資 料 1

（案）

器具・容器包装評価書

フタル酸ジブチル（DBP）

2014年 ~~2~~3月
食品安全委員会
器具・容器包装専門調査会

目次

＜審議の経緯＞

2009 年 12 月 14 日　厚生労働大臣より食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第 1214 第 4 号）、関係書類の接受

2009 年 12 月 17 日　第 314 回食品安全委員会（要請事項説明）

2013 年 3 月 21 日　第 22 回器具・容器包装専門調査会

2013 年 7 月 11 日　第 23 回器具・容器包装専門調査会

2013 年 9 月 19 日　第 24 回器具・容器包装専門調査会

2013 年 11 月 13 日　第 25 回器具・容器包装専門調査会

2014 年 2 月 20 日　第 26 回器具・容器包装専門調査会

2014 年 3 月 6 日　第 27 回器具・容器包装専門調査会

＜食品安全委員会委員名簿＞

（2011 年 1 月 6 日まで）	（2012 年 6 月 30 日まで）	（2012 年 7 月 1 日から）
小泉　直子（委員長）	小泉直子（委員長）	熊谷　進（委員長）
見上　彪（委員長代理*）	熊谷　進（委員長代理**）	佐藤　洋（委員長代理）
長尾　拓	長尾　拓	山添　康（委員長代理）
野村　一正	野村一正	三森国敏（委員長代理）
畑江　敬子	畑江敬子	石井克枝
廣瀬　雅雄	廣瀬雅雄	上安平洌子
村田　容常	村田容常	村田容常

* : 2009 年 7 月 9 日から
** : 2011 年 1 月 13 日から

＜食品安全委員会器具・容器包装専門調査会専門委員名簿＞

（2011 年 9 月 30 日まで）

井口　泰泉	遠山　千春	広瀬　明彦
河村　葉子	中江　大	山添　康（座長代理）
川本　伸一	長尾　哲二	横井　毅
渋谷　淳	那須　民江	渡辺　知保
清水　英佑（座長）	能美　健彦	吉田　武美

（2011 年 10 月 1 日から）

井口　泰泉	中江　大	山添　康◆
川本　伸一	那須　民江	横井　毅
小林　カオル◆◆◆	能美　健彦（座長）	吉田　武美
田中　亮太	広瀬　明彦（座長代理◆◆）	吉永　淳

◆：2012 年 6 月 30 日まで
◆◆：2012 年 7 月 13 日から
◆◆◆：2012 年 10 月 1 日から

（2013 年 10 月 1 日から）

石原　陽子	田中　亮太	松永　民秀
小野　敦	中江　大	六鹿　元雄
小林　カオル	那須　民江	横井　毅（座長代理）
曽根　秀子	能美　健彦（座長）	吉永　淳

＜第 23 回器具・容器包装専門調査会　専門参考人＞

六鹿　元雄

＜第 24 回器具・容器包装専門調査会　専門参考人＞

六鹿　元雄

＜第 25 回器具・容器包装専門調査会　専門参考人＞

井口　泰泉

＜第 26 回器具・容器包装専門調査会　専門参考人＞

井口　泰泉

＜第 27 回器具・容器包装専門調査会　専門参考人＞

井口　泰泉

要約

器具・容器包装の規格基準の改正に係る物質として、フタル酸ジブチル（DBP）（CAS No. 84-74-2）の食品健康影響評価を実施した。

Ⅰ．評価要請の経緯 *（審議済み）*

フタル酸ジブチル（DBP）は、フタル酸エステルの一種であり、フタル酸エステルはポリ塩化ビニル（PVC）を主成分とするプラスチックの可塑剤として汎用される化学物質である。~~今回、~~

フタル酸ビス（2－エチルヘキシル）（DEHP）、フタル酸ジイソノニル（DINP）、DBP、フタル酸ジイソデシル（DIDP）、フタル酸ジオクチル（DNOP）及びフタル酸ベンジルブチル（BBP）について、食品衛生法における食品用器具・容器包装の規格基準の改正に係る意見がとりまとめられたことから、これら 6 種類について食品健康影響評価が要請された。

Ⅱ．評価対象物質の概要 *（審議済み）*

可塑剤に使用されるフタル酸エステルは、分子レベルの「潤滑剤」としてプラスチックに添加され、プラスチックに柔軟性と成型加工性を与える。その役割のため、フタル酸エステルはプラスチックと化学的に結合しないままにしておく必要がある。フタル酸エステルはプラスチックから移行や滲出することが可能なため、これらを含有する製品の使用によりヒトが暴露するおそれがある（オーストラリア化学物質通知評価スキーム（NICNAS）2009）。

１．名称・分子式・分子量・構造式

一般名：　フタル酸ジブチル

IUPAC：　＜和名＞ フタル酸ジブチル

　　＜英名＞ Dibutyl phthalate

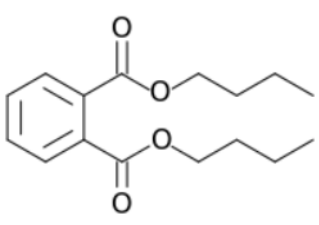
別名：　フタル酸ジ(n-ブチル)、Di-n-butyl phthalate、DBP、1,2-Benzenedicarboxylic acid dibutyl ester

CAS No.：　84-74-2

分子式：　$C_{16}H_{22}O_4$

分子量：　278.3

構造式*：



（国際化学物質安全性カード（ICSC）日本語版 2002 より抜粋、*米国国立医学図書館有害物質データバンク（US NML HSDB）2011 より改変）

２．物理化学的特性

性状：　特徴的な臭気のある、無色から黄色の粘ちゅう液体
融点：　-35℃、-69℃*
沸点：　340℃
引火点：　157℃（c.c.）
蒸気圧：　< 0.01 kPa（20℃）
比重（水＝1）：　1.05
水への溶解度：　0.001 g/100 mL（25℃）
オクタノール／水分配係数：　log Pow＝4.72
生分解性：　濃縮性が無い又は低い（化学物質審査規制法）**

（ICSC 日本語版 2002、*欧州連合 リスク評価書（EU RAR） 2004、**通商産業省 1975）

３．国内製造量・輸出入量

DBP の 2008～2012 年の 5 年間の国内生産量、輸入量等を表 II-1 に示す。輸出量は DBP 単独での貿易統計データがないため不明である。

なお、改正前の化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）に基づき、2009 年度に第二種監視化学物質として届出された DBP の製造・輸入数量の合計数量は 1,733 トンであり（経済産業省 2010）、改正化審法に基づき一般物質として届出された製造・輸入数量の合計数量は、2010 年度に 1,000 トン未満、2011 年度では 1,000 トンであった（経済産業省 2012、2013）。

表 II-1　DBP の国内生産量・輸入量等（2008～2012 年）　　単位（数量：トン）

	2008 年	2009 年	2010 年	2011 年	2012 年
国内生産量	1,971	1,216	1,403	1,264*	1,231*
輸入量**	514	491	651	479	242
国内出荷量	2,521	1,583	1,757	1,531*	1,453*

（可塑剤工業会 2011、*2013、**財務省 貿易統計）

４．用途

DBP はポリ塩化ビニル、ポリスチレン、アクリル系樹脂との間に良好な相溶性があるため、これらプラスチックの可塑剤として用いられる。そのほかラッカー、接着剤、レザー、印刷インキ、セロハン、染料、殺虫剤の製造、織物用潤滑剤としても用いられている（化学工業日報社 2012）。また、（財）化学物質評価研究機構（CERI）・（独）製品評価技術基盤機構（NITE）の化学物質の初期リスク評価書によれば、1999 年度には DBP は約 7 割が塗料、顔料、接着剤に使われていた（CERI・NITE 2005）。

５．各国規制等

（１）食品用の器具・容器包装に関する規制

① 国内規制

DBP については食品衛生法において、器具又は容器包装の規格又は基準は設定されていないため、食品、添加物等の規格基準（厚生省告示第 370 号、厚生省 1959）に基づく制限等はない。

② 米国

連邦規則集第 21 巻（カッコ内に該当セクションを示す）における間接食品添加物として、DBP は接着剤（§175.105）及びコーティング（§175.300）の成分、水性・脂肪性食品用の紙及び板紙の成分（§176.170、§176.180）としての使用及びセロファンへの使用（§177.1200）、架橋ポリエステルへの使用（§177.2420）、ゴム製品への使用（§177.2600）が、一部条件付ではあるが、認められている（FDA 2013）。

また、消費者製品安全性改善法 2008（Consumer Product Safety Improvement Act of 2008：CPSIA 2008）の§.108 に基づくフタル酸エステル類規制により、3 歳以下の乳幼児の食事を容易にするための子ども用ケア用品に、DEHP、DBP、BBP、DINP、DIDP 又は DNOP が、いずれも 0.1%を超えて含まれてはならないとされている（DINP、DIDP 及び DNOP は暫定禁止措置）。対象製品例として、乳幼児用ボトル、シッピーカップが挙げられている（CPSC 2011）。

③ 欧州連合（EU）

委員会規則（EU）No 10/2011 において、食品接触用途のプラスチック材料又は製品について、以下の条件で DBP を認めている（EC 2011）。

Specific Migration Limit（SML、特定移行限度値）：0.3 mg/kg

SML（T）（グループ制限：group restriction）：60 mg/kg（DBP を含む 20 種の物質の合計として）

Restrictions and specifications（制限事項及び規格）：次の用途に限る

a）非脂肪性食品に繰り返し使用する材料又は製品への可塑剤

b）ポリオレフィン類の加工助剤として、最終製品中 0.05%以下

（２）その他

国内　水質基準 要検討項目　目標値（mg/L）：0.2（暫定）

Ⅲ．安全性に係る知見の概要

EU のリスク評価書（EU RAR）、米国毒性物質・疾病登録機関（ATSDR）の毒性学的プロファイル、欧州食品安全機関（EFSA）の意見書、米国国家毒性プログラム-ヒト生殖リスク評価センター（NTP-CERHR）のモノグラフ、欧州化学物質庁の報告書（ECHA）、米国消費者製品安全委員会（CPSC）のレビュー、WHO/UNEP の報告書、国際化学物質安全性計画（IPCS）の環境保健クライテリア等を基に、毒性に関する主な科学的知見を整理した（EU RAR 2004、ATSDR 2001、EFSA 2005、NTP-CERHR 2003、ECHA 2010、2012a、CPSC 2010、WHO/UNEP 2013、IPCS 1997）。

１．体内動態

（１） 吸収 *（審議済み）*

ラット及びハムスターに ^{14}C で標識した DBP（^{14}C-DBP）を 0.06～2.3 g/kg 体重を単回経口投与した試験が実施されている。DBP は消化管から容易に吸収され、投与量の 63～90%以上が 48 時間以内に尿中に排泄された（Foster et al. 1983、Tanaka et al. 1978、Williams and Blanchfield 1975）。

ヒトにおいても DBP は消化管から吸収される。芳香環水素を重水素で置換した D_4-DBP 約 60 μg/kg 体重相当（5.38 mg/人）を健常男性 1 名へ単回投与したところ、投与後 48 時間までに、投与量の 92.5%が尿中排泄された（Koch et al. 2012）。また、1 群 8 名の健常人に、^{13}C-DBP（255 又は 510 μg/人）を単回投与した試験では、投与後 24 時間の尿中に、代謝物であるフタル酸モノブチル（MBP）が、低用量及び高用量投与群それぞれ平均で、投与量の 64 及び 73%が排泄された（Anderson et al. 2001）。

経皮吸収について、^{14}C-DBP のエタノール溶液を Fisher 344 ラット（F344 ラット）の剃毛した皮膚に塗布（157 μmol/kg）し、プラスチックキャップで覆って 7 日間暴露した試験が実施された。試験期間内（7 日間）に尿中に投与量の約 60%が、糞中へは約 12%が排泄された（Elsisi et al. 1989）。*in vitro* 試験では、ヒトの皮膚の吸収速度（無希釈の DBP の場合 2.40 μg/cm^2/hr）はラットの皮膚（93.4 μg/cm^2/hr）に比べ遅かった（Scott et al. 1989）。

