加 (18/50 匹; 36%)
3,000 ppm (雄; 672 mg/kg 体重/日、 雌; 799 mg/kg 体重/日)	肝癌増加 (統計学的有意差なし。 14/48 匹; 29%)、肝癌又は腺腫 増加 (25/48 匹; 52%)	肝癌増加 (7/50 匹; 14%)、肝 癌又は腺腫増加 (12/50 匹; 24%)
0 ppm (対照群)	肝癌 (9/50 匹; 18%)、肝癌又 は腺腫 (14/50 匹; 28%) 腎臓の慢性炎症 (1/50 匹; 2%)	肝癌(0/50 匹; 0%)、肝癌又は腺 腫 (1/50 匹; 2%)

b. 104 週間慢性毒性／発がん性併合試験 (マウス)

B6C3F₁ 系マウス (雌雄、各投与群 60~70 匹、4 週齢) における DEHP (0、100、500、1,500、6,000 ppm : 雄 0、19.2、98.5、292.2、1,266.1 mg/kg 体重/日、雌 0、23.8、116.8、354.2、1,458.2 mg/kg 体重/日) の 104 週間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 7 に示す。

104 週後、肝絶対重量の増加が 500 ppm 以上投与群雄および 6,000 ppm 投与群雌で、腎絶対重量の低下が 1,500 ppm 以上投与群雄および 6,000 ppm 投与群雌で認められた (いずれも $p < 0.05$)。6,000 ppm 投与群の雌雄全例に肝臓の色素沈着、細胞質の好酸球増加、慢性炎症が見られた (いずれも、それ以外の投与群及び対照群では観察されず)。慢性進行性腎症が 6,000 ppm 投与群雌で増加した (対照群 4/10 匹に対し、10/10 匹) が、雄では対照群から全例に認められていた。

また、肝パルミトイル-CoA オキシダーゼ活性の増大が 500 ppm 以上投与群の雌雄で、肝腫瘍の増加が 500 ppm 以上投与群雄及び 1,500 ppm 以上投与群雌で有意に見られた。また、雌雄各 55 匹のマウスに 78 週間、6,000 ppm の DEHP を同様に混餌投与した後、26 週間にわたり DEHP を含まない餌を投与した試験では、回復期間後に雌マウスの肝重量及び雌雄マウスの肝パルミトイル-CoA オキシダーゼが対照群と有意差がないレベルまで回復し、雄マウスの肝腺腫の発生頻度が継続投与群に比べて低下した。

著者らは、肝臓の腫瘍およびペルオキシソーム増殖に関する NOEL を 100 ppm、非発がん影響に関する NOAEL を 500 ppm (98.5~116.8 mg/kg 体重/日) と報告している (参照 46、47)。

ATSDR (参照 7) は、肝臓、腎臓の慢性毒性に係る NOAEL を 117 mg/kg 体重/日、LOAEL を肝臓影響 292 mg/kg 体重/日、腎臓影響 354 mg/kg 体重/日とし、それ以外の器官については NOAEL を 1,458 mg/kg 体重/日とした。そして発がん性の LOAEL を、肝細胞腫瘍に基づき、雄 292 mg/kg 体重/日、雌 354 mg/kg 体重/日とした。また EU²では、雄マウスでの肝細胞腫瘍に基づき発がん性の NOAEL を 500 ppm (98 mg/kg 体重/日)、LOAEL を 1,500 ppm (292 mg/kg 体重/日) とし、肝臓に対する非発がん性影響の NOAEL を 100 ppm (19 mg/kg 体重/日)、LOAEL を 500 ppm (98 mg/kg 体重/日) としている (参照 5)。

表 7 マウス 104 週間慢性毒性／発がん性併合試験

投与群	雄	雌
6,000 ppm (雄 ; 1,266.1 mg/kg 体重/日、 雌 ; 1,458.2 mg/kg 体重/日)	1,500 ppm 投与群と同じ症状 生存率の低下、体重増加抑制 肝臓の慢性炎症 (100%)	体重増加抑制 肝相対・絶対重量増加、肝パル ミトイル-CoA オキシダーゼ活 性増大、肝臓の慢性炎症 (100%)、肝腫瘍増加 腎絶対重量の低下、慢性進行性 腎症の増加
ペーパーを 1,500 ppm 以上 (雄 ; 292.2 mg/kg 体重/日、雌 ; 354.2 mg/kg 体重/日)	肝絶対・相対重量増加、肝パル ミトイル-CoA オキシダーゼ活 性増大、肝腫瘍増加 慢性進行性腎症の増加、腎絶 対・相対重量の低下	肝相対重量増加、肝パルミトイ ル-CoA オキシダーゼ活性増大、 肝腫瘍増加 慢性進行性腎症の増加
500 ppm (雄 ; 98.5 mg/kg 体重/日、雌 ; 116.8 mg/kg 体重/日)	肝絶対重量増加、肝パルミトイ ル-CoA オキシダーゼ活性増大、 肝腫瘍増加 腎相対重量の低下	肝パルミトイル-CoA オキシダ ーゼ活性増大
100 ppm (雄 ; 19.2 mg/kg 体重/日、雌 ; 23.8 mg/kg 体重/日)	—	—

c. 2 年間慢性毒性／発がん性併合試験 (ラット)

Sherman 系ラット (雌雄、各投与群 32 匹、60 日齢) における DEHP (0、0.04、

²同じ試験を Moore (参照 51) のデータ (非公開) として取り上げているようである。

0.13、0.4% : 0、20、60、190~200 mg/kg 体重/日) の2年間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表8に示す。

投与に関連した血液検査値の異常、発がん頻度増加は認められなかった。0.4%群の雌雄ラットで成長の遅れ、肝臓および腎臓重量の増加が認められた。このことから著者らは、NOELを0.13~0.4% (60~200 mg/kg 体重/日) の間にあると推定している。ただし、この試験では対照群の死亡率が高く (70.3%)、信頼性は低い (参照48)。

ATSDR(参照7)では肝臓影響についてのみNOAEL 60 mg/kg 体重/日、LOAEL 190 mg/kg 体重/日とし、腎臓・循環器・消化器・呼吸器・血液についてはNOAELを190 mg/kg 体重/日としている。

表8 ラット2年間慢性毒性/発がん性併合試験

投与群	雌雄
0.4% (190~200 mg/kg 体重/日)	成長の遅れ、肝重量及び腎重量の増加
0.13% (60 mg/kg 体重/日)以下	—

d. 102週間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

SD系ラット (雄、成熟動物) におけるDEHP (0、0.02、0.2、2% : 0、14、140、1,400 mg/kg 体重/日 ATSDR換算) の102週間混餌投与試験が行われ、肝への影響が調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表9に示す。

2%投与群でのみ、体重の大幅な減少が認められた。0.2%以上投与群 (16ヶ月間) で肝ペルオキシソームが増加した。パルミトイル-CoA デヒドロゲナーゼ及びミトコンドリアのカルニチンアセチルトランスフェラーゼの活性の増大は、2%投与群では前者が約40週後、後者が6ヶ月後にプラトーに達したが、0.02%及び0.2%投与群におけるこれらの酵素活性は持続的に増大した。これらの酵素誘導は可逆的であり、1年間、0.2%あるいは2%のDEHPを投与した後に投与をやめた場合、その2週間後には、いずれの酵素活性も対照レベルに回復した。肝癌は観察されなかった (参照49)。

ATSDR (参照7) は、中等度のペルオキシソーム増加を示す形態及び酵素の変化に基づき、肝臓影響のLOAELを140 mg/kg 体重/日としている。

表9 ラット102週間慢性毒性/発がん性併合試験

投与群	雄
2% (1,400 mg/kg 体重/日)	体重減少 肝ペルオキシソーム増加、パルミトイル-CoA デヒドロゲナーゼ及びミトコンドリアのカルニチンアセチルトランスフェラーゼの活性増大
0.2% (140 mg/kg 体重/日)	肝ペルオキシソーム増加、パルミトイル-CoA デヒドロゲナーゼ及びミトコンドリアのカルニチンアセチルトランスフェラーゼの活性増大
0.02% (14 mg/kg 体重/日)	パルミトイル-CoA デヒドロゲナーゼ及びミトコンドリアのカルニチンアセチルトランスフェラーゼの活性増大

e. 103 週間慢性毒性／発がん性併合試験 (ラット)

NTP により DEHP の発がん性試験が実施された。Fischer 344 (F344) 系ラット (雌雄、各投与群 50 匹) における DEHP (0、6,000、12,000 ppm : 雄 0、322、674 mg/kg 体重/日、雌 0、394、774 mg/kg 体重/日) の 103 週間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 10 に示す。

肝癌が投与群雌ラットで用量依存的に増加し (対照群との統計学的有意差は高用量群のみ)、肝癌と肝臓の腫瘍結節 (neoplastic nodule) を併せた発生頻度の増加が両投与群の雌及び高用量群雄で見られた。肝臓の明細胞性細胞巢の発生頻度が投与群の雌雄ラットで用量依存的に増加したが、統計学的な有意差は見られなかった。高用量群の雄ラットでは下垂体の腫瘍、甲状腺の腫瘍、精巣間細胞腫が対照群に比べて減少し、下垂体肥大の発生頻度が増加した (参照 44、45)。

ATSDR (参照 7) は、慢性毒性の LOAEL を肝臓影響 322 mg/kg 体重/日、内分泌系 674 mg/kg 体重/日とし、発がんの LOAEL を、肝細胞癌に基づき 322 mg/kg 体重/日としている。EU (参照 5) も発がん性の LOAEL を 6,000 ppm (320 mg/kg 体重/日) としている。

表 10 ラット 103 週間慢性毒性／発がん性併合試験

投与群	雄	雌
12,000 ppm (雄 ; 674 mg/kg 体重/日、 雌 ; 774 mg/kg 体重/日)	肝癌又は肝腫瘍結節増加 (12/49 匹 ; 24%) 肝臓の明細胞性細胞層 (11/49 匹 ; 22%) 下垂体腫瘍減少 (1/49 匹 ; 2%)、 下垂体肥大増加 (22/49 匹 ; 45%) 甲状腺腫瘍減少 (0/46 匹 ; 0%) 精巣間細胞腫減少 (11/48 匹 ; 23%)、	肝癌又は肝腫瘍結節増加 (13/50 匹 ; 26%) 肝臓の明細胞性細胞層 (3/50 匹 ; 6%)
6,000 ppm (雄 ; 322 mg/kg 体重/日、 雌 ; 394 mg/kg 体重/日)	肝癌又は肝腫瘍結節増加 (有意差なし。6/49 匹 ; 12%) 肝臓の明細胞性細胞層 (10/49 匹 ; 20%) 下垂体腫瘍 (6/43 匹 ; 14%) 甲状腺腫瘍 (2/47 匹 ; 4%) 精巣間細胞腫 (42/44 匹 ; 95%)	肝癌又は肝腫瘍結節増加 (6/49 匹 ; 12%) 肝臓の明細胞性細胞層 (3/49 匹 ; 6%)
0 ppm(対照群)	肝癌又は肝腫瘍結節(3/50 匹 ; 6%) 肝臓の明細胞性細胞層 (4/50 匹 ; 8%) 下垂体腫瘍 (8/46 匹 ; 17%)、下垂体肥大 (1/46 匹 ; 2%) 甲状腺腫瘍 (5/48 匹 ; 10%) 精巣間細胞腫 (47/49 匹 ; 96%)	肝癌又は肝腫瘍結節 (0/50 匹 ; 0%) 肝臓の明細胞性細胞層 (0/50 匹 ; 0%)

f. 104 週間慢性毒性／発がん性併合試験 (ラット)

F344 系ラット (雌雄、各投与群 50~80 匹、6 週齢) における DEHP (0、100、500、2,500、12,500 ppm : 雄 0、5.8、28.9、146.6、789.0 mg/kg 体重/日、雌 0、7.3、36.1、181.7、938.5 mg/kg 体重/日) の 104 週間混餌投与試験が行われた。

各投与群で認められた毒性所見を表 11 に示す。

体重、摂餌量は 12,500 ppm 投与群で有意に低下した。2,500 ppm 以上投与群の雌雄ラットで肝重量の増加、肝パルミトイル-CoA オキシダーゼ活性の増大が有意にみられ、雄ラットでは腎重量、肺相対重量、肝海綿状変性、単核白血病も増加した。12,500 ppm 投与群では雌雄ラットに肝細胞色素沈着及び腎重量の増加が、雄ラットに膵臓腺房細胞の腺腫の増加が見られた。肝細胞腫瘍は 2,500 ppm 以上投与群の雄及び 12,500 ppm 投与群雌で増加した。また、雌雄各 55 匹のラットに 78 週間、12,500 ppm の DEHP を同様に混餌投与した後、26 週間にわたり DEHP を含まない餌を投与した試験では、回復期間後に肝重量及び肝パルミトイル-CoA オキシダーゼが対照群と有意差がないレベルまで回復し、肝癌の発生頻度が継続投与群に比べて低下した（肝臓の腺腫は変化なし）。

著者らは NOAEL を 500 ppm (28.9~36.1 mg/kg 体重/日) とした。また、単核白血病についてはこの系統のラットによく見られ、SD 系ラットを用いた他の慢性経口投与試験では観察されていないことから、ヒトとの関連は疑わしいとしている。（参照 46、50）。

ATSDR (参照 7) は、肝臓、腎臓への影響に係る LOAEL を 147 mg/kg 体重/日、NOAEL を 36 mg/kg 体重/日とし、それ以外の器官については NOAEL を 939 mg/kg 体重/日としている。また EU³では非腫瘍性変化の NOAEL を腎重量の増加に基づき 500 ppm (28.9~36.1 mg/kg 体重/日)、LOAEL を 2,500 ppm (146.6~181.7 mg/kg 体重/日) としている（参照 5）。

表 11 ラット 104 週間慢性毒性／発がん性併合試験

投与群	雄	雌
12,500 ppm (雄; 789 mg/kg 体重/日、雌; 938.5 mg/kg 体重/日)	体重低下 肝重量増加、肝細胞の色素沈着 増加、肝海綿状変性増加、肝パ ルミトイル-CoA オキシダーゼ活 性増大、肝腫瘍増加 腎重量増加 肺相対重量増加 膵臓の腺房細胞腺腫の増加 単核白血病の増加。	体重低下 肝重量増加、肝細胞の色素沈着 増加、肝パルミトイル-CoA オキ シダーゼ活性増大、肝腫瘍増加 腎重量増加
2,500 ppm (雄; 146.6 mg/kg 体重/日、 雌; 181.7 mg/kg 体重/日)	肝重量増加、肝海綿状変性増加、 肝パルミトイル-CoA オキシダー ゼ活性増大、肝腫瘍増加 腎重量増加 肺相対重量増加 単核白血病の増加	肝重量増加、肝パルミトイル -CoA オキシダーゼ活性増大、
500 ppm 以下 (雄; 28.9 mg/kg 体重/日、 雌; 36.1 mg/kg 体重/日)	—	—

³ 同じ試験を Moore (参照 52) のデータ (非公開) として取り上げているようである。

g. 159 週間慢性毒性／発がん性併合試験 (ラット)

SD 系ラット (雄、各投与群 60~180 匹) における DEHP (0、30、95、300 mg/kg 体重/日) の 159 週間混餌投与試験が行われ、発がん性が調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表 12 に示す。

300 mg/kg 体重/日曝露群で肝腫瘍および精巣腫瘍 (ライディッヒ細胞腫) の増加が認められ、用量-反応関係も有意であった。精巣腫瘍は肝腫瘍よりも早期に発生し、時間経過に伴い数が増加した。300 mg/kg 体重/日曝露群では精細管の萎縮も増加した。肝重量は用量依存的に僅かに増加したが、有意差は見られず、肝海綿状変性が 950 日間以上、95 mg/kg 体重/日以上投与群で増加した。

著者らは、肝発がんの NOAEL を 95 mg/kg 体重/日とした。また精巣の発がんについても NOAEL を 95 mg/kg 体重/日とした (ただし、ライディッヒ細胞腫の発がん頻度は両側検定では有意差が見られないが、片側検定では 30 mg/kg 体重/日投与群から有意差が見られたことを指摘) (参照 53)。

表 12 ラット 159 週間慢性毒性／発がん性併合試験

投与群	雄
300 mg/kg 体重/日	肝腫瘍増加 精巣腫瘍の増加、精細管萎縮の増加
95 mg/kg 体重/日以上	肝海綿状変性増加
30 mg/kg 体重/日	—

h. 1 年間慢性毒性／発がん性併合試験 (モルモット)

モルモット (雌雄、各投与群 22~24 匹) における DEHP (0、0.04、0.13% : 0、19、64 mg/kg 体重/日) の 1 年間混餌投与試験が行われた。投与群で認められた毒性所見を表 13 に示す。

死亡率は対照群、0.04%群、0.13%群で各、24%、30%、15%であった。両投与群の雌の肝相対重量が増加した (用量との関連なし)。投与に関連した病理組織学的変化、発がんは見られなかった (参照 48)。

EPA/IRIS (参照 3) は、DEHP の毒性についてはラットよりモルモットの方が感受性が高いようであると、LOAEL 19 mg/kg 体重/日を経口 RfD の算出に用いている。

表 13 モルモット 1 年間慢性毒性／発がん性併合試験

投与群	雄	雌
0.04% (19 mg/kg 体重/日)以上	—	肝相対重量の増加

<DEHP による肝発がんメカニズム；参考データ>

DEHP がげっ歯類の肝臓に癌を生じるメカニズムについて、ATSDR (参照 7) は、正確には分かっていないが以下のように推測されるとしている。それによると、主なメカニズムは、ペルオキシソーム増殖を介した持続的な酸化ストレスの

誘導及び、細胞増殖とプロモーション作用の促進と推測される。酸化ストレスはペルオキシソーム内での過酸化水素の生成と分解のバランスが生成側に傾くことで起こると考えられ、生じた過酸化水素はペルオキシソーム外へと出て細胞膜やDNAを損傷する可能性がある。DEHPに曝露されたラット肝臓では8-ヒドロキシ-デオキシグアノシン (8-OHdG) の増加が観察されているが、増加の程度は通常小さく、持続しない例も見受けられる。8-OH-dGの増加と発がん性は相関せず、DEHPはラット、マウス肝臓でイニシエーション作用を欠くことも併せると、過酸化水素の生成増加とDNA酸化のみから肝発がんを説明することはできないと思われる。細胞増殖については、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 α (PPAR α) を介した細胞分裂増加がDEHPに曝露されたラット、マウスにおいて強くはないものの報告されており、DEHPはイニシエートされた病変の増殖に影響することで発がんプロモーターとして作用することが示唆される。ただし、発がんプロモーション試験においてマウスは概ね陽性だが、ラットでは陽性、陰性が混交した結果が得られている。その他、肝細胞のアポトーシス抑制の関与も示唆される。

このようなペルオキシソーム増殖を介した作用の種差について、ATSDR (参照 7) では、ラットとマウスでは反応性が高く、ハムスターは中程度の反応性、モルモット、イヌ、霊長類は反応しないことが示されている、と記載している。例えば、*in vitro* でモノ (2-エチルヘキシル) フタレート (MEHP) に曝露されたラット肝細胞ではペルオキシソームの顕著な増加と β -酸化が見られるが、モルモット、マーモセット、ヒトの肝細胞ではそのような反応は見られなかった (参照 54)。また PPAR α の mRNA のヒト肝臓での発現はマウス肝臓に比べて約 10 倍少なく、受容体としての機能をコードするエクソン 6 を欠くこと (参照 55)、PPAR α を介した転写に対する遺伝子の反応性に種差があること (参照 7) 等も示されている。最近では PPAR α 欠損マウスを用いた試験も行われており、肝臓腫瘍が野生型マウスよりも PPAR α 欠損マウスで多く見られたが、これは酸化ストレスの増加に起因するものではないかと推測した研究 (参照 56)、PPAR α 欠損マウスの肝細胞腺腫では細胞分裂やアポトーシスを調節する遺伝子の発現が変化しているのに対し、野生型マウスの腺腫ではこれらの遺伝子は変化せずに *met* がん原遺伝子の発現が増加しており、複数の肝発がんメカニズムが存在する可能性があることを示唆した研究 (参照 57) 等がある。他、DEHP を 22 ヶ月間混餌投与された PPAR α 欠損マウスで免疫複合体糸球体腎炎が見られたことから、PPAR α は DEHP による腎臓への影響を逆に防御している可能性を指摘した報告もある (参照 58)。

EU (参照 5) も ATSDR と同様の肝発がんメカニズムを挙げているが、酸化ストレスはあまり関与しないと思われ、PPAR α 活性化が重要な役割を果たすのではないかと指摘している。また種差については、実験動物で見られた肝発がんはげっ歯類に特異的でありヒトとの関連はないと推測されるが、PPAR α の発現の違いは質的ではなく量的なものでありヒトでの個体差もあること、ギャップ結合を介した細胞内伝達への影響、ミトコンドリアへの影響や CYP-452 の調整等の

ペルオキシソームに関連しない指標への影響による発がんメカニズムが存在し得ること等から、DEHPによるヒトでの肝発がんリスクを除外することはできないであろうとしている。

Rusyn ら (参照 59) もそのレビューの中で、DEHP 曝露による肝発がんの作用機序は、①親化合物から生理活性のある一次・二次代謝物への迅速な代謝と全身への分布、②受容体に依存しない肝臓のマクロファージ活性化とオキシダント産生、③肝細胞における PPAR α 活性化と代謝関連遺伝子発現の持続的な増加、④肝細胞小器官の肥大、⑤細胞分裂の一時的だが急速な増加とアポトーシス減少、⑥持続的な肝腫大、⑦慢性的な弱い酸化ストレスと DNA 損傷の蓄積、⑧イニシエートされた細胞の選択的なクローン増殖、⑨前がん結節の様相、⑩腺腫や癌の発達、等の重要な事象が連なり、多様な分子シグナルと経路が組み合わさったものである、としている。

この他にも作用機序に関して、DEHP 曝露により活性化された構成的アンドロスタン受容体 (CAR) がマウス肝臓 (*in vivo*、*in vitro* 共に) での標的遺伝子の発現を調節している可能性を示唆した研究 (参照 60) や、低濃度の DEHP がヒトで主に発現している CAR の変異型の一つ CAR2 を選択的に活性化することを示した研究 (参照 61)、DEHP に混餌投与されたラット肝臓では DNA 低メチル化が見られないことを示した研究 (参照 62) 等がある。

④ 神経毒性試験

a. 単回/14日間経口投与試験 (ラット)

F344 系ラット (雌、各投与群 8 匹) における DEHP (0 (対照群; コーン油)、150、500、1,500、5,000 mg/kg 体重) の単回強制経口投与試験、あるいは DEHP (0 (対照群; コーン油)、50、150、500、1,500 mg/kg 体重/日) の 14 日間強制経口投与試験が行われた。機能観察総合評価 (FOB)、自発運動測定を行い、神経行動学的影響を調べた。

5,000 mg/kg 体重を単回経口投与されたラット 2 匹に明らかな全身衰弱の徴候 (閉眼、立毛、僅かな流涙、低体温) が認められたが、単回、反復投与共に神経行動学的影響は見られなかった (参照 63)。

以上より、この報告では本試験における神経行動毒性の NOAEL を、単回投与では >5,000 mg/kg 体重、14 日間投与では >1,500 mg/kg 体重/日と推定した。

なお、F344 系ラットを用いた 104 週間慢性毒性・発がん性併合試験 (参照 46、50)、B6C3F₁ 系マウスを用いた 104 週間慢性毒性・発がん性併合試験 (参照 46、47) では脳、末梢神経、脊髄神経、脊髄の組織変化は見られていない。

⑤ 免疫毒性試験

最近、DEHP のアジュバント作用を調べる試験がいくつか行われている。たとえば、雌マウスにニワトリ卵のオブアルブミンと DEHP を投与して DEHP のア

ジュバント作用を調べた結果、100 µg (単回) のアジュバント係数は 33 であったとの報告 (参照 64)、アレルギーの皮下投与によるアトピー性皮膚炎様の損傷が DEHP 曝露により増強されることを雄成熟マウス (参照 65) や胎内で DEHP に曝露された雄児マウス (参照 66) で示した報告等がある。ただし、DEHP のアジュバント作用については、雌マウスに肝臓重量増加を生じる用量でも見られない、とした報告 (参照 67) もあり、まだ不確実である。

なお、B6C3F₁系マウス及び F344 系ラットを用いた 103 週間発がん性試験 (参照 44、45)、B6C3F₁系マウス及び F344 系ラットを用いた 104 週間慢性毒性・発がん性試験 (参照 46、47) ではいずれも、脾臓、骨髄、リンパ節に病理組織学的変化は見られていない。

⑥ 生殖・発生毒性試験

a. 103 週間慢性毒性試験 (マウス)⁴

NTP により DEHP の発がん性試験が実施された。B6C3F₁系マウス (雌雄、各投与群 50 匹) における DEHP (0、3,000、6,000 ppm : 雄 0、672、1,325 mg/kg 体重/日、雌 0、799、1,821 mg/kg 体重/日) の 103 週間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 14 に示す。

高用量群の雄マウスで精細管の変性が増加した (p<0.05) (参照 44、45)。

ATSDR (参照 7) は、生殖毒性の NOAEL を 672 mg/kg 体重/日、LOAEL を 1,325 mg/kg 体重/日としている。

表 14 マウス 103 週間慢性毒性試験

投与群	雄	雌
6,000 ppm (雄;1,325 mg/kg 体重/日、 雌 ; 1,821 mg/kg 体重/日)	精細管変性の増加 (7/49 匹 ; 14%)	—
3,000 ppm (雄 ; 672 mg/kg 体重/日、 雌 ; 799 mg/kg 体重/日)	精細管変性 (2/48 匹 ; 4%)	—
0 ppm (対照群)	精細管変性 (1/49 匹 ; 2%)	—

b. 104 週間慢性毒性試験 (マウス)⁵

B6C3F₁系マウス (雌雄、各投与群 60~70 匹、4 週齢) における DEHP (0、100、500、1,500、6,000 ppm : 雄 0、19.2、98.5、292.2、1,266.1 mg/kg 体重/日、雌 0、23.8、116.8、354.2、1,458.2 mg/kg 体重/日) の 104 週間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 15 に示す。

⁴ ③慢性毒性試験及び発がん性試験 a.と同じ試験

⁵ ③慢性毒性試験及び発がん性試験 b.と同じ試験

1,500 ppm 以上投与群雄で精巣絶対重量の減少が（精巣相対重量減少は 500 ppm 以上投与群から見られた）、6,000 ppm 投与群雌で子宮絶対・相対重量の減少が認められた ($p<0.05$)。6,000 ppm 投与群の全雄マウスに精液過小症、未熟あるいは異常な精子が認められた（いずれもそれ以外の投与群及び対照群では観察されず）（参照 47）。

ATSDR（参照 7）は、精巣重量減少及び精液過小症に基づき、生殖毒性の NOAEL を 98.5 mg/kg 体重/日、LOAEL を 292 mg/kg 体重/日とした。また EU では、精巣影響の NOAEL を 98.5 mg/kg 体重/日としている（参照 5）。

