

フタル酸エステルのトキシコキネティクス及び毒性

フタル酸ビス(2-エチルヘキシル)(DEHP)、フタル酸ベンジルブチル(BBP)、フタル酸ジ-n-ブチル(DBP)、フタル酸ジイソノニル(DINP)、フタル酸ジイソデシル(DIDP)、フタル酸ジオクチル(DNOP)に関するトキシコキネティクスおよび毒性情報についての情報収集を行い、リスク評価に資するための情報の整理を行った。毒性情報の収集にあたって、DEHPについては、2000年の食品衛生調査会毒性部会・器具容器包装部会合同部会の際に取りまとめられたDEHPの毒性評価文章を、その他のフタル酸エステルについては米国国家毒性プログラム—ヒト生殖リスク評価センターの専門家委員会報告書及びモノグラフを、また各フタル酸エステルのヒトへの影響に関しては、昨年公表されたMatsumotoら(2008)の総説を基に最新情報を適宜追加し、トキシコキネティクスおよび毒性情報を整理した。

なお、これらの物質の内分泌かく乱物質様の作用やその可能性については、現時点で得られた知見ではその評価は定まっておらず、女性ホルモン受容体親和性で見るとDEHPでのそれより弱いことが知られるのみである。従って引き続き新規知見の情報収集に努めることとするが、前回その詳細評価を待たずとも従前の生殖発生毒性や一般毒性に対する影響を検討することで、リスク管理上の評価が行われたDEHPとDINPに対して、今回BBP、DBP、DIDP、DNOPについてこれらと同程度のリスク管理が必要であるかどうかを比較判定するという観点に立てば、生殖発生毒性や一般毒性に対する影響を中心に検討することで差し支えないと判断した。

一方、近年、妊娠母動物あるいは性成熟期にDEHP、BBP、DBPを複合暴露することにより、雄性生殖器の発育不全やテストステロン生成レベル抑制に対して相加作用を示すという知見が報告されているが、これら相加性の情報は断片的でその毒性学的意味付けは定量的評価も含めて今後の課題であり、本章では各研究報告で得られている知見をそれに資するために整理することとした。

1. Di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)

(1) トキシコキネティクス

ラットにおいて皮膚からの吸収は遅く、皮膚適用7日後でも適用量の86%が適用部位に残っていた(Melnick et al. 1987; Elsisi et al. 1989)。消化管吸収について、吸収には大きな種差があるとされており、2 g/kg強制経口または混餌

投与したラットにおいては90%以上が尿中に排泄されると報告している(Williams and Blanchfield 1974)。餌に混ぜたDEHP (1,000-12,000 ppm)のほとんどは吸収された(Arther D. Little Inc. 1983)。マーモセットにおける吸収はラットと比べて少なく、100-2000 mg/kgで約45%と推定されている(Rhodes et al. 1986)。多くの場合、DEHPは小腸内のリパーゼあるいは小腸組織内の加水分解酵素により加水分解され、フタル酸モノ(2-エチルヘキシル)(MEHP)および2-ethylhexanolとなった後に吸収されると考えられる(Lhuguenot and Cornu 1993)。DEHPの加水分解酵素活性は膵液、消化管内容物、また消化管組織に存在している。消化管組織での活性はマウス>ラット>モルモット>ハムスターの順で高い(Albro and Thomas 1973)。また、消化管粘膜での活性は、ヒトはラットと同程度、フェレットで低かった。例数は少ないがヒト消化管でもフェレットと同じかそれ以下の活性を有している(Lake et al. 1977)。カニクイザルではラットやマウスと比較して消化管でのDEHPの分解活性は低い(Astill 1989)。従って、吸収に種差が生じた理由は腸内リパーゼ活性に差があることにより、DEHPの加水分解に差が生ずることによると考えられる。志願者に30 mgのDEHPを経口投与したところ、24時間以内に投与したDEHPのうち約13% (11-15%)が代謝物として尿中に排泄された(Schmid and Schlatter 1985)。同じ志願者に10 mgを4日間投与した場合も同様の結果が得られた。但し、彼らは糞中への排泄量は調べておらず、胆汁中排泄も想定されることから、吸収率はこれ以上であると推定される。この結果はヒトでのDEHPの消化管吸収はラットより少ないが、マーモセットと同じ程度であることを示唆している。

臓器や組織中への有意な蓄積性はいずれの種においても認められていない。1000 ppmのDEHP (14C-carbonyl)を餌に混ぜてラットに反復投与したところ5週間後には肝及び脂肪中濃度が定常状態に達しており、それぞれの組織中濃度は35-50 ppm及び4-9 ppmであった(Woodward et al. 1986; Woodward 1988)。一方、投与を停止すると3週間後には肝臓中には検出できなくなったが、脂肪組織中には3 ppmの濃度で残っていた。DEHP及びそのモノエステル体代謝物は胎盤を通過する。また、母乳中へも移行する(NTP and NIEHS 1999)。

DEHPの血中半減期はヒトで28分と報告されている(Rubin and Schiffer 1976)。また、血清中DEHPの50%が32分で消失すると報告されている(Lewis et al. 1978)。DEHPを18-38 mg/dL含む血小板濃縮液を投与された患者の血漿中レベルは0.34-0.83 mg/dLであり、24時間以内の排泄の60-90%が尿中に認められた。また、95-174 mgのDEHPを注入された癌患者では尿中代謝物の約80%がグルクロニドであった(Peck and Albro 1982)。

ヒトへの暴露の研究でDEHPの一次、二次代謝物 (MEHP、5-OH-MEHP、5-oxo-MEHP) の測定結果から、これらの産生、排出には年齢により差があり、特に若齢の子供で、5-OH-MEHPと5-oxo-MEHPの比率がMEHPに比較して高いことが報告されている。また、乳幼児では低い糸球体濾過率による低い腎臓のクリアランスと未熟なグルクロン酸抱合能により、毒性のある代謝物の体内量を増やす可能性があることを指摘している。また、遊離のDEHPの酸化的代謝物が母乳や羊水中に存在することから、それらが追加のリスクとなる可能性があること、また、新生児及び乳幼児では消化管のリパーゼだけでなく、母乳中のリパーゼも加わって、総合的にDEHPの消化管からの吸収を決定するだろうと予測し、さらなる詳細な研究が必要であるとしている(NTP 2006)。

(2) 一般毒性

DEHP の急性毒性は弱く、経口 LD₅₀ 値は、30 g/kg 以上(マウス)、25 g/kg 以上(ラット)、経皮 LD₅₀ 値は、10 g/kg (モルモット)、25 g/kg (ウサギ) であった(IPCS (WHO) 1991)。

雌雄 SD ラットに、DEHP を 0、50、500、5000 ppm の濃度で 13 週間混餌投与した結果、5000 ppm 群で雌雄とも肝細胞肥大が認められた。雄では 500 ppm 以上の群で精巣のセルトリ細胞の空胞化が認められた。この結果、DEHP の NOAEL は 50 ppm (3.7 mg/kg) であった(Poon et al. 1997)。

幼若 Long-Evans 雄ラット (生後 21 日) に DEHP を 0、1、10、100、200 mg/kg の用量で 14 日間投与したところ、血清の LH、テストステロンの値に変化は見られなかったが、精巣のライディッヒ細胞のテストステロン産生が 100 mg/kg 以上の投与群で減少した。また、生後 35 日のラットに DEHP を同様に投与したところ、同じく血清の LH、テストステロンの値に変化は見られなかったが、精巣のライディッヒ細胞のテストステロン産生がより低用量の 10 mg/kg 以上の投与群で減少し、17β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性の減少を伴っていた。一方、雄生後 28 日のラットに DEHP を 28 日間投与したところ、血清テストステロンと LH の増加が 10 mg/kg 以上の投与群で認められ、精巣のライディッヒ細胞のテストステロン産生が 10 mg/kg 以上の投与群で増加した。一方、さらに成長した生後 62 日のラットに DEHP を 28 日間投与しても、血清のテストステロン、LH、精巣のライディッヒ細胞のテストステロン産生に影響は認められなかった。これらの結果、幼若ラットは DEHP に対する精巣への感受性が高く、投与時期、期間により影響が異なることが明らかとなった。さらに、同じ著者らのグループは Long-Evans 雄ラット (生後 21 日) に DEHP を 10 または 100 mg/kg の用量で 70-100 日間投与すると、精巣のライディッヒ細胞の数と DNA 合成の増加が 10 または 100

mg/kg 群で認められたことを報告している。これらの実験から、LOAEL は 10 mg/kg、NOAEL は 1 mg/kg と判断された(Akingbemi et al. 2001; Akingbemi et al. 2004)。

F-344ラットにDEHPを104週間以上混餌投与 (0, 100, 500, 2500, 12500 ppm (雄 : 0, 5.8, 28.9, 146.6, 789.0 mg/kg ; 雌 : 0, 7.3, 36.1, 181.7, 938.5 mg/kg) した結果、雌雄の腎臓重量の増加が2500ppmでみられたことから、慢性毒性試験におけるNOAELは500ppm(雄 : 28.9mg/kg;雌 : 36.1mg/kg)と判断された(Moore 1996)。

NTP による 2 年間の発がん性試験で雌 F344 ラット (DEHP を 6000 または 12000 ppm で飼料に添加) と雌雄 B6C3F1 マウス (DEHP を 3000 または 6000 ppm で飼料に添加) に肝発がん性が認められた(NTP 1982a)。なお、IARC は 2000 年に DEHP は Group3 (ヒトに対して発がん性があると分類出来ない) と判定している(IARC 2000)。

(3) 生殖毒性

生後 3 日の雄 SD ラット新生仔に DEHP を 0、20、100、200 あるいは 500 mg/kg bw の用量で単回経口投与した結果、24 時間後の精巣で多くの異常な大型多核 (2-4 核) の雄性生殖細胞が 100-500 mg/kg 群で認められた。また、セルトリ細胞の増殖の減少が 100 mg/kg 以上の群で認められた。この結果、NOAEL は 20 mg/kg bw であった(Li et al. 2000)。