（２）分布 *（審議済み）*

① 全身への分布、蓄積性

雄の Wistar ラットに、コーン油に溶解した 0.27 又は 2.31 g/kg 体重の ^{14}C-DBP を単回経口投与した試験では、組織・臓器（血液、脾臓、肝臓、腎臓、脂肪、筋肉、肺、精巣）への分布は両投与群ともそれぞれ類似していた。投与 4 時間後の放射活性は、低用量投与群の腎臓で最も高く（投与放射活性の 0.66%）、脳で最も低かった（0.03%）。高用量投与群では投与後 24 時間まで、投与放射活性の 0.4%が血中

に検出された[1]。投与 48 時間後では、両投与群とも血中及び組織中に痕跡量（0.01%未満）しか検出されず、残存はほとんど認められなかった（Williams and Blanchfield 1975）。ジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解した ^{14}C-DBP 60 mg/kg 体重を雄ラットに単回経口投与した試験では、投与 24 時間後に脳、心臓、肺、脾臓、睾丸、前立腺及び胸腺には放射活性の残存はみられず、検出された放射活性は、肝臓に 0.06%、腎臓に 0.02%、筋肉に 0.30%、脂肪組織に 0.70%、腸に 1.53%、胃に 0.01%及び血液中に 0.02%であった。著者らはこの結果から、組織特異的な残存はないと結論付けている（Tanaka et al. 1978）。

雄の Wistar ラット（各群 8 匹）に 4、8 及び 12 週間にわたり DBP を混餌（DBP 0.1%含有）投与した。4 週間投与群のうち、4 匹には ^{14}C-DBP を投与し、残りの 4 匹及び 8、12 週間投与群には、試験終了前の 24 時間まで非標識 DBP を投与し、最終 24 時間のみ ^{14}C-DBP を投与した。投与終了後、器官・組織（脾臓、腎臓、脂肪組織、精巣、骨格筋、心臓、肺、脳）が摘出された。4 週間投与群では、脾臓、腎臓、脂肪及び精巣における放射活性は、^{14}C-DBP の継続及び最終 24 時間投与群いずれもそれぞれ同レベル（例えば腎臓では 195～231 cpm/g、本測定条件において 20 cpm/g は DBP 1 μg/g に相当）を示し、他の組織では痕跡量であった。また、12 週間投与群の組織のガスクロマトグラフ及び放射活性（1.4 cpm/g は DBP 1 μg/g 相当）測定では、DBP は脾臓及び心臓で 0.5 及び＜1.0 μg/g、代謝物である MBP は脾臓で 0.6 及び 1.8 μg/g、腎臓で 6.9 及び 8.0 μg/g、脂肪で 2.2 及び 3.9 μg/g 検出された。著者らは、これらは最終 24 時間の DBP 摂取によるもので、いずれの組織にも実質的な蓄積は認められないとしている（Williams and Blanchfield 1975）。

1 名の健常男性における検討では、D_4-DBP 約 60 μg/kg 体重相当（5.38 mg/人）を単回経口投与し、投与後 24 時間以内の分布を観察すると、投与量の 92.24%が排泄され、血清中の代謝物は、いずれの測定時点でも MBP（血漿中最大値 169 μg/L、MBP として投与量の 8~~3.98~~4.0%排泄）及びフタル酸モノ（3-ヒドロキシブチル）（3OH-MBP、13.5 μg/L、6.91%）が検出され、MBP の方が 3OH-MBP よりはるかに多かった。また、投与後 130 分からフタル酸モノ（3-カルボキシプロピル）（MCPP）がわずかに検出された。いずれの代謝物も尿中における T_{max} は 3.75 時間であった。そのほか、唾液中には MBP のみ分泌が認められ、投与 30 分後（初回測定時）に最大値 670 μg/L を示し、7 時間後には約 1 μg/L まで減少した。なお、本試験では DBP は測定対象とされていない（Koch et al. 2012）。

[1] 低用量投与群でも投与 8 時間後まで投与放射活性の 0.36～0.41%が血中に検出されているが、24 時間時点でのデータの記載がない。

また、Tomita ら（1977）は、主としてプラスチック包装された日本の市販食品55 検体中 53 検体から最大 9.93 ppm の DBP を検出し、脂肪性食品 4 検体、非脂肪性食品 12 検体が 1.0 ppm を超過することを認めた。さらに食品摂取後 2 時間の 13 名における DBP の平均血中濃度は 0.10 ppm であり、一方、食品摂取前の 9 名の平均血中濃度は 0.02 ppm であったと報告している。

暴露源は特定されていないが、精液中にも DBP が確認されており（Pant et al. 2008，2011）、インド都市部の不妊傾向の男性 112 名及び不妊症ではない男性 60 名では、それぞれ平均 1.65 及び 0.63 μg/mL の DBP が検出された（Pant et al. 2008）。

② 胎盤通過・母乳中移行 ***（審議済み）***

妊娠 Sprague-Dawley ラット（SD ラット）に 500 又は 1,500 mg/kg 体重の ^{14}C-DBP を妊娠 14 日目に単回経口投与した胎盤通過試験が行われた。母動物及び胚の組織が 0.5～48 時間の間に採取された。胚組織の放射活性は投与放射活性の 0.12～0.15%未満であった。胎盤中及び胚中の放射活性は母体血漿中の 1/3 以下であった。放射活性の蓄積は母体組織、胚組織ともに認められなかった。HPLC 分析によると、未変化の DBP とその代謝物である MBP 及び MBP-グルクロン酸抱合体の速やかな胚組織への移行がみられた。母体血漿、胎盤及び胚から回収された放射活性の大部分は MBP によるものであり、DBP は少量（投与放射活性の 1%未満）しか検出されなかった（Saillenfait et al. 1998）。

妊娠 SD ラットの妊娠 12 日～19 日に DBP（50、100 又は 500 mg/kg 体重/日）を強制経口投与した試験では、最終投与から 0.25～48 時間の血漿（母、胎児）、胎盤、羊水中の分布が調べられた。投与群の血漿中 MBP 濃度の C_{max} は、それぞれ低用量投与群から、母体で 169、502 及び 959 mg/L、胎児で 48、142 及び 386 mg/L であった。母体及び胎児血漿中の MBP 濃度には非線形の増加がみられた。また、胎児血漿中の MBP 濃度推移は母体血漿中の MBP 濃度推移と類似していた（T_{max} は母体で 0.75～2 時間、胎児で 1～4 時間、血中半減期は母体で 3.0～4.5 時間、胎児で 4.8～5.9 時間）が、胎児血漿中における MBP-グルクロン酸抱合体の出現と消失は、母体血漿と比較して遅延した（T_{max} は母体で 1～4 時間、胎児で 4～12 時間、血中半減期は母体で 2.4～3.5 時間、胎児で 3.7～8.2 時間）。母体及び胎児の体内に MBP 及び MBP-グルクロン酸抱合体の蓄積性はみられず、羊水中の MBP-グルクロン酸抱合体以外のすべての代謝物は、24 時間後にはほとんどが消失した。羊水中には、MBP-グルクロン酸抱合体が母体血漿中濃度と同程度かそれ以上の濃度で存在した（Clewell et al. 2009）。

また、Struve ら（2009）は妊娠 SD ラットの妊娠 12 日～19 日に DBP を混餌投与（1,260～1,520 又は 6,300～7,600 ppm; 100 又は 500 mg/kg 体重/日；実測投与量 112 又は 582 mg/kg 体重/日）し、投与終了後 4 又は 24 時間の MBP 及び MBP-

グルクロン酸抱合体の分布を調べた。いずれの血漿中濃度も母体、胎児ともに高用量投与群の方が高く、また高用量投与群の MBP 濃度は用量差が 5 倍である低用量群に比べ、8～100 倍高かった。著者らは、このことは MBP の血漿における動態が非線形であるとする Clewell ら（2009）の知見に合致すると述べている。一方、母動物の尿及び羊水中では、MBP、MBP-グルクロン酸抱合体いずれの濃度差も、5 倍の用量差に近かった。また 24 時間後の MBP 濃度を 4 時間後の濃度と比較すると、母体血漿中では、0.05%未満に減少していたのに対し、羊水中及び胎児血漿中では 30～60%が残存していた。

Clewell ら（2013）は妊娠 SD ラット（対照群 24 匹、投与群 21 匹）の妊娠 12 日から出産後 14 日まで DBP（0、7,600 ppm）を混餌投与した。実測投与量は妊娠 13 日～20 日の平均で 642 mg/kg 体重/日、出産後 2 日～14 日の平均で 1,138 mg/kg 体重/日であった。生後 2 日（出産日を生後 1 日とする）の雄児（1 匹/腹）の遊離 MBP の血漿中濃度は、対照群では不検出であったのに対し、投与群は平均 2.81 μM（0.62 mg/L）[2]であった。Clewell らは、妊娠 12 日～19 日の SD ラットに同レベルの DBP を混餌投与（6,300～7,600 ppm）した試験（Struve et al. 2009）において、投与終了 24 時間後の胎児の血漿中 MBP 濃度は約 45 μM（約 10 mg/L）であったことと比較し、DBP の経口投与における母乳中移行を調べた報告は見当たらないが、フタル酸モノエステルの母乳/母体血漿中濃度比は低いとする既報（Dostal et al 2005[3]、Hogberg et al. 2008）と本結果は一致し、経母乳暴露はかなり低いと推察している。

ヒトでは、暴露源は特定されていないが、母乳中からの DBP 及びその代謝物の検出が知られている。なお、以下の報告はいずれも β-グルクロニダーゼ処理後の試料の測定結果である。デンマーク及びフィンランドのコホート研究において、全母乳検体（n=130）から MBP が検出され、中央値は 9.6 μg/L（範囲 0.6～10,900 μg/L）であった（Main et al. 2006）。また、スウェーデンの女性（中央値 29 歳、42 名）の母乳及び血漿（母乳採取の一週間後に採取）の調査（Hogberg et al. 2008）では、~~母乳中~~試料中濃度~~及び血漿中~~の平均値±標準偏差（範囲、検出数）[4]は、DBP では母乳中 2.8±3.4 μg/L（1.5～20 μg/L、12/42 名）及び血漿中 1.2±1.6 μg/L（0.21～9.1 μg/L、25/36 名）、MBP では母乳中 1.2±1.3 μg/L（0.54～5.7 μg/L、11/42 名）及び血漿中 1.8±3.3 μg/L（0.54~20 μg/L、17/36 名）であった。MBP 及び DBP の

[2] Clewell et al. 2013 に記載された MBP モル濃度について、専門調査会による mg/L 換算値（MBP の分子量に 222.24 を用いた）をカッコ内に示した。

[3] DEHP を雌ラットの哺育 15 日～17 日に 2g/kg 体重/日を投与すると血漿及び乳中に DEHP を＜0.5 及び 216 μg/mL、血漿及び乳中に MEHP を 76 及び 25 μg/mL 検出（Dostal et al 1987）

[4] 不検出検体は検出下限値の 1/2 を含むとして統計処理された。したがって、ここに記載された検出範囲の最小値は検出下限値の 1/2 に相当する。

母乳中濃度は血漿中濃度と同レベルか、それより高い傾向があり、母乳中 MBP 濃度は Main ら（2006）の報告より低かった。同様に日本人の母乳 11 検体の全てから MBP が検出され、中央値 26.0 μg/L（範囲 1.8～156 μg/L）であった。母乳中濃度は母体血清（n=12）中の MBP 濃度（中央値 13.9 μg/L、範囲 3.6～22.9 μg/L）と比較して高濃度となる傾向があり、同時に測定されたフタル酸モノエチル（MEP）、フタル酸モノ（2-エチルヘキシル）（MEHP）にも同様の傾向が認められている（牧野 2007、高取ら 2007）。

（３）代謝 *（一部未審議）*

ラットへの DBP の経口投与試験では、尿中に MBP とともに、MBP のグルクロン酸抱合体、MBP の種々の ω- 及び ω-1-酸化生成物（より極性の高いケトン及びカルボン酸）並びに少量の遊離フタル酸が検出されていることから（Albro and Moore 1974、Foster et al. 1983、Tanaka et al. 1978、Williams and Blanchfield 1975）、EU は DBP の主な代謝経路を図のように推定している（EU RAR 2004）。