表 15 マウス 104 週間慢性毒性試験

投与群	雄	雌
6,000 ppm (雄 ; 1,266.1 mg/kg 体重/日、 雌 ; 1,458.2 mg/kg 体重/日)	精液過小症、未熟あるいは異常な精子	子宮絶対・相対重量の減少
1,500 ppm (雄 ; 292.2 mg/kg 体重/日、雌 ; 354.2 mg/kg 体重/日) 以上	精巣絶対重量の減少	—
500 ppm (雄 ; 98.5 mg/kg 体重/日、雌 ; 116.8 mg/kg 体重/日) 以上	精巣相対重量の減少	—

c. 生殖発生毒性試験（マウス）

CD-1 系マウス（雌雄）に DEHP（0、0.01、0.1、0.3% : 0、14、140、420 mg/kg 体重/日 ATSDR 換算）を交配前 7 日から混餌投与し、98 日にわたり曝露を継続しながら雌雄マウスを同居させ、その後、雌雄を分けてさらに 21 日間飼育し、生殖への影響を調べた。調査項目は、交配した中で出産した組の割合、各組での同腹児数、各出産における生存児数、生児出生率、出生児体重である。各投与群で認められた毒性所見を表 16-1、表 16-2 に示す。

中用量投与群では全ての調査項目で低下が認められ、その低下の程度は、出産した組の割合を除き、統計学的に有意であった ($p<0.01$)。高用量投与群では受精が成立せず、どの組も出産しなかった。また、高用量投与群の雄と対照群の雌、高用量投与群の雌と対照群の雄の交配実験において、曝露雌との交配では児動物は生まれず、曝露雄との交配では受精率、生児出生率、出生児体重が減少した ($p<0.05$)。このことから Lamb ら（参照 68）は、DEHP は雌雄の両方に生殖影響を与えているとしている。

ATSDR（参照 7）は生殖毒性の NOAEL を 14 mg/kg 体重/日、LOAEL を 140 mg/kg 体重/日とし、この NOAEL に不確実係数 100（種差 10×個体差 10）を用いて亜慢性の経口 MRL（minimal risk level）を 0.1 mg/kg 体重/日としている。なお、EU では餌中濃度から投与量を 20、200、600 mg/kg 体重/日相当と換算して発生毒性の NOAEL を 20 mg/kg 体重/日、母動物毒性の NOAEL を 600 mg/kg 体重/日とし（参照 5）、厚生労働省の水質基準見直し（参照 1）では NOAEL 14 mg/kg 体重/日、LOAEL 144 mg/kg 体重/日としている。

表 16-1 マウス生殖発生毒性試験

投与群	親動物・児動物 (曝露雄×曝露雌)
0.3% (420 mg/kg 体重/日)	全組で出産なし
0.1% (140 mg/kg 体重/日)	統計学的に有意な低下 (p<0.01) : 同腹児数、生存児数、生児出生率、出生児体重 統計学的に有意ではないが低下 : 交配した組中の出産した組の割合
0.01% (14 mg/kg 体重/日)	—

表 16-2 マウス生殖発生毒性試験

投与群	親動物・児動物 (曝露雄×対照雌)	親動物・児動物 (対照雄×曝露雌)
0.3% (420 mg/kg 体重/日)	受精率、生児出生率、出生児体重の低下 (p<0.05)	出産なし

d. 発生毒性試験 (マウス)

CD-1 系マウス (雌、各投与群 24~30 匹) における DEHP (0、0.025、0.05、0.10、0.15% : 0、44、91、191、292 mg/kg 体重/日) の妊娠 0~17 日の混餌投与試験が行われ、吸収胚、死亡胎児数、生存胎児数、生存胎児体重および胎児の奇形について調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表 17 に示す。

191 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物に体重減少が認められた。91 mg/kg 体重/日以上投与群の胎児に外表奇形 (開眼、眼球突出、脳ヘルニア、短尾・無尾、主要血管の奇形、肋骨の癒合や分岐、胸椎の癒合やずれ) の増加が認められ、191 mg/kg 体重/日以上投与群に胚吸収及び死亡胎児の増加、生存胎児数及び胎児体重の低下が認められた。以上より、著者らは DEHP の胎児毒性 (催奇形性を含む) の NOAEL を 44 mg/kg 体重/日とした (参照 69)。

厚生労働省の水質基準見直し (参照 1) でも、NOAEL 44 mg/kg 体重/日、LOAEL 91 mg/kg 体重/日とされている。EU では発生毒性の NOAEL を 44 mg/kg 体重/日、母動物毒性の NOAEL を 91 mg/kg 体重/日としている (参照 5)。また ATSDR (参照 7) は、外表奇形等に基づき NOAEL 44 mg/kg 体重/日、LOAEL 91 mg/kg 体重/日としており、以前はこの NOAEL 44 mg/kg 体重/日に不確実係数 100 (種差 10×個体差 10) を用いて MRL を 0.4 mg/kg 体重/日としていたが、最近の試験で、より低い投与量 (38 mg/kg 体重/日) でラットに精巣毒性が見られている (参照 40) ことから、この用量を MRL の算出に用いるのは適切ではないとしている。

表 17 マウス発生毒性試験

投与群	親動物	児動物
0.10% (191 mg/kg 体重/日)以上	体重減少	胚吸収及び死亡胎児の増加、生存胎児数及び胎児体重の低下
0.05% (91 mg/kg 体重/日)以上	—	外表奇形の増加
0.025% (44 mg/kg 体重/日)	—	—

e. 発生毒性試験 (マウス)

ICR 系マウス (雌、各投与群 7~12 匹) における DEHP (0、0.05、0.1、0.2、0.4、1.0% : 0、70、190、400、830、2,200 mg/kg 体重/日) の妊娠 0~18 日の混餌投与試験が行われ、着床、胎児死亡、奇形の有無が調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表 18 に示す。

母動物の平均体重は 0.2% 以上投与群で減少した ($p < 0.01$)。胎児死亡率は 0.1% 以上投与群で増加し ($p < 0.01$)、0.4% 以上投与群では 100% であった。生存胎児については、0.2% 投与群で体重が減少し ($p < 0.05$)、奇形 (主に神経管の異常) が増加した ($p \approx 0.05$) 他、用量依存的に骨化遅延傾向が見られた。著者らは、マウスの経口曝露による胎児毒性に関する NOAEL を 70 mg/kg 体重/日としている (参照 70)。

ATSDR (参照 7) は NOAEL を 83 mg/kg 体重/日、LOAEL を 170 mg/kg 体重/日 (餌中濃度から摂取量への換算が著者らと異なると思われる) としている。

表 18 マウス発生毒性試験

投与群	親動物	児動物
0.4% (830 mg/kg 体重/日)以上	体重減少	全胎児死亡、胎児体重減少
0.2% (400 mg/kg 体重/日)	体重減少	胎児死亡率増加、胎児体重減少、生存胎児の奇形増加
0.1% (190 mg/kg 体重/日)	—	胎児死亡率増加
0.05% (70 mg/kg 体重/日)	—	—

f. 発生毒性試験 (マウス)

C57BL/6 系マウス (雌、各投与群 10 匹) における DEHP (0 (対照群; コーン油)、100、200、500 mg/kg 体重/日) の妊娠 12~17 日の強制経口投与試験が行われ、胎生 19 日齢の児動物への影響が調べられた。

全投与群の雄胎児において、肛門生殖器間距離 (AGD) 短縮、尿道下裂の増加

($p < 0.05$) が用量依存的に見られた。また投与群では TGF- β 1 (transforming growth factor- β 1) の遺伝子発現が用量依存的に増強された ($p < 0.05$) (参照 71)。

以上より、この報告ではこの試験の LOAEL を 100 mg/kg 体重/日と推定した。

g. 発生毒性試験 (マウス)

ICR 系マウス (雌、各投与群 4~7 匹) における DEHP (0 (対照群; セサミオイル)、1 mg/kg 体重/日) の妊娠 8~17 日及び授乳 3~7 日の経口投与試験が行われ、雄児動物への影響が 2、4、6 週齢の時点で調べられた。

投与群において、全測定時に体重の減少が、また 6 週齢で脳重量減少 ($p < 0.05$) が見られた。中脳ドーパミン作動性神経のチロシンヒドロキシラーゼ (TH) の免疫組織学活性 (TH-ir) が 2、6 週齢の A8、A9 領域において若干減弱し、6 週齢の A10 領域で減弱した。TH-ir ニューロンの数は 4 週齢の A10 領域及び、6 週齢の A9 領域で減少し、4 週齢の A8 領域では Fos-ir ニューロン数が増加した (いずれも $p < 0.05$)。著者らはこの試験から、DEHP への曝露が中脳のドーパミン作動性ニューロンの消失及び/あるいは TH の生合成の減少 (自発運動に関連) を引き起こして神経発生阻害に寄与し、またそれには Fos (神経細胞活性のマーカー) の活性化も関与することが示唆されるとしている (参照 72)。

なお他の著者らが、ラット下垂体 GH3 細胞の甲状腺ホルモン依存的な増殖に対する影響を *in vitro* で調べ、DEHP はトリヨードチロニン (T3) と似た作用を弱いながら (15%) 有することを指摘している (参照 73)。

h. 発生毒性試験 (マウス)

Kuming 系マウス (雌) における DEHP (0、100、200、500 mg/kg 体重/日) の妊娠 12 日~授乳 3 日の強制経口投与試験が行われ、5 日齢、15 日齢の雄児動物 (各投与群 10 匹) から精巣を摘出して精巣の形態及び、インスリン様因子 3 (INSL3) の遺伝子発現が調べられた。

投与群の精巣では精原細胞が変性し (不規則な形や分断された核、大きさが異なる液胞)、ライディッヒ細胞で過形成が見られる (中用量以上投与群で顕著と記載されているが、データ不詳) 一方、INSL3 の mRNA が減少 (変化は 5 日齢 > 15 日齢) していた。

INSL3 遺伝子の発現は、雄マウス胚から単離培養したライディッヒ細胞を *in vitro* で DEHP (50、100、200 mg/L) に曝露した場合にも減少した (参照 74)。

著者らは、INSL3 が胎児期の精巣下降を調節する遺伝子であることから、DEHP 曝露によるこの遺伝子発現の抑制が停留精巣を引き起こすメカニズムの一つではないかと推察している。

なお別の著者らが、35 日齢の雄 SD 系ラットから単離したライディッヒ細胞を DEHP の代謝物である MEHP に *in vitro* 曝露した場合も、同様に INSL3 の転写が抑制されることを報告している (参照 75)。

i. 世代生殖発生毒性試験 (マウス)

CD-1 系マウス (雌雄、各投与群 10 匹、5 週齢) に DEHP (0、0.01、0.03、0.09%) を混餌投与し、9 週齢で同一投与群の雌雄を交配させた後、出産を経て F₁ 世代が 9 週齢になるまで継続して投与 (F₀ 雄 0、15.59、46.53、142.08 mg/kg 体重/日、F₀ 雌 0、19.86、56.23、168.17 mg/kg 体重/日。F₁ 雌雄の投与量は F₀ 雌雄とほぼ同等) した。

その結果、0.01% 投与群 F₁ 雄の出生時体重、4、7、14 日齢の F₁ 雌の生存率が減少した ($p < 0.05$) が、一貫性がなく、DEHP 曝露に起因する影響ではないと著者は推測している。この他、いずれの投与群においても出産児数、F₁ の体重や性比に曝露による影響は認められなかった。F₁ の行動発達を調べた結果、7 日齢の F₁ 雄で起き直り反射の抑制傾向が見られ、0.09% 投与群で有意であった。また、迷路学習では 0.03% 以上投与群の雄で学習阻害が見られたが、各投与群間で有意差が認められていないため、著者はこれについても DEHP 曝露に因る影響ではないとしている (参照 76)。以上より、この報告ではこの試験の NOAEL を雄 142.08 mg/kg 体重/日、雌 168.17 mg/kg 体重/日と推定した。

またこの著者はその後、同系統のマウスに DEHP (0、0.3% : 0、42~171 mg/kg 体重/日) を混餌投与し、9 週齢で投与群あるいは非投与群同士、及び投与群と非投与群の雌雄を交配させ、F₁ 世代が 9 週齢になるまで同様に継続投与して影響を調べている。その結果、投与群同士の交配による F₁ 雌 (14 日齢) の体重が減少したが、それ以外の影響 (出産児数、F₁ の体重や性比等) は見られなかった。また、行動発達指標には若干の変化が見られたが、著者は、いずれも DEHP 曝露に因るものではないとしている (参照 77)。

j. 二世世代生殖発生毒性試験 (マウス)

CD-1 系マウス (28~29 匹) に DEHP (0、0.01、0.025、0.05% : 0、19、48、95 mg/kg 体重/日) を妊娠 0~17 日に混餌投与し、F₂ 世代の出生までを観察する二世世代試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 19 に示す。

全投与群で母動物への有害影響は認められなかったが、出産 4~7 日後の体重に減少傾向がみられた。児動物については 19、48 mg/kg 体重/日曝露群では有意な影響は認められず、95 mg/kg 体重/日曝露群の F₁ 個体の生後 1~4 日の死亡率が有意に高かった (F₂ では増加なし)。また、生後 4~169 日の間、雌の F₁ 個体の体重がわずかに減少した。それ以外には有害な影響は認められなかった。著者らは、母動物及び F₁ 動物の全評価指標についての NOEL は 48 mg/kg 体重/日と思われるとしている (参照 78)。

ATSDR (参照 7) も、出生前後の死亡率増加に基づき、生殖毒性の NOAEL を 48 mg/kg 体重/日、LOAEL を 95 mg/kg 体重/日としている。

表 19 マウス二世代生殖発生毒性試験

投与群	親動物	児動物
0.05% (95 mg/kg 体重/日)	体重減少傾向 (出産 4~7 日後)	F ₁ ; 死亡率増加 (1~4 日齢)、雌の体重の僅かな減少 (4~169 日齢)
0.025% (48 mg/kg 体重/日)以下	—	—

k. 急性毒性試験 (ラット)

SD 系ラット (雄、各投与群 5 匹、生後 3 日) における DEHP (0 (対照群; コーン油)、20、100、200、500 mg/kg 体重) の単回強制経口投与試験が行われ、精巣への影響が調べられた。また、DEHP 500 mg/kg 体重と同じモル濃度 (1.28 mmol/kg 体重) において、代謝物である MEHP (393 mg/kg 体重)、2-エチルヘキサノール (2-EH) (167 mg/kg 体重) が同様の影響を与えるかどうかを調べた。各投与群で認められた毒性所見を表 20 に示す。

曝露 24 時間後、100 mg/kg 体重以上の DEHP 曝露群と MEHP 曝露群では精巣に複数の核を持つ異常に大きい生殖細胞が出現し、セルトリ細胞の増殖が用量依存的に抑制されたが、2-EH ではこれらの変化は見られなかった。DEHP 曝露群におけるセルトリ細胞の増殖抑制は曝露 48 時間後には回復し、その時点の細胞増殖率は対照群に比べて有意に高かった。曝露 24 時間後の DEHP 曝露群の血清 FSH (卵巣刺激ホルモン) 濃度に対照群との有意差は見られなかった (参照 79)。

ATSDR(参照 7)はこの試験における DEHP の NOAEL を 20 mg/kg 体重/日、LOAEL を 100 mg/kg 体重/日とし、EU (参照 5) も NOAEL を 20 mg/kg 体重/日としている。

表 20 ラット急性毒性試験

物質	投与群	雄
DEHP	100 mg/kg 体重以上	精巣での異常に大きな生殖細胞の出現、セルトリ細胞の増殖抑制 血清 FSH 濃度の変化なし
DEHP	20 mg/kg 体重	—
MEHP	393 mg/kg 体重	精巣での異常に大きな生殖細胞の出現、セルトリ細胞の増殖抑制
2-EH	167 mg/kg 体重	—

l. 5 日間亜急性毒性試験 (ラット)

SD 系ラット (雄、各投与群 7~10 匹、1・2・3・6・12 週齢) における DEHP (0、10、100、1,000、2,000 mg/kg 体重/日) の 5 日間強制経口投与試験が行われ、最後の投与 24 時間後に精巣の組織学的検査が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 21 に示す。

3 週齢までに 2,000 mg/kg 体重/日の DEHP 投与を開始したラットは死亡したが、6、12 週齢から投与されたラットは死亡しなかった。精巣重量は、1,000 mg/kg 体重/日の DEHP 投与を 6 週齢までに開始したラットで有意に低下したが、12 週

齢から開始したラットでは低下しなかった。また 1,000 mg/kg 体重/日投与群では、1 週齢から投与を開始したラットでセルトリ細胞数が 35%減少したが、2、3 週齢から開始したラットのセルトリ細胞は影響を受けず、精母細胞が消失した。6、12 週齢から投与を開始したラットでは、1,000、2,000 mg/kg 体重/日の DEHP 投与により精母細胞、精子細胞が消失した (参照 80)。

著者らにより、SD 系ラット (雄、生後 6 日 (哺乳中)) に DEHP (0、200、500、1,000 mg/kg 体重/日) を 5 日間経口投与し、8、10、11、12、15 週齢の各時点で非曝露の雌 F344 系ラットと交配する試験も実施され、生殖パラメータ (受精率、着床数、胚吸収数) の変化が調べられたが、投与による有意な影響は見られなかった (参照 80)。

ATSDR (参照 7) はこれらの所見に基づき、NOAEL を 100~200 mg/kg 体重/日、LOAEL を 200~1,000 mg/kg 体重/日としている。

表 21 ラット 5 日間亜急性毒性試験

投与群	雄
2,000 mg/kg 体重/日	1~3 週齢から投与；死亡 6、12 週齢から投与；精母細胞・精子細胞消失
1,000 mg/kg 体重/日	1 週齢から投与；精巣重量低下、セルトリ細胞数減少、非曝露雌との交配で生殖影響 (受精率・着床数・胚吸収数) なし 2、3 週齢から投与；精巣重量低下、精母細胞消失 6 週齢から投与；精巣重量低下、精母細胞・精子細胞消失 12 週齢から投与；精母細胞・精子細胞消失
100 mg/kg 体重/日以下	—

m. 10 日間亜急性毒性試験 (ラット)

SD 系ラット (雌、各投与群 10 匹、20 日齢) における DEHP (0 (対照群；コーン油)、500 mg/kg 体重/日) の 10 日間強制経口投与試験が行われた。最終投与の 24 時間後に卵巣、下垂体を摘出して顆粒膜細胞、下垂体細胞を単離すると同時に血液を採取してホルモン濃度を調べた。

投与群では卵巣重量の減少は見られなかったが、血中のエストラジオール、プロゲステロン濃度が減少し ($p<0.01$)、黄体形成ホルモン (LH) 濃度の増加傾向が認められた。また、投与群ラットから単離した顆粒膜細胞では LH、FSH 反応性のプロゲステロン産生 (*ex vivo*) が減少し ($p<0.05$)、内在コレステロールのミトコンドリアへの輸送も減少した ($p<0.01$)。同じく単離した下垂体細胞における性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) 反応性の LH 産生 (*ex vivo*) は増加した ($p<0.05$)。

著者らは、DEHP は下垂体-性腺軸に対し、下垂体のホルモン産生能刺激と顆粒膜細胞によるステロイド産生阻害という二元的な作用を及ぼすことが示唆されると結論している (参照 81)。

以上より、この報告ではこの試験の LOAEL を 500 mg/kg 体重/日と推定した。

n. 10日間亜急性毒性試験 (ラット)

SD系ラット (雄、6週齢で去勢後1週間経過) に DEHP (20、100、500 mg/kg 体重/日) の強制経口投与と同時にテストステロン (プロピオン酸塩、0.4 mg/kg 体重/日) を10日間皮下投与するハーシュバーガー試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表22に示す。

DEHPを投与された全群で用量依存的な前立腺の重量減少、100 mg/kg 体重/日以上投与群で精細管重量の減少、500 mg/kg 体重/日投与群で肛門挙筋/球海綿体筋 (LABC) の重量減少及び肝重量増加が、テストステロンのみを投与された対照群に比べて有意に見られた ($p<0.05$)。また100 mg/kg 体重/日以上投与群では血中の LH 濃度がテストステロンのみを投与された対照群に比べて増加した ($p<0.05$) (参照82)。

表22 ラット10日間亜急性毒性試験

投与群*	雄
500 mg/kg 体重/日	LABC の重量減少
100 mg/kg 体重/日以上	精細管の重量減少、血中 LH 濃度増加
20 mg/kg 体重/日以上	前立腺の重量減少

※ DEHP と同時に 0.4 mg/kg 体重/日のテストステロンを皮下投与

o. 1~12日間亜急性毒性試験 (ラット)

SD系ラット (雌) における DEHP (0、2,000 mg/kg 体重/日) の1~12日間強制経口投与試験が行われ、卵巣、血中ホルモン (FSH、LH、エストラジオール、プロゲステロン) レベルが調べられた。投与群で認められた毒性所見を表23に示す。

DEHP曝露群42匹中35匹で発情周期が通常4日から5~6日に延長した。また、卵巣の顆粒膜細胞が小型化して血清エストラジオール濃度が低下し、その結果、血清 FSH 濃度が上昇して排卵に必要な LH サージが消失することで無排卵、多嚢胞性卵胞が生じることが示された (参照83)。

以上から、ATSDR (参照7) はこの試験の LOAEL を 2,000 mg/kg 体重/日としている。

表23 ラット1~12日間亜急性毒性試験

投与群	雌
2,000 mg/kg 体重/日	発情周期の延長、血清エストラジオール低下・血清 FSH 濃度上昇による LH サージ消失に伴う無排卵

p. 2週間/4週間亜急性毒性試験⁶及び生殖毒性試験 (ラット)

SD系ラット (雌、各投与群10匹) における DEHP (0、300、1,000、3,000 mg/kg⁷)

⁶ ②亜急性毒性試験c.と同じ試験。

⁷ 原著において用量は「mg/kg」、投与経路は「経口」と記載されているのみで、「mg/kg体重/日」、

の2週間あるいは4週間の経口投与試験が行われた。4週間 3,000 mg/kg の DEHP を投与された群で体重減少、不規則な性周期の増加、性周期の延長 (300 mg/kg 以上で2週間投与された群でも)、卵巣重量の減少、子宮の萎縮、黄体の減少が見られ、膣上皮が粘液産生を伴い薄くなっていた。また両期間ともに 300 mg/kg 以上投与群で卵巣の間質細胞の空胞変性が、1,000 mg/kg 以上投与群で大きな閉鎖卵胞の増加が見られた (参照 39)。各投与群で認められた毒性所見を表 24-1 に示す。

また、生殖毒性を調べるため、SD 系ラット (雌、各投与群 10 匹) における DEHP (0、300、1,000、3,000 mg/kg) の交配2週間前から交配期間を通して妊娠7日までの経口投与試験が行われた (交配に用いた SD 系雄ラットは曝露せず)。1,000 mg/kg 以上投与群で体重減少が見られた。300 mg/kg 以上投与群で性周期の延長が見られたが、不規則な性周期は 3,000 mg/kg 投与群でのみ認められたため、著者らは性周期延長については有意な毒性影響とはいえない、としている。3,000 mg/kg 投与群の妊娠率は低かった (7/10 匹、 $p < 0.01$) が、黄体数、着床数、着床前胚損失率に対する影響は見られなかった (参照 39)。各投与群で認められた毒性所見を表 24-2 に示す。

以上より、この報告では亜急性毒性試験の LOAEL を卵巣間質細胞空胞変性に基づき 300 mg/kg、交配2週間前～妊娠7日の投与試験の LOAEL を不規則な性周期、妊娠率低下に基づき 3,000 mg/kg と推定した。

表 24-1 ラット2週間/4週間亜急性毒性試験

投与群	雌 (2週間)	雌 (4週間)
3,000 mg/kg	—	体重減少、不規則な性周期の増加、性周期延長、卵巣重量減少、子宮萎縮、黄体減少、薄い膣上皮
1,000 mg/kg 以上	大きな閉鎖卵胞の増加	大きな閉鎖卵胞の増加
300 mg/kg 以上	性周期延長、卵巣間質細胞空胞変性	卵巣間質細胞空胞変性

表 24-2 ラット生殖毒性試験

投与群	親動物	児動物
3,000 mg/kg	不規則な性周期、妊娠率の低下 (7/10 匹) 黄体数の変化なし	— (着床数、着床前胚損失率の変化なし)
1,000 mg/kg 以上	体重減少	—
300 mg/kg 以上	性周期延長	—

q. 14日間/28日間亜急性毒性試験及び生殖発生毒性試験 (ラット)

Long-Evans (LE) 系ラット (雄、7 匹) における DEHP (0、1、10、100、200 mg/kg 体重/日) の14日間 (曝露期間日齢; 21~34日又は35~48日) 若し

「mg/kg餌/日」、「mg/kg水/日」の判別ができないことから、原著の「mg/kg」のまま記載した。

くは 28 日間 (曝露期間日齢 ; 21~48 日齢又は 62~89 日齢) 強制経口投与試験が行われた。精巣ライディッヒ細胞におけるステロイド合成への影響を調べた。各投与群で認められた毒性所見を表 25-1 に示す。

35~48 日齢の 14 日間、DEHP 10 mg/kg 体重/日以上を投与されたラットではライディッヒ細胞の 17β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ (17β-HSD) 活性が低下し (p<0.05)、テストステロン合成が阻害された。又、21~34 日齢の 14 日間、100 mg/kg 体重/日以上の DEHP を投与されたラットでもライディッヒ細胞でのテストステロン合成が減少したが、血清中のテストステロン、LH レベルへの影響はこれらのいずれの投与群にも見られなかった。一方、21~48 日齢の 28 日間、10 mg/kg 体重/日以上の DEHP に曝露された雄ラットでは、ライディッヒ細胞のテストステロン産生能、LH 及びテストステロンレベルが増加した。著者らは NOEL を 1 mg/kg 体重/日、LOEL を 10 mg/kg 体重/日とし、これらの増加はおそらく代償性メカニズムに因るものであるであろうとしている。62~89 日齢の 28 日間、曝露された雄ラットでは、全く影響は見られなかった (参照 84)。

また、DEHP 間接曝露による精巣でのステロイド合成への影響を調べるため、ラット (雌、各投与群 7 匹) における DEHP (0、100 mg/kg 体重/日) の妊娠 12~21 日、又は授乳 1~21 日の強制経口投与試験が行われ、雄児動物 (21、35、90 日齢) について調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表 25-2 に示す。

妊娠 12~21 日に母動物が DEHP に曝露された雄児動物では、血清テストステロンおよび LH 濃度が 21 日齢で低下したが、この低下は 35、90 日齢では見られなかった。授乳 1~21 日に母動物が DEHP に曝露された雄児動物では、21 日齢で血清テストステロン濃度が僅かながら低下した (p<0.05) のみであった (参照 84)。

EU (参照 5) は、非常に若いラットの LOAEL を、血清テストステロン濃度への影響に基づき、100 mg/kg 体重/日とした。

表 25-1 ラット 14 日間/28 日間亜急性毒性試験

投与群	雄
100 mg/kg 体重/日以上	ライディッヒ細胞でのテストステロン合成阻害 (21~34 日齢曝露)
10 mg/kg 体重/日以上	ライディッヒ細胞によるテストステロン合成阻害及び 17β-HD 活性低下 (35~48 日齢曝露)、ライディッヒ細胞によるテストステロン合成及び血清 LH・テストステロン増加 (21~48 日齢曝露)
1 mg/kg 体重/日	—