NTP により多世代試験が実施されている(NTP 2004)。SD ラットに DEHP を 0、10、30、100、300、1000、7500 または 10000 ppm の濃度で飼料に添加して、F₀ : 交配 6 週前から出産を通し F₁ 離乳後 2 週まで、F₁ : 離乳後から交配・出産を通し F₂ 離乳後 2 週まで、F₃ : 離乳後から剖検時まで混餌投与した。なお、Control の 0 ppm 群では実際には、飼料中に 1.5 ppm の DEHP が含まれていた。10000 ppm 群では F₂ を得ることが出来なかったので、F₁ で実験を終了した。DEHP の F₀ での DEHP 摂取量は、0.12、0.78、2.4、7.9、23、77、592、775 mg/kg、F₁ では、0.09、0.48、1.4、4.9、14、48、391、543 mg/kg、F₂ では 0.1、0.47、1.4、14、46、359 mg/kg であった。その結果、体重増加抑制が 7500 ppm 群の F₁、F₂ の雄で、10000 ppm 群の F₀、F₁ の雌雄でそれぞれ認められた。臓器重量の変化が、肝、腎、雄副生殖器官で認められている。肝の絶対及び相対重量増加が、1000 ppm の F₁ 雄、7500 ppm 群の F₀、F₁、F₂、F₃ 雄、10000 ppm の F₀ 雄で認められた。雌では 7500 ppm 群で全ての世代で肝の絶対及び相対重量増加が認められた。腎の絶対及び相対重量の増加が 7500 ppm 群の F₀、F₁、F₂ 雄、F₀ 雌で、10000 ppm 群の雌雄 F₀ で認められた。10000 ppm 群の腎絶対重量が F₁ 雌で増加した。精巣及

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

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

DEHPは新生児期のラットセルトリ細胞に対して影響を及ぼす。生後6日のSDラットにDEHPを500 mg/kg以上で5日間経口投与し、精巣重量の低下を伴ったセルトリ細胞数の減少を認めたが、200 mg/kgでは影響は見られなかった(Dostal et al. 1988)。セルトリ細胞は生後10-14日までに細胞分裂を終了するため、生後2日のSDラットの精巣から調製したセルトリ細胞及び原生殖細胞の共培養系を用いてMEHPの作用が検討された(Li et al. 1998)。MEHPは用量依存的なセルトリ細胞からの原生殖細胞の分離を引き起こすと共に、セルトリ細胞の増殖を抑制した。また、MEHPはFSH刺激によるセルトリ細胞の増殖を抑制したが、MEHPのセルトリ細胞の増殖抑制に対するcAMPの添加効果は認められなかった。これらのことから、新生児期にラットがMEHPに暴露されるとセルトリ細胞数の減少を招き、その結果成熟期での精子形成減少を生じる

ことが推定される。

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

なお、環境省は DEHP (10,50,250ug/kg,1.25,40,50,100,200,1000mg/kg) を 42 日間強制経口投与した一世代試験の結果、影響が既に報告されている用量付近(100mg/kg)で F0 母動物の肝臓細胞腫大などの有意な所見が認められたと報告している

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

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

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

BBP、DBP、DEHP、vinclozolin、procymidone、prochloraz、linuron のテストステロン生成に対する相加的な作用を調べるために、SD ラットの妊娠 14-18 日に単独または混合投与を行った。混合投与のそれぞれの最高投与量を BBP (150 mg/kg)、DBP (150 mg/kg)、DEHP (150 mg/kg)、vinclozolin (15 mg/kg)、procymidone (15 mg/kg)、prochloraz (35 mg/kg)、linuron (20 mg/kg) とし、0、25、50、75%の投与量を用いて比較を行った。これらの物質は、①テストステロン生成の抑制 (BBP、DBP、DEHP)、②アンドロゲン受容体アンタゴニズム (vinclozolin、procymidone、prochloraz、linuron) という異なる

るメカニズムによって抗アンドロゲン作用を示すと考えられているが、これらの物質の混合投与についても、AGDの減少や乳頭保持など作用は相加的であった(Rider et al. 2008)。

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

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

(4) 発生毒性

DEHP をICR マウスに妊娠0-18日に0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 1.0% (0, 70, 190, 400, 830, 2,200 mg/kg)混餌投与した結果、400mg/kg以上の投与で生存胎児の体重減少、奇形児の増加が認められ、NOAELは70mg/kgとされた(Shiota et al. 1980; Shiota and Nishimura 1982)。CD-1マウスの妊娠0-17日に0.025, 0.05, 0.1または0.15%のDEHPを含む飼料を与えたとき、0.1% (191 mg/kg)以上の投与量で胚死亡の増加がみられ、0.05% (91 mg/kg)以上の投与量で形態異常胎児の増加が認められことから、LOAELは91 mg/kg(0.05%), NOAELは44 mg/kg(0.025%)とされている(Tyl et al. 1988)。なお、環境省はDEHP (10,50,250 ug/kg, 1.25,40,50,100,200,1000 mg/kg)を42日間強制経口投与した一世代試験の結果、50ug/kgにおいてF₁雌の血清中FSH濃度の高値が得られたが、生理的変動の範囲内であると考えられたと報告している(<http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/speed98-19.pdf>)。

ヒトの児についての調査から、妊婦のDEHPを含むフタル酸エステル類の代謝物の量と男児の生殖器官の発達の間に関連性があることが最近報告された(Swan 2008)。

(5) その他

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

8週の子豚の耳にアレルギーを注射したところ、アレルギー反応が増加したとの報告が有る(Yanagisawa et al. 2008)。また、室内の塵中の DEHP 量と子供の喘息との間に有意な相関が認められたとの報告があり(Kolarik et al. 2008)、DEHPによる生殖・発生毒性に加えて、アレルギーとの関係にも注意しておく必要があると思われる。

なお、2000年の厚生省生活衛生局食品化学課長通知(平成12年6月14日 衛化第31号)のDHEPの評価においては、「フタル酸エステル類については内分泌ホルモン様の作用及びそれに基づく生体障害の可能性が問われている。DEHPにおける内分泌かく乱の可能性の如何は今後の研究を待たなければならないが、*in vitro*試験における最低作用濃度($10\ \mu\text{M}=3.9\text{mg/kg}$)でも従来の精巣毒性で求められている無毒性量に較べて著しく低用量とは言えず、さしあたり一般毒性についてこれまでの毒性試験の評価方法で判断することは差し支えない」とされている。

2. Benzyl Butyl Phthalate (BBP)

(1) トキシコキネティクス

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

(2) 一般毒性

動物における経口及び経皮投与のLD₅₀が2 g/kg bwを超えることから、急性

毒性は強くないと考えられる(IPCS (WHO) 1999)。

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

B6C3F1マウスの2年間混餌投与の結果、体重の減少が1,029 mg/kg以上の投与でみられたが、生殖器を含むいずれの器官においても影響が認められていないことから(NTP 1982b)、マウスはラットよりBBPの毒性に対する感受性が低いと考えられる。イヌの90日間経口投与においても体重減少がみられたものの、精巣や肝臓に病理学的変化がなく(Hammond et al. 1987)、イヌのBBP毒性に対する感受性も低いと考えられる。B6C3F1マウスの2年間の混餌投与試験では、発がん性は認められず、雌の単核白血球数がわずかに上昇したのみであった(NTP 1982b)。一方、ラットの2年間混餌投与試験では、雄の腎臓重量増加および雌の腎症を根拠にLOAELを120 mg/kg (雄)、300 mg/kg (雌)としている。また、500 mg/kg投与で雄に膵臓がんの兆候が認められ、1,200 mg/kgで雌の膵臓及び膀胱の発がん性に対し疑わしい結果が得られた(NTP 1997)。一般毒性を示す動物試験は十分に存在し、肝臓が第一の標的器官であると示唆された。

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

(3) 生殖毒性

交配前2週間WUラットに強制経口投与した生殖毒性スクリーニング試験の結果、1000 mg/kgでは受胎能の低下及び精巣の病理学的変化が認められた(Piersma et al. 1995)。また、妊娠母体数および一腹当たりの生存児数の減少も1,000 mg/kgで認められたが、これらの影響が雌雄どちらの親の毒性に起因したのかは明らかに出来なかった。この試験における生殖のNOAELは500

mg/kgとされた。Wistarラットに混餌投与した1世代生殖毒性試の結果、生殖に影響はみられなかった(TNO NaFRI 1993)。この試験におけるNOAELは418 mg/kg (雄) - 446 mg/kg (雌) とされた。一方、SDラットの2世代繁殖試験では、F₀・F₁の全身毒性及びF₁の受胎能低下が750 mg/kgで認められ、BBPの受胎能のNOAELは250 mg/kgとされた(Tyl et al. 2004)。

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

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

なお、経済産業省の報告によると、BBP(100,200,400mg/kg)を1群あたり雌雄各24匹のCrj:CD(SD)IGSラットに2世代にわたって強制経口投与した結果、親動物では、100mg/kg投与で流涎、精巣の精細管のびまん性萎縮、精巣上体の管腔内精子減少がみられた。また、400mg/kgで受胎率の低下と雄の包皮分離に遅延がみられ、NOAELは100mg/kg未満とされた。

(<http://www.meti.go.jp/report/downloadfiles/g30701d46j.pdf>) また、環境省は、BBP (2,12,60,300ug/kg, 40,100,200,400,500,1000,2000mg/kg)を42日間強制経口投与した試験の結果、影響が既に報告されている用量付近(500mg/kg)でF1生存児数の減少、F1雄の体重減少やAGD短縮などの有意な所見が認められたと報告している

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

なお、BBPを含む複数のフタル酸エステルを投与して際の複合影響について

て検討した以下の研究が報告されている。

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

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

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

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

(4) 発生毒性

BBPの発生毒性に対する試験では、妊娠6-15日または妊娠7-15日の高用量の経口投与において、児死亡および催奇形性が確認されている。これらの毒性は、投与量および発育年齢に依存する。SDラット及びWistarラットの発生毒性に対するNOAELは、420-500 mg/kgとされ、750 mg/kg以上の投与では、出生