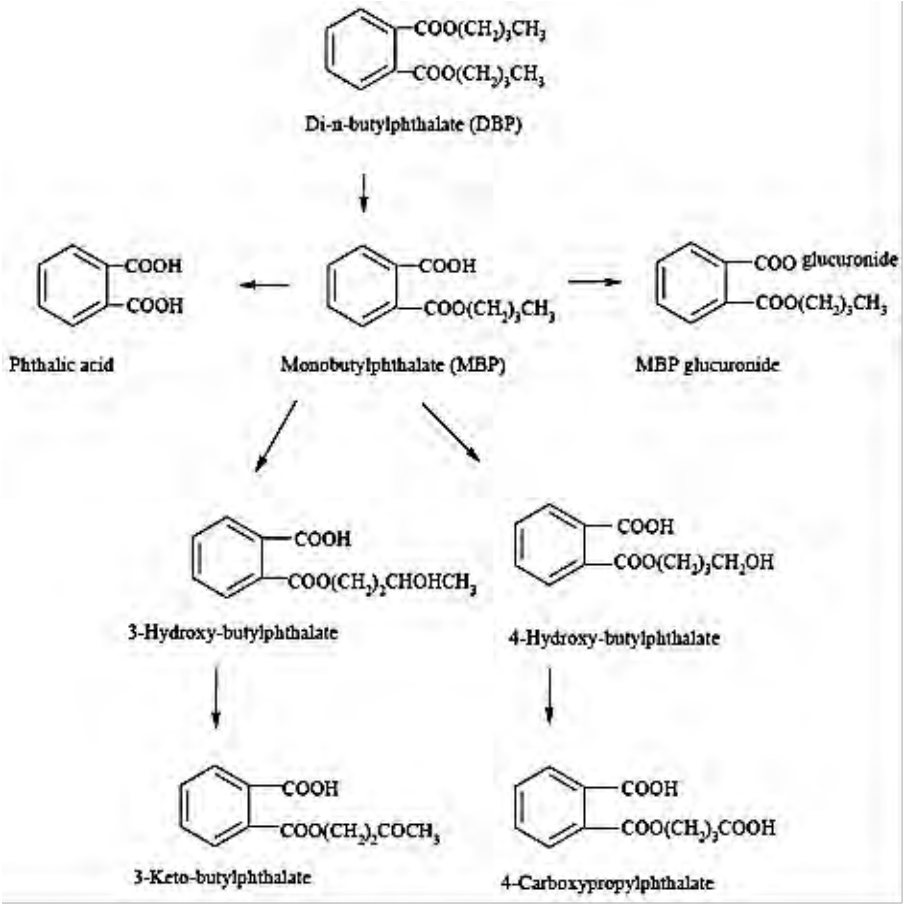


図　DBP の主な代謝経路（EU RAR 2004）

（Albro and Moore 1974、Foster et al. 1982、Tanaka et al. 1978 から作成）

① モノエステル体への加水分解及び酸化

雄ラットに ^{14}C-DBP 0.27 又は 2.31 g/kg 体重を単回経口投与した試験では、尿中への排泄は速く、48 時間後にそれぞれ 92%又は 83%が排泄され、尿中には MBP が 88%、3OH-MBP が 8%、フタル酸モノ（4-ヒドロキシブチル）（4OH-MBP）が 2%及びフタル酸が 2%の割合で検出された（Williams and Blanchfield 1975）。ここではグルクロン酸抱合体の検討はしていない。また牝牛では、第一胃内投与（約 70mg/kg 体重）すると、胆汁、血漿、尿及び糞中に主として MBP のほか、脂肪族残基が水酸化された MBP 水酸化体及び MEP と MBP-グルクロン酸抱合体がみられた。また、肝細胞に 10 μM DBP を 20 時間暴露した場合には、培養上清中に MBP（60%）と MEP（28%）とともに、MBP 水酸化体（6.0%）と MBP-グルクロン酸抱合体（6.0%）が確認されている（Coldham et al. 1998）。

ヒトにおいては、D_4-DBP 約 60 μg/kg 体重相当（5.38 mg/人）を男性健常者 1 名へ単回経口投与した試験では、投与後 24 時間で投与量のほとんど（92.2%）が尿中排泄された。内訳は MBP が投与量に対して 8~~3.9~~4.0~~8~~%、その他の酸化代謝物である 3OH-MBP が 6.91%、フタル酸モノ（2-ヒドロキシブチル）（2OH-MBP）が 0.70%、4OH-MBP が 0.17%及び MCPP が 0.48%であった（Koch et al. 2012）。また、^{13}C-DBP を 255 又は 510 μg/人で単回経口投与した試験でも投与量の 64 又は 73%の MBP が排泄された（Anderson et al. 2001）。いずれにおいても、MBP-グルクロン酸抱合体への代謝の検討はしていない。

事務局：＜参考＞は（３）の最後に項を立てて移動しました。

~~＜参考：*in vitro* 試験＞~~

~~*in vitro* 試験では、ラット肝ミクロソーム画分による DBP の MBP への非常に速やかな加水分解が確認されている。肝ミクロソーム画分のフタル酸ジエステル加水分解酵素の活性に種差が認められ、活性はヒヒ＞ラット＞フェレットの順であり（Lake et al. 1977）、また、ハムスターの肝ホモジネートはラットの約 2 倍の DBP 加水分解活性があった（Foster et al. 1983）。ヒト肝臓ミクロソーム画分でも DBP から MBP への加水分解が確認されており（S_{50}：99.7 μM、CLmax：85.6 μL/min/mg protein）、CLmax は BBP から MBzP への加水分解の約 0.9 倍で、DEHP から MEHP への約 3 倍であった（Hanioka et al. 2012）。ラット腎ホモジネートでも DBP の MBP への加水分解が確認されている（Kaneshima et al. 1978）。また、ラット、ヒヒ、フェレット及びハムスターの小腸粘膜細胞ホモジネート、さらにヒトの小腸ホモジネートにも DBP の MBP への加水分解酵素活性があった（Lake et al. 1977 、Foster et al. 1983）。ラットの消化管内容物による DBP の MBP への加水分解速度は、小腸内容物が最も速く、盲腸では格段に遅く、胃では無視できた（Rowland et al. 1977）。**

~~ラットの反転小腸を用いた *in vitro* 試験では、腸粘膜を通過した DBP のうち、未変化の DBP はわずかに 4.5%であり、95.5%は漿膜灌流液に達する前の粘膜上皮中で~~

~~加水分解されたMBPであった。有機リン剤を用いてエステラーゼ活性を阻害すると、MBPへ加水分解されるDBP量は減少し、DBPでは吸収量が有意に減少した。一方、MBPはDBPより吸収量が高く、エステラーゼ阻害による影響を受けなかった（White et al. 1980）。~~

~~上記のいずれの報告においてもグルクロン酸抱合代謝については検討していない。~~

② グルクロン酸抱合

フタル酸モノエステル類のフタル酸残基である遊離カルボン酸は、グルクロン酸抱合を受ける。反応はウリジン5’-二リン酸グルクロン酸~~トランスフェラーゼ~~転移酵素により触媒される（Silva et al. 2003）。

Kremerら（2005）が妊娠19日のSDラットへMBP（10、30又は50 mg/kg体重）を急速に尾静脈内投与したところ、投与5分後にはグルクロン酸抱合されたMBP-抱合体が血漿（頸静脈カニューレより採取）中に認められた。投与24時間後の血漿中MBP-グルクロン酸抱合体濃度は、一般に胎児の方が母体より高く、最高用量では統計学的に有意となった。

MBP及びそのグルクロン酸抱合体の排泄に関して種差が認められており、非抱合体に対するMBPのグルクロン酸抱合体の比は、ラットを1とした場合、モルモットで1.5、ハムスターで2.3と報告されている（Tanaka et al. 1978）。また、DBP 2 g/kg体重を経口投与後、24時間までのラット及びハムスターの尿中には、MBPのグルクロン酸抱合体がそれぞれ投与量の37.6%及び52.5%、非抱合体が14.4%及び3.5%検出されたという報告もある（Foster et al. 1983）。またDBPを投与された牛においてもMBPのグルクロン酸抱合体が血漿や胆汁中に検出されている（Coldham et al. 1998）。

ヒトでは、米国国民健康栄養調査（NHANES）（1999～2000）における尿サンプル328検体について、β-グルクロニダーゼ処理の有無により、総MBPと非抱合体のMBPを区別して分析したところ、283検体から総MBP（幾何平均29.0 ng/mL）が検出された。そのうち非抱合体の占める割合が、5%未満の検体が半分で、10%未満の検体は3/4であり、幾何平均は5.60%であった（Silva et al. 2003）。

③ ブタノール（DBPの加水分解物）の代謝

DBPの代謝物であるn-ブタノールは、第一級アルコールであり、アルコール脱水素酵素及びアルデヒド脱水素酵素により、容易に酪酸（n-ブタン酸）に酸化される（NTP-CERHR 2003）。さらに、炭素数3～7の直鎖飽和脂肪酸は、容易にβ酸化を受けて代謝経路の中間段階にあるアセチル-CoAに変換される（Di Carlo1990）。

④　参考

a. *in vitro* 試験（*審議済み*）

ラット肝ミクロソーム画分による DBP の MBP への非常に速やかな加水分解が確認されている。肝ミクロソーム画分のフタル酸ジエステル加水分解酵素の活性に種差が認められ、活性はヒヒ＞ラット＞フェレットの順であり（Lake et al. 1977）、また、ハムスターの肝ホモジネートはラットの約 2 倍の DBP 加水分解活性があった（Foster et al. 1983）。ヒト肝臓ミクロソーム画分でも DBP から MBP への加水分解が確認されており（S_{50}：99.7 μM、CLmax：85.6 μL/min/mg protein）、CLmax は BBP から MBzP への加水分解の約 0.9 倍で、DEHP から MEHP への約 3 倍であった（Hanioka et al. 2012）。ラット腎ホモジネートでも DBP の MBP への加水分解が確認されている（Kaneshima et al. 1978）。また、ラット、ヒヒ、フェレット及びハムスターの小腸粘膜細胞ホモジネート、さらにヒトの小腸ホモジネートにも DBP の MBP への加水分解酵素活性があった（Lake et al. 1977 、Foster et al. 1983）。ラットの消化管内容物による DBP の MBP への加水分解速度は、小腸内容物が最も速く、盲腸では格段に遅く、胃では無視できた（Rowland et al. 1977）。

ラットの反転小腸を用いた試験では、腸粘膜を通過した DBP のうち、未変化の DBP はわずかに 4.5%であり、95.5%は漿膜灌流液に達する前の粘膜上皮中で加水分解された MBP であった。有機リン剤を用いてエステラーゼ活性を阻害すると、MBP へ加水分解される DBP 量は減少し、DBP では吸収量が有意に減少した。一方、MBP は DBP より吸収量が高く、エステラーゼ阻害による影響を受けなかった（White et al. 1980）。

上記のいずれの報告においても、グルクロン酸抱合代謝については検討していない。

b.　乳児期の代謝（*未審議*）

DBP の代謝には加水分解酵素（エステラーゼ、リパーゼ等）やグルクロン酸転移酵素が関係すると考えられるが、実験動物も含め、新生児期を含め乳児期の DBP の代謝に関する情報はほとんどみあたらなかった。

しかし、DBP の加水分解活性が知られている肝ミクロソーム画分において、脂質代謝や薬物代謝に関与するカルボキシエステラーゼ 1 及び 2（CES 1 及び 2）活性の年齢依存性を調べた報告では、雄の FVB マウスを用いた実験では、生後 1 日の CES 1、2 の発現及び活性は極めて低く、2～4 週齢までにほぼ 9 週齢レベルに増加した。一方、1 歳未満のヒト肝臓では CES 1 の発現はプールサンプル[5]と比較して