表 25-2 ラット生殖発生毒性試験

投与群	雄児動物 (妊娠 12~21 日曝露)	雄児動物 (授乳 12~21 日曝露)
100 mg/kg 体重/日	21 日齢の血清テストステロン及び LH 低下 (90 日齢では増加傾向)	21 日齢の血清テストステロン低下

r. 生殖毒性試験 (ラット)

SD 系ラット及び LE 系ラット (雄、各系統各投与群 10 匹) における DEHP

(0、10、100、300、900 mg/kg 体重/日) の離乳 (22 日齢) 後 56~58 日齢、あるいは 98 日齢で屠殺するまでの強制経口投与試験 (試験①) が行われた。また、SD 系ラット (雄、各投与群 16 匹) における DEHP (0、100、300、900 mg/kg 体重/日) の離乳 (23 日齢) 後 43~44 日齢あるいは 63~64 日齢で屠殺するまでの強制経口投与試験 (試験②) が行われた。

試験①の結果、各投与群で認められた毒性所見を表 26-1 に示す。56~58 日齢まで 300 mg/kg 体重/日以上 DEHP を投与された両系統の群で性成熟の遅延、生殖器 (亀頭、前立腺、精細管、精巣上体、LABC、カウパー腺) の重量減少 ($p<0.05$) が見られ (生殖器重量減少の一部は 100 mg/kg 体重/日投与群でも)、この影響は LE 系ラットでより顕著であった。これらの投与群では精巣の病理組織学的変化 (精巣の変性、精巣上体の胚上皮変性、精子過少症) も見られたが、これは SD 系ラットで多く観察された。98 日齢までの曝露では、900 mg/kg 体重/日の DEHP を投与された SD 系ラットで精巣及び精巣上体重量の減少 ($p<0.01$)、精巣の病理組織学的変化が見られたが、LE 系ラットではほとんど影響が認められなかった。血清 LH 濃度は 56~58 日齢、98 日齢まで 900 mg/kg 体重/日の DEHP を投与された SD 系ラットで増加した ($p<0.05$)。

試験②の結果、各投与群で認められた毒性所見を表 26-2 に示す。43~44 日齢あるいは 63~64 日齢まで 900 mg/kg 体重/日の DEHP を投与された群で性成熟 (指標は包皮分離の年齢) の遅延、生殖器 (精巣、精細管、精巣上体、亀頭、LABC、カウパー腺) の重量減少 ($p<0.05$) が見られ (生殖器重量減少の一部は 300 mg/kg 体重/日投与群でも)、血清 LH 濃度が増加した ($p<0.05$)。肝臓重量は 100 mg/kg 体重/日以上投与群で増加した。摘出した精巣によるテストステロン産生 (*ex vivo*) は、43~44 日齢まで 300 mg/kg 体重/日以上投与群、及び 63~64 日齢まで 900 mg/kg 体重/日投与群で、ヒト絨毛ゴナドトロピン刺激の有無に関わらず減少した ($p<0.01$)。

これらの結果から著者らは、DEHP の精巣毒性にはライディッヒ細胞のテストステロン産生への直接的な影響を介するものと、セルトリ細胞での生殖細胞の維持を介するものの 2 つの作用メカニズムが存在する可能性を指摘している (参照 85)。

以上より、この報告ではこの試験における生殖毒性の LOAEL を 300 mg/kg 体重/日、NOAEL を 100 mg/kg 体重/日と推定した。

表 26-1 ラット生殖毒性試験①

投与群	34~36 日間曝露	76 日間曝露
900 mg/kg 体重/日	血清 LH 濃度増加 性成熟の遅延、生殖器 (亀頭、前立腺、精細管、精巣上体、LABC、カウパー腺) の重量減少、精巣の病理組織学的変化 (精巣の変性、精巣上体の胚上皮変性、精子過少症) 副腎重量減少	精巣及び精巣上体重量の減少、精巣の病理組織学的変化 (精巣の変性、精巣上体の胚上皮変性、精子過少症)、血清 LH 濃度増加
300 mg/kg 体重/日	性成熟の遅延、生殖器 (前立腺、精	精巣の変性 (SD 系ラット 1 例のみ)

	巢上体、LABC、カウパー腺) の重量減少、精巢の病理組織学的変化 (精巢の変性、精巢上体の胚上皮変性、精子過少症)	
100 mg/kg 体重/日以上	肝重量増加	肝重量増加
10 mg/kg 体重/日	肝重量増加 (LE系ラットのみ)	—

表 26-2 ラット生殖毒性試験②

投与群	20~21 日間曝露	40~41 日間曝露
900 mg/kg 体重/日	体重減少、性成熟 (指標は包皮分離の年齢) の遅延、生殖器 (精巢上体、龟头) 重量減少、血清 LH 濃度増加	生殖器 (精巢、精細管、前立腺、龟头、カウパー腺) 重量減少、精巢によるテストステロン産生 (ex vivo) 減少、血清 LH 濃度増加
300 mg/kg 体重/日以上	精巢、精細管、LABC 重量減少 精巢によるテストステロン産生 (ex vivo) 減少	精巢上体、LABC 重量減少
100 mg/kg 体重/日以上	肝重量増加、副腎重量減少 カウパー腺重量減少	肝重量増加

s. 生殖毒性試験 (ラット)

LE系ラット (雄、各投与群 10 匹、21 日齢) における DEHP (0 (対照群; コーン油)、10、500、750 mg/kg 体重/日) の 28 日間強制経口投与試験が行われ、性成熟の時期への影響が調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表 27 に示す。

包皮分離が完成する時期は低用量投与群では対照群に比べて有意に早く、高用量投与群では遅かった。低用量投与群では体重、精細管重量、血清テストステロン濃度が増加した ($p < 0.05$)。高用量投与群では体重、精巢重量、前立腺重量、血清テストステロンが減少した ($p < 0.01$)。中用量投与群ではこれらの指標の有意な変化は見られなかった。

また、著者らはラット (35 日齢) の精巢を摘出してライディッヒ細胞を単離し、*in vitro* で MEHP (1 nM~10 mM) に 18 時間曝露させ、テストステロン産生量 (0.5 ng/mL の LH 存在下) を調べた。その結果、100 μ M 及び 1 mM の MEHP に曝露された細胞でのテストステロン産生は増加したが、10 mM 曝露では減少した ($p < 0.001$) (参照 86)。

以上より、10 mg/kg 体重/日の DEHP 投与で精細管重量や血中ホルモン濃度、性成熟に影響が見られているものの、これらの影響は 500 mg/kg 体重/日投与では見られず、750 mg/kg 体重/日投与では 10 mg/kg 体重/日と逆の影響が見られていることから、この報告ではこの試験の LOAEL 及び NOAEL を推定することはしなかった。

表 27 ラット生殖毒性試験

投与群	雄
750 mg/kg 体重/日	包皮分離の遅延 体重減少、精巣重量減少、前立腺重量減少、血清テストステロン濃度減少
500 mg/kg 体重/日	—
10 mg/kg 体重/日	包皮分離の早期完了 体重増加、精細管重量増加、血清テストステロン濃度増加

t. 13 週間亜急性毒性試験 (ラット)⁸

SD 系ラット (雌雄、各投与群 10 匹) における DEHP (0、5、50、500、5,000 ppm : 雄 0、0.4、3.7、37.6、375.2 mg/kg 体重/日、雌 0、0.4、4.2、42.2、419.3 mg/kg 体重/日) の 13 週間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 28 に示す。

雄ラットにおいて、500 ppm 投与群でセルトリ細胞の軽度の空胞変性が、5,000 ppm 投与群でセルトリ細胞の空胞変性と軽～中等度の精細管の萎縮が認められた (参照 40)。

ATSDR (参照 7) 及び EU (参照 5) は、精巣影響の NOAEL を 3.7 mg/kg 体重/日、LOAEL を 37.6 mg/kg 体重/日としている。また、厚生労働省の水質基準の見直し (参照 1) では、精巣セルトリ細胞空胞変性の発生頻度増加に基づく NOEL 3.7 mg/kg 体重/日を TDI の算出に用いている。

表 28 ラット 13 週間亜急性毒性試験

投与群	雄	雌
5,000 ppm	セルトリ細胞の空胞変性、精細管の萎縮	—
500 ppm	セルトリ細胞の軽度の空胞変性	—
50 ppm 以下	—	—

u. 26 週間亜急性毒性試験 (ラット)

SD 系ラット (雌、各投与群 10 匹、5 週齢) における DEHP (0 (対照群 ; セサミオイル)、1,400 mg/kg 体重/回) の 26 週間 (週 2 回) 経口投与試験が行われた。性周期を観察し、投与終了後に屠殺して血液の採取、下垂体摘出を行い、影響を調べた。

DEHP 曝露群では血清中のエストラジオール、FSH 濃度が減少し ($p < 0.01$)、下垂体中の FSH、LH 濃度も減少していた ($p < 0.05$)。また曝露群では、異常な性周期が多く見られ、発情期と発情後期が短くなり発情休止期が長くなっていた (いずれも $p < 0.01$) (参照 87)。

以上より、この報告ではこの試験の LOAEL を 1,400 mg/kg 体重/回と考えるが、

⁸ ②亜急性毒性試験 d.と同じ試験。

投与頻度が2回/週であり、毎日投与した場合、より低濃度で症状が発現する可能性を否定できないため、LOAELを設定しないこととした。

v. 2年間慢性毒性試験（ラット）⁹

Sherman系ラット（雌雄、各投与群32匹、60日齢）におけるDEHP（0、0.04、0.13、0.4%：0、20、60、190～200 mg/kg 体重/日）の2年間混餌投与試験が行われた。0.4%群のF₁雌に平均同腹児数の減少が観察されたが、これはF₁対照群の平均同腹児数が他群に比べて著しく多いためと考えられ、親動物、F₁動物ともに生殖機能の変化は認められなかった。ただし、この試験では対照群の死亡率が高く（70.3%）、信頼性は低い。（参照48）。

w. 103週間慢性毒性試験（ラット）¹⁰

NTPによりDEHPの発がん性試験が実施された。F344系ラット（雌雄、各投与群50匹）におけるDEHP（0、6,000、12,000 ppm：雄0、322、674 mg/kg 体重/日、雌0、394、774 mg/kg 体重/日）の103週間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表29に示す。

高用量群の雄ラットでは精巣間細胞腫が対照群に比べて減少し、精細管の変性が増加した（参照44、45）。

ATSDR（参照7）は、生殖毒性のLOAELを、精細管変性等に基づき322 mg/kg 体重/日とした。

表29 ラット103週間慢性毒性試験

投与群	雄	雌
12,000 ppm (雄；674 mg/kg 体重/日、 雌；774 mg/kg 体重/日)	精細管変性増加（43/48匹；90%） 精巣間細胞腫減少（11/48匹； 23%）	—
6,000 ppm (雄；322 mg/kg 体重/日、 雌；394 mg/kg 体重/日)	精細管変性（2/44匹；5%） 精巣間細胞腫（42/44匹；95%）	—
0 ppm(対照群)	精細管変性（1/49匹；2%） 精巣間細胞腫（47/49匹；96%）	—

x. 104週間慢性毒性試験（ラット）¹¹

F344系ラット（雌雄、各投与群50～80匹、6週齢）におけるDEHP（0、100、500、2,500、12,500 ppm：雄0、5.8、28.9、146.6、789.0 mg/kg 体重/日、雌0、7.3、36.1、181.7、938.5 mg/kg 体重/日）の104週間混餌投与試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表30に示す。

⁹ ③慢性毒性試験及び発がん性試験c.と同じ試験。

¹⁰ ③慢性毒性試験及び発がん性試験e.と同じ試験。

¹¹ ③慢性毒性試験及び発がん性試験f.と同じ試験。

500 ppm 以上投与群の雄ラットで無精子症が用量に依存して増加し (p<0.05)、12,500 ppm 投与群で精巣重量の減少がみられた。しかし、78 週目の病理組織学的観察において、無精子症は 12,500 ppm 投与群ではみられたが 2,500 ppm 投与群では認められなかったため、著者らは、500、2,500 ppm 投与群での無精子症は曝露よりむしろ老化に関係したものであることが示唆されるとした。12,500 ppm 投与群の雄では脳下垂体の去勢細胞の増加 (対照群 1/60 匹に対し 30/60 匹)、精巣間細胞腫の減少 (対照群 59/64 匹に対し 20/64 匹) が見られた (参照 50)。

ATSDR (参照 7) は、無精子症に基づき、生殖毒性の NOAEL を 5.8 mg/kg 体重/日、LOAEL を 29 mg/kg 体重/日とした。そして、無精子症が年齢に関連したものである可能性について言及しつつ、この NOAEL 5.8 mg/kg 体重/日に基づき、不確実係数 100 (種差 10×個体差 10) を用いて慢性 MRL を 0.06 mg/kg 体重/日としている。また EU では精巣影響の NOAEL を 28.9 mg/kg 体重/日としている (参照 5)。

表 30 ラット 104 週間慢性毒性試験

投与群	雄
12,500 ppm (雄; 789 mg/kg 体重/日)	精巣重量の減少、精巣間細胞腫の減少、無精子症の増加 脳下垂体の去勢細胞 (castration cell) 増加
2,500 ppm (雄; 146.6 mg/kg 体重/日)	無精子症の増加 (78 週目にはみられず)
500 ppm (雄; 28.9 mg/kg 体重/日)	無精子症の増加 (78 週目にはみられず)
100 ppm (雄; 5.8 mg/kg 体重/日)	—

y. 生殖毒性試験 (ラット)

F344 系ラット (雄、各投与群 24 匹、成熟動物) に DEHP (0、320、1,250、5,000、20,000 ppm : 0、18、69、284、1,156 mg/kg 体重/日) を交配前 60 日間混餌投与し、その後 DEHP を含まない餌に変え、DEHP に曝露されていない雌と 5 日間交配する試験が行われ、雄の DEHP 曝露の生殖への影響が調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表 31 に示す。

5,000 ppm 以上投与群では体重、精巣・精巣上体・前立腺の重量が用量依存的に低下した。また、統計学的有意差はないが、血清中のテストステロン減少、黄体形成ホルモン及び卵胞刺激ホルモン増加の傾向がみられた。いずれの曝露群でも受精、出生児の平均体重、死産および新生児死亡率、出生児の 7 日目までの平均成長率には影響が認められなかったが、最高用量投与群で一腹あたりの出生児数が減少した (参照 88)。

EU は NOAEL を 69 mg/kg 体重/日としている (参照 5)。

表 31 ラット生殖毒性試験

投与群 (曝露雄×対照雌)	親動物 (雄)	児動物
20,000 ppm (1,156 mg/kg 体重/日)		一腹あたり出生児数の減少
5,000 ppm (284 mg/kg 体重/日)以上	体重低下 精巣・精巣上体・前立腺の重量 の低下、血清中のテストステロ ン減少傾向、黄体形成ホルモン 及び卵胞刺激ホルモン増加傾向	体重減少 (p<0.01)
1,250 ppm (69 mg/kg 体重/日)以下	—	—

z. 発生毒性試験 (ラット)

SD 系ラット (雌) における DEHP (0、1,500 mg/kg 体重/日) の妊娠 0~19 日の強制経口投与試験が行われた。妊娠 20 日の胎児脳組織を摘出して調べた。

DEHP に曝露された脳は脂質が少なく、特に遊離コレステロール (33%)、スフィンゴミエリン (54%) が減少していた。脂質を構成する脂肪酸は、不飽和脂肪酸で鎖長が長いものほど顕著に減少した。ドコサヘキサエン酸はコレステロールエステル (CE)、ジアシルグリセロール (DAG)、フォスファチジルセリン (PS)、リソフォスファチジルコリン (LYPC)、スフィンゴミエリン (SM) における含有量が減少し (33~60%; p<0.05)、アラキドン酸は CE、LYPC で最も顕著に減少した (最大 33%)。以上より著者らは、DEHP 曝露により胎児の脳での脂質メタボロームが変わることで神経発達の異常が生じる可能性があるかもしれないとしている (参照 89)。

なお Xu ら (参照 90) は、*in vitro* で DEHP (50 μM) に 24 時間曝露されたラット HRP-1 トロホブラスト細胞の脂質メタボロームも変化することを報告している。

aa. 発生毒性試験 (ラット)

F344 系ラット (雌、各投与群 22~25 匹) における DEHP (0、0.5、1.0、1.5、2.0% : 0、357、666、856、1,055 mg/kg 体重/日) の妊娠 0~20 日の混餌投与試験が行われ、胎児の生存、成長、形態について調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表 32 に示す。

母動物については 666 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制が、357 mg/kg 体重/日以上投与群で肝重量の増加が認められた。胚吸収、死亡胎児の割合は用量依存的に増加し、1,055 mg/kg 体重/日投与群では有意に増加していた。また、胎児の体重が 666 mg/kg 体重/日以上投与群で減少したが、奇形はみられなかった。以上より、著者らは DEHP の胎児毒性 (催奇形性を含む) の NOAEL を 357 mg/kg 体重/日とした (参照 69)。

ATSDR (参照 7) は胎児体重減少に基づき、NOAEL を 357 mg/kg 体重/日、LOAEL を 666 mg/kg 体重/日としている。また EU (参照 5) は、母動物毒性及

び発生毒性の NOAEL を 357 mg/kg 体重/日としている。

表 32 ラット発生毒性試験

投与群	親動物	児動物
2.0% (1,055 mg/kg 体重/日)		胚吸収及び死亡胎児の増加 (p<0.01)
1.0% (666 mg/kg 体重/日)以上	体重増加抑制	体重減少 (p<0.01)
0.5% (357 mg/kg 体重/日)以上	肝重量増加.	

ab. 発生毒性試験 (ラット)

LE 系ラット (雌、各投与群 6~9 匹) における DEHP (0 (対照群; コーン油)、10、100、750 mg/kg 体重/日) の妊娠 2~20 日の強制経口投与試験が行われ、妊娠 21 日の時点で雄児動物への影響が調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表 33 に示す。

母動物の体重、出生率及び同腹児数、雄児動物の体重への影響は見られなかった。750 mg/kg 体重/日投与群で雄児動物の AGD 短縮が認められ、白血球抑制因子 (LIF) の転写増加、INSL3 の転写減少が有意に見られた。精巣のテストステロン濃度は 10 mg/kg 体重/日投与群で増加し、750 mg/kg 体重/日投与群で減少したが、これと同じパターンで c-Kit ligand (KITL) の mRNA 量に変化していた。また、IGF-1 (insulin-like growth factor-1) の転写が 10 mg/kg 体重/日投与群で高かった。100 mg/kg 体重/日以上投与群で精巣重量、ライディッチ細胞の数及び体積が減少し、全投与群でライディッチ細胞集筏 (6~30 個の細胞を含む) の割合が増加した (参照 91)。

以上より、10 mg/kg 体重/日の DEHP 曝露でホルモン濃度や遺伝子発現への影響が見られているものの、臓器重量の変化等の明らかな影響が認められるのは 100 mg/kg 体重/日以上曝露であり、何をエンドポイントとして採用するかで LOAEL が異なるため、この報告では本試験の LOAEL 及び NOAEL の推定は行わなかった。

表 33 ラット発生毒性試験

投与群	親動物	児動物 (雄)
750 mg/kg 体重/日	—	AGD 短縮、LIF 転写増加、INSL3・KITL 転写減少 精巣テストステロン濃度減少 精巣重量減少、ライディッチ細胞の数・体積減少、ライディッチ細胞集筏の増加
100 mg/kg 体重/日	—	精巣重量減少、ライディッチ細胞の数・体積減少、ライディッチ細胞集筏の増加
10 mg/kg 体重/日	—	精巣テストステロン濃度増加 KITL・IGF-1 転写増加 ライディッチ細胞集筏の増加

ac. 発生毒性試験 (ラット)

Wistar 系ラット (雌、9~10 匹) における DEHP (0、40、200、1,000 mg/kg 体重/日) の妊娠 6~15 日の強制経口投与試験が行われ、20 日目に胎児への影響が調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表 34 に示す。

1,000 mg/kg 体重/日投与群では母動物の肝および腎重量の有意な増加、子宮重量の減少が認められた。児動物については、1,000 mg/kg 体重/日投与群の生存胎児数の減少、胎児体重減少、奇形の増加、骨格や軟組織の変異 (過剰胸椎等) 及び骨化遅延の増加が見られたが、200 mg/kg 体重/日投与群では有意な影響は認められなかった。著者らは、生存胎児数及び胎児体重の減少は母動物の毒性によるものであるが、それ以外の所見から 1,000 mg/kg 体重/日の DEHP には明らかな催奇形性があるとし、閾値は 200~1,000 mg/kg 体重/日の間にあるだろうと結論している (参照 92)。

ATSDR (参照 7) は発生毒性の NOAEL を 200 mg/kg 体重/日、LOAEL を 1,000 mg/kg 体重/日とし、EU (参照 5) も発生毒性、母動物毒性の NOAEL を 200 mg/kg 体重/日としている。

表 34 ラット発生毒性試験

投与群	親動物	児動物
1,000 mg/kg 体重/日	肝・腎重量増加、子宮重量減少	生存胎児数の減少、胎児体重減少、奇形増加、骨格・軟組織の変異増加、骨化遅延増加
200 mg/kg 体重/日以下	—	—

ad. 発生毒性試験 (ラット)

Wistar 系ラット (雌、各投与群 8 匹) における DEHP (0 (対照群; コーン油)、10、30、100、300 mg/kg 体重/日) の妊娠 7~21 日の強制経口投与試験が行われ、妊娠 21 日の時点で雄胎児への影響が調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表 35 に示す。

300 mg/kg 体重/日投与群で精巣内のテストステロン濃度及び *ex vivo* での精巣によるテストステロン産生量が減少した (血清テストステロン濃度には有意差なし)。病理組織学的検査において、100 mg/kg 体重/日以上投与群で精原細胞の変化が見られ、300 mg/kg 体重/日投与群ではライディッヒ細胞への影響も見られた。また 300 mg/kg 体重/日投与群ではステロイド産生に関わる遺伝子 (SR-B1、StAR、PBR 等) や核内受容体遺伝子 SF-1、停留精巣に関わる遺伝子 Insl-3 等の精巣における発現量が減少していた。また、DEHP に曝露された胎児のライディッヒ細胞において、ステロイド産生に関わるタンパク質発現量が減少していた (参照 93)。

以上より、この報告ではこの試験の LOAEL を 100 mg/kg 体重/日、NOAEL を 30 mg/kg 体重/日と推定した。

表 35 ラット発生毒性試験

投与群	児動物 (妊娠 21 日)
300 mg/kg 体重/日	精巣のテストステロン濃度・テストステロン産生量 (ex vivo) 減少、精原細胞・ライディッヒ細胞の組織変化、ステロイド産生関連等の遺伝子発現減少
100 mg/kg 体重/日	精原細胞の組織変化
30 mg/kg 体重/日以下	—

ae. 発生毒性試験 (ラット)

SD 系ラット (雌、各投与群 8 匹) における DEHP (0 (対照群; コーン油)、10、100、500 mg/kg 体重/日) の妊娠 11~21 日の強制経口投与試験が行われ、妊娠 21 日、生後 63 日の 2 時点で雄児動物への影響が調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表 36 に示す。

500 mg/kg 体重/日投与群の雄胎児 (妊娠 21 日) において、体重、血清テストステロン及び LH 濃度が減少した ($p < 0.01$)。63 日齢の雄児動物では、中用量投与群でのみ AGD 短縮が、低用量及び高用量投与群で精子の濃度と生存率の減少がみられ、全投与群で精子の運動性が減少 (中用量群が低用量群より高い山型の反応曲線で用量依存性なし) した。なお、63 日齢では DEHP 曝露による血清テストステロン及び LH 濃度に対する影響は認められなかった (参照 94)。

以上より、いずれも軽微な影響ではあるが、精子の運動性減少に基づき、この報告ではこの試験の LOAEL を 10 mg/kg 体重/日と推定した。

表 36 ラット発生毒性試験

投与群	児動物 (妊娠 21 日)	児動物 (63 日齢)
500 mg/kg 体重/日	体重減少 血清テストステロン濃度、LH 濃度の減少	精子の運動性・濃度・生存率減少
100 mg/kg 体重/日	—	AGD 短縮 精子の運動性減少
10 mg/kg 体重/日	—	精子の運動性・濃度・生存率減少

af. 発生毒性試験 (ラット)

SD 系ラット (雌、各投与群 9~12 匹) における DEHP (0 (対照群; オリーブ油)、500、625 mg/kg 体重/日) の妊娠 12~21 日の強制経口投与試験が行われ、児動物への影響が調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表 37 に示す。

両投与群で 1 日齢の生存率が減少し ($p < 0.05$)、500 mg/kg 体重/日投与群の雄児動物で AGD 短縮が、625 mg/kg 体重/日投与群で児動物の体重の減少がみられた。他、両投与群の雄児動物で、乳輪及び/又は乳頭を持つ割合が増加し、尿道下裂 (14.8~37.0%)、精巣欠損及び/又は精巣低形成 (11.1%)、停留精巣 (29.6~55.6%) 等の奇形が観察された (参照 95)。

以上より、この報告ではこの試験の LOAEL を 500 mg/kg 体重/日と推定した。

表 37 ラット発生毒性試験

投与群	児動物
625 mg/kg 体重/日	1 日齢の生存率減少、児動物の体重減少、尿道下裂、停留精巣
500 mg/kg 体重/日	1 日齢の生存率減少、雄の AGD 短縮、乳輪・乳頭を持つ雄の増加、尿道下裂、精巣欠損・低形成、停留精巣

ag. 生殖発生毒性試験 (ラット)

SD 系ラット、Wistar 系ラット(雌、各系統各投与群 17~30 匹)における DEHP (0 (対照群; コーン油)、750 mg/kg 体重) の妊娠 14~18 日の強制経口投与試験が行われた。

母動物や児動物の体重、死亡等への影響は見られなかった。両系統の DEHP 曝露群の雄児動物に AGD の短縮 (2 日齢)、雌様の乳輪・乳頭残留 (13 日齢) が見られた ($p < 0.01$)。DEHP に曝露された両系統の雄成熟動物 (120 日齢) で精巣、精細管、精巣上体、前立腺、LABC の重量が減少した ($p < 0.05$)。DEHP 曝露による影響の系統差については、精巣上体の形成不全が SD 系成熟ラットで、精巣導帯の奇形及び停留精巣が Wistar 系成熟ラットで多く見られ、また妊娠 18 日に摘出された SD 系ラット精巣における INSL3 の発現量は Wistar 系ラットに比べて多く、テストステロン濃度は低かった (参照 96)。

ah. 発生毒性試験 (ラット)