前死亡の増加、胎児の成長遅延、外表・骨格・内臓奇形がみられた(Field et al. 1989; Ema et al. 1992)。投与期間を妊娠0-20日に延長した結果、Wistarラットの発生毒性に対するNOAELは185 mg/kgであった。

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

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

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

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

以上の結果より、発生毒性のNOAELは、2世代繁殖試験で抗アンドロゲン作用の指標とされるAGDの減少がみられたことから、50 mg/kgと判断された。

なお、経済産業省の報告

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

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

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

(5) その他

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

3. Di-n-Butyl Phthalate (DBP)

(1) トキシコキネティクス

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

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

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

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

(2) 一般毒性

DBP の急性毒性は弱く、ラットにおける経口 LD_{50} は 8,000~20,000 mg/kg であることが報告されている (IPCS (WHO) 1997)。

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

(3) 生殖毒性

実験動物においては、上述の通り、ラットを用いた 13 週間混餌投与試験において、720 mg/kg 以上の投与群で雄生殖器系への影響が認められている (Marsman 1995)。一方、マウスを用いた 13 週間混餌投与試験では、3,689 mg/kg の投与でもこのような影響は引き起こされていない (Marsman 1995)。2,000 mg/kg の DBP を 7-9 日間強制経口投与したラットやモルモットでは、顕著な精細管萎縮が観察されたのに対し、同様な投与を行ったマウスでは軽度な巣状萎縮のみが観察され、さらに、ハムスターではこのような精巣病変は引き起こされなかった (Gray et al. 1982)。雄の生殖機能や生殖器発達への影響に関しては、ラットを用いた多くの研究結果が報告されている。

Sprague-Dawley ラットへの混餌投与による連続交配試験では、F₁ 雄動物において精細管変性が用量依存的に増加し、509~794 mg/kg 投与群では、精巣上体の欠損・発育不全、精巣の精子細胞数の低下や間細胞過形成、さらには交尾率/受胎率の低下が認められた (Wine et al. 1997)。この試験では、すべての投与群で生存同腹児数や生存児重量の低下がみられたことから、LOAEL は 52~80 mg/kg と結論された。Long Evans ラットを用い、離乳時より DBP を反復強制経口投与した試験では、250 mg/kg 以上のすべての投与群で亀頭包皮分離の遅れがみられ、さらに、500 mg/kg 以上の投与群では、精細管萎縮、精子産生能の低下及び繁殖能の低下 (未投与雌動物と交配) が認められた (Gray et al. 1999)。妊娠期及び受乳期のみ母体を介して暴露された F₁ 動物においても、尿生殖器の奇形、精子数の低下や繁殖能の低下が観察されている。CD ラットの妊娠 12~21 日に DBP を強制経口投与した試験では、雄児の生殖器奇形や乳頭/乳輪保持などがみられ、NOAEL は 50 mg/kg と結論された (Mylchreest et al. 1999; Mylchreest et al. 2000)。この試験では、生後 3 ヶ月時に剖検を行ったところ、低頻度であるものの、ライディッヒ細胞の増殖性変化 (過形成及び腺腫) が観察されたことが報告されている。また、より低い用量でも生殖器発達への影響が引き起こされたことが研究報告されている (Lee et al. 2004)。この試験では、CD(SD)IGS ラットに妊娠 15 日から出産後 21 日まで DBP を混餌投与した結果、雄児では精母細胞の発達低下がみられ、さらに雌雄児において乳腺の変化が観察された。児を生後 8~11 週時に剖検した結果、精巣の病変は軽度であったものの、雄動物の乳腺にはより顕著な変化 (腺房変性や萎縮) が観察された。これらの変化は最低用量群である 1.5~3.0 mg/kg 投与群でも認められたため、NOAEL を設定することが出来なかった。

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

なお、環境省は DBP (31,63,125,250,500ug/kg, 40,50,200,250,1000mg/kg) を 42 日間強制経口投与した結果、影響が既に報告されている用量付近

(250mg/kg)で F1 雄の AGD 短縮や、生殖器及び副生殖器の欠損・低形成・萎縮などの有意な所見が認められたと報告している

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

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

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

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

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

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

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

(Colon et al. 2000)。また、DBP 暴露が子宮内膜症と関連しているという報告もある(Reddy et al. 2006)。

(4) 発生毒性

Wistar ラットの妊娠 7~15 日に DBP を強制経口投与した結果、生存同腹胎児数及び生存胎児重量の低下や口蓋裂が引き起こされ、NOAEL は 500 mg/kg と結論された (Ema et al. 1993)。その後、Wistar ラットの妊娠 11~21 日に混餌投与を行ったところ、555 mg/kg 以上の投与群の雄児で停留辜丸や肛門生殖突起間距離の低下が引き起こされることが明らかとなった (Ema et al. 1998)。DBP による生殖器発達への影響に関しては、上述の通り、多くの研究が報告されている (“3. 生殖毒性” 参照)。特に、Lee らによる研究では、最低用量群 (1.5~3.0 mg/kg) でも、雄児の精母細胞の発達低下や乳腺の変化が観察されており、DBP の生殖器発達への影響に関する NOAEL は得られていない (Lee et al. 2004)。

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

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

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

(5) その他

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

4. Diisononyl Phthalate (DINP)

(1) トキシコキネティクス

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

(2) 一般毒性

13 週間、成熟マーモセットに 0、100、500、2,500 mg/kg を強制経口投与したところ、高用量で体重や体重増加量の減少がみられ(Hall et al. 1999)、NOAEL は 500 mg/kg であった。

2 週間、思春期前(生後2年)のカニクイザルに 0、500 mg/kg の DINP を強制経口投与したところ、500 mg/kg で白血球数に変化がみられ、本試験の NOAEL は設定できなかった(Pugh et al. 2000)。

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

同じ試験計画の2年間混餌投与試験が3通り行われた。F344 ラットに、より低用量で DINP (異性体混合物) を投与した試験(雄: 0、15、152、307、雌: 0、18、184、375 mg/kg) (Lington et al. 1997)、F344 ラットに、より高用量で DINP-1 を投与した試験(雄: 0、29、88、359、733、雌: 0、36、109、

442、885 mg/kg) (Moore 1998b)、B6C3F1 マウスに DINP-1 を投与した試験 (雄 : 0、90、276、742、1,560、雌 : 0、112、336、910、1,888 mg/kg) (Moore 1998a)である。これらの3試験で最高用量でも精巣や雌の生殖器に病変は認められなかった。肝海綿状変性 (ラット)・肝細胞肥大 (マウス) や肝酵素活性の変化が、ラットでは 152 mg/kg 以上、マウスでは最高用量で認められた。ペルオキシゾーム増殖については、ラットでは最高用量でペルオキシゾーム増殖に関する生化学的変化が雌雄の全期間で認められ、投与終了時には雌の 442 mg/kg でも認められた。マウスでは最高用量で認められたが、それより低い用量ではペルオキシゾーム増殖について検査されていない。電子顕微鏡による評価ではラットにペルオキシゾーム増殖の影響は認められなかった (Lington et al. 1997)。非腫瘍性の腎臓障害や尿量の変化がラットでは 307 mg/kg 以上、マウスでは最高用量で認められた。貧血傾向が 307 mg/kg 以上のラットで認められた。肝腫瘍がラットでは雄のみに最高用量の 733 mg/kg で、マウスでは雄で 742 mg/kg 以上、雌で 336 mg/kg 以上で認められた。腎腫瘍はラットの雄のみに最高用量の 733 mg/kg で認められた。これらより、ラットでは 152 mg/kg 以上で肝臓障害や肝酵素活性変化がみられたことから、一般毒性の NOAEL は雄で 15 mg/kg、雌で 18 mg/kg であった。マウスでは雄の 742 mg/kg 以上、雌の 336 mg/kg 以上で肝腫瘍がみられたことから、一般毒性の NOAEL は雄で 276 mg/kg、雌で 112 mg/kg であった。

(3) 生殖毒性

生殖毒性については、SD ラットによる一世代用量設定試験・二世代混餌投与試験で評価され、試験には妊娠全期間の子宮内暴露も含まれていた (Waterman et al. 2000)。一世代用量設定試験ではラットに 0、0.5、1.0、1.5% の DINP-1 が F₀ 雄では交配前 10 週から交配後まで、F₀ 雌では交配前 10 週から妊娠・授乳期を通して産後 21 日まで投与され、二世代試験ではラットに 0、0.2、0.4、0.8% の DINP-1 が F₀ 雄では交配前 10 週から最終児出産まで、F₀ 雌では交配前 10 週から妊娠授乳期を通して出産後 21 日まで、F₁ 雄では生後 21 日から交配を通して最終児出産まで、F₁ 雌では生後 21 日から交配・妊娠・授乳期を通して産後 21 日まで投与された。二世代試験において、交配・受胎能・精巣組織を含む生殖パラメータについて両世代の高用量 (0.8%、雄 : 665-779 < F₀-F₁。以下同じ >、雌 : 696-802 mg/kg) でも影響が認められず、また、一世代用量設定試験でも高用量 (1.5%、雄 : 966-1,676、雌 : 1,114-1,694 mg/kg) で雌雄ラットの受胎能への影響はなかった。一般毒性としては、全用量で両世代の雌雄親ラットの肝臓に軽度の好酸球増加が認められ、中高用量の雄の F₁ 親では腎盂拡張がみられた。雌雄ラットの受胎能と生殖器について高

用量まで影響が認められなかったことから、NOAEL は妊娠ラットで 560 mg/kg、授乳期ラットで 1,129 mg/kg、成熟ラットの雄で 1,676 mg/kg、雌で 1,694 mg/kg であった。しかし、この試験では他のフタル酸エステル類で高感受性を示す生殖発生指標が評価されていないことを考慮する必要がある。