[5]市販のヒト肝ホモジネート 9000 x g 上清画分

有意に低かったが、モデル基質に対する活性は変わらないことが報告されている（Zhu et al. 2009）。これは生後 2 日の雄マウスの肝ミクロゾーム画分では、DBP と類似構造を持つ DEHP の加水分解活性が、極めて低いことと一致する（Hayashi et al. 2012）。なお、CES 1 及び 2 の発現には種差や臓器特異性があり、肝臓及び小腸について、ヒトではいずれも発現するが、マウス及びラットの小腸ではほぼ CES 2 のみが、ラットの肝臓ではほぼ CES 1 のみが発現している（細川と今井 2006）。また成人と異なり、経口摂取した DBP の加水分解には、新生児期の脂質代謝に特有な母乳中リパーゼや消化管リパーゼが寄与すると考えられる増本ら 2012）。

また、一般に、生後すぐの新生児にはグルクロン酸抱合能が低い場合があること、さらに、グルクロン酸転移酵素が成人レベルの活性になるまでの期間は、分子種によって異なっていることが知られている（加藤 2009）。なお、マウスの肝ミクロゾーム画分~~では、~~における ~~DBP と類似構造を持つ DEHP 代謝~~MEHP~~、~~：DBP と類似構造を持つ DEHP の代謝物、に対するグルクロン酸転移酵素活性は、生後 2 日の雄マウスでは雄胎児（妊娠 18 日）の約 2 倍であったが、雌の非妊娠マウスの約 1/2 強であった（Hayashi et al. 2012）。

（4）排泄 *（審議済み）*

① 尿中排泄

ラット、ハムスターにおいて、DBP は経口投与後に急速に吸収され、最大 90%以上が 24～48 時間以内に尿中へ排泄される（Foster et al. 1983、Tanaka et al. 1978、Williams and Blanchfield 1975）。糞中への排泄は 1.0～8.2%であった（Tanaka et al. 1978）。

ヒトにおいては、1 群 8 名に ^{13}C-DBP を 255 又は 510 μg/人で単回経口投与すると、投与後 24 時間の尿中に投与量の平均 64%又は平均 73%が排泄される（Anderson et al. 2001）。また、D_4-DBP 約 60 μg/kg 体重相当（5.38 mg/人）を健常男性 1 名へ単回経口投与し、代謝物の尿中排泄を投与後 48 時間まで観察した試験では、投与後 24 時間までに投与量の 92.2%が尿中へ排泄され、2 日目の排泄は 1%未満であった（合計 92.5%）。測定された代謝物（MBP 及びその酸化代謝物 4 種）のいずれの尿中濃度も投与後 3.75 時間に最高となり、その後減少した。排泄半減期は MBP が 2.6 時間、3OH-MBP が 2.9 時間で、MCPP は 6.9 時間であった（Koch et al. 2012）。

② 胆汁中排泄

胆管カニューレが挿入された雄ラットに、50%エタノールに溶解した 500 mg/kg 体重の ^{14}C-DBP を単回経口投与すると、投与後 6 時間にわたり採取された胆汁中

から、投与量の 4.5%が回収された（Kaneshima et al. 1978）。また、胆管カニューレが挿入された 2 匹の雄ラットに 60 mg/kg 体重の ^{14}C-DBP を単回経口投与した試験では、投与後 3 日間、胆汁が採取された。胆汁への排泄量は投与量に対し、1 日目は 2 匹のラットでそれぞれ 27.6 及び 52.8%、2 日目は 4.5 及び 3.8%であった。3 日間の合計で 32.2 及び 56.7%であった。胆汁中からは、MBP 及び未変化の DBP が比率 1：1 でみられた（Tanaka et al. 1978）。

（5）生理学的薬物動態学モデル

ラットにおける DBP 及び MBP の組織分布について、Keys らにより生理学的薬物動態学（physiologically-based pharmacokinetic：PBPK）モデルが開発されている。このモデルは、組織への MBP の取り込みに関して、かん流制限（perfusion-limited）と pH トラップ（pH trapping）組み合わせたメカニズムを考慮したものである（Key et al. 2000）。げっ歯類のデータから、リスク評価のために標的組織での推定値を得ることが念頭に置かれている（NTP-CERHR 2003）。なお、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ーは含まれていない。

（6）体内動態のまとめ *（一部未審議）*

経口投与された DBP は速やかに吸収され、排泄される。ラット、ハムスター及びヒトでは、投与後 24～48 時間以内に 63～90%以上が尿に排泄された。ヒトでも、げっ歯類でも、経口摂取された DBP の加水分解反応は非常に速やかに進行し、最初の代謝物である MBP が生成する。また、実験動物では大部分の DBP は小腸で吸収される前に MBP と対応するアルコール（n-ブタノール）に加水分解されると考えられる。なお、加水分解は肝臓や腎臓でも起こりうる。MBP はほとんどがグルクロン酸抱合されるが、10%を超えない範囲で ω、ω-1-酸化を受け、DBP を経口投与した実験動物の尿中には、MBP、そのグルクロン酸抱合体、~~MBP の~~種々の MBP 酸化生成物及び少量のフタル酸がみられる。MBP のグルクロン酸抱合体の排泄には種差が認められたが、ラット、ハムスター及びヒトとも、MBP（MBP のグルクロン酸抱合体を含む）が主排泄物であった。結果として、経口暴露した DBP のほとんどの部分がグルクロン酸抱合体として、速やかに尿中へ排泄されていた。そのほか、ラットへの経口投与試験では胆汁中への排泄が認められている。組織における有意な蓄積は、経口暴露したげっ歯類ではみられず、組織蓄積性は非常に低いと考えられた。妊娠ラットに DBP を経口投与した試験で、DBP 及びその代謝物である MBP の胎盤~~透~~通過性が明らかにされている。^{14}C-DBP を投与した試験では、胚や胎盤中の放射活性は母体血漿の 1/3 以下で、胚組織の放射活性は投与放射活性の 0.12～0.15%未満であった。胎児血漿や羊水中には MBP のグルクロン酸抱合体も認められた。また、ヒトにおいて~~も~~ DBP 及びその代謝物が検出され、~~の~~母乳中への移行の可能性が示唆されている。

DBP の代謝に関係する加水分解酵素（エステラーゼ、リパーゼ等）やグルクロン酸~~抱合~~転移酵素には様々な分子種があり、また、ヒトでは多くの遺伝子多型が知られている。DBP に対してどのような酵素がどの程度作用しているか、詳しく検討した報告は見あたらなかったが、代謝、排泄が比較的速いといった点において、おそらく大きな種差はないと推察された。ただし、DEHP ~~に対するヒト肝リパーゼ活性~~の代謝に関する酵素活性のように（Ito et al. 2013[6]）、 DBP の代謝にも、ヒトの個~~人~~体差が比較的大きいことが予想される。

なお、乳児期における DBP の代謝に関する情報はみあたらなかったが、一般に、生後すぐの新生児には、ヒトでも動物でもグルクロン酸抱合能が低い場合が~~知られ~~あること~~、さらに、発達段階に伴って、成人レベルの活性になる期間は、分子種によって異なっていること~~が知られている。~~（加藤 2009）。~~そのため成人に比較して、新生児や乳児では体内に存在する MBP の抱合･排泄が遅い可能性が示唆される。また、DBP 代謝の第一段階である加水分解反応について、新生児では消化器のリパーゼのほか、母乳中リパーゼも寄与すること、肝臓や小腸のエステラーゼの中には、生後一年程度までは成人より発現が低い分子種があることから、新生児や乳児における DBP の吸収~~や MBP の分布~~は、成人と比べて未解明な部分があると考えられる。

一方、妊娠期から授乳期の~~また、~~母体では、妊娠第 2 三半期までは脂肪の貯蔵が進み、第 3 三半期以降には速やかな脂肪の分解に転じるなど、リパーゼ活性の変化を伴い、妊娠・授乳期には母体の脂質代謝が非妊娠時から変化する。この変化は胎児などの栄養や代謝にも影響する（Hayashi et al. 2012、Hererra 2002）。

これらについては、フタル酸エステルの生殖・発生毒性を検討する際に留意する必要があると思われる。

２．実験動物等における影響

（１）急性毒性試験 *（審議済み）*

DBP の経口半数致死量（LD_{50}）は、マウスでは 20,000 mg/kg 体重以上（ATSDR 2001、CERI・NITE 2005）、ラットにおいては 8,000～20,000 mg/kg 体重との報告がある（IPCS 1997 **事務局**）。

[6] マウス及びヒトの肝ミクロゾーム画分のリパーゼ、アルコール脱水素酵素、アルデヒド脱水素酵素及びグルクロン酸転移酵素の DEHP 代謝に関する活性は、マウスを 1 とすると、ヒトではそれぞれ 1/7、2、1/2 及び 1/6 であった。一方、これらの活性のヒト個体間における差は 10～26 倍と大きかった（Ito et al. 2013）。

（2）亜急性毒性試験*（一部未審議）*

① 13 週間試験（マウス）

B6C3F1 マウス（雌雄、各群 10 匹、6 週齢）における、DBP（0、1,250、2,500、5,000、10,000、20,000 ppm：雄 0、163、353、812、1,601、3,689 mg/kg 体重/日、雌 0、238、486、971、2,137、4,278 mg/kg 体重/日）の 13 週間混餌投与試験が実施された。

その結果、投与に関係した臨床兆候は認められず、全てのマウスは試験終了まで生存した。対照群と比べ、雌雄とも 5,000 ppm 以上の投与群では、体重増加の抑制及び体重減少がみられた（いずれも p≦0.05）。雌では、全投与群で腎臓の絶対及び相対重量が増加し、20,000 ppm 投与群の絶対重量を除き、統計学的に有意だったが、雄では 20,000 ppm 投与群の腎臓絶対重量が統計学的に有意に減少した。なお、腎臓には肉眼的、組織学的病変はみられなかった。一方、肝臓の相対重量は、雌雄とも 5,000 ppm 以上の投与群で増加した（いずれも p≦0.05）。そのうち、10,000 ppm 投与群の雄及び、20,000 ppm 投与群の雄雌では、肝臓の絶対重量も増加し、肝臓の細胞質変化（好酸性変化、グリコーゲンの枯渇を示す小空胞の減少及びペルオキシゾーム増殖と同時に現れた微細な好酸性顆粒）が伴った。また、10,000 ppm 以上の投与群では、雌雄の肝細胞にリポフスチンの蓄積がみられた。そのほか、20,000 ppm 投与群で、雌にヘマトクリット値の減少がみられ（p≦0.01）、軽微な貧血が示唆された。生殖指標は別途評価され（0、1,250，5,000，20,000 ppm 投与群のみ）、20,000 ppm 投与群で精巣上体の重量が減少したが、病変はみられず、精巣では精細胞数の増加がみられた（いずれも p≦0.05）。これらの結果から、著者は、肝臓が唯一の DBP の毒性部位であるとしている（Marsman 1995◎）。

NTP は、体重増加の抑制に基づき雄の NOAEL を 353 mg/kg 体重/日、腎臓重量の増加に基づき雌の LOAEL を 238 mg/kg 体重/日とした（NTP-CERHR 2003）。EU は、雄の LOAEL を 812 mg/kg 体重/日（飼料中 0.5%）と設定しているほか、NTP と同じ値を選択している（EU RAR 2004）。

本専門調査会としては、雄の体重増加の抑制及び最低用量からみられた雌の腎臓の絶対及び相対重量の増加に基づき、本試験において、雄の LOAEL を 812 mg/kg 体重/日、NOAEL を 353 mg/kg 体重/日、雌の LOAEL を 238 mg/kg 体重/日と判断した。

② 2 週間試験（ラット）

Zhou らは DBP の精巣毒性と酸化ストレスの関係について、雄の SD ラット（各群 10 匹、成獣）への DBP（0（コーン油）、100、250、500 mg/kg 体重/日）の 2 週間強制経口投与試験を用いて検討し、二つの報告を行った。

2010 年の報告では、精巣について検討された。その結果、500 mg/kg 体重/日投与群では、体重及び精巣絶対重量が減少し、250 mg/kg 体重/日以上の投与群で、精巣上体の精子数及び精子運動率が減少していた（いずれも p＜0.05）。500 mg/kg 体重/日投与群の病理組織学的検査では、精細管の萎縮、精細管上皮細胞の崩壊、脱落及び精原細胞の減少や管腔の精子欠乏が認められ、精巣では酸化ストレスの誘導が認められた（いずれも p＜0.05）（Zhou et al. 2010 **無**）。