LE 系ラット (雌、各投与群 12 匹) における DEHP (0、32.5、325 $\mu\text{g/L}$: 0、3.0~3.5 mg/kg 体重/日、30~35 mg/kg 体重/日 著者らによる換算。ただし、この実験では飲水量が測定されておらず、正確な曝露量は不明 (参照 97)) の妊娠 1 日から出生後 21 日の飲水投与試験が行われ、21~56 日齢の出生児を経時的に剖検し、異常の有無を調べた。各投与群で認められた毒性所見を表 38 に示す。

両曝露群の児動物の腎絶対重量、精巣の絶対・相対重量が低かった。また、両曝露群の児動物で精細管組織に異常 (精細管上皮の崩壊、細胞沈着による精細管腔閉塞など) が認められ、325 $\mu\text{g/L}$ 曝露群ではセルトリ細胞の空胞変性が認められた。これら精巣への影響は最終剖検時 (56 日齢) も変わらなかったため、著者らは不可逆的影響のように思われるとしている。その他、出生前から離乳まで 325 $\mu\text{g/L}$ の DEHP に曝露された 21 日齢雌において、ビーム歩行試験で歩行に要する時間の延長がみられた。

EU は LOAEL を約 3.5 mg/kg 体重/日としている (参照 5)。

表 38 ラット発生毒性試験

投与群	親動物	児動物
325 $\mu\text{g/L}$ (30~35 mg/kg 体重/日)	—	腎絶対重量及び精巣の絶対・相対重量の低下、精細管組織の異常、セルトリ細胞の空胞変性 (21~56 日齢) ビーム歩行試験での行動異常 (21 日齢雌)
32.5 $\mu\text{g/L}$ (3.0~3.5 mg/kg 体重/日)	—	腎絶対重量及び精巣の絶対・相対重量の低下、精細管組織の異常 (21~56 日齢)

ai. 発生毒性試験 (ラット)

SD系ラット (雌、6~8匹) における DEHP (0、375、750、1,500 mg/kg 体重/日) の妊娠 3 日から出生後 21 日の強制経口投与試験が行われ、児動物への影響が調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表 39 に示す。

中用量以上投与群において、母動物の妊娠 20 日までの体重が低下し、児動物の生存率 (一腹あたり) も低下した。雄児動物では、1 日齢の中用量以上投与群で AGD の短縮が有意に見られ、全投与群で乳輪および乳頭の残留が、中用量以上投与群で停留精巣が、高用量投与群で包皮分離不全が増加した。また、中用量以上投与群雄で出生後 21、63、105~112 日後の精巣、精巣上体、亀頭、前立腺等の重量が有意に低下し、精巣上体の精子数も低下していた。前立腺、精囊の形成不全も用量依存的にみられ、この内、前方前立腺の形成不全の増加が中用量以上投与群雄で有意であった。投与群雄の生殖行動は不活発であり、中でも高用量投与群のマウンティング頻度が有意に低下した。雌児動物では、DEHP 投与による AGD、膣開口あるいは最初の発情期までの期間への統計学的に有意な影響は認められなかった。Moore らは、これらの作用は抗アンドロゲン作用に因っている (参照 98)。

ATSDR (参照 7) 及び EU (参照 5) は、LOAEL を 375 mg/kg 体重/日としている。

表 39 ラット発生毒性試験

投与群	親動物	児動物 (雄)
1,500 mg/kg 体重/日		包皮分離不全増加、生殖行動不活発 (マウンティング頻度低下)
750 mg/kg 体重/日以上	体重低下 (妊娠 20 日まで)	一腹あたり生存率低下 AGD 短縮 (1 日齢) 停留精巣増加、精巣・精巣上体・亀頭・前立腺等の重量低下、精巣上体の精子数低下、前方前立腺形成不全増加
375 mg/kg 体重/日	—	乳輪・乳頭の残留増加

aj. 発生毒性試験 (ラット)

Wistar 系ラット (雌、各投与群 11~16 匹) における DEHP (0 (対照群; ピーナッツオイル)、0.015、0.045、0.135、0.405、1.215 mg/kg 体重/日 (以上、低用量範囲) 及び 5、15、45、135、405 mg/kg 体重/日 (以上、高用量範囲)) の妊娠 6 日~授乳 21 日の強制経口投与試験が行われ、雌児ラットへの影響が調べられた。各投与群で認められた毒性所見を表 40 に示す。

いずれの投与群でも母動物の体重、臓器への影響は見られなかった。雌児ラットの血清エストラジオール、プロゲステロン濃度は DEHP 曝露により変化せず、性周期 (9 週齢) も正常であった。性周期観察後の形態学的検査では子宮、膣の内腔上皮細胞の高さに変化は認められなかったが、405 mg/kg 体重/日投与群で三次閉鎖卵胞が増加した ($p<0.05$) (参照 99)。

また、同じ研究者グループにより、全く同じ方法で DEHP に曝露された雌児

ラットへの影響について1報 (参照 100)、雄児ラットへの影響について2報 (参照 101、102) が報告されている。

Grande ら (参照 100) は、15 mg/kg 体重/日以上投与群の雌ラットで膈開口の遅延が見られること (p<0.05)、また 135 mg/kg 体重/日以上投与群では最初に発情期が見られる年齢も遅くなる傾向があり (統計学的有意差なし)、肝重量増加 (1日齢) が見られることを報告している。AGD 短縮や乳頭の発達への影響は見られなかった。以上より著者らは、この試験の NOAEL を 5 mg/kg 体重/日としている。

Andrade ら (参照 101) は、雄児ラットを 144±7 日齢時点で屠殺して影響を調べた結果、精細管の重量減少は 405 mg/kg 体重/日投与群でのみ見られ、血清テストステロン濃度の増加が 0.045、0.405、405 mg/kg 体重/日投与群で見られた。15 mg/kg 体重/日以上投与群で精子産生が対照群に比べて 19~25%減少し、この減少はセルトリ細胞の数や初期精細胞支持機能の変化と関連がなかった。停留精巣は 5、135、405 mg/kg 体重/日投与群で各 1 例見られた。受胎率や生殖行動への影響は観察されなかった。以上より著者らは、この論文における NOAEL を 1.215 mg/kg 体重/日としている。

また Andrade ら (参照 102) は、雄の幼若ラットへの影響についても調べている。15 mg/kg 体重/日以上投与群で包皮分離遅延が見られ、405 mg/kg 体重/日投与群では乳頭残留 (13 日齢)、AGD 短縮 (22 日齢) も見られた。精巣重量 (22 日齢) は 5~135 mg/kg 体重/日投与群で増加した。病理組織学的検査において、135 mg/kg 体重/日以上投与群で、1 日齢では複数の核を持つ精原細胞の出現及び精原細胞変性の増加、22 日齢では分化した生殖細胞の減少が見られた。以上より著者らは、この論文における NOAEL を 1.215 mg/kg 体重/日としている。

さらに Andrade らは別の論文において (参照 103)、1 日齢、22 日齢の雌雄児ラットの視床下部/視索前野領域 (HPOA) におけるアロマターゼ活性を調べた結果を報告している。1 日齢の雄では低用量範囲の DEHP 曝露群でアロマターゼ活性が阻害された (0.135、0.405 mg/kg 体重/日投与群で有意) 一方、高用量範囲の曝露群では活性が増加した (15、45、405 mg/kg 体重/日投与群で有意)。22 日齢では雄のアロマターゼ活性は 0.405 mg/kg 体重/日で増加したのみであり、雌の方がより顕著に変化していた (0.045、5 mg/kg 体重/日投与群を除く全投与群で増加)。

表 40 ラット発生毒性試験

投与群	児動物 (雌)	児動物 (雄)
405 mg/kg 体重/日	三次閉鎖卵胞増加 (>9 週齢) HPOA のアロマターゼ活性増加 (22 日齢) 膈開口遅延、肝重量増加 (1 日齢)	血清テストステロン濃度増加、精細管重量減少、精子産生減少、停留精巣 (以上、144 日齢) HPOA のアロマターゼ活性増加 (1 日齢) 包皮分離遅延 (幼若ラット)、乳頭残留 (13 日齢)、AGD 短縮 (22 日齢)、多核精原細胞・精原細胞変性増加 (1 日)

		齢)、生殖細胞分化減少 (22 日齢)
135 mg/kg 体重/日	HPOA のアロマトラーゼ活性増加 (22 日齢) 膣開口遅延、肝重量増加 (1 日齢)	精子産生減少、停留精巣 (いずれも 144 日齢) 包皮分離遅延 (幼若ラット)、精巣重量増加 (22 日齢)、多核精原細胞・精原細胞変性増加 (1 日齢)、生殖細胞分化減少 (22 日齢)
45 mg/kg 体重/日	HPOA のアロマトラーゼ活性増加 (22 日齢) 膣開口遅延	精子産生減少 (144 日齢) HPOA のアロマトラーゼ活性増加 (1 日齢) 包皮分離遅延 (幼若ラット)、精巣重量増加 (22 日齢)
15 mg/kg 体重/日	HPOA のアロマトラーゼ活性増加 (22 日齢) 膣開口遅延	精子産生減少 HPOA のアロマトラーゼ活性増加 (1 日齢) 包皮分離遅延 (幼若ラット)、精巣重量増加 (22 日齢)
5 mg/kg 体重/日	— (体重、臓器、血清ホルモン濃度、性周期、子宮・膣の内腔上皮細胞高への影響なし)	停留精巣 (144 日齢) 精巣重量増加 (22 日齢)
1.215 mg/kg 体重/日	HPOA のアロマトラーゼ活性増加 (22 日齢)	—
0.405 mg/kg 体重/日	HPOA のアロマトラーゼ活性増加 (22 日齢)	血清テストステロン濃度増加 (144 日齢) HPOA のアロマトラーゼ活性; 1 日齢で阻害、22 日齢で増加
0.135 mg/kg 体重/日	HPOA のアロマトラーゼ活性増加 (22 日齢)	HPOA のアロマトラーゼ活性阻害 (1 日齢)
0.045 mg/kg 体重/日	— (体重、臓器、血清ホルモン濃度、性周期、子宮・膣の内腔上皮細胞高への影響なし)	血清テストステロン濃度増加 (144 日齢)
0.015 mg/kg 体重/日	HPOA のアロマトラーゼ活性増加 (22 日齢)	—

ak. 発生毒性試験 (ラット)

SD 系ラット (雌、4~5 匹) における DEHP (0、750 mg/kg 体重) の妊娠 14 日から授乳 3 日の強制経口投与試験が行われ、雄児動物の生殖への影響が調べられた。

精巣のテストステロン産生 (体外)、精巣内及び全身のテストステロン濃度が有意に減少し、AGD 短縮、精巣重量減少、ライディッヒ細胞肥大の増加、多核生殖細胞数の増加等が見られた。著者らは、雄児ラットにおいて性分化の時期に精巣でのテストステロン産生が阻害され雌と同等のレベルになることがアンドロゲン依存的な組織の奇形の直接的な原因であり、この抗アンドロゲン作用はアンドロゲン受容体に依存しないメカニズムに基づく可能性を指摘している (参照 104)。

al. 発生毒性試験 (ラット)

Wistar 系ラット (雌、各投与群 5 匹) における DEHP (0、1% (w/w)) の妊娠 16 日~授乳 14 日の混餌投与試験が行われ、児動物の肺が形態学的、免疫組

織学的に調べられた。

投与群の児動物において、肺胞中隔が減少して肺胞が大きくなると同時に数が減少し、末梢の肺実質ではガス交換表面積が顕著に減少した。また、上皮細胞、間葉細胞の増殖率が上昇した（参照 105）。

am. 発生毒性試験（ラット）

SD 系ラット（雌、各投与群 13～14 匹）に DEHP（0（対照群；コーン油）、11、33、100、300 mg/kg 体重/日）を妊娠 8 日～授乳 17 日まで強制経口投与し（IUL 群）、さらに引き続き雄児動物（各投与群 16～20 匹）に 18 日齢から 63～65 日齢まで強制経口投与し（PUB 群）、その後屠殺して生殖への影響を調べた。各投与群で認められた毒性所見を表 41 に示す。

300 mg/kg 体重/日投与群の雄児動物に AGD 短縮（2 日齢）、乳頭残留の増加（13 日齢、IUL 群の成熟動物）、精子数の減少（PUB 群の 64 日齢）、生殖器（前立腺、精細管、LABC、精巣上体等）重量減少（PUB 群の 64 日齢、IUL 群の成熟動物）等が認められた（ $p<0.05$ ）。11～100 mg/kg 体重/日投与群の雄児動物でも、乳頭残留、液体が充満した脆弱な精巣、精巣上体の形成不全や奇形、精巣上体の肉芽腫、精細管の変性や奇形、半陰陽等の症状がみられ、これらの生殖影響を有するラットの割合は全投与群において増加した（ $p<0.01$ ）。血清テストステロン及びエストラジールの濃度については IUL 群、PUB 群いずれの雄ラットでも曝露による影響は認められなかった。著者らは、本試験結果は NTP による多世代生殖発生毒性試験における混餌投与での NOAEL 5 mg/kg 体重/日、LOAEL 10 mg/kg 体重/日を支持するものであると述べている（参照 106）。

以上より、この報告ではこの試験の LOAEL を 11 mg/kg 体重/日と推定した。

表 41 ラット発生毒性試験

投与群	児動物
300 mg/kg 体重/日	AGD 短縮（2 日齢）、乳頭残留増加（13 日齢、IUL 群の成熟動物）、精子数減少（PUB 群の 64 日齢）、生殖器（前立腺、精細管、LABC、精巣上体等）重量減少（PUB 群の 64 日齢、IUL 群の成熟動物）
11、33、100 mg/kg 体重/日	何らかの生殖影響を有する割合の増加

an. 生殖毒性試験（ラット）

SD 系ラット（雌）における DEHP（0、2,000 mg/kg 体重/日）の授乳 2～6 日、6～10 日、14～18 日のいずれかの 5 日間強制経口投与試験が行われ、最終投与の 24 時間後に屠殺して影響を調べた。各投与群で認められた毒性所見を表 42-1 に示す。

全投与群の母動物、乳児の体重が有意に低下し、母動物では肝臓の相対重量増加、低脂血症（血漿コレステロール、トリグリセリド濃度が 30～50%まで減少）もみられた。また肝臓のペルオキシソーム酵素（パルミトイル補酵素 A (PCoA)、

カルニチンアセチルトランスフェラーゼ (CAT)) 活性は投与群の母動物で 5~8 倍、乳児で 2 倍に増加した。

また、SD 系ラット (雌) における DEHP (0、2,000 mg/kg 体重/日) の授乳 15~17 日 (3 日間) の強制経口投与試験が行われ、最終投与の 6 時間後に屠殺して影響を調べた。認められた毒性所見を表 42-2 に示す。

PCoA 及び CAT 活性の増加が投与群の母動物、乳児に見られ、投与群の母動物では乳腺重量の有意な低下、乳汁中の固形分・脂質・タンパク質の増加及び乳糖の有意な減少が観察された。最終 DEHP 投与の 6 時間後の乳汁には DEHP、MEHP が含まれていた (各 216、25 µg/mL) が、血漿中には DEHP は検出されず (<0.5 µg/mL)、MEHP のみ検出され、結果として DEHP の乳汁/血漿濃度比は高かった。乳児の血漿中には DEHP、MEHP のいずれも検出されなかった (参照 14)。

表 42-1 ラット生殖毒性試験

投与群	親動物	乳児
2,000 mg/kg 体重/日	体重低下 肝臓相対重量増加、PCoA・CAT 活性増加 (5~8 倍) 低脂血症	体重低下 PCoA・CAT 活性増加 (2 倍)

表 42-2 ラット生殖毒性試験

投与群	親動物	乳児
2,000 mg/kg 体重/日	PCoA・CAT 活性増加 乳腺重量低下 乳汁の組成変化 乳汁中に DEHP・MEHP 検出、血漿中に MEHP 検出	PCoA・CAT 活性増加

ao. 発生毒性試験 (ラット)

ラット (雌、5 匹) における DEHP (0 (対照群; 生理食塩水)、2,000 mg/kg 体重/日) の出産後 1 日~21 日の強制経口投与試験が行われ、乳汁を介して児動物 (7 匹) を DEHP に曝露させた。認められた毒性所見を表 43 に示す。

曝露群の乳児では体重減少、肝臓絶対重量の減少 (相対重量は有意差なし)、アシルヒドロカーボンヒドロキシラーゼ、アニリンヒドロキシラーゼ等の生化学指標の低下が認められた (p<0.05)。また曝露群乳児の肝臓で DEHP (25.7 µg/g) が検出された。以上より著者らは、発達途上の動物の肝臓は、母動物から乳汁を介して移行する DEHP により影響され得るとしている (参照 107)。

表 43 ラット発生毒性試験

投与群	乳児
2,000 mg/kg 体重/日	体重減少、肝臓絶対重量減少、肝臓での DEHP 検出

ap. 発生毒性試験 (ラット)

アルビノラット (雌、各投与群 4 匹) における DEHP (0 (対照群; ピーナッツオイル)、2,000 mg/kg 体重/日) の出産後から 21 日間の経口投与試験が行われ、乳汁を介して雄児動物を DEHP に曝露させ、31、61、91 日齢の時点で屠殺し、影響を調べた。認められた毒性所見を表 44 に示す。

母動物に対する明確な毒性や死亡は観察されなかった。投与群の雄児動物において、精巣の病理組織学的変化や血中テストステロン濃度への影響は見られなかったが、精巣上体における精子数 (91 日齢) の減少 ($p < 0.01$) が見られた。31 日齢、61 日齢の雄児動物において γ -グルタミルトランスペプチダーゼ、乳酸デヒドロゲナーゼ、 β -グルクロニダーゼ活性の有意な増加及び、酸性ホスファターゼ、ソルビトールデヒドロゲナーゼ活性の有意な低下が観察されたが、これらの酵素に対する影響は 91 日齢の児動物では見られなかった。以上より著者らは、生後初期に母動物の母乳を介して DEHP に曝露されると精巣の機能的な発達が影響を受ける可能性があり、この影響は永続的ではないことが示唆されたとしている (参照 108)。

表 44 ラット発生毒性試験

投与群	親動物	雄児動物
2,000 mg/kg 体重/日	—	γ -グルタミルトランスペプチダーゼ・乳酸デヒドロゲナーゼ・ β -グルクロニダーゼ活性増加、酸性ホスファターゼ・ソルビトールデヒドロゲナーゼ活性低下 (91 日齢を除く) 精巣上体の精子数減少 (91 日齢)

aq. 二世世代生殖発生毒性試験 (ラット)

Wistar 系ラット (雌雄、各世代各投与群 25 匹) における DEHP (0、1,000、3,000、9,000 ppm : F_0 世代 0、113、340、1,088 mg/kg 体重/日) の交配 73 日以上前から離乳までの混餌投与による二世世代試験が行われた (F_0 世代以外の投与状況の詳細不明)。

脾臓重量の減少が全投与群の雌雄 F_1 及び高用量投与群の雌雄 F_2 で、胸腺重量の減少が中用量以上投与群の F_1 と F_2 の雄、高用量投与群の F_1 と F_2 の雌で観察された。雌雄 F_1 、 F_2 の高用量投与群では体重減少が見られた。低用量投与群の雌雄 F_1 での脾臓重量減少、中用量投与群 F_1 、 F_2 雄での胸腺重量減少は体重減少を伴わずに観察されたため、EU (参照 5) は、この試験の LOAEL を脾臓への影響に基づき 1,000 ppm (113 mg/kg 体重/日) としている (参照 109; 参照 5 より)。

ar. 二世世代生殖発生毒性試験 (ラット)

F344 系ラット (19~23 匹) に DEHP (0、0.25、0.5、1.0% : 0、164、313、573 mg/kg 体重/日) を妊娠 0~20 日まで混餌投与し、 F_2 世代の出生までを観察する二世世代試験が行われた。各投与群で認められた毒性所見を表 45 に示す。

母動物については、313 mg/kg 体重/日以上投与群で摂餌量の低下が、573 mg/kg

体重/日投与群で体重増加抑制が認められた ($p < 0.01$) が、妊娠率や着床数等の生殖指標への影響はみられなかった。F₁ においては、313 mg/kg 体重/日以上投与群で出生前死亡率が増加 (各 7.80%、8.57%、21.40%、19.52%。統計学的有意差は 313 mg/kg 体重/日投与群のみ)、573 mg/kg 体重/日投与群で 1 日齢の新生児の体重が減少したが、開眼、切歯萌出、精巣下降、膈開口等の発達指標や自発運動への影響は見られなかった。また、F₁ 世代の生殖と F₂ 世代の発生に影響は認められなかった。著者らは、母動物及び F₁ 動物の全評価指標についての NOEL を 164 mg/kg 体重/日、妊娠 0~20 日及び出生後早期に限定した発生毒性の NOEL を 313 mg/kg 体重/日と報告している (参照 110)。

ATSDR (参照 7) は出生前後の死亡率増加に基づき、発生毒性の NOAEL を 164 mg/kg 体重/日、LOAEL を 313 mg/kg 体重/日としている。

表 45 ラット二世世代生殖発生毒性試験

投与群	親動物	児動物
1.0% (573 mg/kg 体重/日)	摂餌量低下、体重増加抑制	F ₁ ; 出生前死亡率増加 (有意差なし)、体重減少 (1 日齢)
0.5% (313 mg/kg 体重/日)	摂餌量低下	F ₁ ; 出生前死亡率増加
0.25% (164 mg/kg 体重/日)	—	—

as. 三世代生殖発生毒性試験 (ラット)

SD 系ラット (雌雄、各投与群 17 匹) に DEHP (1.5 (対照群)、10、30、100、300、1,000、7,500、10,000 ppm) を混餌投与し、F₃ 世代の出生までを観察する三世代生殖発生毒性試験が行われた。F₀ は交配の 6 あるいは 10 週間前から交配、妊娠、哺育の期間を通して、F₁~F₃ は離乳後から親動物と同濃度の DEHP を投与された。ただし 10,000 ppm 投与群は F₂ を産み出すことができず、F₁ までで試験を終了した。摂餌量に基づき換算した体重当たりの投与量は F₀ が各 0.12、0.78、2.4、7.9、23、77、592、775 mg/kg 体重/日、F₁ が各 0.09、0.48、1.4、4.9、14、48、391、543 mg/kg 体重/日、F₂ が各 0.1、0.47、1.4、4.8、14、46、359 mg/kg 体重/日であった (参照 111; 参照 5 より)。各投与群で認められた毒性所見を表 46 に示す。

EU (参照 5) は、精巣毒性の NOAEL を F₁、F₂ での精巣の肉眼的病理所見 (小さな精巣あるいは精巣形成不全) 及び F₁ での精細管萎縮に基づき 100 ppm (4.8、4.9 mg/kg 体重/日) とした。この際、100 ppm 投与 F₁ で見られた精細管の萎縮は、1 世代、1 匹のみに観察され他の所見を伴わないことから除外している。また生殖毒性の NOAEL を F₁~F₃ の精子減少、F₂ での妊娠率低下、F₁ の同腹児数減少に基づき 1,000 ppm (48、46 mg/kg 体重/日) とした。さらに発生毒性の NOAEL については、精巣への影響が F₀ より F₁、F₂ で遥かに強く、発生時の精巣毒性への感受性の高さが示唆されることに基づき、100 ppm (7.9、4.9、4.8 mg/kg 体重/日) とした。以上より EU では、本試験における精巣毒性及び発生毒

性の NOAEL を 4.8 mg/kg 体重/日、生殖毒性の NOAEL を 46 mg/kg 体重/日と結論している。

また Benson (参照 112) は、この試験における NOAEL を 3~5 mg/kg 体重/日とし、さらに、雄 F₁、F₂ の生殖器の異常発生頻度データを基に EPA のベンチマークドースソフトウェア (ver.1.4.1c) を用い (最も適合度が高かった log-logistic モデル使用)、BMDL₁₀ を 27 mg/kg 体重/日と推算している。

表 46 ラット三世代生殖発生毒性試験

投与群	F ₀	F ₁	F ₂	F ₃
10,000 ppm (F ₀ :775 mg/kg 体重/日、F ₁ :543 mg/kg 体重/日)	小さな精巣、精巣萎縮、精巣上体の組織学的変化、精巣・精巣上体の重量低下、精子減少 肝重量増加 (雄)、軽度の肝肥大 腎重量増加 副腎皮質の空胞変性	小さな精巣・精巣上部・精細管・前立腺、精巣萎縮 (全マウス)、精巣上体の組織学的変化 (9/10)、精巣・精巣上部・前立腺・精細管の重量低下、精子細胞なし、出生児体重減少、同腹児数減少、AGD 短縮 (雄)、性成熟 (精巣下降、膈開口、包皮分離) 遅延 軽度の肝肥大 腎重量増加 (雌)、尿管拡張・鉍質沈着 副腎皮質の空胞変性	児動物の出生なし	児動物の出生なし
7,500 ppm (F ₀ :592 mg/kg 体重/日、F ₁ :391 mg/kg 体重/日、F ₂ :359 mg/kg 体重/日)	小さな前立腺 (1/10) 肝重量増加、軽度の肝肥大 腎重量増加	小さな精巣・精巣上部・精細管・前立腺、精巣萎縮 (全マウス)、精巣上体の組織学的変化 (6/10)、精巣・精巣上部・前立腺の重量低下、精子減少、同腹児数減少、AGD 短縮 (雄)、性成熟 (精巣下降、膈開口、包皮分離) 遅延 肝重量増加、軽度の肝肥大 腎重量増加 (雄)、尿管拡張・鉍質沈着 副腎皮質の空胞変性	小さな精巣・精巣上部、精巣萎縮 (全マウス)、精巣・精巣上部・精細管の重量低下、精子減少、妊娠率低下、出生児体重減少、AGD 短縮 (雄)、性成熟への影響 肝重量増加、軽度の肝肥大 腎重量増加 (雄)、尿管拡張・鉍質沈着	精巣・精巣上部・前立腺の重量低下、精子減少、AGD 短縮 (雄)、乳頭残留 (雄)、性成熟 (精巣下降、膈開口、包皮分離) 遅延 肝重量増加
1,000 ppm (F ₀ :77 mg/kg 体重/日、F ₁ :48 mg/kg 体重/日、F ₂ :46 mg/kg 体重/日)	—	小さな前立腺 (3-4/43) 肝重量増加 (雄) 尿管拡張・鉍質沈着	小さな精巣・精巣上部 (3/25)、	—

300 ppm (F ₀ :23 mg/kg 体重/日、 F ₁ :14 mg/kg 体重/日、 F ₂ :14 mg/kg 体重/日)	—	小さな精巣・精巣上体 (2/45)、小さな精細 管・精巣形成不全・精細 管形成不全 (1/45)、精 巣の僅かな萎縮 (1/10)	小さな精巣・精巣上体 (1/21)	—
100 ppm (F ₀ :7.9 mg/kg 体重/日、 F ₁ :4.9 mg/kg 体重/日、 F ₂ :4.8 mg/kg 体重/日)	—	精巣の僅かな萎縮 (1/10)	—	—
30 ppm (F ₀ :2.4 mg/kg 体重/日、 F ₁ :1.4 mg/kg 体重/日、 F ₂ :1.4 mg/kg 体重/日)	—	—	—	—

at. 4 週間亜急性毒性試験 (ブタ)