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

(4) 発生毒性

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

Wistar ラット (10 匹/群) に 0、40、200、1,000 mg/kg の DINP-1、DINP-2 (CAS 28553-12-0)、DINP-3 (CAS 番号は DINP-2 と同じ。製造法が異なる) を投与し、高用量でのみ影響が認められた(Hellwig et al. 1997)。一般毒性として雌の腎臓と肝臓の重量が増加し、発生については、骨格変異 (腰肋と頸肋) が数的に増加し、骨格異常もみられた。また、腎盂拡張や腎臓・尿管の形成不全もみられた。胎児の生存率と体重には影響がなかった。これらから、母体毒性と発生毒性の NOAEL は 200 mg/kg であった。SD ラット (25 匹/群) に 0、100、500、1,000 mg/kg の DINP-1 を投与したところ、1,000 mg/kg で妊娠ラットに摂餌量と体重増加量の減少みられ(Waterman et al. 1999)、500 mg/kg で骨格変異 (腰肋と頸肋) の増加が認められた(McKee 2000)。これらの結果から、母体毒性の NOAEL は 500 mg/kg、発生毒性の NOAEL は 100 mg/kg であった。また、腰肋の 5%BMD は 193 mg/kg (95% LCL=162 mg/kg) であった(McKee 2000)。2 試験における発生毒性の NOAEL は 200 mg/kg と 100 mg/kg であり、その差はラットの系統と用量選択の違いによると思われる。これらの 2 試験では、フタル酸エステル類の発生毒性の臨界期である妊娠後期に投与が行われておらず、さらに、試験計画的に出生後の性成熟の評価はできない。

妊娠後期投与については、生殖毒性の項で上述した二世代生殖試験により評価したところ、胎児期~離乳前に児の体重増加量の減少がみられたが(Waterman et al. 2000)、他のフタル酸エステルでは影響を受けやすいと考えられている生殖器官の発生影響については検査されていない。F₁ 児体重は生後 0 日の雄で 0.8%、生後 7、14 日の雌雄で 0.4%以上、生後 21 日の雌雄で全用量において減少した。F₂ 児体重は生後 4、14、21 日の雌で 0.4%以上、生

後 7 日の雌で 0.2% (胎児期 143 mg/kg、乳児期 285 mg/kg) 以上において減少し、生後 7、14、21 日の雄で 0.4%以上において減少した。したがって、低用量 (0.2%) で児体重の減少がみられたことから、発生毒性の LOAEL は胎児期で 143 mg/kg、乳児期では 285 mg/kg であり、NOAEL は設定できない。

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

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

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

(5) その他

OECD(1998)のリスク評価では、DINP は *in vitro* および *in vivo* 遺伝毒性試験において陰性であることが確認されている。

5. Diidodecyl Phthalate (DIDP)

(1) トキシコキネティクス

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

尿中に検出される主な代謝物はフタル酸エステルとモノエステル体の側鎖酸化物であり、DIDP、MIDP は検出されない。未代謝の親化合物および MIDP

は便中に排泄される。

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

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

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

(2) 一般毒性

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

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

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

イヌを用いた 90 日間混餌試験において、77 mg/kg 以上の投与群で肝細胞性の腫張および空砲化が認められ、NOAEL は、15mg/kg (雄) であった。精巢に障害は認められなかった(Hazelton Laboratories 1968a)。

(3) 生殖毒性

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

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

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

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

上記 2 世代試験において DIDP0.4% (295 mg/kg) までを投与された親ラットから生まれた雄児動物では、乳頭遺残は認められず、肛門生殖突起間距離は正常であったことから、本用量では抗アンドロゲン作用は示されない(Hushka et al. 2001)。

(4) 発生毒性

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

1 群 25 匹の Sprague-Dawley ラットを用いて、妊娠 6-15 日に DIDP 0,100,500,1000 mg/kg を強制経口投与し、妊娠 20-21 日に胎児を剖検検査した結果、1000 mg/kg 群の母動物では、摂餌量および体重の低下が認められた。痕跡様頸肋や腰肋を有する胎児の割合が 500 mg/kg 以上で用量依存的かつ有意に増加し、変異を有する胎児を出産した母動物の割合も 1000 mg/kg で有意に増加した(Waterman et al. 1999)。報告者らは、母動物および発生毒性の LOAEL を 1,000、NOAEL を 500 mg/kg と報告しているが、NTP では、頸

肋や腰肋の有意な増加より発生毒性の NOAEL を 100 mg/kg と判断している。

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

(5) その他

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

6. Di-n-octyl phthalate (DNOP)

(1) トキシコキネティクス

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

脂肪酸酸化経路で代謝される。

(2) 一般毒性

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

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

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

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

(3) 生殖毒性

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

思春期ラットから単離したセルトリ細胞と生殖細胞の in vitro 共培養系における生殖細胞の脱離が認められた。作用は、2-ethylhexyl monoester の 100 倍弱いものの、他のフタル酸エステル類と同様の作用があることを示唆してい

る。しかし、in vivo では DNOP 投与による生殖細胞やセルトリ細胞への影響は報告されていない(Gray and Beaman 1984)。

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

(4) 発生毒性

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

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

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

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

(5) その他

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

7. まとめ

各フタル酸エステルの急性毒性は弱く、ラットにおける経口 LD₅₀ 値は、25 g/kg 以上 (DEHP)、2 g/kg 以上 (BBP)、8~20 g/kg(DBP)、53.7g/kg (DNOP)

と報告されている。また、各フタル酸エステルは経口投与においてはほとんどが膵リパーゼや小腸リパーゼによりモノエステル体に加水分解され、速やかに吸収されるが臓器等への蓄積性はなく、グルクロン酸抱合体化され、胆汁あるいは尿中に排泄されると考えられる。主な標的臓器は肝臓および腎臓であり、DEHP、BBP、DBP においては精巣への影響も認められる。一方、DINP、DIDP、DNOP では精巣への影響は認められていないが、DIDP と DNOP については、高用量で甲状腺への影響が認められる。BBP では膵臓も標的器官である可能性がある。生殖発生毒性に関して、DEHP、BBP、DBP では、受胎能低下などの生殖能力への影響が認められ、低用量でも次世代の生殖器発達等に影響を与えている。DINP、DIDP、DNOP では生殖能力への影響は高用量でもほとんど認められていない。生殖器官等の発達異常を除く一般的な催奇形性に関しては、ほとんどのフタル酸エステルの高用量暴露（100～500mg/kg 以上）により外形異常を誘発することが示されている。

また、DEHP、BBP、DBP による生殖器官等の発達異常に関しては、複合投与による相加作用のあることが、テストステロンの生成レベルの抑制作用や抗アンドロゲン作用に対する検証結果も加えて報告されている。これら相加性の情報は断片的で、メカニズムを含めて、その毒性学的意味付けは定量的評価も含めて今後の課題と考えられる。

フタル酸エステルの発がん性については、高用量 DEHP の投与により雌雄のマウス及びラットで肝腫瘍の発生頻度の増加が認められている。ラットの BBP の 2 年間混餌投与試験で、500 mg/kg 投与で雄に膵臓がんの兆候が認められ、1,200 mg/kg で雌の膵臓及び膀胱の発がん性に対し疑わしい結果が得られている(NTP 1997)。DEHP は Group3 (ヒトに対して発がん性があると分類出来ない) と判定されている(IARC 2000)。一方、各フタル酸エステルの *in vitro* 遺伝毒性試験は陰性であり、ほとんどのフタル酸エステルで *in vivo* 遺伝毒性試験も陰性結果が報告されている。

反復投与毒性に関して、肝臓への影響としてラットに DEHP 及び DNOP を投与した結果、5,000 ppm 以上の投与で肝細胞肥大が認められ、NOAEL は 3.7 mg/kg (DEHP) 及び 37mg/kg(DNOP)とされた(Poon et al. 1997)。BBP の投与では肝臓の相対重量増加が最低用量の 120-151 mg/kg から認められている(Agarwal et al. 1985; Hammond et al. 1987; NTP 1997)。DBP の投与では、350 mg/kg 以上の用量で肝臓の毒性影響が認められ (BASF 1992; Marsman 1995)、ラットではシアン化物非感受性パルミチル CoA 酸化活性の増加に加え、ペルオキシソームの増殖が確認されており、NOAEL は 142 mg/kg とされている。

DINP については、ラットでは 152 mg/kg 以上で肝臓障害や肝酵素活性変化がみられたことから、NOAEL は雄で 15 mg/kg、雌で 18 mg/kg、マウスでは雄の 742 mg/kg 以上、雌の 336 mg/kg 以上で肝腫瘍がみられたことから、NOAEL は雄で 276 mg/kg、雌で 112 mg/kg であった。イヌを用いた 90 日間混餌試験において、DIDP の 77 mg/kg 以上の投与群で肝細胞性の腫張および空砲化が認められ、NOAEL は 15mg/kg (雄) であった(Hazelton Laboratories 1968a)。幼若ラットは DEHP に対する精巣への感受性が高く、DEHP を 70-100 日間投与した結果、精巣のライディッヒ細胞の数と DNA 合成の増加が 10 または 100 mg/kg 群で認められたことを報告しており、NOAEL は 1 mg/kg と判断された(Akingbemi et al. 2001; Akingbemi et al. 2004)。BBP の投与における精巣、精囊、精巣上体及び前立腺の変異は 1,338 mg/kg 以上の投与で確認されおり(Agarwal et al. 1985; Hammond et al. 1987; NTP 1997)、また DBP の投与では、720 mg/kg 以上で精細管萎縮や精子減少が認められている(BASF 1992)。肝臓や精巣への影響は霊長類においては、感受性が低いことが知られており、2 歳未満の若いカニクイザルやマーモセットに対して DEHP 投与は、精巣へ影響を示さないことが示されている(Pugh et al. 2000 ; Kurata et al. 1998; Tomonari et al. 2006)。

生殖毒性に関しては、DEHP を混餌投与した多世代試験の結果、ラットの精巣及び精巣上体の絶対及び相対重量の減少が 7500 ppm 以上の F₁、F₂、F₃ 雄で認められたことから、生殖発生毒性の NOAEL は 100 ppm (3-5 mg/kg) とされている(NTP 2004)。BBP の 2 世代繁殖試験では、F₀・F₁ ラットの全身毒性及び F₁ の受胎能低下が 750 mg/kg で認められ、BBP の受胎能の NOAEL は 250 mg/kg とされた(Tyl et al. 2004)。BBP を用いた SD ラットの 2 世代繁殖試験において、精巣・精巣上体・精囊への影響が 500 mg/kg の投与で F₁ ラットの思春期以降に確認され、NOAEL は 100 mg/kg とされた(Nagao et al. 2000)。DBP を用いた試験では、最低用量群である 1.5~3.0 mg/kg 投与群でもラットの生殖器発達への影響が認められたため、NOAEL を設定することが出来なかった(Lee et al. 2004)。