次に、2011 年に精巣上体への影響について報告された。精巣上体は 500 mg/kg 体重/日投与群で絶対重量が減少し（p<0.05）、精巣上体管の萎縮、間質脈管の充血及び管腔の精子欠乏を伴った。また、精巣上体において、250 mg/kg 体重/日以上の投与群から酸化ストレスの誘導が認められた（いずれも p＜0.05）（Zhou et al. 2011 **無**）。

以上の結果から、著者らは、成体ラットの DBP 暴露による精巣及び精巣上体の構造及び機能の変化は、それぞれの器官での酸化ストレスの誘導のためと結論している（Zhou et al. 2010、2011）。

本専門調査会としては、これらの試験を合わせて考え、精巣上体の精子数及び精子運動率の減少に基づき LOAEL を 250 mg/kg 体重/日、NOAEL を 100 mg/kg 体重/日と判断したが、精巣毒性の評価を目的としたものであっても単性で、かつ、短期間の試験であることに留意すべきであると考えた。

③ 30 日間試験（ラット）

成熟前の SD ラット（雄、各群 16 匹、5 週齢）に DBP（0（コーン油）、250、500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日）を 30 日間強制経口投与後、半数をと殺し（暴露時：exposure）、残りの半数は DBP を投与せずに、さらに 15 日間飼育し（休薬後：post exposure）、精巣、精巣上体、副腎及び血中ホルモン濃度が調べられた。

その結果、暴露時又は休薬後それぞれの投与群と対照群との間に、統計学的に有意な体重の差はなかった。また、暴露時には 500 mg/kg 体重/日以上の投与群で精巣の相対重量が、1,000 mg/kg 体重/日以上の投与群で精巣上体の相対重量が統計学的に有意に減少し、500 mg/kg 体重/日以上の投与群において用量依存的に精細管変性及びライディッヒ細胞数の減少を伴う精原細胞の減少が観察された。一方、休薬後では、1,000 mg/kg 体重/日以上の投与群における精巣及び精巣上体の相対重量に引き続き有意な低下がみられたが、精巣に投与による組織学的病変はみられず、むしろライディッヒ細胞の増殖がみられた。なお、暴露時には、500 mg/kg 体重/日以上の投与群に血清テストステロン（T）の減少、1,000 mg/kg 体重/日以上の投与群に血清糖質コルチコイドの増加がみられたが、いずれの投与群にも副腎の相対重量に統計学的に有意な変化はみられなかった。（Zhang et al. 2009a**×**）。

本専門調査会としては、精巣の相対重量減少、精細管変性及びライディッヒ細胞数の減少を伴う精原細胞の減少に基づき本試験の LOAEL を 500 mg/kg 体重/日、NOAEL を 250 mg/kg 体重/日と判断したが、精巣毒性の評価を目的としたものであっても単性で、かつ、短期間の試験であることに留意すべきであると考えた。

④ 30 日間試験（ラット）

成熟前の SD ラット（雄、各群 20 匹、5 週齢）への DBP（0（コーン油）、0.1、1.0、10、100、500 mg/kg 体重/日）の 30 日間の強制経口投与試験が行われ、精巣（低用量：10 mg/kg 体重/日以下投与群のプロテオミクスを含む）や血清ホルモン濃度の変化が調べられた。

その結果、500 mg/kg 体重/日投与群において精巣の絶対及び相対重量並びに精巣上体の絶対重量が統計学的に有意に減少し、病理組織学的には、100 mg/kg 体重/日投与群で精巣組織に軽微な障害が観察され、500 mg/kg 体重/日投与群で重篤な精細管の萎縮及び空胞化、ライディッヒ細胞の過形成及び精子形成不全を伴う明らかな障害が観察された。また、100 mg/kg 体重/日以上の投与群で、セルトリ細胞数及び精細管の生殖細胞数が減少した（いずれも $p<0.01$）。血清ホルモン濃度は、(T) が 500 mg/kg 体重/日投与群で減少し、黄体形成ホルモン（LH）は 0.1 及び 10 mg/kg 体重/日投与群では増加したが、100 mg/kg 体重/日以上の投与群では減少し、また、17β-エストラジオール（E2）は 0.1 及び 500 mg/kg 体重/日投与群で、卵胞刺激ホルモン（FSH）は 1.0 mg/kg 体重/日以上の投与群でいずれも増加した（いずれも $p<0.05$）。著者らは、100 及び 500 mg/kg 体重/日（高用量）投与群では、精巣の発達異常、精細管萎縮、生殖細胞の減少及び血清ホルモンの異常レベルといった毒性影響を認めている。また、低用量投与群の精巣のプロテオミクスでは、20 種のタンパク質の発現に変化がみられた（Bao et al. 2011△）。

本専門調査会としては、精巣組織の障害やセルトリ細胞数及び精細管の生殖細胞数の減少に基づき本試験の LOAEL を 100 mg/kg 体重/日、NOAEL を 10 mg/kg 体重/日と判断したが、毒性変化の発現に関与する可能性のある変化がそれより低い用量で発生していることと，精巣毒性の評価を目的としたものであっても単性で、かつ、短期間の試験であることに留意すべきであると考えた。

⑤ 13 週間試験（ラット）

F344 ラット（雌雄、各群 10 匹、5～6 週齢）における DBP（0、2,500、5,000、10,000、20,000、40,000 ppm：雄 0、176、359、720、1,540、2,964 mg/kg 体重/日、雌 0、177、356、712、1,413、2,943 mg/kg 体重/日）の 13 週間混餌投与試験が実施された。

雄では 10,000 ppm 以上、雌では 20,000 ppm 以上の投与群において、体重増加の抑制及び最終体重の低値が示された（いずれも p≦0.01）。投与に関連した臨床兆候は 40,000 ppm 投与群の全動物にるいそう（最終体重：対照群の 45%（雄）及び 73%（雌））がみられた以外になかった。血液学的検査において、雄では 5,000 ppm 以上の投与群でヘモグロビン濃度及び赤血球数の減少、20,000 ppm 以上の投与群でヘマトクリット値の減少がみられ（いずれも p≦0.05）、著者らは 5,000 ppm 以上の投与で雄に軽微な貧血を認めたと判断している。また、雄の 5,000 ppm 以上の投与群で血小板数が増加した（p≦0.01）。雄の最高用量投与群の肝臓絶対重量を除き、肝臓の絶対重量と相対重量及び腎臓の相対重量は、雄で 5,000 ppm 以上の投与群で増加し、雌で 10,000 ppm 以上の投与群で、それぞれ増加した（いずれも p≦0.01）。血清の生化学的検査では、雄では全投与群にアルブミン濃度の増加が観察された（p≦0.05）。中性脂肪（TG）は雄が 2,500 ppm、雌が 10,000 ppm 以上で、コレステロールは雌雄ともに 20,000 ppm で、それぞれ減少した（いずれも p≦0.05）。一方、アルカリホスファターゼ（ALP）は、雌が 10,000 ppm、雄が 20,000 ppm 以上で、胆汁酸は、雌が 5,000 ppm、雄が 20,000 ppm 以上で、それぞれ増加した（いずれも p≦0.05）。また、雌雄の肝臓においては、10,000 ppm 以上の投与群の細胞質変化がみられ、好酸性増加及びグリコーゲン枯渇による空胞減少が観察された。雌雄とも、肝パルミトイル CoA オキシダーゼ（PCoA）活性は用量依存的に増加して、5,000 ppm 以上の投与群で対照群より統計学的に有意に高値となり、40,000 ppm 投与群では肝細胞質に微細な好酸性顆粒が組織学的に観察され、超微細構造変化の観察によりペルオキシゾーム増殖であることが証明された。さらに、20,000 ppm 以上の投与群では肝細胞にリポフスチンの有意な蓄積がみられた。また、精巣の絶対及び相対重量は 20,000 ppm 以上の投与群で減少した（p≦0.01）。精巣の病理学的変化としては、10,000 ppm 投与群に限局性の精細管変性が 4/10 例に、20,000 ppm 投与群では同様の変化が全例にみられた。40,000 ppm 投与群では、全例にびまん性で著しい精細管変性がみられ、ほぼ全ての精細管で上皮細胞が完全に脱落し、精子形成が行われず、細胞質が空胞化したセルトリ細胞のみを観察した。著者らは精巣病変の無影響量を 5,000 ppm としている。精巣上体については、20,000 ppm 以上の投与群で精子減少症（hypospermia）がみられた。なお、精巣の亜鉛濃度は 20,000 ppm 以上の投与群で有意に低く、T 濃度は、精巣中では対照群と投与群で統計学的有意差はなかったが、血清中では 20,000 ppm 以上の投与群では有意に減少した。生殖指標は別途評価され（0、2,5000，10,000，20,000 ppm 投与群のみ）、雄の 20,000 ppm 投与群の精巣及び精巣上体等の重量及び、精子パラメーター（精細胞数、精巣上体の精子濃度及び精子運動性）に減少がみられたが（p≦0.01）、雌の性周期に投与による変化はみられなかった（Marsman 1995◎）。

NTP は、雄の肝臓及び腎臓重量の増加、雌雄の肝ペルオキシゾーム増殖及び雄の貧血に基づき、NOAEL を 176 mg/kg 体重/日とした（NTP-CERHR 2003）EU は本試験の雌雄の LOAEL を 357 mg/kg 体重/日（飼料中 0.5%）、NOAEL を 177 mg/kg 体重/日（飼料中 0.25%）としている（EU RAR 2004）。

本専門調査会としては、雄の肝臓及び腎臓の相対重量の増加、雌雄のペルオキシゾーム増殖及び雄の貧血に基づき、本試験において、雄の LOAEL を 359 mg/kg 体重/日、NOAEL を 176 mg/kg 体重/日、雌の LOAEL を 356 mg/kg 体重/日、NOAEL を 177 mg/kg 体重/日と判断した。

⑥ 3 か月間試験（ラット）

Wistar ラット（雌雄、対照群 20 匹、各投与群 10 匹、体重 90～120 g）における DBP（0（オリーブ油）、120、1,200 mg/kg 体重/日）の 3 か月間強制経口投与試験が行われた。その結果、両投与群とも肝臓の相対重量が統計学的に有意に増加したが、肝臓をはじめ、腎臓及び脾臓いずれにも肉眼的、組織学的変化は認められなかった。また、血液学的、生化学的検査において、ヘモグロビン含量、赤血球、白血球及び血清タンパク分画に投与の影響は認められなかった（Nikoronow et al. 1973 **事務局**）。

EU は本試験の LOAEL を 120 mg/kg 体重/日としている（EU RAR 2004）。

本専門調査会としては、肝臓について、絶対重量の変化が示されていないことと、組織学的変化がなかったことから、相対重量の変化の毒性学的意義が明らかでないと考え、本試験において NOAEL/LOAEL は設定できないと判断した。

⑦ 代謝物（MBP）を用いた亜急性毒性試験

MBP の経口暴露は、実験動物に DBP と類似した影響を及ぼすことが報告されている。

a. 4～6 日間試験（ラット）

SD ラット（雄、各群 6 匹、3～4 週齢）に DBP（0（コーン油）、500、1,000、2,000 mg/kg 体重/日）又は MBP（400、800 mg/kg 体重/日）を 4 又は 6 日間強制経口投与したところ、DBP は 4 日後に 1,000 mg/kg 体重/日以上、6 日後に 500 mg/kg 体重/日以上の投与群で、MBP は両日共に 400 mg/kg 体重/日以上の投与群で、精巣相対重量は対照群の 82～53%に減少~~させ~~した（いずれも＜0.05）。この時、MBP は DBP のモル数の半量で、DBP と同等の精巣重量減少作用を示した。なお、本試験については、予備的に DBP 2,000 mg/kg 体重/日を 3～14 日間強制経口投与する試験が行われており、3 日後以降に精巣の相対重量が統計学的に有意に減少し、4 日後の精巣において精母細胞と精原細胞の減少を観察した（Cater et al. 1977 **無**）。