ブタ (雄、各投与群 20 匹) における DEHP (0、300 mg/kg 体重) の 3 週齢～7 週齢の間 (週 3 回) の強制経口投与試験が行われ、投与終了直後 (7 週齢) 及び思春期後 (9 ヶ月齢) に生殖系への影響が調べられた。

7 週齢の投与群 3/7 匹に尿道球腺の早期成熟が認められた。DEHP 曝露により精巣の精細管上皮の病理組織学的変化は見られず、セルトリ細胞数、精巣でのライディッヒ細胞の占める割合、胚細胞生存率等も影響を受けなかった (参照 113)。なお Ljungvall らは 2006 年に、同じ試験における思春期後の内分泌系、性行動への影響について、合成 GnRH アナログの刺激に対して産生される LH 濃度 (血中) が刺激後 0.5～1 時間の時点のみであるが曝露群で低い ($p < 0.05$) こと (血中テストステロン濃度には有意差なし)、性行動に変化は見られなかったことを報告している (参照 114)。

また、Spjuth らの研究グループが同様の方法で雄ブタを曝露し、精子 (spermatozoa) を 8～9 ヶ月齢の期間 (参照 115) 及び 6～9 ヶ月齢の期間 (参照 116) で採取して影響を調べている。その結果、8～9 ヶ月齢の曝露群では直線運動する精子の割合が減少し、精子頭部の水平運動の振幅が大きかった (参照 115)。8.5～9 ヶ月齢時点での精子は、曝露群で全体的に運動が減少して局所的な動きが多くなる傾向が認められたものの統計学的に有意な影響は認められなかった (参照 116b)。また精子の形態については、頭部・尾部に傷害がある精子の割合が対照群に比べて 7～8 ヶ月齢時点で若干少なく ($p = 0.05$)、尾を二重に有する精子の割合は 6～7 ヶ月齢、7～8 ヶ月齢、6～9 ヶ月齢時点の精子で対照群より少なかった ($p < 0.05$) が、精子産生及び精子の質には DEHP 曝露による明らか有害影響は認められなかったと著者らはまとめている (参照 116)。さらに

Spjuth ら (参照 117) は、6~9 ヶ月齢時点での精子の *in vitro* での受精能獲得 (capacitate) 率、先体反応の誘導割合には DEHP 曝露群と対照群で有意差が見られなかったことも報告している。

au. 13 週間亜急性毒性試験 (サル)¹²

マーモセット (雌雄、各投与群 4 匹) における DEHP (0、100、500、2,500 mg/kg 体重/日) の 13 週間強制経口投与試験が行われた。2,500 mg/kg 体重/日投与群の雄では体重増加抑制が認められたが、精巣、卵巣等の臓器に重量変化や組織所見は認められなかった。精巣の亜鉛含量、血中のテストステロン、エストラジオール及びコレシストキニンの濃度にも変化は認められなかった (参照 43)。

ATSDR は生殖毒性の NOAEL を 2,500 mg/kg 体重/日とし、サルはラットやマウスに比べて DEHP 曝露による精巣への影響の感受性が低いように思われると記載している (参照 7)。

av. 65 週間生殖毒性試験 (サル)

マーモセット (雌雄、各投与群 5~6 匹、離乳直後) における DEHP (0、100、500、2,500 mg/kg 体重/日) の 65 週間強制経口投与試験が行われ、精巣、卵巣への影響が調べられた。各投与群で認められた所見を表 47 に示す。

一般毒性の徴候は観察されず、雄では最高用量群でも精巣の重量、組織、精子数、血清テストステロン、ライディッヒ細胞の 3 β -HSD (3 β -水酸化ステロイド脱水素酵素) に有意な変化は認められなかった。雌では 500 mg/kg 体重/日以上投与群で卵巣重量の増加 ($p < 0.05$) が、また大きな卵巣を持つ個体 (500、2,500 mg/kg 体重/日投与群の各 3、2 匹) で成熟個体に見られるような大型の黄体が観察され、500 mg/kg 体重/日投与群では血清エストラジオールの増加が認められた。著者らは、卵巣重量増加については、卵巣及び子宮に組織異常が見られないこと、子宮/卵巣重量比に変化がないこと等から発情期における正常な変化を反映したものと示唆されるとし、大型の黄体出現から疑われる雌での性成熟促進については完全には否定できないが、他の複数の研究では性成熟阻害作用が観察されていることに言及している (参照 118)。

以上より、この報告ではこの試験における生殖毒性の NOAEL を雌雄ともに 2,500 mg/kg 体重/日と推定した。

表 47 サル 65 週間生殖毒性試験

投与群	雄	雌
2,500 mg/kg 体重/日	精巣、精子、血清テストステロン、ライディッヒ細胞の 3 β -HSD への影響なし	卵巣重量増加及び大型黄体 (卵巣・子宮の組織異常なし)
500 mg/kg 体重/日	同上	卵巣重量増加及び大型黄体 (卵巣・子宮の組織異常なし)、血清エストラジオール増加
100 mg/kg 体重/日	—	—

¹² ②亜急性毒性試験 g. と同じ試験。

＜生殖毒性の作用機序；参考データ＞

近年、DEHP等のフタル酸エステル類は正常な内分泌機能をかく乱する可能性があるという仮説が提唱されている（参照 5）が、環境中と同程度のレベルのDEHPによりヒトの内分泌がかく乱されたという証拠はこれまで得られておらず（参照 7）、DEHPのエストロゲン活性は一般的に、内因性17 β -エストラジオールに比べて無視し得るレベルであることが、*in vitro*、*in vivo*の試験結果から示唆されている（参照 7）。試験結果から、DEHPはアンドロゲン受容体のアンタゴニストではないが、性分化の臨界期に当たる出生前後に曝露されるとテストステロンのレベルを下げ、抗アンドロゲンに作用して、雄の生殖システムに長期的な変調を来たす可能性が示唆されている（参照 7）。

上述のAkingbemiら（参照 84）やDostalら（参照 80）による試験において示唆されたDEHP曝露時の年齢による精巣影響への感受性の違いについては、GrayとButterworth（参照 119）による、年齢が異なるWistar系ラットにおける10日間強制経口投与試験において、投与開始時に4週齢であった全ラット、10週齢であったラットの5～50%に精子細胞減少を伴う精細管萎縮および精巣・前立腺の重量減少が見られるのに対し、15週齢であったラットでは見られないことから支持される。Akingbemiら（参照 84）やVoら（参照 94）は、胎児期のDEHP曝露によるテストステロン産生の抑制は胎児期のラットでは見られるが成熟動物では見られなくなることを報告しており、Cultyら（参照 120）は、胎児期と出生後ではテストステロン産生抑制に関わる遺伝子が異なることを指摘している。

また上述のDavisら（参照 83）のラットにおける12日間*in vivo*経口投与試験での卵巣顆粒膜細胞の小型化に伴う血清エストラジオール濃度低下については、LovekampとDavis（参照 121）によるラット卵巣顆粒膜細胞を用いた*in vitro*試験において、DEHPの代謝物であるMEHP（0～200 μ M）に細胞を48時間曝露した結果、MEHPが顆粒膜細胞に作用してアロマターゼを阻害しエストラジオール産生が阻害されたことから支持され、さらにこの試験では、アロマターゼ阻害作用がMEHPによるPPAR α およびPPAR γ の活性化を介して生じることが示唆されている（参照 121、122、123）。他、MCF-7細胞にエストロゲン受容体ルシフェラーゼベクターを安定的にトランスフェクションして作成されたMVLN細胞を用い、*in vitro*でエストロゲン活性を調べた試験において、DEHPは他の可塑剤と異なり、17 β -エストラジオールによるエストロゲン受容体への作用を阻害するアンタゴニストであることを示唆する報告もある（参照 73）。

精巣障害のメカニズムについて、EU（参照 5）では仮説の一つとして亜鉛依存的な酵素活性を挙げている。実際、DEHPに曝露されたげっ歯類で精巣におけるテストステロン及び亜鉛レベルの減少（ $p < 0.05$ ）が観察されたこと（参照 124 他）、亜鉛欠乏飼料を摂餌させた雄ラットにおいて、DEHP強制経口投与により精巣、

精巣上体、前立腺等の有意な重量減少や精細管萎縮の頻度と程度の増加、精巣の亜鉛濃度減少が有意に見られた ($p < 0.05$) こと (参照 88) 等が報告されている。なお、亜鉛を DEHP と同時投与 (混餌、腹腔内投与) しても DEHP による精巣萎縮、精巣における亜鉛濃度減少を防げなかった (参照 125) との報告もある。また EU (参照 5) は他の精巣毒性メカニズムとしてホルモン状態、代謝相互作用、FSH 依存的な経路等も挙げているが、例えば Ryu ら (参照 126) が DEHP (250~750 mg/kg) を 28 日間強制経口投与された雄ラット精巣におけるアポトーシス関連遺伝子の発現 (mRNA、タンパク質) 誘導を指摘しているように、その他にも様々な要因、経路が関与しているのではないかと推測される。

実際の DEHP への曝露場面においては、DEHP 単独ではなく他の物質との複合曝露が考えられるが、例えば妊娠 14~18 日のラットを DEHP とジ(n-ブチル)フタレートに複合曝露して雄胎児の生殖影響を調べた結果、尿道下裂、精巣上体や精巣導帯の形成不全等に累積効果が見られたとの報告 (参照 127、128) や、妊娠 8~18 日のラットを DEHP に加えてベンジルブチルフタレートやジ-n-ブチルフタレート等に複合曝露した場合、雄胎児のステロイド産生は累積的、用量相加的に阻害され、胎児死亡率が増加するとの報告 (参照 129) 等がある。Sharpe (参照 130) のレビューでは、ラットの雄胎児が臨界期にフタレート類に複合曝露されると、各物質の濃度が低い場合でも相加作用によりテストステロン産生抑制とそれに起因する雄性生殖器異常が生じる可能性があることが示唆されている (ただしこのレビューでは、ヒト胎児でも同様の生殖影響を引き起こすかどうかは不明と記載されている)。また、体の中での相互作用については、肝毒性物質 (チオアセトアミド) を投与した後に DEHP (25,000 ppm) を混餌投与すると、血液・肝臓・精巣中の DEHP 濃度が同程度にも関わらず、精巣毒性が増強される (精巣重量及び精子数減少、精子運動性低下、精子の形態異常増加) こと等が報告されている (参照 131)。

以上のような膨大なデータを踏まえ、DEHP の生殖毒性について、EU (参照 5) では理事会指令 67/548/EEC に従い、以下の通り分類している。雌雄ラット、マウスに対する生殖影響のデータがあること、複数の動物種 (ラット、マウス、フェレット、ハムスター) で精巣毒性が示されていること、精巣影響への感受性は発達段階にある若いラットで高いことから、ヒトでこれらの影響が生じる可能性を支持する十分な証拠があるとして **Category 2; R60** (受胎能力を害するおそれがある)、また、ラット、マウスを用いた適切な試験において母動物に毒性を生じない用量での発生毒性が示されていることから **Category 2; R61** (胎児に有害であるおそれがある) とした。この他、ラットにおいて経口投与された DEHP が母乳へ移行し、哺乳している児動物に悪影響を及ぼすとの報告があること等から、授乳中の影響についても記載されている。

NTP の Center for Evaluation of Risks to Human Reproduction (CERHR) はモノグラフ (参照 132) において、ヒトについては結論を導くには不十分なデ

一たしかないが実験動物については有害な影響を及ぼす明確な証拠があり、ヒトの生殖、発生に恐らく影響し得るだろう、としている。そして、CERHR の専門家委員会と NTP が、1 歳未満の新生児の生殖器系の発達については DEHP 曝露による影響の懸念ありとし、1 歳以上の男児及び、妊娠中に医療目的以外で DEHP に曝露された母親を持つ男児の生殖器系の発達については DEHP 曝露によるある程度の (some) 影響の懸念ありとすることで合意したことが記載されている。

⑦ 遺伝毒性試験

ATSDR (参照 7) 及び EU (参照 5) に記載されている DEHP の *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験結果をまとめたものを表 48 及び表 49 に示す。

DEHP の遺伝毒性について、WHO 飲料水水質ガイドライン (参照 8) には、様々な *in vitro*、*in vivo* 試験において、染色体異数性及び細胞形質転換の誘発を除き、DEHP が遺伝毒性を示すという証拠は得られていない、と記載されている。

EU (参照 5) は、DEHP は細胞形質転換、細胞の増殖及び異数性を誘発したが、これらの試験系は発がんプロモーターやペルオキシソーム増殖因子のような非遺伝毒性物質に対しても敏感に反応すること、また陽性、陰性の結果全体を総合してみると、DEHP は変異原ではないと考えられる、としている。

ATSDR (参照 5) も同様に、短期遺伝毒性試験結果の大部分は陰性あるいは擬陽性であり、これらの証拠の重み付け等から、DEHP は核 DNA の傷害を誘発せず、変異原や発がんイニシエーターというよりむしろミトジェンや発がんプロモーターであり、エピジェネティックな毒性物質として捉えるのが適切であるとしている。

a. *in vitro* 試験

細菌を用いた *in vitro* の変異原性試験は陰性であり、*in vitro* 哺乳類細胞系での DNA 鎖切断、姉妹染色分体交換、染色体異常、小核あるいは多核を調べる試験で遺伝毒性を示す証拠は得られていない。一方、真核生物を用いた *in vitro* 試験で異数性が、哺乳類細胞を用いた *in vitro* 試験で細胞形質転換が見られている。

表 48 DEHP *in vitro* 遺伝毒性試験結果 (参照 5、7 を改変)

試験	対象	結果		著者
		代謝活性化 なし	代謝活性化 あり	
原核生物：				
復帰突然変異	<i>Salmonella typhimurium</i>	—	—	Astill et al. 1986 Barber et al. 1987 Tennant et al. 1987
	<i>S. typhimurium</i> TA97	—	—	Baker and Bonin (1985) Matsushima et al. (1985)

	<i>S. typhimurium</i> TA98	—	—	Sato et al. 1994 Kozumbo et al. 1982 Yoshikawa et al. 1983 Warren et al. (1982) Kirby et al. 1983 Rexroat and Probst (1985) DiVincenzo et al. (1985) CMA (1982d) Agarwal et al. (1985a) Zeiger et al. (1982, 1985a, 1985b) Baker and Bonin (1985) Matsushima et al. (1985) Seed 1982
	<i>S. typhimurium</i> TA100	—	—	Kozumbo et al. 1982 Yoshikawa et al. 1983 Warren et al. (1982) Kirby et al. 1983 Rexroat and Probst (1985) DiVincenzo et al. (1985) CMA (1982d) Agarwal et al. (1985a) Zeiger et al. (1982, 1985a, 1985b) Baker and Bonin (1985) Matsushima et al. (1985) Seed 1982
			(+)	Tomita et al. 1982b
	<i>S. typhimurium</i> TA102	—	—	Schmezer et al. 1988 Jung et al. (1992) Baker and Bonin (1985) Matsushima et al. (1985)
復帰突然変異	<i>S. typhimurium</i> TA1535	—	—	Kirby et al. 1983 Rexroat and Probst (1985) DiVincenzo et al. (1985) CMA (1982d) Agarwal et al. (1985a) Zeiger et al. (1982, 1985a, 1985b)
	<i>S. typhimurium</i> TA1537	—	—	Kirby et al. 1983 Rexroat and Probst (1985) DiVincenzo et al. (1985) CMA (1982d) Agarwal et al. (1985a) Zeiger et al. (1982, 1985a, 1985b)
	<i>S. typhimurium</i> TA1538	—	—	Kirby et al. 1983 Rexroat and Probst (1985) DiVincenzo et al. (1985) CMA (1982d)
	<i>S. typhimurium</i> TM677	—	—	Liber (1985)
	<i>Escherichia coli</i> WP2UVRA	—	—	Yoshikawa et al. 1983
	<i>E. coli</i> WP2UVRA ⁺	—	—	Yoshikawa et al. 1983
	<i>E. coli</i> PQ37	—	—	Sato et al. 1994

DNA 損傷	<i>Bacillus subtilis</i> H17 (rec ⁺)	—	—	Tomita et al. 1982b
	<i>Bacillus subtilis</i> M45 (rec ⁻)	—	—	Tomita et al. 1982b
真核生物 :				
遺伝子突然変異	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> XV185-14C、D7、RM52、D6、D5、D6-1	—	—	Parry et al. 1985
	<i>S. cerevisiae</i> PV-1、PV-2、PV-3	—	—	Inge-Vechtomov et al. (1985)
	<i>S. cerevisiae</i> D7	—	—	Arni (1985)
	<i>S. cerevisiae</i> XV185-14C、RM52	—	+*1	Mehta and van Borstel (1985)
	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> P1	—	—	Parry et al. 1985
	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> P1	+*2	—	Loprieno et al. (1985)
遺伝子変換	<i>S. cerevisiae</i> JD1、D7-144、D7	—	—	Parry et al. 1985
有糸分裂異数性	<i>S. cerevisiae</i> D61M、D6	+	+	Parry et al. 1985
体細胞乗換え (mitotic segregation)	<i>S. cerevisiae</i> D61M、D6	—	—	Parry et al. 1985
	<i>Aspergillus niger</i> (P1)	—	Not specified	Parry et al. 1985
哺乳類細胞 :				
変異原性	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y)	—	—	Astill et al. 1986 Garner & Campbell (1985)
変異原性	マウスリンパ腫細胞	—	—	Kirby et al. 1983 Tennant et al. 1987
	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y TK ^{+/+})	inconclusive	—	Amacher and Turner (1985)
	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y)	NA	(+)	Ashby et al. 1985
	マウス胚細胞 (Balb/c-3T3)	—	—	Matthews et al. (1985)
	チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO-K1-BH4)	—	—	CMA (1985)
	ヒトリンパ芽球 (TK6、AHH-1)	—	—	Crespi et al. (1985)
	CHO細胞 (HGPRT遺伝子)	NS	(+)*3	Astill et al. 1986
マウスリンフォーマ試験	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y TK ^{+/+} 、L5178Y clone 372 ^{+/+})	—	—	Styles et al. (1985)
	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y TK ^{+/+})	—	—	Nuodex (1981d) Kirby et al. (1983) Myhr et al. (1985)
	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y TK ^{+/+})	—	+	Oberly et al. (1985)
DNA 損傷	ラット肝細胞	NA	—	Schmezer et al. 1988

	ラット肝細胞	—		Bradley (1985)
	ハムスター肝細胞	NA	—	Schmezer et al. 1988
	CHO 細胞	—		Douglas et al. (1985, 1986)
	シリアハムスター胚 (SHE) 細胞	±*4		Hatch and Anderson (1985)
	HeLa細胞	+*5	—	Park & Choi (2007) (参照 151)
DNA 修復	ヒト肝細胞	NA	—	Butterworth et al. 1984
	マウス肝細胞	NA	—	Smith-Oliver & Butterworth 1987
	ラット肝細胞	NA	—	Butterworth 1984 Hodgson et al. 1982 Kornbrust et al. 1984 Probst and Hill 1985
	V79細胞	NA	—	Kornbrust et al. 1984
不定期DNA合成	ラット肝細胞	NA	—	Astill et al. 1986 Probst and Hill (1985) Butterworth et al. 1984, 1989 Kornbrust et al. 1984 Williams et al. (1985) Nuodex (1981e)
	マウス肝細胞	NA	—	Smith-Oliver & Butterworth 1987
	ヒト肝細胞	NA	—	Butterworth et al. 1984, 1989
選択的DNA増幅	CH SV40-変換肝細胞	NA	—	Schmezer et al. 1988
DNA 結合	ラット肝細胞	NA	—	Gupta et al. 1985
姉妹染色分体交換	CHO細胞	NA	—	Abe & Sasaki 1977 Phillips et al. 1982 Tennant et al. 1987
	CHO細胞	—		Douglas et al. (1985, 1986)
	ラット肝細胞 (RL4)	NA	—	Priston & Dean 1985
	ヒト末梢リンパ球	—		Obe et al. (1985)
染色体異常	ヒト肝細胞	NA	—	Turner et al. 1974
	ヒト白血球	NA	—	Stenchever et al. 1976
	ヒト胎児肺細胞 (異数性)	NA	—	Stenchever et al. 1976
	ラット肝細胞 (RL4) (倍数性)	NA	—	Priston & Dean 1985 Shell 1983
	CHO細胞	NA	—	Tennant et al. 1987 Phillips et al. 1982
	CHO細胞	—		Gulati et al. (1985, 1989)
	チャイニーズハムスター肝 (CH1-L) 細胞	+	NS	Parry et al. (1984) Parry (1985)
	チャイニーズハムスター肺線維芽 (CHL) 細胞	—		Ishidate and Sofuni (1985)
	SHE細胞	—	+	Tsutsui et al. (1993)
小核試験	CHO細胞	—		Douglas et al. (1985, 1986)
細胞形質転換	CHO細胞	NS	+	Sanner & Rivedal 1985
	マウスJB6表皮細胞	NA	+	Diwan et al. 1985

	マウスC3H/10T1/2線維芽細胞	NA	—	Sanchez et al. 1987 Lawrence & McGregor (1985)
	マウス胚細胞 (Balb/c-3T3)		—	Matthews et al. (1985)
	マウス (Balb/c-3T3) (clone A31 cells)	+	—	Nuodex (1981f)
	SHE細胞	NA	—	Astill et al. 1986
	SHE細胞	NA	+	Mikalsen et al.1990
	SHE細胞	NS	+	Jones et al. (1988) Sanner et al. (1991) Barrett and Lamb (1985) Sanner & Rivedal 1985 Mikalsen and Sanner (1993)
	ラット気管上皮細胞		+	Steele et al. (1989)
ギャップ結合細胞間コミュニケーション	チャイニーズハムスター線維芽細胞	NS	—	Kornbrust et al. 1984
	チャイニーズハムスター線維芽細胞	NS	+	Malcolm & Mills 1989 Mills 1989

NS; 詳細不明 (not specified) 、NA; 哺乳類細胞培養には適用できない (not applicable to mammalian cell cultures)

*1; 著者らによる判断。EU (参照 5) には用量-反応関係がないため”equivocal”との記載あり。

*2; 連続する 3 用量群で突然変異の頻度が 3 倍に増加したが、2 回目の試験では認められなかったため、EU (参照 5) には”equivocal”と記載されている。

*3; 原著には「擬陽性 (false positive) 」と記載されている。

*4; 最初の試験では陰性、2 回目の試験では 2 高用量群で陽性であることから、EU (参照 5) には”equivocal”と記載されている。

*5; IC₅₀ 以上の濃度では陽性だがそれ以下の濃度では陰性。

b. *in vivo* 試験

ラット肝臓において DNA との結合が 1 試験で見られたが、別の試験では見られず、小核試験は陰性であった。DEHP 曝露直後、細胞分裂増加に伴い DNA 合成が増加し、四倍体核の増加が見られた。マウス優性致死試験の一部が陽性であった。

表 49 DEHP *in vivo* 遺伝毒性試験結果 (参照 5、7 を改変)

試験の種類 (名称)	対象	試験結果	著者名、発行年
小核	ラット骨髄	—	Putman et al. 1983
	マウス骨髄	—	Astill et al. 1986
	マウス末梢血	—	Douglas et al. 1986
	ラット肝	—	Suzuki et al. 2005 (参照 133)
	ラット末梢血	—	Suzuki et al. 2005 (参照 133)
染色体異常 (分裂指数)	ラット骨髄	—	Putman et al. 1983
染色体異常	ヒト白血球	—*1	Thiess and Fleig 1978
	ハムスター胚細胞	+	Tomita et al. 1982b
細胞形質転換	ハムスター胚細胞	+	Tomita et al. 1982b
DNA 結合	ラット肝	+	Albro et al. 1982a

	ラット肝	—	Gupta et al. 1985 Lutz 1986 Von Däniken et al. 1984
DNA 修復	ラット肝	—	Butterworth et al. 1984 Cattley et al. 1988 Kornbrust et al. 1984
		+	Hayashi et al. 1998
	マウス肝	—	Smith-Oliver & Butterworth 1987
DNA 損傷	ラット肝	—	Butterworth et al. 1984 Elliott and Elcombe 1985 Tamura et al. 1991
	ヒト白血球	+	Anderson et al. 1999
	ラット肝	—	Cattley and Glover 1993
		+	Takagi et al. 1990
DNA 切断	ラット肝	—	Pogribny et al. 2008
DNA 合成 (四倍体核)	ラット肝	+	Ahmed et al. 1989
DNA 付加体形成	マウス肝 (胆汁)	+	Boerrigter et al. 2007
変異原性	guanine phosphoribosyltransferase (gpt) delta ラット肝	—	Kanki et al. 2005 (参照152)
	lacZ遺伝子改変マウス肝	+	Boerrigter 2004 (参照134)
	lacZ遺伝子改変マウス腎	—	Boerrigter 2004 (参照134)
	lacZ遺伝子改変マウス脾臓	—	Boerrigter 2004 (参照134)
Initiation/promotion (promotion 作用)	ラット腎	+	Kurokawa et al. 1982
優性致死	マウス	—	Rushbrook et al. 1982 Hamano et al. (1979) Nuodex (1981b)
優性致死	マウス	+	Autian 1982 Singh et al. 1974
伴性劣性致死	ショウジョウバエ	—	Yoon et al. 1985 Zimmering et al. (1989)

*1; EU(参照 5)に、調査数 (10 人) が少なく曝露レベルが低い (0.0006~0.01 ppm) ためヒトの遺伝毒性の評価に用いるには不適と考えられると記載されている。

(3) ヒトへの影響

ヒトへの急性影響については、Shaffer ら (参照 35) が、DEHP を 5 g あるいは 10 g 嚥下した男性 2 人の内、10 g を摂取したヒトで軽度の腹痛と下痢が認められたが、5 g を摂取したヒトでは症状は認められなかったことを報告している。

慢性影響については、吸入曝露による肺傷害の可能性を示唆する症例報告がある。Roth ら (参照 135) は、DEHP を含むポリ塩化ビニル (PVC) チューブを用いた人工呼吸システムを使用した早産の新生児 3 人について、吸入曝露量は 1~4, 200 µg/時と推定されること、肺硝子膜症と似た肺傷害を発症し、内 1 人が生後 14 日目に死亡したこと、死亡した児の肺組織から DEHP が検出されたことを報告し、DEHP 曝露がこれらの肺傷害の原因である可能性を指摘している。また、DEHP

を含むフタル酸エステル類に吸入曝露された労働者での神経症状を報告した疫学研究がいくつかあるが、これらには、適切な対照群が設定されておらず被験者数も少ない、試験に関する記載が不適切、DEHP 以外の物質に混合曝露されている等の問題があるため、DEHP の神経毒性を評価するには相応しくないと記載されている (参照 5)。