DINP の二世世代混餌投与試験では、雌雄ラットの受胎能と生殖器への影響について高用量まで影響が認められなかったことから、NOAEL は 560 mg/kg であった(Waterman et al. 2000)。DIDP を用いた 2 世代試験では、F₁ 動物で生殖系臓器の病理検査に影響は認められず、生殖毒性の NOAEL は、0.8%(雄: 427-929 mg/kg、雌: 508-927 mg/kg)であった(Waterman et al. 2000)。DNOP を用いたマウスの 2 世代試験(Heindel et al. 1989)、ラットの 13 週間混餌投与(Poon et al. 1997)、ラットへの 4 日間強制経口投与(Foster et al. 1980)のいずれの試験においても生殖系臓器への影響は認められていない。繁殖に対する十分な検討がな

されていないものの、生殖毒性の NOAEL は、ラットで 350(403) mg/kg と考えられる。

発生毒性に関しては、DEHP を用いたマウスの試験で、0.1% (191 mg/kg) 以上の胚死亡増加、0.05% (91 mg/kg) 以上での形態異常胎児の増加により NOAEL は 44 mg/kg(0.025%) と考えられる(Tyl et al. 1988)。BBP を用いたラットの 2 世代繁殖試験では、250 mg/kg の投与での F₁・F₂ 児の AGD 短縮が認められ、NOAEL は 50 mg/kg と考えられる(Tyl et al. 2004)。DBP を用いた試験では、最低用量群 (1.5~3.0 mg/kg) でも雄児の精母細胞の発達低下や乳腺への影響が観察されており NOAEL は得られていない(Lee et al. 2004)。DINP を用いたラットの二世世代生殖試験では、発生毒性の指標として児体重の減少が 143 mg/kg でも認められ NOAEL は設定できなかつた(Waterman et al. 2000)が、妊娠 SD ラットに DINP-1 を投与した実験で、500 mg/kg で骨格変異の増加が認められた(McKee 2000)、NOAEL として 100 mg/kg が得られている。DIDP を用いた 2 世代試験の結果、F₁ 児の発達への影響は認められなかつたが、0.2% 以上の F₂ 児における生後生存率および新生児体重の低下が認められ、NOAEL は 0.06% (妊娠期：38-44、授乳期：52-114 mg/kg) であつた(Hushka et al. 2001)。DNOP を用いたラットの催奇形試験では、胎児体重がいずれの投与群(換算値：0, 4,890, 9,780 mg/kg)でも減少し、奇形発生率の投与量依存的な増加が認められた(Singh et al. 1972)が、DNOP 混餌投与によるマウス 2 世代試験では、出産成績に影響は認められていない(Gulati et al. 1985; Heindel et al. 1989)。

ヒトへの暴露の研究では、乳幼児では低い糸球体濾過率による低い腎臓のクリアランスと未熟なグルクロン酸抱合能により、毒性のある代謝物の体内量を増やす可能性や、遊離のDEHPの酸化的代謝物が母乳や羊水中に存在することによる追加リスクの可能性が指摘されている(NTP 2006)。一方、疫学研究に関しては、以下に示すようにDEHPやDBP代謝物の暴露と、精子や生殖器発達に関する異常とに関する様々な研究がおこなわれているが、未だ因果関係を明確に説明できる十分なデータは得られていない。

精子数に関しては、DEHP(MEHP)、DBP、MBuPまたはMBzPの暴露と精子の形態異常増加、血中フリーテストステロン量減少などとの関連性が指摘されているものの(Murature et al. 1987; Duty et al. 2003; Hauser et al. 2006; Pan et al. 2006; Zhang et al. 2006)、否定する結果も報告されている(Duty et al. 2005)。一方、プエルトリコの女兒にみられる乳房の早熟とDEHP (MEHP) 及びDBPの暴露に相関関係があるという報告があるが(Colon et al. 2000)、動物実験では性成熟を早める報告はない。発生異常に関する研究では、母乳中のフタル酸エステル濃度と児の精巣停留に因果関係は示されなかつたが、MBuP濃度

やMINP濃度と児のテストステロン量や卵胞刺激ホルモン量との間に相関関係がみられた(Main et al. 2006)。また、母親の血中MBuP及びMBzP濃度がAGD／体重の低下に関与していたという報告もある(Swan et al. 2005)。さらに最近、妊婦のフタル酸エステル類の代謝物の量と男児の生殖器官の発達間に有意な関連性があることも報告されているが(Swan 2008)、乳児期に院内でDEHPを高濃度暴露していたと推定される男女の健康状態（性成熟を含む）を青年期に調べた結果、正常の範囲内であったとの報告もある(Hack et al. 2002; Rais-Bahrami et al. 2004)。

Reference

- Agarwal, D. K., R. R. Maronpot, J. C. t. Lamb and W. M. Kluwe (1985) Adverse effects of butyl benzyl phthalate on the reproductive and hematopoietic systems of male rats. *Toxicology*, 35, 189-206.
- Akingbemi, B. T., R. Ge, G. R. Klinefelter, B. R. Zirkin and M. P. Hardy (2004) Phthalate-induced Leydig cell hyperplasia is associated with multiple endocrine disturbances. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 775-780.
- Akingbemi, B. T., R. T. Youker, C. M. Sottas, R. Ge, E. Katz, G. R. Klinefelter, B. R. Zirkin and M. P. Hardy (2001) Modulation of rat Leydig cell steroidogenic function by di(2-ethylhexyl)phthalate. *Biol Reprod*, 65, 1252-9.
- Albro, P. W. and B. Moore (1974) Identification of the metabolites of simple phthalate diesters in rat urine. *J Chromatogr*, 94, 209-18.
- Albro, P. W. and R. O. Thomas (1973) Enzymatic hydrolysis of di-(2-ethylhexyl) phthalate by lipases. *Biochim Biophys Acta*, 306, 380-90.
- Arther D. Little Inc. (1983) "Report to the Chemical Manufactures Association, part I, CMA REF: PE-18.0-PK-ADL."
- Ashby, J., H. Tinwell, P. A. Lefevre, J. Odum, D. Paton, S. W. Millward, S. Tittensor and A. N. Brooks (1997) Normal sexual development of rats exposed to butyl benzyl phthalate from conception to weaning. *Regul Toxicol Pharmacol*, 26, 102-18.
- Astill, B. D. (1989) Metabolism of DEHP: effects of prefeeding and dose variation, and comparative studies in rodents and the cynomolgus monkey (CMA studies). *Drug Metab Rev*, 21, 35-53.
- BASF (1969a) "Bericht uber den 28-tage-ratten Futterungsversuch mit PALATINOL Z."
- BASF (1969b) "German Studies for DIDP. Bericht uber den 90-tage-ratten-Futterungsversuch mit PALATINOL Z."
- BASF (1992) "Study on the oral toxicity of dibutyl phthalate in Wistar rats. Administration via the diet over 3 months. 31S0449//89020: Eastman Kodak Company."
- Bayer AG. (1998) "Developmental reproduction study in Wistar rats with application in the diet or drinking water 28215."
- BIBRA (1985) A 21-day feeding study of diisononyl phthalate to rats: effects

- on the liver and liver lipids. Unpublished Laboratory Report, Report No 0495/6/85, from the British Industrial Biological Research Association submitted to Chemical Manufacturers Association.
- CMA.(1999) "Comments of the Chemical Manufacturers Association phthalate esters panel in response to request for public input on seven phthalate esters. FR Doc. 99-9484. Washington, DC: Chemical Manufacturers Association,."
- Cobellis, L., G. Latini, C. De Felice, S. Razzi, I. Paris, F. Ruggieri, P. Mazzeo and F. Petraglia (2003) High plasma concentrations of di-(2-ethylhexyl)-phthalate in women with endometriosis. *Hum Reprod*, 18, 1512-5.
- Colon, I., D. Caro, C. J. Bourdony and O. Rosario (2000) Identification of phthalate esters in the serum of young Puerto Rican girls with premature breast development. *Environ Health Perspect*, 108, 895-900.
- Dostal, L. A., R. E. Chapin, S. A. Stefanski, M. W. Harris and B. A. Schwetz (1988) Testicular toxicity and reduced Sertoli cell numbers in neonatal rats by di(2-ethylhexyl)phthalate and the recovery of fertility as adults. *Toxicol Appl Pharmacol*, 95, 104-21.
- Duty, S. M., R. M. Ackerman, A. M. Calafat and R. Hauser (2005) Personal care product use predicts urinary concentrations of some phthalate monoesters. *Environ Health Perspect*, 113, 1530-5.
- Duty, S. M., M. J. Silva, D. B. Barr, J. W. Brock, L. Ryan, Z. Chen, R. F. Herrick, D. C. Christiani and R. Hauser (2003) Phthalate exposure and human semen parameters. *Epidemiology*, 14, 269-77.
- Eigenberg, D. A., H. P. Bozigian, D. E. Carter and I. G. Sipes (1986) Distribution, excretion, and metabolism of butylbenzyl phthalate in the rat. *J Toxicol Environ Health*, 17, 445-56.
- Elsisi, A. E., D. E. Carter and I. G. Sipes (1989) Dermal absorption of phthalate diesters in rats. *Fundam Appl Toxicol*, 12, 70-7.
- Ema, M., H. Amano, T. Itami and H. Kawasaki (1993) Teratogenic evaluation of di-n-butyl phthalate in rats. *Toxicol Lett*, 69, 197-203.
- Ema, M., A. Harazono, E. Miyawaki and Y. Ogawa (1996a) Developmental toxicity of mono-n-benzyl phthalate, one of the major metabolites of the plasticizer n-butyl benzyl phthalate, in rats. *Toxicol Lett*, 86, 19-25.