本専門調査会としては、予備的な試験で精巣障害がみられたことも考慮し、本試験の DBP の LOAEL を精巣相対重量の減少に基づき 500 mg/kg 体重/日と判断したが，精巣毒性の評価を目的としたものであっても単性で、かつ、短期間の試験であることに留意すべきであると考えた。

b．2 週間及び 4 週間試験（ラット）

ラットを用いて、DBP と MBP の作用が、投与期間を変えて観察されている。SD ラット（雄、各群 6 匹、5 週齢）に、DBP 500 mg/kg 体重/日又は MBP 250 mg/kg 体重/日を 2 週間強制経口投与したところ、両投与群に体重増加の抑制がみられ、DBP 投与により肝臓相対重量の増加が認められた。また、血液学的に有意な変化はみられなかった。そのほか、生化学検査[7]において、血清中のアスパラギン酸アミノ基転移酵素（AST）、ALP（両投与群）及び TG（MBP 投与群）に統計学的に有意な増加がみられた。（Kwack et al. 2010 **無**）。

さらに投与期間を 4 週間に延長した試験では、2 週間試験でみられた影響に加えて、MBP 投与群でも統計学的に有意な肝臓相対重量の増加がみられ、DBP 投与群では精巣相対重量に減少がみられた。また、両投与群の精巣上体中の精子数（対照：2,570、DBP：1,270、MBP：1,810（×10^6/g 精巣上体））及び精子運動率（対照：74.5、DBP：23.5、MBP：28.5（%））が統計学的に有意に低下した。さらに、血液学的に統計学的に有意な変化が生じ、血小板数が両投与群で減少したほか、DBP 投与群のみで、赤血球数、ヘマトクリット値が減少し、平均赤血球血色素量及び濃度が増加した。（Kwack et al. 2009 **無**）。

著者らは、SD ラットの 2 週間試験において、MBP は DBP と類似した有害作用を生じ、又、4 週間試験において、精巣上体中の精子数及び精子運動率への有害影響は DBP のほうが MBP より強いことが示されたと結論している（Kwack et al. 2009、2010）。

本専門調査会としては、一用量の試験であることから、本試験において NOAEL/LOAEL は設定できないと判断した。

⑧ 参考

a. ~~10~~3～18 日間~~生殖毒性~~試験（マウス）

雄の 57BL/6J マウスの生後 4 日から 3 日間、10 日間又は生後 21 日（離乳時）まで DBP（0（コーン油）、1、10、50*、100、250*、500 mg/kg 体重/日；* ~~生後 4～14~~10 日間投与群の AGD 及び精巣相対重量データのみ）を強制経口投与し~~精巣の~~

[7]血清の生化学検査値は、両報告とも、最小桁の数字のみ異なるほぼ同じ数値であった。また、2009 年の報告の table 名には、4 週間試験を示す語句が使用されていない。

~~発達が調べられた。~~、生後 14 日又は生後 21 日までの幼少期のホルモン変化に伴うと考えられる精巣重量の変化、精巣の病理的変化及び AGD とアンドロゲン受容体に関連した遺伝子発現を指標として評価した。なお、生後 21 日まで投与したマウスは 8 週齢~~まで飼育した。~~で剖検した。

生後 7 日において、血清 FSH 濃度に投与による変化はみられなかった。~~精巣のアンドロゲン受容体シグナル遺伝子の発現は 500 mg/kg 体重/日投与群で変動が確認された。~~

生後 14 日において、体幹長[8]~~（前肢から尾の付け根までの長さ）~~で除した AGD（各群 5～10 匹）が対照群と比較して 1 mg/kg 体重/日以上の投与群で短縮し、500 mg/kg 体重/日投与群では 1～250 mg/kg 体重/日投与群より短く（いずれも $p<0.05$）、同腹の雌（8 匹）と有意差がなかった[9]。また、AGD は未補正の場合、50、100 及び 500 mg/kg 体重/日で、体重で除した場合、500 mg/kg 体重/日投与群で短縮した（いずれも $p<0.05$）。~~なお、体幹長に投与による変化はみられなかった。~~精巣相対重量（各群 9～23 匹[10]）は 50 mg/kg 体重/日以上の投与群で~~有意に~~減少した（$p<0.05$）。精巣の~~精巣の~~病理組織学検査（各群 8～9 匹）では、10 mg/kg 体重/日以上の投与群で生殖細胞に占める~~後期~~パキテン後期精母細胞の割合~~が~~の低下~~し~~、100 mg/kg 体重/日以上の投与群でセルトリ細胞核が中央部に位置する精細管/索の割合の増加、500 mg/kg 体重/日投与群で精原細胞やレプトテン期・ザイゴテン期精母細胞の割合の増加及び精細管内腔が横断面に占める割合の減少（いずれも $p<0.05$）といった、精子形成の遅れやセルトリ細胞の成熟抑制が示された。免疫組織化学的検査では（各群 6 匹）、10 mg/kg 体重/日以上の投与群で精巣のインヒビン α の発現が増強したが、FSH の血清濃度に投与による変化はなかった。血清 T の低下は 500 mg/kg 体重/日投与群でのみ認められ、この用量では、精巣のアンドロゲン受容体シグナル遺伝子の発現に変動が確認された。~~た。~~

8 週齢では、未補正 ~~AGD~~ 及び体幹長~~（投与の影響なし）~~で除した AGD（各群 5～10 匹）が 1 mg/kg 体重/日以上の投与群で短縮したが（いずれも $p<0.05$）、投与群間に有意差はなかった。また、体重で除した AGD は 1 及び 500 mg/kg 体重/日投与群に短縮がみられた（いずれも $p<0.05$）。剖検（各群 9～10 匹）では精巣相対重量が 500 mg/kg 体重/日投与群で減少し（$p<0.05$）、~~病理~~組織学的検査（各群 5～6 匹）では精巣病変が明らかであり、全投与群で種々の程度の精細胞形成不

---

[8]前肢から尾の付け根までの長さ。~~なお、~~体幹長に投与による変化はみられなかった。

[9]~~AGD（と殺後のデジタル画像解析による測定）及び体重で除した AGD は 500 mg/kg 体重/日投与群で対照群より有意に短縮したが、その他の投与群での短縮の有意差に一貫性はなかった。~~

[10] 精巣相対重量の用量反応性は、同腹児数を共変数とし、腹数をランダム効果として調整した一般線形モデルに~~よって~~おいても認められたため、以降の 14 日齢児の検討は各群 6～9 匹/4～5 腹の精巣に対して実施した（Moody et al. 2013）。8 週齢児の腹数について記載はない。

全（減数分裂前後の生殖細胞の欠損及び部分的な精細管変性）が認められた（発生頻度の有意差の記載なし）。

以上の結果から、Moody らは思春期前の雄マウスへの 10 mg/kg 体重/日以上の DBP 投与で精巣体細胞数及び生殖細胞数への用量依存的影響を、1 mg/kg 体重/日投与で成長後にアンドロゲン作用障害性の表現型（AGD 短縮）~~を~~が生じることを見出した。Moody らはラットで知られ~~てい~~るより 50～500 倍低い用量の DBP で、マウス精巣への急性影響が~~みられ~~認められ、インヒビンの発現増加が潜在的な作用機序の一つであることを確認したと結論している~~。~~（Moody et al. 2013）。

本専門調査会としては、8 週齢において精細胞の形成不全が最低用量投与群から認められたことから、精巣毒性に基づき本試験の LOAEL を 1 mg/kg 体重/日と評価し、NOAEL は設定できないと判断した。しかし、使用した動物数が比較的少なく、実験動物の成長や全身状態の指標となる体重データが記載されていないことから、本試験結果を TDI の根拠として用いることは適切ではないと判断した。なお、生後 4 日からの反復投与であるが、マウスにもラットと同様の精巣の病理組織学的変化が認められ、さらに若齢ラットを用いた亜急性毒性試験において雄性生殖系へ影響が知られている用量より低用量であったことに留意すべきと考えた。

また、生後 14 日及び 8 週齢時の AGD に、最低用量投与群から短縮が認められているが、補正の有無や補正方法により、最高用量以外の投与群では AGD の短縮は必ずしも有意でなかった。一方、生後 14 日における T 及びインヒビン α の血清濃度及び精巣のアンドロゲン受容体シグナル遺伝子発現の変動は最高用量投与群でのみ観察されており、血清 LSH に投与による変化はみられなかった。精巣の病理所見が認められたのは、10 mg/kg 体重/日以上の投与群におけるパキテン後期の精母細胞の減少であった。したがって、本試験において認められた 1 mg/kg 体重/日における AGD の短縮には、DBP 投与に起因するホルモンの変動や定量的な精巣の病理所見による十分な裏付けがなく、生殖発生又は生殖への影響を示すものと判断するのは困難であった。しかしながら、今後、裏付けデータが得られた場合には、幼少期の内分泌学的な所見における変化（AGD 短縮）は、評価の対象として位置づけられる必要があるものと考えられる。

b. ~~＜参考：~~3 か月間試験（ラット）~~＞~~[11]

NTP-CERHR（2003）及び EU RAR（2004）に引用されている OECD テスト ガイドライン 408 に従った 3 か月試験の報告（1992◎）がある。試験の詳細は不明であるが、Wistar ラット（雌雄、各群 10 匹、6 週齢）における DBP（0、400、2,000、

[11] 引用元は NTP では BASF 1992、EU では Schilling et al. 1992 と記載されている。試験の詳細が不明であるため、参考扱いとした。

10,000 ppm）の 3 か月混餌投与間試験（雄　0、27、142、688 mg/kg 体重/日、雌 0、33、162、816 mg/kg 体重/日：NTP 換算）が行われた。有意な影響は最高用量投与群のみに認められ、雌では体重変化なしに肝臓及び腎臓の相対重量の減少がみられた。雄では赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット値の一時的な減少並びに血清アルブミン及びグルコースの増加がみられたほか、雌雄に血清 TG 及びトリヨードチロニン（T_3）の減少がみられた。雌雄とも PCoA 活性が有意に上昇し、病理組織学的には肝細胞の脂肪沈着の減少が認められた。なお、精巣（ブアン液固定）に病変はなかった。さらに神経系の機能が、EPA の総合機能観察評価（Functional observational battery）を用いて評価されたが影響は観察されなかった。

NTP は、最高用量で観察された多くの影響に基づき、LOAEL を 688（雄）及び 816（雌）mg/kg 体重/日、NOAEL を 142（雄）及び 162（雌）mg/kg 体重/日であるとした（NTP-CERHR 2003）。EU も、10,000 及び 2,000 ppm を換算し、LOAEL を 752 mg/kg 体重/日、NOAEL を 152 mg/kg 体重/日としている（EU RAR 2004）。本専門調査会としては、本試験の雄及び雌の NOAEL を、それぞれ、142 及び 162 mg/kg 体重/日と判断した。

~~＜参考：~~c. ペルオキシゾーム増殖活性~~＞~~

EU RAR 2004 において、DBP のペルオキシゾーム増殖作用に関する最も低い NOAEL は、Jansen らの試験（1993）に基づく、雄のラットにおける 19.9 mg/kg 体重/日とされている。Jansen らは、Wistar Riv:Tox ラット（雄、各群 6 匹）に DBP（0、20、60、200、600、2,000 ppm：0、1.1、5.4、19.9、60.6、212.5 mg/kg 体重/日）を 2 週間混餌投与し、ペルオキシゾーム増殖との関係を調べた。そのため、ペルオキシゾーム増殖と用量反応関係が知られている、肝臓の PCoA、ラウリン酸 11-及び 12-水酸化酵素（LAH-11 及び LAH-12）、エノイル CoA ヒドラターゼ、カルニチンアセチルトランスフェラーゼ活性が測定された。その結果、PCoA の活性は 200 mg/kg 飼料以上の投与群で増加したが、600 mg/kg 飼料投与群では統計学的有意差を得られず、著者らは用量相関性が明確でないとして、PCoA 活性に関する NOAEL を飼料中 2,000 mg/kg としている。PCoA 以外の酵素の活性はいずれも 600 mg/kg 飼料以上から有意に増加し、著者らはこれらに関する NOAEL を 200 ppm としている。著者らは、本試験の総合的な NOAEL も 200 ppm（19.9 mg/kg 体重/日相当）としている（Jansen et al. 1993 **事務局**）。