Thiess ら (参照 136; 参照 5 より) は、バックグラウンド濃度が 0.001~0.004 ppm (反応器周辺では 0.01 ppm まで上昇) の DEHP 製造工場で平均 12 年間 (4 ヶ月~35 年) 曝露された労働者 101 人 (男性 97 人、女性 4 人) を対象とした疫学研究において、血中脂質や血液検査で通常調べられる項目の異常、疾病への影響等は見られず、曝露男性を父親にもつ子供 58 人にも異常は観察されなかったことを報告している。しかし EU は、この試験は曝露濃度が低く、また対照群を設定していないため、評価に用いるには不適切としている (参照 5)。Thiess らはさらに、3 ヶ月~24 年間 DEHP に曝露された (濃度不明) 労働者 221 人を対象とした疫学研究も行い、8 例が死亡し (国全体での死亡期待値は 17.0)、その内、膵臓癌及び膀胱乳頭腫が各 1 例認められたことを報告している (参照 137; 参照 5 より)。しかし EU はこの試験についても、コホートのサイズが小さく追跡期間が短い (平均 11.5 年) こと、曝露濃度が低いこと等から、評価に用いるには不適切としており (参照 5)、EPA/IRIS (参照 3) も同様の見解である。

この他、プラスチック工場で PVC 等に職業曝露された症例 148 人 (対照 315 人) へのアンケート調査で、PVC 曝露群に精巣癌のリスク増加が観察され、著者らはこのリスク増加と DEHP 等のフタレート類への曝露が関連する可能性について触れている (参照 138)。

DEHP、DBP (di-n-butyl phthalate) を可塑剤として使用しているポリ塩化ビニルのフローリング製造工場の男性労働者 74 人から尿、血液を採取し、対照群である建設会社の男性労働者 63 人 (年齢、喫煙状況でマッチング) のサンプルと比較する試験が中国で実施された (参照 139)。曝露群では対照群に比べ、尿中の MEHP 濃度が高く ($p<0.001$)、血清遊離テストステロン濃度が低かった ($p<0.05$) が、血清 FSH、LH、エストラジオール濃度には曝露群と対照群で有意差は認められなかった。また、曝露群における尿中 MEHP 濃度と血清遊離テストステロン濃度との間には負の相関が見られた (対照群では見られず)。なお、この試験ではモノ-n-ブチルフタレート (MBP) についても MEHP と同様の結果が得られている。

尿中の DEHP 代謝物濃度を測定し、様々なエンドポイントとの相関を調べる疫学研究が複数、実施されている。2~36 ヶ月齢の男児 134 人を対象に、AGD を体重で除して標準化した指標と、出産前の母親の尿中に測定されたフタレート類のモノエステル代謝物 9 物質の濃度との相関関係を回帰分析した試験では、モノ-n-ブチルフタレート等について負の相関が見られたが、DEHP の代謝物である MEHP、代謝物 VI、IX との相関は見られなかったことが報告されている (参照 140)。正常に妊娠した 283 人の母親を対象に、出産の平均 12.2 週間前に採取した尿中の DEHP 代謝物濃度と妊娠期間との関連を調べたアメリカのコホート研究では、DEHP 代謝物濃度が 75 パーセンタイルの群の妊娠期間は 25 パーセンタイルの群に比べて約 2 日長い

こと、尿中の MEHP 及び代謝物VIの濃度は帝王切開の増加、41 週以降での出産の増加、早産の減少と関連することが報告された (参照 141)。また、不妊を調べるために精液の検査に訪れた男性 379 人において、尿中の MEHP 濃度と精子の DNA 損傷の間に相関関係が見られたとするアメリカの報告 (参照 142)、不妊症の疑いがあり病院を受診したカップルの男性 425 人の尿中 MEHP 濃度と血中のテストステロン、エストラジール濃度との間に逆相関が見られたとの報告 (参照 143) がある。一方、不妊症の疑いがある男性 463 人の尿中の DEHP 代謝物 (MEHP、代謝物VI及びIX) 濃度と精子の濃度、運動性、形態との間には相関関係は見られなかったとの報告もある (参照 144)。

不妊症の疑いがあり病院を受診したカップルの男性 408 人について尿中の DEHP 代謝物、血液中の甲状腺ホルモン及び甲状腺刺激ホルモン (TSH) を測定し、関連を統計解析したアメリカの試験では、血中の遊離チロキシン (T4)、トリヨードチロニン (T3) 濃度と尿中 MEHP 濃度との間に逆相関関係 (ただし甲状腺ホルモン濃度はある時点でプラトーに達するため、直線関係ではない) が見られることが報告されている (参照 145)。

さらに、精液中の DEHP 濃度を測定して生殖影響との関連を調べたインドの疫学研究では、産婦人科を訪れた男性 300 人を妻の妊娠状況や受胎障害の診断に基づき受胎可能群 (100 人) と不妊群 (200 人) に分け、精液中の DEHP 濃度及び精子の状態を調べた結果、DEHP 濃度は不妊群で高く、精子の濃度及び運動性とは負の相関、精子の活性酸素種、DNA 断片化等とは正の相関関係にあることが報告されている (参照 146)。

この他、子宮内膜症があり不妊の女性 49 人 (症例) と年齢、体格をマッチングさせた対照 2 群、すなわち子宮内膜症以外の婦人科疾患があり不妊の女性 38 人 (対照 I) 及び子宮内膜症他の婦人科疾患がなく妊娠可能なことが判明している女性 21 人 (対照 II) から血液を採取し、フタレート類の濃度を調査する症例対照研究がインドで行われており、対照 I 群 (0.50 µg/mL) 及び対照 II 群 (0.45 µg/mL) に比べて症例群 (2.44 µg/mL) の DEHP 濃度が高く ($p < 0.0014$)、子宮内膜症の重症度と血中 DEHP 濃度に相関関係が見られた ($r = 0.44$) ことが報告されている (参照 147)。一方、子宮線維症で外科的閉経手術を受けた女性 15 人 (症例) と健康な女性 20 人 (対照) とで血清中 DEHP、MEHP 濃度を比較した結果、症例群の血清中 DEHP、MEHP 濃度は対照群に比べて低かった ($p < 0.004$) との報告もある (参照 148)。

なお、動物で DEHP 曝露による肝臓影響への関与が疑われているペルオキシソーム増殖について、EU (参照 5) は、ヒトでは DEHP 曝露とペルオキシソーム増殖の関連についてのデータは得られていないが、ペルオキシソーム増殖因子 (脂質低下薬等) を用いた試験においてヒトのペルオキシソーム増殖に対する感受性が示唆されなかったことに触れている。

2. 国際機関等の評価

(1) International Agency for Research on Cancer (IARC) (参照 6)

グループ 3：ヒトに対する発がん性に関して分類できない (not classifiable as to its carcinogenicity to humans)

フタル酸ジ-2-エチルヘキシル (DEHP) は、実験動物に対する発がん性の証拠は十分であるがヒトに対する発がん性の証拠は不十分である。

DEHP のヒトでの発がん性データとしては、DEHP 製造工場労働者についての小規模な研究が 1 つあるが、過剰発がんリスクを検出するには不備の多い研究であった。この試験では過剰がん死亡は認められなかった。

マウス、ラットを用いた混餌投与による発がん性試験では、肝細胞腫瘍が両方の種において一貫して生じた。肝臓に癌を生じやすいマウスを用いた initiation/promotion 試験において、DEHP は肝細胞腫瘍の発生頻度を上昇させたが、ラット及びハムスターでは一般的にプロモーション作用は見られず、イニシエーション作用はマウス、ラットどちらの肝臓でもみられなかった。

IARC は、ヒトに対する DEHP の発がん性を総合的に判定するにあたり、次のような事柄を考慮した： (a) DEHP はペルオキシソーム増殖等の非 DNA 反応性のメカニズムにより、ラット及びマウスにおいて肝腫瘍を生じる； (b) ラット及びマウスを用いた DEHP の発がん性試験の条件下でペルオキシソーム増殖及び肝細胞増殖は証明されている；及び (c) ヒト培養肝細胞の DEHP 曝露でも、DEHP に曝露されたヒト以外の霊長類の肝臓においても、ペルオキシソーム増殖は報告されていない。それ故、DEHP がラット及びマウスにおいて肝細胞腫瘍の発生頻度を上昇させるメカニズムは、ヒトには当てはまらない。

(2) Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) (参照 4)

DEHP によりラットで生じる精巣萎縮は年齢に依存した反応であり、若いラットはより感受性が高い。雄成熟ラットでの精巣の損傷は、DEHP と共にテストステロンを投与すると予防されるようである。DEHP の代謝物質の 1 つである MEHP が、ラットを用いた *in vivo* 及び *in vitro* 試験で精巣に影響を及ぼす活性代謝物質のようである。

DEHP 等のフタル酸エステル類によるラット、マウスでの肝発がんの前には、肝細胞ペルオキシソームが増殖する。ペルオキシソーム増殖機構については多くの示唆があるが、未だ解明されていない。

JECFA (参照 4) は入手可能な全情報をレビューした結果、毒性学的に許容される代替りの可塑剤、あるいは DEHP 含有プラスチック材の代替品の使用により、人の食品経路の DEHP への曝露を可能な限り低いレベルまで削減すべきであることを、繰り返して勧告する。

(3) WHO 飲料水水質ガイドライン 第 3 版 (参照 8) および第 3 版根拠文書 (参照 9)

経口急性毒性は低い。短期毒性試験で見られる最も顕著な影響は、ペルオキシソームの酵素活性の増加と病理組織学的変化によって示される、肝臓のペルオキシソ

ームの増加である。得られている情報から、この増加に対する感受性はヒトを含む霊長類ではげっ歯類より低いことが示されている。長期経口発がん性試験では、ラット及びマウスで肝細胞癌が認められた。DEHP とその代謝物質は、様々な *in vitro* 及び *in vivo* 試験において、染色体異数性及び細胞形質転換誘発以外の遺伝毒性の証拠を示していない。

遺伝毒性の証拠がなく、肝細胞癌発症と肝ペルオキシソームの持続的な増殖との関連が示唆されていることから、ラット肝臓におけるペルオキシソーム増殖を調べた試験 (参照 38) で得られた最小の NOAEL 2.5 mg/kg 体重/日に基づき、種差及び個人差に対する不確実係数として 100 を用いると、TDI として 25 µg/kg 体重が得られる。成人の体重を 60 kg、1 日当たりの飲水量を 2 L、TDI の飲料水に対する配分率を 1% とすると、ガイドライン値は 0.008 mg/L となる。検出限界は GC/MS (ガスクロマトグラフィ/質量分析法) により 0.1 µg/L。

(4) 米国環境保護庁 (US EPA)

Integrated Risk Information System (IRIS) (参照 3)

EPA/IRISでは、化学物質の評価を、TDIに相当する経口参照用量 (経口RfD) として慢性非発がん性の情報を提供している。また、もう一方で、発がん影響について、発がん性分類についての情報を提供し、必要に応じて、経口曝露によるリスクについての情報を提供している。

① 経口 RfD

EPA/IRIS による経口 RfD 算出 (参照 3)

臨界影響	用量	不確実 係数 (UF)	修正係 数 (MF)	参照用量 (RfD)
肝臓相対重量の増加 モルモット亜慢性～慢性	NOAEL: なし			
経口試験 (参照 48)	LOAEL: 飼料中濃度 0.04% (19 mg/kg 体重/日)	1,000*	1	2×10 ⁻² mg/kg 体重/ 日

* 10 (種差) × 10 (高感受性ヒト集団保護のため) × 10 (モルモットの曝露期間は亜慢性試験より長いが生涯より短かったことと、認められた影響が最小の有害性と考えられることを合わせて)

② 発がん性

a. 発がん性分類

EPA は、DEHP を経口投与された雌雄のラット及びマウスにおいて有意な、かつ用量依存的な肝腫瘍の増加が見られたことから、DEHP をグループ B2 (ヒトに対しておそらく発がん性あり : probable human carcinogen) に分類した。

- ・ヒトでの発がん性データ

DEHP 製造労働者の死亡率研究 (参照 136、137) があるが、曝露濃度が明らかでないなど、因果関係の立証には不十分である。

- ・動物での発がん性データ

NTP (参照 45) の試験等で十分な証拠 (ラット及びマウスの雌雄で肝腫瘍を有意かつ用量依存的に増加させる) が得られている。

b. 経口曝露によるリスク評価

EPA は、NTP (参照 45) による雄 B6C3F₁ 系マウスの DEHP 混餌投与¹³試験における肝細胞癌及び腺腫に基づき用量-反応評価を行った。経口傾斜係数は 1.4×10^{-2} (mg/kg 体重/日)⁻¹ と算出された¹⁴。この値に基づき、成人体重を 70 kg、一日の飲水量を 2 L と仮定して、飲料水ユニットリスクを算出したところ、 4.0×10^{-7} となる¹⁵。また、この値に基づき、摂取したときに一定の発がんリスクレベルとなる飲料水中の濃度を算出すると、下表のようになる。

- ・経口傾斜係数 (Oral Slope Factor) : 1.4×10^{-2} (mg/kg 体重/日)⁻¹
- ・飲料水ユニットリスク : 4.0×10^{-7} (µg/L)⁻¹
- ・リスクレベルと飲料水中濃度 (外挿法: 線形多段階法、過剰リスク)

リスクレベル	濃度
10^{-4} (1/10,000)	300 µg/L
10^{-5} (1/100,000)	30 µg/L
10^{-6} (1/1,000,000)	3 µg/L

(5) 我が国における水質基準の見直しの際の評価 (参照 1)

DEHP は IARC (2000) では Group 3 (ヒト発がん性物質として分類できない) に分類されている。現行の設定値は、Morton (1979) の 7 日間混餌投与実験の無毒性量 2.5 mg/kg/day、不確実係数 100 を用いて TDI を 250 µg/kg/day¹⁶ と設定して算出された。げっ歯類に特有に認められるペルオキシソーム増殖作用に起因する変化を無毒性量設定の根拠としていることから、この値から TDI を設定することは不適切である。

比較的低い投与量域での生殖発生毒性が二つの生殖発生毒性試験に関する論文 (Lamb et al., 1987; Tyl et al., 1988) において明確な LOAEL 及び NOAEL が記載されている。示されている¹⁷。Lamb et al. (1987) は雌雄の CD-1 マウスに 0.01, 0.1, 0.3% の DEHP を含む飼料を与えて交配実験を行ったところ、0.1% 投与群で出産回数、母体当たりの出產生児数及び生児出産率の低下を認めたことから、LOAEL

¹³ 測定された摂餌量には実際に摂餌された量の他に廃棄やこぼれたものがかかり含まれていたため、餌中濃度からの換算の際、標準的な摂餌量の 13% マウス体重を用いた。

¹⁴ [体重^{0.75}] を用いてマウスからヒト等量 (HED) へ変換したデータを用い、ベンチマークドース法で多段階モデルを用いて BMDL₁₀ を推定し、この値から直線外挿法により過剰発がんリスクを推定したと考えられる。

¹⁵ この試験では雌雄のマウス、ラットが用いられており、雄マウス以外でも肝腫瘍の増加が認められている。雌マウスの SF; 1.02×10^{-2} mg/kg 体重/日、雄ラットの SF; 3.2×10^{-3} mg/kg 体重/日、雌ラットの SF; 4.5×10^{-3} mg/kg 体重/日。

¹⁶ 計算からは 25 µg/kg/day の誤りと思われる。

¹⁷ 「示されている」は前の文と重複しており、誤記と思われる。

は 144 mg/kg/day (0.1 %)、NOAEL は 14 mg/kg/day (0.01%) としている。また、Tyl ら (1988) は、CD-1 マウスの妊娠 0-17 日に 0.025, 0.05, 0.1, 0.15% の DEHP を含む飼料を与えたとき、0.05% (91 mg/kg/day) 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/day (0.05%)、NOAEL は 44 mg/kg/day (0.025%) としている。

Poon et al. (1997) は雌雄各 10 匹の SD 系ラット (体重 105-130 g) に 5, 50, 500, 5000 ppm の DEHP を含む飼料を 13 週間与えたところ、500 ppm 以上の投与量で雄ラットにおいて精巣セルトリ細胞空砲化¹⁸の発生頻度が増加することから、LOAEL は 37.6 mg/kg/day (500 ppm)、NOEL は 3.7 mg/kg/day (50 ppm) としている。

生殖発生有害影響を指標とすると、Lamb ら (1987) の結果から NOAEL は 14 mg/kg/day となり、また、精巣の病理組織学的変化を指標としたときの NOAEL は Poon ら (1997) の結果から 3.7 mg/kg/day となる。これらの値に不確実係数 100 (種差: 10、個体差: 10) を用い、当面の TDI が 40-140 µg/kg/day と設定された (厚生省、2000)。

TDI 40 µg/kg/day を基に、DEHP の主要摂取経路は食品である (Kavlock et al., 2002) ことから寄与率を 10%、ヒトの 1 日摂水量を 2 L とし、評価値を $40 \mu\text{g}/\text{kg} \times 50 \text{ kg} \times 0.1 \div 2\text{L} = 100 \mu\text{g}/\text{L}$ とすることが妥当と考えられる。

¹⁸ 「空胞変性」の誤記と思われる。

3. 曝露状況

DEHP の主要摂取経路は食品である (参照 1、149)。

食品包装材中の最低 DEHP 濃度は、プラスチック材を可塑化する DEHP の効果に左右されると言われている。技術的に最適な DEHP 濃度は、プラスチック材の重量の 20~50% の範囲内である。食品への DEHP の移行濃度は、包装材中の DEHP 濃度や、食品の組成及び包装された食品の加工・保存時の時間や温度といった因子に影響される。DEHP は脂質への溶解性が極めて高いことから、いくつかの国では、DEHP を含む包装材は水の含有量の高い食品 (油が多くない食品) に限って使用されている (参照 4)。

平成 19 年度水道統計 (参照 150) におけるフタル酸ジ (2-エチルヘキシル) の水道水の検出状況 (表 50) は、原水において、最高検出値は、水道法水質管理目標値 (0.1 mg/L) の 20% 超過~30% 以下で 1 箇所見られ、また 10% 超過~20% 以下が 2 箇所に見られたが、それ以外 (1,460/1,463 地点) はすべて水質管理目標値の 10% 以下であった。一方、浄水においては、最高検出値は、水質管理目標値の 10% 超過~20% 以下で 3 箇所みられたが、それ以外 (1,425/1,428 地点) は全て、水質管理目標値の 10% 以下であった。

表 50 水道水 (原水・浄水) での検出状況 (参照 150)

浄水 ／ 原水 の別	水源種別	測定 地点数	基準値に対する度数分布表											
			10%以下	10%超過 20%以下	20%超過 30%以下	30%超過 40%以下	40%超過 50%以下	50%超過 60%以下	60%超過 70%以下	70%超過 80%以下	80%超過 90%以下	90%超過 100%以下	100%超過	
			~0.010 mg/L	~0.020 mg/L	~0.030 mg/L	~0.040 mg/L	~0.050 mg/L	~0.060 mg/L	~0.070 mg/L	~0.080 mg/L	~0.090 mg/L	~0.100 mg/L	0.101~ mg/L	
原水	全体	1,463	1,460	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	表流水	460	458	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	ダム湖沼	167	167	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	地下水	691	690	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	その他	145	145	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
浄水	全体	1,428	1,425	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	表流水	307	307	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	ダム湖沼	107	107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	地下水	708	707	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	その他	306	304	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

(平成19年度調査結果)

Ⅲ. 調査結果のまとめ

ヒトにおいては、飲料水を介した DEHP 曝露の影響に関する研究は行われていない。DEHP はラットやマウスに生殖発生毒性を示すことから、DEHP 曝露とホルモンレベルや生殖器官等への影響を調べる疫学調査が行われている。尿や血中の DEHP の代謝物 (MEHP) 濃度とこれらのエンドポイントとの関連を示唆する結果も得られているが、全体として数が少なく、用量反応関係を明らかにできるようなものはない。

DEHP は原核生物に対する突然変異試験では陰性であり、哺乳類細胞を用いた遺伝毒性試験でも、形質転換試験以外は陰性である。*in vivo* の遺伝毒性試験では陰性と陽性が混交しているが、総合的にみると、DEHP は変異原ではないと考えられる。DEHP のヒトに対する発がん性については、労働環境からの経気道曝露と発がんの関係を調べた研究が存在するが、対象が少なく、有用なデータとはいえない。DEHP はラットおよびマウスに肝癌を誘導することが示されており、IARC は DEHP の実験動物に対する発がん性の証拠は十分であるとしている。しかし DEHP は、ペルオキシソーム増殖等の非 DNA 反応性のメカニズムにより肝腫瘍を生じるが、ヒトにおいては DEHP 曝露によりペルオキシソーム増殖を生じないと考えられるため、IARC は DEHP のヒトに対する発がん性について、分類できない (グループ 3) としている。

以上のことから、DEHP については耐容一日摂取量 (TDI) を試算することが適切であると判断される。

DEHP は低濃度でラットに精巣毒性、生殖発生毒性を示すことが知られている。精巣毒性については Poon ら (参照 40) が、SD 系ラット (雌雄、各投与群 10 匹) における DEHP (0、5、50、500、5,000 ppm) の 13 週間混餌投与試験において、500 ppm 以上の投与群雄ラットで精巣セルトリ細胞空胞変性の発生頻度が増加することから、LOAEL を 37.6 mg/kg 体重/日 (500 ppm)、NOAEL を 3.7 mg/kg 体重/日 (50 ppm) としている。

生殖発生毒性については、妊娠中から授乳期にわたり DEHP 曝露を受けた児ラットの生殖系への影響を調べたいくつかの研究で、低濃度での影響が報告されている。Wolfe ら (参照 111) は三世代生殖発生毒性試験において、F₁ の 14 mg/kg 体重/日投与群で精巣形成不全、精細管委縮を報告しており、EU (参照 5) によりこの試験の NOAEL は 4.8 mg/kg 体重/日であると判断されている。Gray ら (参照 106) は、SD 系ラット (各投与群 13~14 匹) に DEHP (11、33、100、300 mg/kg 体重/日) を妊娠 8 日から授乳 17 日まで、あるいは生後 65 日まで強制経口投与し、11 mg/kg 体重/日以上投与群で精巣上体や精巣の変性等、何らかの生殖影響を有する雄児動物の割合が増加することを報告している。さらに、Andrade 及び Grande のグループは、Wistar 系ラット (雌、各投与群 11~16 匹) に DEHP (0、0.015、0.045、0.135、0.405、1.215、5、15、45、135、405 mg/kg 体重/日) を妊娠 6 日~授乳 21 日まで強制経口投与して児動物への影響を調べた一連の研究で、低濃度での影響を報告している。Andrade ら (参照 101) は 144±7 日齢の雄児ラットで、15 mg/kg 体重/日以上投与群で精子産生が対照群に比べて 19~25%減少し、停留精巣が 5、135、405 mg/kg 体重/日投与群で各 1 例見られたことから、NOAEL を 1.215 mg/kg 体重/日としている。また、雄の幼若ラットへの影響について、15 mg/kg 体重/日以上投与群で包皮分離遅

延が見られ、5～135 mg/kg 体重/日投与群で 22 日齢における精巣重量が有意に増加していたことから、NOAEL を 1.215 mg/kg 体重/日としている (参照 102)。また、Grande ら (参照 100) は 15 mg/kg 体重/日以上投与群の雌ラットで膣開口の遅延が有意に見られることから NOAEL を 5 mg/kg 体重/日としている。

以上をまとめると、精巣の病理組織学的変化を指標としたときの NOAEL は 3.7 mg/kg 体重/日となり、生殖発生への有害影響を指標とすると、Andrade ら (参照 101、102) の結果から NOAEL は 1.215 mg/kg 体重/日となる。

最も低い NOAEL である雄児動物の生殖発生への有害影響を指標としたときの 1.215 mg/kg 体重/日に、種差に関する不確実係数 10、個人差に関する不確実係数 10 を適用し、DEHP の耐容一日摂取量 (TDI) を 0.012 mg/kg 体重/日と試算した。

表 51 各試験における NOAEL 等

番号	動物種・ 系統・ 性・ 動物数/群	試験種	用量 (mg/kg 体重/ 日)	エンドポイント	NOAEL (mg/kg 体重/日)	LOAEL (mg/kg 体重/日)
1	ラット SD 系	7 日間混 餌投与	0、2.5、5、25 (0、 50、100、500 mg/kg 餌)	ペルオキシソーム増殖 (5-) 血清トリグリセリド低下 (2.5-)	2.5[A]	5[A]
2	ラット SD 系 雌 10	4 週間経 口投与 (2 週間試験 も実施)	0、300、1,000、 3,000 mg/kg	肝重量増加、肝臓肥大、肝細胞肥 大、近位尿細管の好酸性変化 (300 mg/kg-) 副腎球状帯細胞空胞変性 (1,000 mg/kg-) 体重減少、肝細胞壊死、副腎束状 帯細胞肥大、腎臓の退色、拡張、 腎盂の拡張、移行上皮過形成、下 垂体重量減少、好酸性顆粒減少 (3,000 mg/kg)		300 mg/kg
3	ラット SD 系 雌雄 10	13 週間混 餌投与	雄: 0、0.4、3.7、 37.6、375.2 雌: 0、0.4、4.2、 42.2、419.3 (0、5、50、500、 5,000 ppm)	肝肥大、ペルオキシソーム増殖 甲状腺濾胞縮小、コロイド密度低下 (雄 375.2、雌 419.3) 赤血球数・Hb の減少、血清アルブ ミン・カリウム増加、血清アミトランスフェラーゼ 減少 (375.2)	37.6[T、U]	375[T]
4	ラット Wistar 系 雌雄 4	3 日～9 か月間混 餌投与	0、50、200、1,000	ペルオキシソーム増殖(14 日間以上 50-) 肝細胞肥大 G6Pase 活性低下(28 日間以上 200-) 肝リソソーム蓄積増加(9 か月間以上 200-)		50[T、U]
5	カニクイ ザル 2 歳未満	14 日間強 制経口投 与	0、500	肝臓・腎臓・精巣、血液・生化学 検査結果への影響なし	500[T]	
6	マーモセ ット 雌雄 4	13 週間強 制経口投 与	0、100、500、 2,500	肝臓・腎臓・膵臓等への影響なし	2,500[T]	
7	マウス B6C3F ₁ 系 雌雄 50	103 週間 混餌投与	雄: 0、672、1,325 雌: 0、799、1,821 (0、3,000、6,000 ppm)	肝腫瘍増加(雄 672-、雌 799-) 腎臓の慢性炎症増加 (1,325)	非腫瘍性変 化: 672 [T]	非腫瘍性変 化: 1,325[T] (腎臓) 腫瘍性変 化: 672[T] (肝臓)、 670[U]
8	マウス B6C3F ₁ 系 雌雄 60-70	104 週間 混餌投与	雄:0、19.2、98.5、 292.2、1,266.1 雌:0、23.8、116.8、 354.2、1,458.2 (100、500、1,500、 6,000 ppm)	腎重量低下(雄 98.5-、雌 1,458.2)、 慢性進行性腎症の増加 (雄 292.2-、雌 354.2-) 肝ペルオキシソーム酵素活性増大(雄 98.5-、雌 116.8-)、肝腫瘍増加(雄 98.5-、雌 354.2-)	非腫瘍性変 化 : 98.5~116. 8 [A]、 117[T] (肝 臓、腎臓)、 19[U] 腫瘍性変 化 : 98[U]	非腫瘍性変 化 : 98[U]、 292[T] (肝 臓)・354[T] (腎臓) 腫瘍性変 化 : 292[U]、 292 ~ 354[T]