- Ema, M., T. Itami and H. Kawasaki (1991) Evaluation of the embryoletality of butyl benzyl phthalate by conventional and pair-feeding studies in rats. *J Appl Toxicol*, 11, 39-42.
- Ema, M., T. Itami and H. Kawasaki (1992) Teratogenic evaluation of butyl benzyl phthalate in rats by gastric intubation. *Toxicol Lett*, 61, 1-7.
- Ema, M., R. Kurosaka, H. Amano and Y. Ogawa (1994) Embryoletality of butyl benzyl phthalate during early pregnancy in rats. *Reprod Toxicol*, 8, 231-6.
- Ema, M., R. Kurosaka, H. Amano and Y. Ogawa (1995) Developmental toxicity evaluation of mono-n-butyl phthalate in rats. *Toxicol Lett*, 78, 101-6.
- Ema, M., R. Kurosaka, A. Harazono, H. Amano and Y. Ogawa (1996b) Phase specificity of developmental toxicity after oral administration of mono-n-butyl phthalate in rats. *Arch Environ Contam Toxicol*, 31, 170-6.
- Ema, M., E. Miyawaki and K. Kawashima (1998) Further evaluation of developmental toxicity of di-n-butyl phthalate following administration during late pregnancy in rats. *Toxicol Lett*, 98, 87-93.
- Erickson, N. (1965) The metabolism of diphenyl phthalate and butylbenzyl phthalate in the beagle dog. *Dissertation Abstracts*, 26, 3014-3015.
- Field, E., C. Price, M. Marr and C. Myers. (1989) "Developmental toxicity evaluation of butyl benzyl phthalate (CAS No. 85-68-7) administered in feed to CD rats on gestational days 6 to 15 NTP-89-246."
- Foster, P. M., J. R. Foster, M. W. Cook, L. V. Thomas and S. D. Gangolli (1982) Changes in ultrastructure and cytochemical localization of zinc in rat testis following the administration of di-n-pentyl phthalate. *Toxicol Appl Pharmacol*, 63, 120-32.
- Foster, P. M., L. V. Thomas, M. W. Cook and S. D. Gangolli (1980) Study of the testicular effects and changes in zinc excretion produced by some n-alkyl phthalates in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol*, 54, 392-8.
- General Motors Corporation. (1983) "Effect of dose on di-isodecyl phthalate disposition in rats 878213821. Warren, MI: U.S. Environmental Protection Agency,."
- General Motors Research Laboratories. (1981) "Toxicity and fate of di-isodecyl phthalate following the inhalation exposure in rats 878210881. Warren, Michigan."

- Gray, L. E., Jr., J. Laskey and J. Ostby (2006a) Chronic di-n-butyl phthalate exposure in rats reduces fertility and alters ovarian function during pregnancy in female Long Evans hooded rats. *Toxicol Sci*, 93, 189-95.
- Gray, L. E., Jr., V. S. Wilson, T. Stoker, C. Lambright, J. Furr, N. Noriega, K. Howdeshell, G. T. Ankley and L. Guillette (2006b) Adverse effects of environmental antiandrogens and androgens on reproductive development in mammals. *Int J Androl*, 29, 96-104; discussion 105-8.
- Gray, L. E., Jr., C. Wolf, C. Lambright, P. Mann, M. Price, R. L. Cooper and J. Ostby (1999) Administration of potentially antiandrogenic pesticides (procymidone, linuron, iprodione, chlozolinate, p,p'-DDE, and ketoconazole) and toxic substances (dibutyl- and diethylhexyl phthalate, PCB 169, and ethane dimethane sulphonate) during sexual differentiation produces diverse profiles of reproductive malformations in the male rat. *Toxicol Ind Health*, 15, 94-118.
- Gray, T. J. and J. A. Beaman (1984) Effect of some phthalate esters and other testicular toxins on primary cultures of testicular cells. *Food Chem Toxicol*, 22, 123-31.
- Gray, T. J., I. R. Rowland, P. M. Foster and S. D. Gangolli (1982) Species differences in the testicular toxicity of phthalate esters. *Toxicol Lett*, 11, 141-7.
- Gulati, D., R. Chambers, S. Shaver, P. Sabehrwal and J. Lamb. (1985) "Di-n-octyl phthalate reproductive and fertility assessment in CD-1 mice when administered in feed. Research Triangle Park: National Toxicology Program."
- Hack, M., D. J. Flannery, M. Schluchter, L. Cartar, E. Borawski and N. Klein (2002) Outcomes in young adulthood for very-low-birth-weight infants. *N Engl J Med*, 346, 149-57.
- Hall, M., A. Matthews, L. Webley and R. Harling (1999) Effects of di-isononyl phthalate (DINP) on peroxisomal markers in the marmoset-DINP is not a peroxisome proliferator. *J Toxicol Sci*, 24, 237-44.
- Hammond, B. G., G. J. Levinskas, E. C. Robinson and F. R. Johannsen (1987) A review of the subchronic toxicity of butyl benzyl phthalate. *Toxicol Ind Health*, 3, 79-98.
- Hardin, B. D., R. L. Schuler, J. R. Burg, G. M. Booth, K. P. Hazelden, K. M. MacKenzie, V. J. Piccirillo and K. N. Smith (1987) Evaluation of 60 chemicals in a preliminary developmental toxicity test. *Teratog*

- Carcinog Mutagen, 7, 29-48.
- Harris, C. A., P. Henttu, M. G. Parker and J. P. Sumpter (1997) The estrogenic activity of phthalate esters in vitro. *Environ Health Perspect*, 105, 802-11.
- Hauser, R., J. D. Meeker, S. Duty, M. J. Silva and A. M. Calafat (2006) Altered semen quality in relation to urinary concentrations of phthalate monoester and oxidative metabolites. *Epidemiology*, 17, 682-91.
- Hauser, R., J. D. Meeker, N. P. Singh, M. J. Silva, L. Ryan, S. Duty and A. M. Calafat (2007) DNA damage in human sperm is related to urinary levels of phthalate monoester and oxidative metabolites. *Hum Reprod*, 22, 688-95.
- Hazelton Laboratories. (1968a) "13-Week Dietary Administration - Dogs Plasticizer (DIDP) - Final Report Project No. 161-168. Clarksville, MD: W.R. Grace and Company."
- Hazelton Laboratories. (1968b) "Three-Month Dietary Administration – Albino Rats DIDP – FDA Grade (Plasticiser) submitted to Dewey and Almy Chemical Division, WR Grace and Company."
- Heindel, J. J., D. K. Gulati, R. C. Mounce, S. R. Russell and J. C. t. Lamb (1989) Reproductive toxicity of three phthalic acid esters in a continuous breeding protocol. *Fundam Appl Toxicol*, 12, 508-18.
- Hellwig, J., H. Freudenberger and R. Jackh (1997) Differential prenatal toxicity of branched phthalate esters in rats. *Food Chem Toxicol*, 35, 501-12.
- Hellwig, J. and R. Jackh (1997) Differential prenatal toxicity of one straight-chain and five branched-chain primary alcohols in rats. *Food Chem Toxicol*, 35, 489-500.
- Hinton, R. H., F. E. Mitchell, A. Mann, D. Chescoe, S. C. Price, A. Nunn, P. Grasso and J. W. Bridges (1986) Effects of phthalic acid esters on the liver and thyroid. *Environ Health Perspect*, 70, 195-210.
- Hotchkiss, A. K., L. G. Parks-Saldutti, J. S. Ostby, C. Lambright, J. Furr, J. G. Vandenberg and L. E. Gray, Jr. (2004) A mixture of the "antiandrogens" linuron and butyl benzyl phthalate alters sexual differentiation of the male rat in a cumulative fashion. *Biol Reprod*, 71, 1852-61.
- Howdeshell, K. L., J. Furr, C. R. Lambright, C. V. Rider, V. S. Wilson and L.

- E. Gray, Jr. (2007) Cumulative effects of dibutyl phthalate and diethylhexyl phthalate on male rat reproductive tract development: altered fetal steroid hormones and genes. *Toxicol Sci*, 99, 190-202.
- Howdeshell, K. L., C. V. Rider, V. S. Wilson and L. E. Gray, Jr. (2008a) Mechanisms of action of phthalate esters, individually and in combination, to induce abnormal reproductive development in male laboratory rats. *Environ Res*, 108, 168-76.
- Howdeshell, K. L., V. S. Wilson, J. Furr, C. R. Lambright, C. V. Rider, C. R. Blystone, A. K. Hotchkiss and L. E. Gray, Jr. (2008b) A mixture of five phthalate esters inhibits fetal testicular testosterone production in the sprague-dawley rat in a cumulative, dose-additive manner. *Toxicol Sci*, 105, 153-65.
- Hushka, L. J., S. J. Waterman, L. H. Keller, G. W. Trimmer, J. J. Freeman, J. L. Ambroso, M. Nicolich and R. H. McKee (2001) Two-generation reproduction studies in Rats fed di-isodecyl phthalate. *Reprod Toxicol*, 15, 153-69.
- IARC(2000) "Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans Volume 77."
- Imajima, T., T. Shono, O. Zakaria and S. Suita (1997) Prenatal phthalate causes cryptorchidism postnatally by inducing transabdominal ascent of the testis in fetal rats. *J Pediatr Surg*, 32, 18-21.
- IPCS (WHO)(1991) "Environmental Health Criteria 131, Diethylhexyl Phthalate."
- IPCS (WHO) (1997) "Environmental health criteria 189: Di-n-butyl phthalate." from <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc189.htm>.
- IPCS (WHO).(1999) "Concise international chemical assessment document 17 -Butyl benzyl phthalate." from <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad17.htm>.
- Jaakkola, J. J., L. Oie, P. Nafstad, G. Botten, S. O. Samuelsen and P. Magnus (1999) Interior surface materials in the home and the development of bronchial obstruction in young children in Oslo, Norway. *Am J Public Health*, 89, 188-92.
- Keys, D. A., D. G. Wallace, T. B. Kepler and R. B. Conolly (2000) Quantitative evaluation of alternative mechanisms of blood disposition of di(n-butyl) phthalate and mono(n-butyl) phthalate in