本専門調査会としては、本試験が DPB のげっ歯類における肝毒性に関して有益な情報を与えるものであるが、肝臓の絶対重量に変化がなく、また、肝臓の相対重量および組織学的変化についてのデータが欠落していることから、本試験において NOAEL/LOAEL は設定できないと判断した。

また、DBP の経口暴露によるラットの代謝物プロフィール（メタボロミクス）の変化とペルオキシゾーム増殖の関係が調べられている。Wistar ラット（雌雄、各群 5 匹、9～11 週齢）に DBP（0、150、1,000、7,000 ppm）が 28 日間混餌投与され、。その結果、肝臓の絶対重量が雌雄の 7,000 ppm 投与群で、相対重量が雄の 1,000 ppm 以上の投与群と雌の 7,000 ppm 投与群で増加したが（いずれも p≦0.05）、精巣重量に影響はみられなかった。また、肝臓の PCoA 酸化レベルは雄の 7,000 ppm 投与群でのみ統計学的に有意に増加した。血漿サンプルのメタボロミクスでは、雄で、7,000 ppm 投与で測定代謝物 238 種中 47 種に変化（増加 6 種、減少 41 種）があり、1,000 ppm 投与群で変化が非常に弱くなり、150 ppm 投与群に至って生物学的意義の乏しい変化をみるのみとなった。雌では、7,000 ppm 投与群で 238 種中 12 種（増加 6 種，減少 6 種）が変化したのみで、1,000 ppm 投与群でわずかな変化に留まり、150 ppm 投与群でさらに軽微な変化となった。著者らは、DBP のメタボロミクスにおける最大無作用量を 150 ppm としている。また、このメタボロミクスの一部は、著者らがすでに確立したペルオキシゾーム増殖における変化のパターンとよく一致し、PCoA 酸化レベルの増加によって裏付けられるとしている（van Ravenzwaay et al. 2010 無）。

本専門調査会としては、本試験が DBP のげっ歯類における肝毒性に関して有益な情報を与えるものであるが、肝臓の組織学的変化についてのデータが欠落していることから、本試験において NOAEL/LOAEL は設定できないと判断した。

~~＜参考：~~d. 精巣毒性の種差~~＞~~

4～6 週齢の雄の SD ラット、TO 系マウス、Dunkin-Hartley 系モルモット及び DSN 系シリアンハムスターに DBP（2,000 mg/kg 体重/日）を 7 日間（ハムスターのみ 9 日間）強制経口投与したところ、体重はモルモットのみで統計学的に有意に減少し、ハムスター以外の動物種の精巣の絶対重量に有意な減少がみられた。精巣の病理組織学的検査において、ラット及びモルモットでは、ほとんど全ての精細管が萎縮し、精子細胞と精原細胞の減少がみられたが、マウスでは軽度な巣状萎縮のみが観察され、ハムスターでは対照動物と区別できる変化を観察しなかった（Gray et al. 1982）。本専門調査会としては、一用量の試験であることから、本試験において DBP の NOAEL/ LOAEL は設定できないと判断した。

~~＜参考：~~e. フタル酸エステルによる差~~＞~~

5 週齢の雄の SD ラットに、DBP、DNOP、フタル酸ジエチル（DEP）、DEHP、フタル酸ジメチル（DMP）、BBP、DIDP、フタル酸ジウンデシル（DUP）又は 500mg/kg 体重/日を 4 週間強制経口投与した報告がある。次のように統計学的に有意な変化がみられた。

体重は BBP＞DBP≒DINP のみで減少した。赤血球数及びヘマトクリット値は DBP のみ減少し、ヘモグロビン濃度は DMP のみ減少した。血糖値は DEHP のみ、血清蛋白濃度は DUP のみ、AST 活性は DUP＞DINP≒DBP のみ、ALP 活性は DBP＞DINP＞DMP＞DIDP＞DNOP のみ、TG 量は DINP のみ、CA 量は DNOP≒DEP≒BBP≒DEHP のみで増加した。 肝臓相対重量は、DEHP＞DINP＞DIDP＞DBP＞BBP のみで増加した。精巣相対重量は DBP≧DEHP のみ、精巣上体の精子数は DEHP＜DNOP＜DBP＜BBP＜DUP＜DNOP＜DINP のみで減少した。また、精子運動率は DEHP＜DBP＜DNOP＜DUP＜DIDP＜BBP のみで減少した（Kwack et al. 2009）。

~~⑧~~⑨　亜急性毒性試験のまとめ

~~入手した文献に基づくと、~~雌雄のげっ歯類に肝臓の重量増加、腎臓の重量変化及び雄の貧血が認められ、肝臓の細胞変性やペルオキシゾーム増殖、血清中トランスアミナーゼの上昇、TG の減少が見受けられた（Marsman 1995、~~参考：3 か月間試験（ラット）~~⑧参考 b.）。また、雄には、精巣や精巣上体の萎縮、重量減少及び精細管変性及び精子減少症等などの精巣毒性がみられた。明らかな毒性はおおむね 500 mg/kg 体重/日以上からみられたが、乳児期から投与した場合や生殖細胞の減少や軽微な精細管変性はより低用量でもみられた（Marsman 1995 、Zhou et al. 2010、2011、Zhang et al. 2009a、Bao et al. 2011、Kwack et al. 2009 、Moody et al. 2013）。また、こういった DBP による精巣の損傷は、暴露を中止するとある程度回復することが報告されている（Zhang et al. 2009a、Moody et al. 2013）。MBP の投与でも DBP と類似した肝臓や精巣への影響がみられた（Kwack et al. 2009、2010）。また、精巣毒性には種差が示され、4 種のげっ歯類を比較すると、ラット、モルモットは感受性が高く、マウスはそれより低く、モルモットは ~~4 種のうち~~最も感受性が低かった（Gray et al. 1982）。

亜急性毒性試験において、最も低い LOAEL~~/~~及び NOAEL が得られたのは、~~、~~ラットを用いた 13 週間混餌投与試験（Marsman 1995）~~における~~であり、雄の肝臓及び腎臓の相対重量の増加、雌雄のペルオキシゾーム増殖及び雄の貧血に基づく LOAEL 359～356 mg/kg 体重/日、NOAEL 176～177 mg/kg 体重/日（雄～雌）であった。また、精巣毒性については内分泌系や生殖・発生影響も含めて検討する必要がある。

（3）慢性毒性試験及び発がん性試験 *（審議済み）*

NTP-CERHR 2003、ATSDR 2001、EU RAR 2004、EFSA 2005、CPSC 2010 では、適切に実施された DBP の慢性毒性試験や発がん性試験に関する報告は見あたらないとしているが、最近のものを含め、以下の情報がある。

① DBP とオゾンと 4-（N-メチル-N-ニトロソアミノ）-1-（3-ピリジル）-1-ブタノン（NNK）の単独又は併用による 16 週間、32 週間又は 1 年間試験（マウス）

肺発がんのリスク要因と考えられているオゾン、タバコ煙由来のニトロソアミンの一つである NNK、DBP との単独又は併用による亜慢性及び慢性毒性試験が実施され、発がん性についても検討されている。B6C3F1 マウス（雌雄、各群 20 匹、5～6 週齢）に、オゾン 0.5 ppm（吸入投与）、NNK 1.0 mg/kg 体重/回（皮下投与、3 回/週）、DBP 5,000 ppm（混餌投与）[12]をそれぞれ単独又はオゾンを含む 2 種ないし 3 種併用で投与した 16 週間、32 週間試験（Kim and Cho 2009b）及び 1 年間試験（Kim and Cho 2009a）が行われた。

いずれの試験においても投与による死亡はみられなかったが、対照群と投与群の間には体重及び器官重量に統計学的に有意な差異が観察された。DBP 単独投与群の臓器重量変化を表 III-1 に示す。なお、DBP 単独投与時の体重変化の記載はない。

表 III-1　DBP 単独投与群における臓器重量変化（Kim and Cho 2009 a,b）

試験期間		肝臓		肺		左腎		右腎		左副腎		右副腎		左精巣		右精巣		左右卵巣	
		絶	相	絶	相	絶	相	絶	相	絶	相	絶	相	絶	相	絶	相	絶	相
16週	雄	↓		↑		↑	↑	↑			↓				↑			-	-
	雌		↑	↑	↑		↑							-	-	-	-		
32週	雄	↑	↑	↑			↓		↓									-	-
	雌	↑		↑	↑		↓							-	-	-	-		
1年	雄	↑		↑	↑		↑											-	-
	雌	↑		↑		↑	↑		↑					-	-	-	-		

絶：絶対重量、相：相対重量、↑/↓：増加/減少（p＜0.05）
（Kim and Cho 2009aTable1、2 及び 2009bTable1、2、3、4 を加工 ）

非腫瘍性病変に関して、DBP 単独又は DBP を含む併用投与群についていくつか記載があるが、1 年間 DBP＋オゾン＋NNK 併用投与群の雌の気管支肺胞上皮過形成（頻度 40%）と、雄の肺局所的うっ血・出血、腎空胞変性、大脳のうっ血並びに雌の少数肝細胞空胞変性及び子宮内膜ポリープ（いずれ 30%）を除いて統計学的に有意な発現頻度の増加が認められなかった。なお、対照群での発生頻度の記載はなかった（統計学的処理は論文中になく、対照群の発現頻度を 0%と推察し、調査会が行った）。

腫瘍性病変に関して、DBP 単独又は DBP を含む併用投与群について、卵管癌及び雌に肺腺癌がみられたが、いずれも統計学的に有意な発現頻度の増加が認められなかった。なお、対照群での発生頻度の記載はなかった（統計学的処理は論文中に

[12]DBP の投与量は NTP 1995（本評価書では Marsman 1995 として（2）①に記載）におけるマウスを用いた 13 週間混餌投与試験を参照して設定された。Marsman （1995）は飼料中 5,000 ppm の投与量を雄 812 mg/kg 体重/日、雌 971 mg/kg 体重/日と推定している。

なく、対照群の発現頻度を 0%と推察し、調査会が行った）。腫瘍性病変の発生について表 III-2 に示す。

著者らは、一年間試験の結果、オゾンが単独で肺発がん性を示さず、DBP または NNK との 2 種または 3 種併用でも B6C3F1 マウスに発がん性を示さないと結論した（Kim and Cho 2009a **無**）。

表 III-2　DBP 投与を含む投与群の腫瘍性病変の発生（Kim and Cho 2009a,b）

投与期間	DBP 単独または併用投与群	卵管癌	肺腺癌
16 週間	DBP	雌 2 例（10%）	
32 週間	DBP＋オゾン＋NNK	雌 2 例（10%）	
1 年間	DBP	雌 2 例（10%）	
	DBP＋オゾン＋NNK	雌 2 例（10%）	雌 2 例（10%）

（Kim and Cho 2009a Table3、及び 2009b から抜粋 ）

本専門調査会としては、本試験に用いられた DBP を含む 3 物質のいずれについても、一用量で実施されたものであるため NOAEL/LOAEL は設定できないが、それらの単独投与又はオゾンを含む 2 種ないし 3 種の併用投与のいずれにも、少なくとも本試験の実験条件下において特記すべき（亜）慢性毒性や発がん性が認められないものと判断した。ただし、発がん性については、本試験の最長投与期間が 1 年間であるので、その点でも十分な評価ができないものと判断した。

② 1 年間試験（ラット）

Wistar ラット（雌雄、各群 20 匹、体重 80～100 g）に 0（対照）又は 1,250 ppm の DBP を 1 年間混餌投与したところ、投与群の摂餌量に変化がみられた。しかし、死亡率は対照群 10%に対して投与群で 15%であり、体重にも統計学的に有意な変化はなかった。また、肝臓、腎臓及び脾臓重量に有意な変化はなく、これらの器官に肉眼的及び鏡検的変化も見いだされなかった。血液学的、生化学的検査では、ヘモグロビン含量、赤血球、白血球及び血清タンパク分画に投与の影響は認められなかった（Nikoronow et al. 1973 **事務局**）。EU は、1 用量しかない極めて限定的な試験としながらも、本試験の NOAEL を 62.5 mg/kg 体重/日（1,250 ppm、EU 換算）と判断している（EU RAR 2004）。

本専門調査会としては、一用量の試験であることから、本試験において NOAEL/LOAEL は設定できないが、少なくとも本試験の実験条件下において特記すべき慢性毒性が認められないものと判断した。