フタル酸ジ (2-エチルヘキシル)

9	ラット Sherman系 雌雄 32	2年間混 餌投与	0、20、60、190 ~200 (0、0.04、 0.13、0.4%)	成長の遅れ、肝・腎重量増加(190) ただし対照群の高死亡率により 信頼性が低い	60[T] (肝 臓)	190[T] (肝 臓)
10	ラット SD系 雄	102週間 混餌投与	0、14、140、1,400 (0、0.02、0.2、 2%)	体重減少(2%) 肝薬物代謝酵素誘導(0.02%-)		140[T]
11	ラット F344系 雌雄 50	103週間 混餌投与	雄: 0、322、674 雌: 0、394、774 (0、6,000、12,000 ppm)	肝細胞癌・腫瘍結節の増加(雄 674、雌 394-)、肝癌増加(雌 774) 肝臓の明細胞性細胞巣 (雄 322-、 雌 394-) 下垂体・甲状腺の腫瘍及び精巣間 細胞腫の減少、下垂体肥大増加 (674)		非腫瘍性変 化: 322[T] (肝臓) 腫瘍性変 化: 322[T] (肝臓)、 320[U]
12	ラット F344系 雌雄 50-80	104週間 混餌投与	雄: 0、5.8、28.9、 146.6、789 雌: 0、7.3、36.1、 181.7、938.5 (0、100、500、 2,500、12,500 ppm)	体重低下、摂餌量低下(雄 789、 雌 938.5) 肝重量増加(雄 146.6-、雌 181.7-) 腎重量増加(雄 146.6-) 肝ペロキシソームの酵素活性増大(雄 146.6-、雌 181.7-)	36[T] (肝 臓、腎臓) 28.9 ~ 36.1[U] (非 腫瘍性変 化)	147 [T] (肝 臓、腎臓) 146.6 ~ 181.7[U] (非腫瘍性 変化)
13	ラット SD系 雄 60-180	159週間 混餌投与	0、30、95、300	肝・精巣腫瘍の増加(300)、精細管 萎縮増加(300)	腫瘍性変 化: 95[A] (肝臓)	
14	モルモット 雌雄 22-24	1年間混 餌投与	0、19、64 (0、0.04、 0.13%)	肝重量増加 (雌 19-)		19[E]
神 15	ラット F344系 雌 8	単回、14 日間強制 経口投与	単回: 0、150、 500、1,500、5,000 14日間: 0、50、 150、500、1,500	機能観察総合評価 (FOB)、自 発運動測定で神経行動学的影響 なし	単回: >5,000 14日間: >1,500	
生 16	マウス B6C3F ₁ 系 雌雄 50	103週間 混餌投与	雄: 0、672、1,325 雌: 0、799、1,821 (0、3,000、6,000 ppm)	精細管変性増加(1,325)	672[T]	1,325[T]
17	マウス B6C3F ₁ 系 雌雄 60-70	104週間 混餌投与	雄: 0、19.2、98.5、 292.2、1,266.1 雌: 0、23.8、116.8、 354.2、1,458.2 (0、100、500、 1,500、6,000 ppm)	精巣重量減少 (98.5-) 精液過少症 (1266.1) 子宮重量減少 (1,458.2)	98.5[T、U]	292[T]
18	マウス CD-1系	交配前 7 日間+98 日間混餌 投与	0、14、140、420 (0、0.01、0.1、 0.3%)	妊娠なし(420) 出産率・生存児数・生児出生率・ 出生児体重の低下(140) 高用量曝露雌(420)と対照雄の交 配: 妊娠不成立 高用量曝露雄(420)と対照雌の交 配: 受精率・生児出生率・出生児 体重の低下	14[M、T] 20[U] (児 動物)、 600[U] (母 動物)	144[M]、 140[T]

フタル酸ジ (2-エチルヘキシル)

19	マウス CD-1系 雌 24・30	妊娠 0～ 17日混餌 投与	0、44、91、191、 292 (0、0.025、0.05、 0.10、0.15%)	母動物体重減少(191-) 胎児外表奇形増加(91-) 胚吸収・死亡胎児増加、生存胎児 数・生存胎児体重低下(191-)	NOEL: 44 [A]、44[U、 T] (児動物) 91[U] (母 動物)	91[T]
20	マウス ICR系 雌	妊娠 0～ 18日混餌 投与	0、70、190、400、 830、2,200 (0、0.05、0.1、0.2、 0.4、1.0%)	胎児死亡率増加(190-) 胎児体重減少(400-)、生存胎児で の奇形増加(400)	70 [A] (児動物)、 83[T]	170[T]
21	マウス C57BL/ 6系 雌 10	妊娠 12～ 17日強制 経口投与	0、100、200、500	雄児動物の AGD 短縮、尿道下裂 増加 (100-)		100
22	マウス CD-1系 雄雌 10 マウス CD-1系 雄雌 10	交配前 4 週～F ₁ 9 週齢まで 混餌投与	F ₀ 平均用量: 雄: 0、15.59、 46.53、142.08 雌: 0、19.86、 56.23、168.17 (0、0.01、0.03、 0.09%)	出産児数、出生児の体重・性比に 影響なし	雄 142.08 雌 168.17	
23			C(対照群):0 T(投与群):42～ 171(0.03%)	14日齢の雌(T/T)体重減少。 出産児数、出生児の体重・性比に 影響なし		
24	マウス CD-1系 雌 28・29	F ₀ 妊娠 0 ～17日混 餌投与 F ₂ 出生ま で観察	0、19、48、95 (0、0.01、0.025、 0.05%)	出産 4～7 日後の体重減少傾向以 外に母動物への影響なし 生後 1～4 日 F ₁ 死亡率増加・F ₁ 雌 体重減少(95)	48[T] NOEL: 48[A] (母 動物・児動 物を併せ て)	95[T]
25	ラット SD系 雄 5	3日齢単 回強制経 口投与	0、20、100、200、 500	精巣での異常生殖細胞出現、精巣 セルリ細胞の増殖抑制(100-)	20[T、U]	100[T]
26	ラット SD系 雄 7・10	1、2、3、 6、12 週 齢～5日 間強制経 口投与	0、10、100、1,000、 2,000	死亡(1-3 週齢 2,000) 精巣重量低下(1-6 週齢 1,000)、セ ルリ細胞数減少(1 週齢 1,000)、精 母細胞消失(2-3 週齢 1,000、6-12 週齢 1,000-)、精子細胞消失(6-12 週齢 1,000-) 1 週齢から曝露動物の生殖影響 (受精率、着床数、胚吸収数)なし	100[T]	1,000[T]
27	ラット SD系 雌 10	10日間強 制経口投 与	0、500	血中エストロゲン・プロゲステロン減少、 血中 LH 増加傾向		500
29	ラット SD系 雌 42	1～12日 間強制経 口投与	0、2,000	発情周期の延長、血清エストロゲン 低下・血清 FSH 上昇による LH サ ージ消失に伴う無排卵		2,000[T]
30	ラット SD系 雌 10	2回/週で 26週間経 口投与	0、1,400	血清エストロゲン・FSH 減少、下垂 体の FSH・LH 減少、性周期異常 (発情休止期延長)		

フタル酸ジ (2-エチルヘキシル)

31	ラット SD系 雌10	2週間、4 週間経口 投与	0、300、1,000、 3,000 mg/kg	卵巣間質細胞空胞変性 (300 mg/kg ⁻)、大きな閉鎖卵胞の増 加 (1,000 mg/kg ⁻)、体重減少、 不規則な性周期の増加、性周期延 長、卵巣重量減少、子宮萎縮、黄 体減少、薄い膈上皮 (4週間; 3,000 mg/kg)		300 mg/kg
32	ラット SD系 雌10	交配2週 間前～妊 娠7日経 口投与	0、300、1,000、 3,000 mg/kg	性周期延長 (300 mg/kg ⁻) 体重減少 (1,000 mg/kg ⁻) 不規則な性周期、妊娠率の低下 (3,000 mg/kg ⁻)		3,000 mg/kg
33	ラット LE系 雄7	14日間 (21、35 日齢～) 28日間 (21、62 日齢～) 強制経口 投与	0、1、10、100、 200	14日間曝露：ライディッチ細胞の 17β-HSD活性低下 (35日齢～の み; 10 ⁻)、テストステロン合成阻害 (10 ⁻) 28日間曝露：ライディッチ細胞のテスト ステロン産生能、血清 LH・テストステロン 増加 (21日齢～のみ; 10 ⁻)	NOEL: 1 [A]	LOEL: 10 [A] 100[U] (非 常に若いラ ット)
34	ラット LE系 雌7	妊娠12～ 21日、授 乳1～21 日強制経 口投与	0、100	妊娠期曝露：21日齢で血清テス トステロン及びLH低下 授乳期曝露：21日齢で血清テス トステロン低下		
35	ラット LE系 雄10	28日間強 制経口投 与	0、10、500、750	体重増加、精細管重量増加、血清 テストステロン濃度増加、包皮分 離の早期完了 (10) 体重減少、精巣重量減少、前立腺 重量減少、血清テストステロン濃 度減少、包皮分離の遅延 (750)		
36	ラット SD系 雌雄10	13週間混 餌投与	雄:0、0.4、3.7、 37.6、375.2 雌:0、0.4、4.2、 42.2、419.3 (0、5、50、500、 5,000 ppm)	軽度のセルリ細胞空胞変性(500-) 軽度～中等度の精細管萎縮 (5,000)	3.7[T、U、 M、A]	37.6[T、U]
37	ラット F344系 雌雄50	103週間 混餌投与	雄:0、322、674 雌:0、394、774 (0、6,000、12,000 ppm)	精巣間細胞腫の減少、精細管変性 増加(674)		322[T]
38	ラット F344系 雌雄 50-80	104週間 混餌投与	雄:0、5.8、28.9、 146.6、789 雌:0、7.3、36.1、 181.7、938.5 (0、100、500、 2,500、12,500 ppm)	無精子症の増加(28.9-) 精巣重量の減少、脳下垂体の去勢 細胞増加、精巣間細胞腫減少 (789)	5.8[T] 28.9[U]	29 [T]
39	ラット F344系 雌雄24	雄:交配前 60日間混 餌投与 雌:無曝露	0、18、69、284、 1,156	精巣・精巣上体・前立腺の重量の 低下(284-) 1腹あたり出生児数減少(1,156) 受精、出生児体重、胎児死亡率、 出生児成長率への影響なし	69[U]	

フタル酸ジ (2-エチルヘキシル)

40	ラット F344系 雌 22-25	妊娠 0～ 20 日混餌 投与	0、357、666、856、 1,055 (0、0.5、1.0、1.5、 2.0%)	母動物；肝重量増加(357-)、体重 増加抑制(666-) 胎児；用量依存的な胚吸収・死亡 胎児増加(有意差は 1,055 のみ)、 体重減少(666-)	357 [A、T、 U] (児動 物)、 357[U] (母動物)	666[T]
41	ラット LE系 雌 6-9	妊娠 2～ 20 日強制 経口投与	0、10、100、750	精巣テストステロン濃度増加、 KITL・IGF-1 転写増加 (10) ライディッヒ細胞集筏の増加 (10-) 精巣重量減少、ライディッヒ細胞 の数・体積減少 (100-) 精巣テストステロン濃度減少、 LIF 転写増加、INSL3・KITL 転 写減少、AGD 短縮 (750)		
42	ラット Wistar 系 雌 9-10	妊娠 6～ 15 日強制 経口投与	0、40、200、1,000	母動物；肝・腎重量増加、子宮重 量減少(1,000) 児動物；生存胎児数減少、胎児体 重減少、骨格・軟組織の変異増加、 奇形増加、骨化遅延増加(1,000)	200[T、U] (児動物) 200[U] (母 動物)	1,000[T] (児動物)
43	ラット SD系 雌 8	妊娠 11～ 21 日強制 経口投与	0、10、100、500	精子の運動性減少 (10-) 精子の濃度・生存率減少 (10、 500) AGD 短縮 (100)		10
44	ラット LE系	妊娠 1 日 ～出生後 21 日飲水 投与	約 0、3.0～3.5、 30～35 (0、32.5、325 µg/L)	児動物の精巣重量低下、精細管組 織異常(3.0-)、セルリ細胞空胞変性 (30-)		3.5 [U]
45	ラット SD系 雌 6-8	妊娠 3 日 ～出生後 21 日強制 経口投与	0、375、750、 1,500	(雄児動物のみ影響あり) AGD 短縮、停留精巣増加(750-) 乳輪/乳頭残留増加(375-) 包皮分離不全増加(1,500) 精巣/精巣上部/前立腺等重量低 下、前立腺/精囊形成不全、精子 数減少、精巣/精巣上部/亀頭奇形、 生殖行動異常		375 [T、U]
46	ラット Wistar 系 雌 11-16	妊娠 6 日 ～授乳 21 日強制経 口投与	0、0.015、0.045、 0.135、0.405、 1.215、5、15、45、 135、405	雌児動物；三次閉鎖卵胞増加 (405)		
47				雌児動物； 膣開口の遅延(15-) 1 日齢の肝重量増加 (135-)	5[A]	15
48				雄児動物； 血清テストステロン濃度増加 (0.045、0.405、405) 精子産生量減少 (15-) 停留精巣 (5、135、405) 精細管重量減少 (405)	1.215[A]	5

49				雄成熟動物； 包皮分離遅延 (15-) 22 日齢の精巣重量増加 (5-135) 1 日齢で複数核の精原細胞出現・精原細胞変性、22 日例で分化した生殖細胞減少 (135-) 13 日齢で乳頭残留、22 日齢の AGD 短縮 (405)	1.215[A]	5
50	ラット SD 系 雌 13-14	妊娠 8 日～授乳 17 日あるいは生後 65 日齢強制経口投与	0、11、33、100、300	雄児動物及び雄成熟動物； 乳頭残留、精巣上体や精巣の変性等の何らかの生殖影響を有する割合の増加 (11-) AGD 短縮、乳頭残留増加、精子数減少、生殖器 (前立腺、精細管、LABC、精巣上体等) 重量減少		11
51	ラット Wistar 系 雌雄 25	F ₀ ；交配 73 日以上前から離乳まで混餌投与	0、113、340、1,088 (0、1,000、3,000、9,000 ppm)	脾臓重量減少 (113-) 胸腺重量減少 (雄；340-、雌；1,088) 体重減少 (1,088)		113[U]
52	ラット F344 系 雌 19-23	F ₀ 妊娠 0～20 日混餌投与 F ₂ 出生まで観察	0、164、313、573 (0、0.25、0.5、1.0%)	母動物；摂餌量低下(313-)体重増加抑制 (573) F ₁ ；出生前死亡率増加(313-) 1 日齢の体重減少(573)	164[T] (見動物) NOEL: 164[A] (母動物・見動物を併せて)	313[T] (見動物)
53	ラット SD 系 雌雄 17	F ₀ 交配 10 週間前～混餌投与 F ₃ 出生まで観察	F ₀ :0.12、0.78、2.4、7.9、23、77、592、775 F ₁ :0.09、0.48、1.4、4.9、14、48、391、543 F ₂ :0.1、0.47、1.4、4.8、14、46、359 0、100、500、2,500、1,000、7,500、10,000 ppm)	精巣毒性・発生毒性： 小さな精巣、精巣形成不全 (F ₁ 、F ₂ ；300 ppm-)、精細管萎縮 (F ₁ ；300 ppm-) 雄 AGD 短縮 (F ₁ ～F ₃ 雄；7,500 ppm-)、性成熟 (精巣下降、膈開口、包皮分離) 遅延 (F ₁ ～F ₃ ；7,500 ppm-)、出生児体重減少 (F ₂ ；7500 ppm-) 生殖毒性： 精子減少 (F ₁ ～F ₃ ；7,500 ppm-)、妊娠率低下 (F ₂ ；7500 ppm-)、同腹児減少 (F ₁ ；7500 ppm-)	4.8[U] (精巣、発生) 46[U] (生殖)	
54	マーモセット 雌雄 4	13 週間強制経口投与	0、100、500、2,500	精巣の重量・組織・亜鉛含量、血中テストステロン・エストラジオール・コレステロン濃度に変化なし	2,500[T]	
55	コモンマーモセット 雌雄 5-6	離乳直後～65 週間強制経口投与	0、100、500、2,500	雄：精巣、精子、血清テストステロン等への影響なし 雌：卵巣重量増加・大型黄体 (500-)、血清エストラジオール増加 (500)	2,500	

亜：亜急性毒性試験、慢：慢性毒性及び発がん性試験、神：神経毒性試験、免：免疫毒性試験、生：生殖・発生毒性試験

[A]：著者、[E]：US EPA/IRIS、[M]：厚生労働省、[T]：ATSDR、[U]：EU-RAR、[W]：WHO、無印：本報告

<参照>

- 1 厚生労働省. 水質基準の見直しにおける検討概要 平成 15 年 4 月、厚生科学審議会、生活環境水道部会、水質管理専門委員. 2003
- 2 World Health Organization (WHO) . Air Quality Guidelines for Europe, Second edition. 2000
- 3 US Environmental Protection Agency (EPA), Integrated Risk Information System (IRIS). Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP); CASRN 117-81-7. 1991,1993.
- 4 Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Bis (2-ethylhexyl), WHO Food Additives Series 24. 1988
- 5 European Chemicals Bureau (ECB). European Union Risk Assessment Report, CAS No. 117-81-7, bis(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP), volume 80. 2008
- 6 International Agency for Research on Cancer (IARC). Di(2-ethylhexyl)phthalate. In: IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 2000; vol.77: 41-148.
- 7 Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile for di (2-ethylhexyl) phthalate. 2002.
- 8 WHO. Guidelines for Drinking Water Quality, Third edition. 2004
- 9 WHO. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality, Di (2-ethylhexyl) phthalate in drinking-water. WHO/SDE/WSH/03.04/29. 2003.
- 10 Rhodes C, Orton TC, Pratt IS, Batten PL, Bratt H, Jackson SJ, Elcombe CR. Comparative pharmacokinetics and subacute toxicity of di (2-ethylhexyl) phthalate in rats and marmosets: Extrapolation of effects in rodents to man. Environmental Health Perspectives. 1986; 65: 299-307.
- 11 Astill BD. Metabolism of DEHP: Effects of prefeeding and dose variation, and comparative studies in rodents and the Cynomolgus monkey (CMS studies). Drug Metabolism Reviews. 1989; 21: 35-53.
- 12 Sjoberg P, Lindquist NG, Ploen L.. Age-dependent response of the rat testes to di (2-ethylhexyl) phthalate. Environmental Health Perspectives. 1986; 65: 237-242.
- 13 Sjöberg P, Bondesson U, Kjellen L, Lindquist NG, Montin G, Plöen L.. Kinetics of di (2-ethylhexyl) phthalate in immature and mature rats and effect on testis. Acta Pharmacologica et Toxicologica. 1985; 56: 30-37.
- 14 Dostal LA, Weaver RP, Schwetz BA. Transfer of di (2-ethylhexyl) phthalate through rat milk and effects on milk composition and the mammary glands. Toxicology and Applied Pharmacology. 1987; 91: 315-325.
- 15 Zhu J, Phillips SP, Feng YL, Yang X. Phthalate esters in human milk: concentration variations over a 6-month postpartum time. Environmental Science and Technology. 2006; 40(17): 5276-5281
- 16 Latini G, Wittassek M, Del Vecchio A, Presta G, De Felice C, Angerer J. Lactational exposure to phthalates in Southern Italy. Environment International. 2009; 35(2): 236-239.
- 17 Stroheker T, Regnier JF, Lassarguere J, Chagnon MC. Effect of in utero exposure to di-(2-ethylhexyl)phthalate: distribution in the rat fetus and testosterone

- production by rat fetal testis in culture. *Food and Chemical Toxicology* . 2006; 44(12): 2064-2069.
- 18 Calafat AM, Brock JW, Silva MJ, Gray LE Jr, Reidy JA, Barr DB et al. Urinary and amniotic fluid levels of phthalate monoesters in rats after the oral administration of di(2-ethylhexyl) phthalate and di-n-butyl phthalate. *Toxicology*. 2006; 217(1): 22-30.
- 19 Silva MJ, Reidy JA, Herbert AR, Preau JL Jr, Needham LL, Calafat AM. Detection of phthalate metabolites in human amniotic fluid. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 2004; 72(6): 1226-1231
- 20 Latini G, De Felice C, Presta G, Del Vecchio A, Paris I, Ruggieri F et al. Exposure to Di(2-ethylhexyl)phthalate in Humans during Pregnancy. *Biology of the Neonate*. 2003; 83(1): 22-24
- 21 Frederiksen H, Skakkebaek NE, Andersson AM. Metabolism of phthalates in humans. *Molecular Nutrition and Food Research*. 2007; 51(7): 899-911.
- 22 Eriksson P, Darnerud PO. Distribution and retention of some chlorinated hydrocarbons and a phthalate in the mouse brain during the preweaning period. *Toxicology*. 1985; 37: 189-203.
- 23 Albro PW. Absorption, metabolism, and excretion of di(2-ethylhexyl) phthalate by rats and mice. *Environmental Health Perspectives* 1986; 65: 293-298.
- 24 Albro PW, Corbett JT, Schroeder JL, Jordan S, Matthews HB. Pharmacokinetics, interactions with macromolecules and species differences in metabolism of DEHP. *Environmental Health Perspectives*. 1982; 45: 19-25.
- 25 Ito Y, Yokota H, Wang R, Yamanoshita O, Ichihara G, Wang H, Kurata Y et al. Species differences in the metabolism of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in several organs of mice, rats, and marmosets. *Archives of Toxicology*. 2005; 79: 147-154.
- 26 Schmid P, Schlatter Ch. Excretion and metabolism of di (2-ethylhexyl)-phthalate in man. *Xenobiotica*. 1985; 15 (3): 251-256.
- 27 Koch HM, Bolt HM, Angerer J. Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) metabolites in human urine and serum after a single oral dose of deuterium-labelled DEHP. *Archives of Toxicology*. 2004; 78: 123-130.
- 28 Koch HM, Bolt HM, Preuss R, Angerer J. New metabolites of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in human urine and serum after single oral doses of deuterium-labelled DEHP. *Archives of Toxicology*. 2005; 79: 367-376.
- 29 Koch HM, Preuss R, Angerer J. Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP): human metabolism and internal exposure-- an update and latest results. *International Journal of Andrology*. 2006; 29(1): 155-165
- 30 Fromme H, Bolte G, Koch HM, Angerer J, Boehmer S, Drexler H et al. Occurrence and daily variation of phthalate metabolites in the urine of an adult population. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2007; 210(1): 21-33.
- 31 Short RD, Robinson EC, Lington AW, Chin AE.. Metabolic and peroxisome proliferation studies with di (2-ethylhexyl) phthalate in rats and monkeys. *Toxicology and Industrial Health*. 1987; 3: 185-195.
- 32 Ikeda GJ, Sapienza PP, Couvillion JL, Farber TM and van Loon EJ. Comparative distribution, excretion and metabolism of di-(2-ethylhexyl) phthalate in rats, dogs

- and miniature pigs. *Food and Cosmetics Toxicology*. 1980; 18: 637-642
- 33 Keys DA, Wallace DG, Kepler TB, Conolly RB. Quantitative evaluation of alternative mechanisms of blood and testes disposition of di(2-ethylhexyl) phthalate and mono(2-ethylhexyl) phthalate in rats. *Toxicological Sciences*. 1999; 49: 172-185.
- 34 Lorber M, Angerer J, Koch HM. A simple pharmacokinetic model to characterize exposure of Americans to Di-2-ethylhexyl phthalate. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*. 2009; Jan 7: Epub ahead of print
- 35 Shaffer CB, Carpenter CP, Smyth HF. Acute and subacute toxicity of di (2-ethylhexyl) phthalate with note upon its metabolism. *The Journal of Industrial Hygiene and Toxicology*. 1945; 27: 130-135.
- 36 Yamada A. Toxicity of phthalic acid esters and hepatotoxicity of di-(2-ethyl hexyl) phthalate. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. 1974; 15(3): 147-152.
- 37 Supornsilchai V, Söder O, Svechnikov K. Stimulation of the pituitary-adrenal axis and of adrenocortical steroidogenesis ex vivo by administration of di-2-ethylhexyl phthalate to prepubertal male rats. *The Journal of Endocrinology*. 2007; 192(1): 33-39.
- 38 Morton SJ. The hepatic effects of dietary di-2-ethylhexyl phthalate. Ann Arbor, MI, Johns Hopkins University, 1979 (dissertation; abstract in *Dissertation abstracts international*, 1979, B 40(09):4236).
- 39 Takai R, Hayashi S, Kiyokawa J, Iwata Y, Matsuo S, Suzuki M et al. Collaborative work on evaluation of ovarian toxicity. 10) Two- or four-week repeated dose studies and fertility study of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in female rats. *The Journal of Toxicological Sciences*. 2009; 34 Suppl 1: SP111-119.
- 40 Poon R, Lecavalier P, Mueller R, Valli VE, Procter BG, Chu I. Subchronic oral toxicity of di-n-octyl phthalate and di (2-ethylhexyl) phthalate in the rat. *Food and chemical toxicology*. 1997; 35: 225-239.
- 41 Mitchell FE, Price SC, Hinton RH, Grasso P, Bridges JW. Time and dose-response study of the effects on rats of the plasticizer di (2-ethylhexyl) phthalate. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1985; 81: 371-392.
- 42 Pugh G Jr, Isenberg JS, Kamendulis LM, Ackley DC, Clare LJ, Brown R et al.. Effects of Di-isononyl phthalate, Di-2-ethylhexyl phthalate, and clofibrate in cynomolgus monkeys. *Toxicological Sciences*. 2000; 56: 181-188.
- 43 Kurata Y, Kidachi F, Yokoyama M, Toyota N, Tsuchitani M, Katoh M. Subchronic toxicity of di (2-ethylhexyl) phthalate in common marmosets: Lack of hepatic peroxisome proliferation, testicular atrophy, or pancreatic acinar cell hyperplasia. *Toxicological Sciences*. 1998; 42: 49-56.
- 44 Kluwe WM, Haseman JK, Douglas JF, Huff JE.. The carcinogenicity of dietary di (2-ethylhexyl) phthalate in Fischer 344 rats and B6C3F₁ mice. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 1982; 10: 797-815.
- 45 National Toxicology Program(NTP). Carcinogenesis bioassay of di (2-ethylhexyl) phthalate (CAS No. 117-81-7) in F344 rats and B6C3F₁ mice (feed study). NTP publication No. 217. 1982
- 46 David RM, Moore MR, Cifone MA, Finney DC, Guest D. Chronic peroxisome proliferation and hepatomegaly associated with the hepatocellular tumorigenesis