- rats. *Toxicol Sci*, 53, 173-84.
- Koizumi, M., M. Ema, A. Hirose, A. Kurokawa and R. Hasegawa (2001) No observed adverse effect levels of phthalate esters on reproductive and developmental toxicity; the differences with age and species in testicular toxicity, and tolerable daily intake of DEHP. *Jpn. J. Food Chem*, 8, 1-10.
- Kolarik, B., K. Naydenov, M. Larsson, C. G. Bornehag and J. Sundell (2008) The association between phthalates in dust and allergic diseases among Bulgarian children. *Environ Health Perspect*, 116, 98-103.
- Kurata, Y., F. Kidachi, M. Yokoyama, N. Toyota, M. Tsuchitani and M. Katoh (1998) Subchronic toxicity of Di(2-ethylhexyl)phthalate in common marmosets: lack of hepatic peroxisome proliferation, testicular atrophy, or pancreatic acinar cell hyperplasia. *Toxicol Sci*, 42, 49-56.
- Lake, B. G., W. M. Cook, N. R. Worrell, M. E. Cunningham, J. G. Evans, R. J. Price, P. J. Young and F. M. B. Carpanini (1991) Dose-response relationships for induction of hepatic peroxisome proliferation and testicular atrophy by phthalate esters in the rat. *Hum Exp Toxicol*, 10, 67-68.
- Lake, B. G., T. J. Gray and S. D. Gangolli (1986) Hepatic effects of phthalate esters and related compounds--in vivo and in vitro correlations. *Environ Health Perspect*, 67, 283-90.
- Lake, B. G., J. C. Phillips, J. C. Linnell and S. D. Gangolli (1977) The in vitro hydrolysis of some phthalate diesters by hepatic and intestinal preparations from various species. *Toxicol Appl Pharmacol*, 39, 239-48.
- Lamb, J. C. t., R. E. Chapin, J. Teague, A. D. Lawton and J. R. Reel (1987) Reproductive effects of four phthalic acid esters in the mouse. *Toxicol Appl Pharmacol*, 88, 255-69.
- Latini, G., C. De Felice, G. Presta, A. Del Vecchio, I. Paris, F. Ruggieri and P. Mazzeo (2003) In utero exposure to di-(2-ethylhexyl)phthalate and duration of human pregnancy. *Environ Health Perspect*, 111, 1783-5.
- Lee, K. Y., M. Shibutani, H. Takagi, N. Kato, S. Takigami, C. Uneyama and M. Hirose (2004) Diverse developmental toxicity of di-n-butyl phthalate in both sexes of rat offspring after maternal exposure during the period from late gestation through lactation. *Toxicology*,

203, 221-38.

- Lewis, L. M., T. W. Flechtner, J. Kerkay, K. H. Pearson and S. Nakamoto (1978) Bis(2-ethylhexyl)phthalate concentrations in the serum of hemodialysis patients. *Clin Chem*, 24, 741-6.
- Lhuguenot, J. and M. Cornu (1993) Metabolism of di-(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) and di-(2-ethylhexyl)adipate (DEHA) and their relationship to peroxisome proliferation in different species. *Peroxisomes: Biology and Importance in Toxicology and Medicine*. G. G. Gibson and B. G. Lake. Routledge, UK CRC Press.
- Li, L. H., W. F. Jester, Jr., A. L. Laslett and J. M. Orth (2000) A single dose of Di-(2-ethylhexyl) phthalate in neonatal rats alters gonocytes, reduces sertoli cell proliferation, and decreases cyclin D2 expression. *Toxicol Appl Pharmacol*, 166, 222-9.
- Li, L. H., W. F. Jester, Jr. and J. M. Orth (1998) Effects of relatively low levels of mono-(2-ethylhexyl) phthalate on cocultured Sertoli cells and gonocytes from neonatal rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 153, 258-65.
- Lington, A. W., M. G. Bird, R. T. Plutnick, W. A. Stubblefield and R. A. Scala (1997) Chronic toxicity and carcinogenic evaluation of diisononyl phthalate in rats. *Fundam Appl Toxicol*, 36, 79-89.
- Main, K. M., G. K. Mortensen, M. M. Kaleva, K. A. Boisen, I. N. Damgaard, M. Chellakooty, I. M. Schmidt, A. M. Suomi, H. E. Virtanen, D. V. Petersen, A. M. Andersson, J. Toppari and N. E. Skakkebaek (2006) Human breast milk contamination with phthalates and alterations of endogenous reproductive hormones in infants three months of age. *Environ Health Perspect*, 114, 270-6.
- Mann, A. H., S. C. Price, F. E. Mitchell, P. Grasso, R. H. Hinton and J. W. Bridges (1985) Comparison of the short-term effects of di(2-ethylhexyl) phthalate, di(n-hexyl) phthalate, and di(n-octyl) phthalate in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 77, 116-32.
- Marsman, D. (1995) "NTP technical report on toxicity studies of dibutyl phthalate (CAS No. 84-74-2) administered in feed to F344 rats and B6C3F1 mice NIH Publication 95-3353. Research Triangle Park: National Toxicology Program, 1995."
- Martino-Andrade, A. J., R. N. Morais, G. G. Botelho, G. Muller, S. W. Grande, G. B. Carpentieri, G. M. Leao and P. R. Dalsenter (2008) Coadministration of active phthalates results in disruption of foetal

- testicular function in rats. *Int J Androl*.
- Masutomi, N., M. Shibutani, H. Takagi, C. Uneyama, K. Y. Lee and M. Hirose (2004) Alteration of pituitary hormone-immunoreactive cell populations in rat offspring after maternal dietary exposure to endocrine-active chemicals. *Arch Toxicol*, 78, 232-40.
- Masutomi, N., M. Shibutani, H. Takagi, C. Uneyama, N. Takahashi and M. Hirose (2003) Impact of dietary exposure to methoxychlor, genistein, or diisononyl phthalate during the perinatal period on the development of the rat endocrine/reproductive systems in later life. *Toxicology*, 192, 149-70.
- Matsumoto M, Hirata-Koizumi M, Ema M. (2008) Potential adverse effects of phthalic acid esters on human health: a review of recent studies on reproduction. *Regulat Toxicol Pharmacol*, 50, 37-49.
- McKee, R. (2000) Personal communication to Jack Moore.
- Melnick, R. L., R. E. Morrissey and K. E. Tomaszewski (1987) Studies by the National Toxicology Program on di(2-ethylhexyl)phthalate. *Toxicol Ind Health*, 3, 99-118.
- Midwest Research Institute. (1983a) "Dermal disposition of 14C-diisononyl phthalate in rats 35320."
- Midwest Research Institute. (1983b) "Single and repeated oral dose pharmacokinetics of 14C-labeled diisononyl phthalate with cover letter."
- Mikuriya, H., I. Ikemoto and A. Tanaken (1988) Urinary metabolites contributing to the testicular damage induced by butylbenzyl phthalate. *Jikeikai Med J*, 35, 403-409.
- Monsanto (1978) "Teratogenic study with sanitizer 160 in albino rabbits IBT No. 8580-09859."
- Moore, M. (1998a) "Oncogenicity study in mice with di(isononyl)phthalate including ancillary hepatocellular proliferation and biochemical analyses. Covance 2598-105 Volume 1 of 6. Vienna, VA: Aristech Chemical Corporation Performing Laboratory."
- Moore, M. (1998b) Oncogenicity study in rats with di(isononyl)phthalate including ancillary hepatocellular proliferation and biochemical analyses. Covance 2598-104 Volume 1 of 5. Vienna, VA: Aristech Chemical Corporation.
- Moore, M. R. (1996) "Oncogenicity Study in Rats with Di

- (2-ethylhexyl)phthalate Including Ancillary Hepatocellular Proliferation and Biochemical Analyses (unpublished)."
- Murature, D. A., S. Y. Tang, G. Steinhardt and R. C. Dougherty (1987) Phthalate esters and semen quality parameters. *Biomed Environ Mass Spectrom*, 14, 473-7.
- Mylchreest, E., M. Sar, R. C. Cattley and P. M. Foster (1999) Disruption of androgen-regulated male reproductive development by di(n-butyl) phthalate during late gestation in rats is different from flutamide. *Toxicol Appl Pharmacol*, 156, 81-95.
- Mylchreest, E., D. G. Wallace, R. C. Cattley and P. M. Foster (2000) Dose-dependent alterations in androgen-regulated male reproductive development in rats exposed to Di(n-butyl) phthalate during late gestation. *Toxicol Sci*, 55, 143-51.
- Nagao, T., R. Ohta, H. Marumo, T. Shindo, S. Yoshimura and H. Ono (2000) Effect of butyl benzyl phthalate in Sprague-Dawley rats after gavage administration: a two-generation reproductive study. *Reprod Toxicol*, 14, 513-32.
- NTP(1982a) "Carcinogenesis bioassay of di(2-ethylhexyl)phthalate in F344 rats and B6C3F1 mice (feed study), TR-217."
- NTP(1982b) "NTP. Carcinogenesis bioassay of butyl benzyl phthalate (CAS no. 85-68-7) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed study). Rep nr. NTP-80-25, NIH Publication No. 82-1769."
- NTP(1997) "Toxicology and carcinogenesis studies of butyl benzyl phthalate (CAS no. 85-68-7) in F344/N rats (feed studies). Rep nr. NTP TR 458, NIH Publication No. 97-3374."
- NTP(2004) "Diethylhexylphthalate: Multigenerational Reproductive Assessment by Continuous Breeding When Administered to Sprague-Dawley Rats in the Diet. Research Triangle Park NC: National Toxicology Program." from <http://ntp.niehs.nih.gov/index.cfm?objectid=21FA3229-F1F6-975E-78052E38CE3F314C>.
- NTP (2006) " NTP-CERHR monograph on the potential human reproductive and developmental effects of Di(2-ethylhexyl) Phthalate (DEHP). "
- NTP and NIEHS (1999) Federal Register Notice 11/19/99.
- Oishi, S. (1990) Effects of phthalic acid esters on testicular mitochondrial functions in the rat. *Arch Toxicol*, 64, 143-7.

- Oishi, S. and K. Hiraga (1980) Testicular atrophy induced by phthalic acid monoesters: effects of zinc and testosterone concentrations. *Toxicology*, 15, 197-202.
- Pan, G., T. Hanaoka, M. Yoshimura, S. Zhang, P. Wang, H. Tsukino, K. Inoue, H. Nakazawa, S. Tsugane and K. Takahashi (2006) 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. *Environ Health Perspect*, 114, 1643-8.
- Peck, C. C. and P. W. Albro (1982) Toxic potential of the plasticizer Di(2-ethylhexyl) phthalate in the context of its disposition and metabolism in primates and man. *Environ Health Perspect*, 45, 11-7.
- Piersma, A. H., A. Verhoef and P. M. Dortant (1995) Evaluation of the OECD 421 reproductive toxicity screening test protocol using butyl benzyl phthalate. *Toxicology*, 99, 191-7.
- Poon, R., P. Lecavalier, R. Mueller, V. E. Valli, B. G. Procter and I. Chu (1997) Subchronic oral toxicity of di-n-octyl phthalate and di(2-Ethylhexyl) phthalate in the rat. *Food Chem Toxicol*, 35, 225-39.
- Price, C. J., E. A. Field, M. C. Marr and C. B. Myers. (1990) "Final report on the developmental toxicity of butyl benzyl phthalate (CAS No. 85-68-7) in CD-1-Swiss mice. NTP-90-114. Research Triangle Park: National Toxicology Program, National Institute of Environmental Health Sciences." from <http://ntp.niehs.nih.gov/?objectid=073060CC-A572-CDA3-6942F443B-AFC8404>.
- Pugh, G., Jr., J. S. Isenberg, L. M. Kamendulis, D. C. Ackley, L. J. Clare, R. Brown, A. W. Lington, J. H. Smith and J. E. Klaunig (2000) Effects of di-isononyl phthalate, di-2-ethylhexyl phthalate, and clofibrate in cynomolgus monkeys. *Toxicol Sci*, 56, 181-8.
- Rais-Bahrami, K., S. Nunez, M. E. Revenis, N. L. Luban and B. L. Short (2004) Follow-up study of adolescents exposed to di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) as neonates on extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) support. *Environ Health Perspect*, 112, 1339-40.
- Reddy, B. S., R. Rozati, B. V. Reddy and N. V. Raman (2006) Association of phthalate esters with endometriosis in Indian women. *Bjog*, 113, 515-20.
- Rhees, R., J. Shryne and R. Gorski (1990a) Onset of the hormone-sensitive

- perinatal period for sexual differentiation of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in female rats. *J Neurobiol.*, 21, 781-6.
- Rhees, R., J. Shryne and R. Gorski (1990b) Termination of the hormone-sensitive period for differentiation of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in male and female rats. *Brain Res Dev Brain Res.*, 52, 17-23.
- Rhodes, C., T. C. Orton, I. S. Pratt, P. L. Batten, H. Bratt, S. J. Jackson and C. R. Elcombe (1986) Comparative pharmacokinetics and subacute toxicity of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) in rats and marmosets: extrapolation of effects in rodents to man. *Environ Health Perspect*, 65, 299-307.
- Rider, C. V., J. Furr, V. S. Wilson and L. E. Gray, Jr. (2008) A mixture of seven antiandrogens induces reproductive malformations in rats. *Int J Androl*, 31, 249-62.
- Rider, C. V., V. S. Wilson, K. L. Howdeshell, A. K. Hotchkiss, J. R. Furr, C. R. Lambright and L. E. Gray, Jr. (2009) Cumulative Effects of In Utero Administration of Mixtures of Antiandrogens on Male Rat Reproductive Development. *Toxicol Pathol.*
- Rowland, I. R., R. C. Cottrell and J. C. Phillips (1977) Hydrolysis of phthalate esters by the gastro-intestinal contents of the rat. *Food Cosmet Toxicol*, 15, 17-21.
- Rubin, R. J. and C. A. Schiffer (1976) Fate in humans of the plasticizer, di-2-ethylhexyl phthalate, arising from transfusion of platelets stored in vinyl plastic bags. *Transfusion*, 16, 330-5.
- Saillenfait, A. M., J. P. Payan, J. P. Fabry, D. Beydon, I. Langonne, F. Gallissot and J. P. Sabate (1998) Assessment of the developmental toxicity, metabolism, and placental transfer of Di-n-butyl phthalate administered to pregnant rats. *Toxicol Sci*, 45, 212-24.
- Schmid, P. and C. Schlatter (1985) Excretion and metabolism of di(2-ethylhexyl)phthalate in man. *Xenobiotica*, 15, 251-6.
- Scott, R. C., P. H. Dugard, J. D. Ramsey and C. Rhodes (1987) In vitro absorption of some o-phthalate diesters through human and rat skin. *Environ Health Perspect*, 74, 223-7.
- Sharpe, R. M., J. S. Fisher, M. M. Millar, S. Jobling and J. P. Sumpter (1995) Gestational and lactational exposure of rats to xenoestrogens results in reduced testicular size and sperm production. *Environ Health*

- Perspect, 103, 1136-43.
- Shiota, K., M. J. Chou and H. Nishimura (1980) Embryotoxic effects of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) and di-n-butyl phthalate (DBP) in mice. *Environ Res*, 22, 245-253.
- Shiota, K. and H. Nishimura (1982) Teratogenicity of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and di-n-butyl phthalate (DBP) in mice. *Environ Health Perspect*, 45, 65-70.
- Singh, A. R., W. H. Lawrence and J. Autian (1972) Teratogenicity of phthalate esters in rats. *J Pharm Sci*, 61, 51-5.
- Swan, S. H. (2008) Environmental phthalate exposure in relation to reproductive outcomes and other health endpoints in humans. *Environ Res*, 108, 177-84.
- Swan, S. H., K. M. Main, F. Liu, S. L. Stewart, R. L. Kruse, A. M. Calafat, C. S. Mao, J. B. Redmon, C. L. Ternand, S. Sullivan and J. L. Teague (2005) Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environ Health Perspect*, 113, 1056-61.
- Takagi, H., M. Shibutani, K. Y. Lee, N. Masutomi, H. Fujita, K. Inoue, K. Mitsumori and M. Hirose (2005) Impact of maternal dietary exposure to endocrine-acting chemicals on progesterone receptor expression in microdissected hypothalamic medial preoptic areas of rat offspring. *Toxicol Appl Pharmacol*, 208, 127-36.
- TNO NaFRI (1993) "Dietary one-generation reproduction study with butyl benzyl phthalate in rats."
- TNO NaFRI (1998) "Oral developmental reproduction study with butyl benzyl phthalate in Wistar rats." 1.
- Tomonari, Y., Y. Kurata, R. M. David, G. Gans, T. Kawasuso and M. Katoh (2006) Effect of di (2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on genital organs from juvenile common marmosets: I. Morphological and biochemical investigation in 65-week toxicity study. *J Toxicol Environ Health A*, 69, 1651-72.
- Tyl, R. W., C. B. Myers, M. C. Marr, P. A. Fail, J. C. Seely, D. R. Brine, R. A. Barter and J. H. Butala (2004) Reproductive toxicity evaluation of dietary butyl benzyl phthalate (BBP) in rats. *Reprod Toxicol*, 18, 241-64.
- Tyl, R. W., C. J. Price, M. C. Marr and C. A. Kimmel (1988) Developmental toxicity evaluation of dietary di(2-ethylhexyl)phthalate in Fischer 344

- rats and CD-1 mice. *Fundam Appl Toxicol*, 10, 395-412.
- Waterman, S. J., J. L. Ambroso, L. H. Keller, G. W. Trimmer, A. I. Nikiforov and S. B. Harris (1999) Developmental toxicity of di-isodecyl and di-isononyl phthalates in rats. *Reprod Toxicol*, 13, 1-6.
- Waterman, S. J., L. H. Keller, G. W. Trimmer, J. J. Freeman, A. I. Nikiforov, S. B. Harris, M. J. Nicolich and R. H. McKee (2000) Two-generation reproduction study in rats given di-isononyl phthalate in the diet. *Reprod Toxicol*, 14, 21-36.
- Williams, D. T. and B. J. Blanchfield (1974) Retention, excretion and metabolism of di-(2-ethylhexyl) phthalate administered orally to the rat. *Bull Environ Contam Toxicol*, 11, 371-8.
- Williams, D. T. and B. J. Blanchfield (1975) The retention, distribution, excretion, and metabolism of dibutyl phthalate 7 sup 1sup 4C in the rat. *J Agric Food Chem*, 23, 854-858.
- Wine, R. N., L. H. Li, L. H. Barnes, D. K. Gulati and R. E. Chapin (1997) Reproductive toxicity of di-n-butylphthalate in a continuous breeding protocol in Sprague-Dawley rats. *Environ Health Perspect*, 105, 102-7.
- Woodward, K. (1988) *Phthalic Esters: Toxicity and Metabolism*. Boca Raton Florida, CRC Press.
- Woodward, K., A. Smith, S. Mariscotti and N. Tomlinson. (1986) "Review of the toxicity of the esters of o-phthalic acid (phthalate esters). HSE Toxicity Review 14, Her Majesty's Stationary Office, London."
- Yanagisawa, R., H. Takano, K. Inoue, E. Koike, K. Sadakane and T. Ichinose (2008) Effects of maternal exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate during fetal and/or neonatal periods on atopic dermatitis in male offspring. *Environ Health Perspect*, 116, 1136-41.
- Zacharewski, T. R., M. D. Meek, J. H. Clemons, Z. F. Wu, M. R. Fielden and J. B. Matthews (1998) Examination of the in vitro and in vivo estrogenic activities of eight commercial phthalate esters. *Toxicol Sci*, 46, 282-93.
- Zhang, Y. H., L. X. Zheng and B. H. Chen (2006) Phthalate exposure and human semen quality in Shanghai: a cross-sectional study. *Biomed Environ Sci*, 19, 205-9.