- of di (2-ethylhexyl) phthalate and the effects of recovery. *Toxicological Sciences*. 1999; 50: 195-205.
- 47 David RM, Moore MR, Finney DC, Guest D. Chronic toxicity of di (2-ethylhexyl) phthalate in mice. *Toxicological Sciences*. 2000b; 58: 377-385.
- 48 Carpenter CP, Weil CS, Smyth HF. Chronic oral toxicity of DEHP for rats, guinea pigs, and dogs. *AMA Archives of Industrial Hygiene and Occupational Medicine*. 1953; 8: 219-226.
- 49 Ganning AE, Olsson MJ, Brunk U, Dallner G. Effects of prolonged treatment with phthalate ester on rat liver. *Pharmacology and Toxicology*. 1991; 68: 392-401.
- 50 David RM, Moore MR, Finney DC, Guest D. Chronic toxicity of di (2-ethylhexyl) phthalate in rats. *Toxicological Sciences*. 2000a; 55: 433-443.
- 51 Moore MR. Oncogenicity study in mice with Di (2-ethylhexyl)phthalate including ancillary hepatocellular proliferation and biochemical analyses. Laboratory Study Identification: CHV 663-135; Sponsor: Eastman Chemical Company. 1997 (入手不可)
- 52 Moore MR. Oncogenicity study in rats with Di (2-ethylhexyl)phthalate including ancillary hepatocellular proliferation and biochemical analyses. Laboratory Study Identification: CHV 663-134; Sponsor: Eastman Chemical Company. 1996 (入手不可)
- 53 Voss C, Zerban H, Bannasch P, Berger MR. Lifelong exposure to di-(2-ethylhexyl)-phthalate induces tumors in liver and testes of Sprague-Dawley rats. *Toxicology*. 2005; 206: 359-371.
- 54 Elcombe CR, Mitchell AM. Peroxisome proliferation due to di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): Species differences and possible mechanisms. *Environmental Health Perspectives*. 1986; 70: 211-219.
- 55 Palmer CNA, Griffin KJ, Raucy JL, et al. Peroxisome proliferator activated receptor-alpha expression in human liver. *Molecular and Pharmacology*. 1998; 53: 14-22
- 56 Ito Y, Yamanoshita O, Asaeda N, Tagawa Y, Lee CH, Aoyama T et al. Di(2-ethylhexyl)phthalate induces hepatic tumorigenesis through a peroxisome proliferator-activated receptor alpha-independent pathway. *Journal of Occupational Health*. 2007; 49(3): 172-182
- 57 Takashima K, Ito Y, Gonzalez FJ, Nakajima T. Different mechanisms of DEHP-induced hepatocellular adenoma tumorigenesis in wild-type and Ppar alpha-null mice. *Journal of Occupational Health*. 2008; 50(2): 169-180.
- 58 Kamijo Y, Hora K, Nakajima T, Kono K, Takahashi K, Ito Y et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha protects against glomerulonephritis induced by long-term exposure to the plasticizer di-(2-ethylhexyl)phthalate. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2007; 18(1): 176-188.
- 59 Rusyn I, Peters JM, Cunningham ML. Modes of action and species-specific effects of di-(2-ethylhexyl)phthalate in the liver. *Critical Reviews in Toxicology*. 2006; 36(5): 459-479.
- 60 Eveillard A, Mselli-Lakhal L, Mogha A, Lasserre F, Polizzi A, Pascussi JM et al. Di-(2-ethylhexyl)-phthalate (DEHP) activates the constitutive androstane receptor (CAR): a novel signalling pathway sensitive to phthalates. *Biochemical*

- Pharmacology. 2009; 77(11): 1735-1746.
- 61 DeKeyser JG, Stagliano MC, Auerbach SS, Prabhu KS, Jones AD, Omiecinski CJ. Di(2-ethylhexyl) phthalate is a highly potent agonist for the human constitutive androstane receptor splice variant CAR2. *Molecular Pharmacology*. 2009; 75(5): 1005-1013.
- 62 Pogribny IP, Tryndyak VP, Boureiko A, Melnyk S, Bagnyukova TV, Montgomery B et al. Mechanisms of peroxisome proliferator-induced DNA hypomethylation in rat liver. *Mutation Research*. 2008; 644(1-2): 17-23.
- 63 Moser VC, Cheek BM, MacPhail RC. A multidisciplinary approach to toxicological screening: III. Neurobehavioral toxicity. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 1995; 45: 173-210.
- 64 Larsen ST, Nielsen GD. Structure-activity relationship of immunostimulatory effects of phthalates. *BMC Immunology*. 2008; 9: 61-66.
- 65 Takano H, Yanagisawa R, Inoue K, Ichinose T, Sadakane K, Yoshikawa T. Di-(2-ethylhexyl) phthalate enhances atopic dermatitis-like skin lesions in mice. *Environmental Health Perspectives*. 2006; 114(8): 1266-1269.
- 66 Yanagisawa R, Takano H, Inoue K, Koike E, Sadakane K, Ichinose T. Effects of maternal exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate during fetal and/or neonatal periods on atopic dermatitis in male offspring. *Environmental Health Perspectives*. 2008; 116(9): 1136-1141.
- 67 Dearman RJ, Beresford L, Bailey L, Caddick HT, Betts CJ, Kimber I. Di-(2-ethylhexyl) phthalate is without adjuvant effect in mice on ovalbumin. *Toxicology*. 2008; 244(2-3): 231-241.
- 68 Lamb JC 4th, Chapin RE, Teague J, Lawton AD, Reel JR. Reproductive effects of four phthalic acid esters in the mouse. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1987; 88: 255-269.
- 69 Tyl RW, Price CJ, Marr MC, Kimmel CA. Developmental toxicity evaluation of dietary di (2-ethylhexyl) phthalate in Fischer 344 rats and CD-1 mice. *Fundamental and Applied Toxicology*. 1988; 10: 395-412.
- 70 Shiota K, Chou MJ, Nishimura H. Embryotoxic effects of di (2-ethylhexyl) phthalate and di-n-butyl phthalate (DB) in mice. *Environmental Research*. 1980; 22: 245-253.
- 71 Liu X, He DW, Zhang DY, Lin T, Wei GH. Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) increases transforming growth factor-beta1 expression in fetal mouse genital tubercles. *Journal of Toxicology and Environmental Health A*. 2008; 71(19): 1289-1294.
- 72 Tanida T, Warita K, Ishihara K, Fukui S, Mitsuhashi T, Sugawara T et al. Fetal and neonatal exposure to three typical environmental chemicals with different mechanisms of action: mixed exposure to phenol, phthalate, and dioxin cancels the effects of sole exposure on mouse midbrain dopaminergic nuclei. *Toxicology Letters*. 2009; 189(1): 40-47.
- 73 Ghisari M, Bonfeld-Jorgensen EC. Effects of plasticizers and their mixtures on estrogen receptor and thyroid hormone functions. *Toxicology Letters*. 2009; 189(1): 67-77.
- 74 Song XF, Wei GH, Liu X, Zhang DY, Chen X, Deng YJ. Effects of diethylhexyl phthalate (DEHP) on INSL3 mRNA expression by Leydig cells derived from

- mouse embryos and in newborn mice. *The Journal of International Medical Research*. 2008; 36(3): 512-521.
- 75 Laguë E, Tremblay JJ. Antagonistic effects of testosterone and the endocrine disruptor mono-(2-ethylhexyl) phthalate on INSL3 transcription in Leydig cells. *Endocrinology*. 2008; 149(9): 4688-4694.
- 76 Tanaka T. Reproductive and neurobehavioral toxicity study of bis (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) administered to mice in the diet. *Food and Chemical Toxicology*. 2002; 40: 1499-1506.
- 77 Tanaka T. Reproductive and neurobehavioral effects of bis (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in a cross-mating toxicity study of mice. *Food and Chemical Toxicology*. 2005; 43: 581-589.
- 78 Price CJ, Tyl RW, Marr MC, Myers CB, Sadler BM. Reproduction and fertility of diethylhexyl phthalate (CAS No. 117-81-7) in CD-1-mice exposed during gestation. NTP, PB-88204300. 1988.
- 79 Li LH, Jester WF Jr, Laslett AL, Orth JM. A single dose of Di-(2-ethylhexyl) phthalate in neonatal rats alters gonocytes, reduces sertoli cell proliferation, and decreases cyclin D2 expression. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2000; 166: 222-229.
- 80 Dostal LA, Chapin RE, Stefanski SA, Harris MW, Schwetz BA. Testicular toxicity and reduced Sertoli cell numbers in neonatal rats by di (2-ethylhexyl) phthalate and the recovery of fertility as adults. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1988; 95: 104-121.
- 81 Svechnikova I, Svechnikov K, Söder O. The influence of di-(2-ethylhexyl) phthalate on steroidogenesis by the ovarian granulosa cells of immature female rats. *The Journal of Endocrinology*. 2007; 194(3): 603-609.
- 82 Lee BM, Koo HJ. Hershberger assay for antiandrogenic effects of phthalates. *Journal of Toxicology and Environmental Health A*. 2007; 70(15-16): 1365-1370.
- 83 Davis BJ, Maronpot RR, Heindel JJ. Di-(2-ethylhexyl) phthalate suppresses estradiol and ovulation in cycling rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1994; 128: 216-223.
- 84 Akingbemi BT, Youker RT, Sottas CM, Ge R, Katz E, Klinefelter GR et al. Modulation of rat Leydig cell steroidogenic function by di (2-ethylhexyl) phthalate. *Biology of Reproduction*. 2001; 65: 1252-1259.
- 85 Noriega N, Howdeshell KL, Furr J, Lambright CR, Wilson VS, Gray LE Jr. Pubertal administration of DEHP delays puberty, suppresses testosterone production and inhibits reproductive tract development in male Sprague-Dawley and Long-Evans Rats. *Toxicological Sciences*. 2009; 111(1): 163-178
- 86 Ge RS, Chen GR, Dong Q, Akingbemi B, Sottas CM, Santos M et al. Biphasic effects of postnatal exposure to diethylhexylphthalate on the timing of puberty in male rats. *Journal of Andrology* . 2007; 28(4): 513-520.
- 87 Hirosawa N, Yano K, Suzuki Y, Sakamoto Y. Endocrine disrupting effect of di-(2-ethylhexyl)phthalate on female rats and proteome analyses of their pituitaries. *Proteomics*. 2006; 6(3): 958-971.
- 88 Agarwal DK, Eustis S, Lamb JC IV, Reel JR, Kluwe WM. Effects of di (2-ethylhexyl) phthalate on the gonadal pathophysiology, sperm morphology, and reproductive performance of male rats. *Environmental Health Perspectives*. 1986;

- 65: 343-350.
- 89 Xu Y, Agrawal S, Cook TJ, Knipp GT. Di-(2-ethylhexyl)-phthalate affects lipid profiling in fetal rat brain upon maternal exposure. *Archives of Toxicology*. 2007; 81(1): 57-62.
- 90 Xu Y, Knipp GT, Cook TJ. Effects of di-(2-ethylhexyl)-phthalate and its metabolites on the lipid profiling in rat HRP-1 trophoblast cells. *Archives of Toxicology*. 2006; 80(5): 293-298.
- 91 Lin H, Ge RS, Chen GR, Hu GX, Dong L, Lian QQ et al. Involvement of testicular growth factors in fetal Leydig cell aggregation after exposure to phthalate in utero. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2008; 105(20): 7218-7222.
- 92 Hellwig J, Freudenberger H, Jäckh R. Differential prenatal toxicity of branched phthalate esters in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 1997; 35: 501-512.
- 93 Borch J, Metzдорff SB, Vinggaard AM, Brokken L, Dalgaard M. Mechanisms underlying the anti-androgenic effects of diethylhexyl phthalate in fetal rat testis. *Toxicology*. 2006; 223(1-2): 144-155.
- 94 Vo TT, Jung EM, Dang VH, Jung K, Baek J, Choi KC et al. Differential Effects of Flutamide and Di-(2-ethylhexyl) phthalate on Male Reproductive Organs in a Rat Model. *The Journal of Reproduction and Development*. 2009; 55(4): 400-411
- 95 Saillenfait AM, Sabaté JP, Gallissot F. Effects of in utero exposure to di-n-hexyl phthalate on the reproductive development of the male rat. *Reproductive toxicology*. 2009; Jul 3: Epub ahead of print
- 96 Wilson VS, Howdeshell KL, Lambright CS, Furr J, Earl Gray L Jr. Differential expression of the phthalate syndrome in male Sprague-Dawley and Wistar rats after in utero DEHP exposure. *Toxicology Letters*. 2007; 170(3): 177-184.
- 97 Arcadi FA, Costa C, Imperatore C, Marchese A, Rapisarda A, Salemi M et al. Oral toxicity of bis (2-ethylhexyl) phthalate during pregnancy and suckling in the Long-Evans rat. *Food and Chemical Toxicology*. 1998; 36: 963-970.
- 98 Moore RW, Rudy TA, Lin TM, Ko K, Peterson RE.. Abnormalities of sexual development in male rats with in utero and lactational exposure to the antiandrogenic plasticizer. *Environmental Health Perspectives*. 2001; 109: 229-237.
- 99 Grande SW, Andrade AJ, Talsness CE, Grote K, Golombiewski A, Sterner-Kock A et al. A dose-response study following in utero and lactational exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): reproductive effects on adult female offspring rats. *Toxicology*. 2007; 229(1-2): 114-122.
- 100 Grande SW, Andrade AJ, Talsness CE, Grote K, Chahoud I. A dose-response study following in utero and lactational exposure to di(2-ethylhexyl)phthalate: effects on female rat reproductive development. *Toxicological Sciences*. 2006; 91(1): 247-254.
- 101 Andrade AJ, Grande SW, Talsness CE, Gericke C, Grote K, Golombiewski A, Sterner-Kock A, Chahoud I. A dose response study following in utero and lactational exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): reproductive effects on adult male offspring rats. *Toxicology*. 2006a; 228(1): 85-97.
- 102 Andrade AJ, Grande SW, Talsness CE, Grote K, Golombiewski A, Sterner-Kock A, Chahoud I. A dose-response study following in utero and lactational exposure

- to di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP): effects on androgenic status, developmental landmarks and testicular histology in male offspring rats. *Toxicology*. 2006c; 225(1): 64-74.
- 103 Andrade AJ, Grande SW, Talsness CE, Grote K, Chahoud I. A dose-response study following in utero and lactational exposure to di-(2-ethylhexyl)-phthalate (DEHP): non-monotonic dose-response and low dose effects on rat brain aromatase activity. *Toxicology*. 2006b; 227(3): 185-192.
- 104 Parks LG, Ostby JS, Lambright CR, Abbott BD, Klinefelter GR, Barlow NJ et al. The plasticizer diethylhexyl phthalate induces malformations by decreasing fetal testosterone synthesis during sexual differentiation in the male rat. *Toxicological Sciences*. 2000; 58: 339-349.
- 105 Rosicarelli B, Stefanini S. DEHP effects on histology and cell proliferation in lung of newborn rats. *Histochemistry and Cell Biology*. 2009; 131(4): 491-500.
- 106 Gray LE Jr, Barlow NJ, Howdeshell KL, Ostby JS, Furr JR, Gray CL. Transgenerational effects of Di (2-ethylhexyl) phthalate in the male CRL:CD(SD) rat: added value of assessing multiple offspring per litter. *Toxicological Sciences*. 2009; 110(2):411-425.
- 107 Parmar D, Srivastava SP, Srivastava SP, Seth PK. Hepatic mixed function oxidases and cytochrome P-450 contents in rat pups exposed to di-(2-ethylhexyl) phthalate through mother' s milk. *Drug Metabolism and Disposition*. 1985; 13: 368-370.
- 108 Tandon R, Chowdhary SR, Seth PK, Srivastava SP. Altered development of testis of rat exposed to di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) during lactation. *Journal of Environmental Biology*. 1990; 11: 345-354.
- 109 Schilling K, Gembardt C and Hellwig J. Di-2-ethylhexyl phthalate - Two-generation reproduction toxicity study in Wistar rats. Continuous dietary administration. Experimental Toxicology and Ecology, BASF Aktiengesellschaft, D-67056 Ludwigshafen, FRG. Laboratory project identification 70R0491/97139. (referenced as BASF 70R0491/97139 in the IUCLID file). 2001 (入手不可)
- 110 Price CJ, Tyl RW, Marr MC, Sadler BM. Reproduction and fertility evaluation of diethylhexyl phthalate (CAS No. 117-81-7) in Fischer 344 rats exposed during gestation. Final report. NTP-86-309. 1986.
- 111 Wolfe et al. Multigeneration reproduction toxicity study in rats (unaudited draft): Diethylhexylphthalate: Multigenerational reproductive assessment by continuous breeding when administered to Sprague-Dawley rats in the diet. TherImmune Research Corporation (TRC) Study No. 7244-200. (<http://ntp.niehs.nih.gov/go/15182>). 2003 (入手不可)
- 112 Benson R. Hazard to the developing male reproductive system from cumulative exposure to phthalate esters--dibutyl phthalate, diisobutyl phthalate, butylbenzyl phthalate, diethylhexyl phthalate, dipentyl phthalate, and diisononyl phthalate. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2009; 53(2): 90-101.
- 113 Ljungvall K, Veeramachaneni DN, Hou M, Hultén F, Magnusson U. Morphology and morphometry of the reproductive organs in prepubertal and postpubertal male pigs exposed to di(2-ethylhexyl) phthalate before puberty: Precocious development of bulbourethral glands. *Theriogenology*. 2008; 70(6): 984-991.
- 114 Ljungvall K, Spjuth L, Hultén F, Einarsson S, Rodriguez-Martinez H, Andersson K et al. Early post-natal exposure to low dose oral di(2ethylhexyl) phthalate

- affects the peripheral LH-concentration in plasma, but does not affect mating behavior in the post-pubertal boar. *Reproductive Toxicology*. 2006; 21(2): 160-166.
- 115 Spjuth L, Saravia F, Johannisson A, Lundeheim N, Rodríguez-Martínez H. Effects of exposure of pre-pubertal boars to di(2-ethylhexyl) phthalate on their frozen-thawed sperm viability post-puberty. *Andrologia*. 2006a; 38(5): 186-194.
- 116 Spjuth L, Ljungvall K, Saravia F, Lundeheim N, Magnusson U, Hultén F, Rodríguez-Martínez H. Does exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate in pre-pubertal boars affect semen quality post-puberty? *Int Journal of Andrology*. 2006b; 29(5): 534-542.
- 117 Spjuth L, Johannisson A, Lundeheim N, Rodríguez-Martínez H. Early pre-pubertal exposure to low-dose oral di(2-ethylhexyl) phthalate does not affect sperm plasma membrane stability, acrosomal integrity or chromatin structure in the post-pubertal boar. *Theriogenology*. 2007; 68(2): 186-195.
- 118 Tomonari Y, Kurata Y, David RM, Gans G, Kawasuso T, Katoh M. Effect of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on genital organs from juvenile common marmosets: I. Morphological and biochemical investigation in 65-week toxicity study. *Journal of Toxicology and Environmental Health A*. 2006; 69(17): 1651-1672.
- 119 Gray TJ, Butterworth KR. Testicular atrophy produced by phthalate esters. *Archives of Toxicology*. 1980; Suppl 4: 452-455.
- 120 Culty M, Thuillier R, Li W, Wang Y, Martinez-Arguelles DB, Benjamin CG et al. In utero exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate exerts both short-term and long-lasting suppressive effects on testosterone production in the rat. *Biology of Reproduction*. 2008; 78(6): 1018-1028.
- 121 Lovekamp TN, Davis BJ. Mono-(2-ethylhexyl) phthalate suppresses aromatase transcript levels and estradiol production in cultured rat granulosa cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2001; 172: 217-224.
- 122 Lovekamp-Swan T, Davis BJ. Mechanisms of phthalate ester toxicity in the female reproductive system. *Environmental Health Perspectives*. 2003; 111(2): 139-145.
- 123 Lovekamp-Swan T, Jetten AM, Davis BJ. Dual activation of PPAR α and PPAR γ by mono-(2-ethylhexyl) phthalate in rat ovarian granulosa cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2003; 201: 133-141.
- 124 Oishi S, Hiraga K. Effect of phthalic acid esters on mouse testes. *Toxicology Letters*. 1980; 5: 413-416.
- 125 Oishi S, Hiraga K. Testicular atrophy induced by di-2-ethylhexyl phthalate: Effect of zinc supplement. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1983; 70: 43-48.
- 126 Ryu JY, Whang J, Park H, Im JY, Kim J, Ahn MY et al. Di(2-ethylhexyl) phthalate induces apoptosis through peroxisome proliferators-activated receptor-gamma and ERK 1/2 activation in testis of Sprague-Dawley rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health A*. 2007; 70(15-16): 1296-1303.
- 127 Rider CV, Wilson VS, Howdeshell KL, Hotchkiss AK, Furr JR, Lambright CR et al. Cumulative effects of in utero administration of mixtures of "antiandrogens" on male rat reproductive development. *Toxicologic Pathology*. 2009; 37(1): 100-113.

- 128 Howdeshell KL, Furr J, Lambright CR, Rider CV, Wilson VS, Gray LE Jr. Cumulative effects of dibutyl phthalate and diethylhexyl phthalate on male rat reproductive tract development: altered fetal steroid hormones and genes. *Toxicological Sciences*. 2007; 99(1): 190-202.
- 129 Howdeshell KL, Wilson VS, Furr J, Lambright CR, Rider CV, Blystone CR et al. A mixture of five phthalate esters inhibits fetal testicular testosterone production in the sprague-dawley rat in a cumulative, dose-additive manner. *Toxicological Sciences*. 2008: 153-165.
- 130 Sharpe RM. "Additional" effects of phthalate mixtures on fetal testosterone production. *Toxicological Sciences*. 2008; 105(1): 1-4.
- 131 Kang JS, Morimura K, Toda C, Wanibuchi H, Wei M, Kojima N et al. Testicular toxicity of DEHP, but not DEHA, is elevated under conditions of thioacetamide-induced liver damage. *Reproductive Toxicology*. 2006; 21(3): 253-259.
- 132 National Toxicology Program. NTP-CERHR Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Di (Ethylhexyl) Phthalate (DEHP). 2006; 18: i-III76.
- 133 Suzuki H, Ikeda N, Kobayashi K, Terashima Y, Shimada Y, Suzuki T et al. Evaluation of liver and peripheral blood micronucleus assays with 9 chemicals using young rats. A study by the Collaborative Study Group for the Micronucleus Test (CSGMT)/Japanese Environmental Mutagen Society (JEMS)-Mammalian Mutagenicity Study Group (MMS). *Mutation Research*. 2005; 583(2): 133-145.
- 134 Boerrigter ME. Mutagenicity of the peroxisome proliferators clofibrate, Wyeth 14,643 and di-2-ethylhexyl phthalate in the lacZ plasmid-based transgenic mouse mutation assay. *Journal of Carcinogenesis*. 2004; 3(1): 7.
- 135 Roth B, Herkenrath P, Lehmann HJ, Ohles HD, Hömig HJ, Benz-Bohm G et al. Di-(2-ethylhexyl)-phthalate as plasticizer in PVC respiratory tubing systems: indications of hazardous effects on pulmonary function in mechanically ventilated, preterm infants. *European Journal of Pediatrics*. 1988; 147: 41-46.
- 136 Thiess AM, Frentzel-Beyme R, Wieland R. Mortality study in workers exposed to di-(2-ethylhexyl)phthalate (DOP). In: *Möglichkeiten und Grenzen des Biologischen Monitorings. Arbeitsmedizinische Probleme des Dienstleistungsgewerbes. Arbeitsmedizinische kolloquium [Possibilities and Limits of Biological Monitoring. Problems of Occupational Medicine in Small Industries. Colloquium in Occupational Medicine](Ger.)*. 1978a; 155-164. (入手不可)
- 137 Thiess AM, Frentzel-Beyme R, Wieland R. Mortalitätsstudie bei Mitarbeitern mit exposition gegenüber Di-2-äthylhexylphthalat (DOP). BASF. 1978b (入手不可)
- 138 Hardell L, Ohlson C-G, Fredrikson M. Occupational exposure to polyvinyl chloride as a risk factor for testicular cancer evaluated in a case-control study. *International Journal of Cancer*. 1997; 73: 828-830.
- 139 Pan G, Hanaoka T, Yoshimura M, Zhang S, Wang P, Tsukino H et al. Decreased serum free testosterone in workers exposed to high levels of di-n-butyl phthalate (DBP) and di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP): a cross-sectional study in China. *Environmental Health Perspectives*. 2006; 114(11): 1643-1648.
- 140 Swan SH, Main KM, Liu F, Stewart SL, Kruse RL, Calafat AM et al. Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure.

- Environmental Health Perspectives. 2005; 113(8): 1056-1061.
- 141 Adibi JJ, Hauser R, Williams PL, Whyatt RM, Calafat AM, Nelson H et al. Maternal urinary metabolites of Di-(2-Ethylhexyl) phthalate in relation to the timing of labor in a US multicenter pregnancy cohort study. *American Journal of Epidemiology*. 2009; 169(8): 1015-1024.
- 142 Hauser R, Meeker JD, Singh NP, Silva MJ, Ryan L, Duty S et al. DNA damage in human sperm is related to urinary levels of phthalate monoester and oxidative metabolites. *Human Reproduction*. 2007; 22(3): 688-695.
- 143 Meeker JD, Calafat AM, Hauser R. Urinary metabolites of di(2-ethylhexyl) phthalate are associated with decreased steroid hormone levels in adult men. *Journal of Andrology*. 2009; 30(3): 287-297.
- 144 Hauser R, Meeker JD, Duty S, Silva MJ, Calafat AM. Altered semen quality in relation to urinary concentrations of phthalate monoester and oxidative metabolites. *Epidemiology*. 2006; 17(6): 682-691.
- 145 Meeker JD, Calafat AM, Hauser R. Di(2-ethylhexyl) phthalate metabolites may alter thyroid hormone levels in men. *Environmental Health Perspectives*. 2007; 115(7): 1029-1034.
- 146 Pant N, Shukla M, Kumar Patel D, Shukla Y, Mathur N, Kumar Gupta Y et al. Correlation of phthalate exposures with semen quality. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2008; 231(1): 112-116.
- 147 Reddy BS, Rozati R, Reddy BV, Raman NV. Association of phthalate esters with endometriosis in Indian women. *BJOG*. 2006; 113(5): 515-520.
- 148 Luisi S, Latini G, de Felice C, Sanseverino F, di Pasquale D, Mazzeo P, Petraglia F. Low serum concentrations of di-(2-ethylhexyl)phthalate in women with uterine fibromatosis. *Gynecological Endocrinology*. 2006; 22(2): 92-95.
- 149 Kavlock R, Boekelheide K, Chapin R, Cunningham M, Faustman E, Foster P et al. NTP Center for the Evaluation of Risk to Human Reproduction: phthalates expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate. *Reproductive Toxicology*. 2002; 16: 529-653.
- 150 日本水道協会: 水道統計 平成 19 年度版 2009
- 151 Park SY, Choi J. Cytotoxicity, genotoxicity and ecotoxicity assay using human cell and environmental species for the screening of the risk from pollutant exposure. *Environment International*. 2007; 33(6): 817-822.
- 152 Kanki K, Nishikawa A, Masumura K, Umemura T, Imazawa T, Kitamura Y et al. In vivo mutational analysis of liver DNA in gpt delta transgenic rats treated with the hepatocarcinogens N-nitrosopyrrolidine, 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline, and di(2-ethylhexyl)phthalate. *Molecular Carcinogenesis*. 2005; 42(1): 9-17.