③　慢性毒性及び発がん性試験のまとめ

げっ歯類を用いた一年間までの試験において、マウスに自然発症がまれな卵管癌の発生が認められたが、統計学的に有意な増加ではなく、他に特記すべき慢性影響や明らかな発がん性は認められなかった（Kim and cho et al. 2009a、b、Nikoronow 1973）。しかし、発がん性の評価に通常もとめられる 2 年間試験の報告はみあたらず、適切に実施された DBP の慢性毒性試験及び発がん試験は入手できなかった。

DBP と類似の構造を持つ DEHP にはげっ歯類への肝発がん作用が知られ、DBP にもげっ歯類へのペルオキシゾーム増殖活性が認められることから、より高用量、長期間の DBP 投与によりげっ歯類に肝発がんを引き起こす可能性がある。なお、DEHP のげっ歯類における肝発がんの主要なメカニズムは PPARα を介した経路によると考えられており、この経路はヒトとげっ歯類とで種差が大きい。なお, DEHP の肝発がんメカニズムについて、最近、PPARα を介する以外にも複数の作用経路が提唱されているが、現時点ではどの経路がどのように発がんへ関与するか不明確である（内閣府 2013）。

（4）神経への影響 *（審議済み）*

①発達神経毒性試験（ラット）

Li らにより一連のラットの発達神経毒性試験が行われている。2009 年の報告では、Wistar ラット（雌、各群 9～10 匹）に DBP（0、370、1,110、3,330、10,000 ppm：0、30.6～55.1，93.9～165.2，291.4～485.5、797～1,483 mg/kg 体重/日）を、妊娠 6 日～出産後 28 日に混餌投与し、児動物の発生及び神経行動学的パラメーターが測定された。

その結果、妊娠 6 日～20 日の母動物の体重増加及び児動物の発育指標に投与による有意な変化はみられなかったが、対照群と比較し、3,330 ppm 以上の投与群で雄児動物の AGD に短縮がみられ、10,000 ppm 投与群では、母動物では妊娠期間が延長し（0.44 日）、児動物では、雄雌に体重の減少及び肝臓相対重量の増加が、雄に精巣相対重量の減少がみられた（いずれも $p<0.05$）。神経行動学試験（雌雄各 2 匹/腹）において、対照群と比較して変化がみられたのは雄児動物で、対照群と比較して、10,000 ppm 投与群の正向反射に要する時間の延長（生後 7 日）・前肢のグリップ時間の短縮（生後 10 日）・モーリス水迷路試験（生後 35 日）における空間学習の増強を意味する学習訓練での逃避潜時（escape latency）及び遊泳距離（path length）の短縮、1,110 ppm 投与群のモーリス水迷路試験におけるプローブトライアルでの逃避台位置付近の滞在時間の減少及び 370 ppm 投与群の前肢のグリップ時間の短縮・モーリス水迷路試験における空間学習の減弱を意味する学習訓練での逃避潜時及び遊泳距離の延長並びにプローブトライアルでの逃避台位置付近の滞在時間の減少がみられた（いずれも $p<0.05$）。なお、雌雄とも正向反射（生

後 4 日）、空中正向反射（生後 16 日）、背地走性（生後 4 日及び 7 日）、断崖回避（生後 7 日）及びオープンフィールド試験（生後 28 日）に投与による統計学的に有意な変化はみられなかった。

Li らは、性別と投与量により影響が異なり、雄は雌に比べ、感受性が高い可能性があると考察している。また、この試験における DBP の用量で、神経行動学的パラメーターに少数の有害影響が生じたことから、げっ歯類の雄の認識能力に変化を及ぼす可能性があると結論した（Li et al. 2009 **無**）。

Li らの続報では、Wistar ラット（雌、各群 8 匹）に DBP（0、25、75、225、675 mg/kg 体重/日）を、妊娠 6 日～出産後 21 日に強制経口投与し、雄児動物の海馬における脳由来神経栄養因子（BDNF）に対する DBP の影響が調べられた。また、生後 21 日に離乳させた雄児動物のうち、各腹一匹について生後 28 日まで母動物と同用量の強制経口投与を継続し、空間学習課題により迷路行動を評価した。

その結果、対照群に比べ、675 mg/kg 体重/日投与群において、生後 1 日の児動物の体重減少、雄の未補正又は体重補正した AGD の短縮並びに生後 21 日の雄児動物の体重、精巣の絶対及び相対重量の減少がみられた（いずれも $p<0.01$）。また、モーリス水迷路試験の結果、対照群に比較して有意な影響がみられたのは 675 mg/kg 体重/日投与群のみで、生後 30～33 日における空間習得に増強がみられ、学習訓練 4 日目の逃避潜時及び遊泳距離が対照群より短縮した（$p=0.014$ 及び 0.013）。また、675 mg/kg 体重/日投与群の生後 60～62 日におけるリバーストライアル後のプローブトライアルでは、逃避台位置付近の滞在時間が対照群より長く（$p=0.041$）、より良好な空間記憶の保持がみられた。さらに、生後 1 日、7 日及び 21 日の雄児動物の海馬を調べたところ、生後 21 日における 675 mg/kg 体重/日投与群でのみ、BDNF タンパク質及び mRNA の発現が増加していた（いずれも $p\leqq0.01$）。

Li らは、高用量の DBP が発生期に投与されると、雄のラットにおける空間記憶が改善され、海馬において BDNF 発現の増加が関係する可能性が示唆されるとしている（Li et al. 2010 **無**）。

本専門調査会では、Li らによる 2 試験（2009、2010）を一連のものとして合わせて検討した。妊娠ラットにおける高用量（700～900 mg/kg 体重/日）の妊娠 6 日～児動物の離乳までの経口投与により、DBP に子宮内及び経母乳暴露した雄児動物では、迷路行動における空間学習の増強が 2 試験で一致して観察された。一方、低用量（30～40 mg/kg 体重/日）投与時にみられた空間学習の阻害には、十分な再現性がなかった。したがって本知見において、神経発達への影響について評価することは困難と判断した。

~~<~~② 参考

a. ~~①：~~3 か月試験（ラット）~~>~~[13]

NTP-CERHR（2003）及び EU RAR（2004）に引用されている、OECD テストガイドライン 408 に従った、ラットを用いた 3 か月試験において、神経系の機能が評価されている。試験の詳細は不明であるが、Wistar ラット（雌雄、各群 10 匹、6 週齢）に DBP（雄 0、27、142、688 mg/kg 体重/日、雌　0、33、162、816 mg/kg 体重/日）を 3 か月間混餌投与し、DBP 投与前、投与 34、59 及び 90 日目に、EPA の機能観察総合評価を用いて評価したところ、投与による影響は観察されなかったと報告されている。

b. ~~<参考②：~~神経発達毒性試験（ラット）~~>~~[14]

SD ラット(雌、各群 2 匹)に、妊娠 8 日から出産まで、DBP（0、0.010、1 mg/kg 体重/日）混餌投与し、児動物への影響が調べられている。妊娠時の母動物体重、雄児動物（各腹 5 匹）の体重と AGD 及び、全児動物の運動機能（正向反射）に有意な影響はみられなかったが、生後 21 週目に雄児動物（各群 2 匹）を新しいケージに移し、情動安定性の指標として、身づくろい動作を観察したところ、0.010 mg/kg 体重/日投与群において、観察初日及び 2 日目の夜間における身づくろい動作の頻度が対照群より減少した（$p<0.05$）。（Hoshi and Ohtsuka 2009 **無**）。

（5）免疫系への影響 *（審議済み）*

DBP の経口投与による免疫毒性試験の報告はみあたらなかった。しかし、Marsmann による雌雄の B6C3F$_1$ マウス又は F344 ラットに、DBP を 20,000 ppm 又は 40,000 ppm を 13 週間混餌投与した試験[15]では、白血球数、分葉核好中球数、単球数、好塩基球数及びリンパ球数に投与による増減はなく、胸腺、脾臓、骨髄及びリンパ節に投与による病変はみられなかった。さらに同じ著者による、妊娠 F344 ラットへの DBP10,000 ppm 混餌投与により胎児期、哺育期を通じて DBP を経母体暴露した児動物に、離乳後、引き続き 40,000 ppm を 13 週間混餌投与した試験では、雌雄の児動物に、リンパ球数の増加がみられたほか、周産期暴露しなかった 13 週間試験と同様に免疫系への投与による影響はみられなかった（Marsman 1995）。また、

---

[13] （2）~~<参考：3 か月間試験（ラット）>~~⑧b. と同試験。試験の詳細が不明なため、参考扱いとした。

[14] 1 群 2 腹（各腹雄児動物 5 匹）のデータであり、また、本試験の方法で情動安定性を評価可能かどうか疑問があるため、参考扱いとした。

[15] （2）①及び⑤として記載

雌雄の Wistar ラットに DBP を 1,250 ppm を 1 年間混餌投与した試験[16]でも脾臓に投与による重量や組織像の変化はみられなかった（Nikoronow et al. 1973）。

（６）内分泌系及び生殖・発生への影響*（一部未審議）*

① 生殖~~・発生~~毒性試験（マウス）

CD-1（ICR）マウス（雌雄、対照群 40 匹、各投与群 20 匹、7 週齢）に DBP（0、300、3,000、10,000 ppm：0、53、525、1,750 mg/kg 体重/日）を交配前 7 日から混餌投与し、投与を継続しながら雌雄を同居させ、98 日間にわたる連続交配を行った。

その結果、対照群と比較して、10,000 ppm 投与群にのみ、妊娠率[17]、妊娠のあったペアごとの出産回数、腹単位の出生児数及び妊娠があったペアごとの出生児の割合に減少が認められた（$p<0.01$）。連続交配後に試みられた対照群と 10,000 ppm 投与群の交差交配では、対照群同士に比べ、対照群の雄と投与群の雌の交配で、妊娠率、一腹単位の出生児数、出生児率及び出生児体重が減少し（$p<0.05$）、雌に DBP の影響が認められた。交差交配後の親動物については、対照群に比べ、投与群では、雄に剖検時体重の減少及び肝臓相対重量の増加が、雌に肝臓絶対重量の増加及び子宮絶対重量の減少がみられた（いずれも $p<0.01$）。一方、雌雄の生殖器官に肉眼的及び組織学的異常は認められず、精巣上体の精子の濃度、運動率及び奇形率にも投与による影響はみられなかった（Lamb et al. 1987◎）。

NTP-CERHR（2003）は、子宮重量の減少、妊娠率及び一腹単位の出生児数の減少に基づき、雌の生殖毒性の LOAEL を 1,750 mg/kg 体重/日、雄では設定できないとし、雌雄の生殖毒性及び発生毒性の NOAEL を 525 mg/kg 体重/日としている。EFSA（2005）及び NICNAS（2008）は母動物の受胎性への影響と胎児毒性に基づき、NOAEL を飼料中 3,000 ppm、420 mg/kg 体重/日相当（EU RAR 2004 換算）としている。

本専門調査会としては、妊娠率及び出生児の減少がみられたことから、生殖影響に基づき本試験の雌の LOAEL を 1,750 mg/kg 体重/日と判断した。交差交配後の 10,000 ppm（高用量）投与群親動物の剖検で認められた肝重量の増加や子宮重量の減少について、中、低用量投与群では剖検が実施されていないことから、本試験の NOAEL は設定できないと判断した。

---

16 （３）②として記載

17 同居ペア数に対する妊娠（死産を含め、一回以上出産）したペア数の割合

② 発生毒性試験（マウス）

ICR マウス（雌、各群 7～21 匹）の妊娠 0 日～18 日に、DBP（0、500、1,000、2,000、4,000、10,000 ppm：0、80、180、370、660、2,100 mg/kg 体重/日）を混餌投与し、妊娠 18 日に帝王切開して胎児が調べられた。

その結果、対照群と比較して、10,000 ppm 投与群で母動物の妊娠中の体重増加が抑制され（p＜0.05）、4,000 ppm 以上の投与群で雌雄の生存胎児体重が減少した（4,000 ppm 投与群の雄のみ統計学的有意差あり）。また、10,000 ppm 投与群では出生前死亡（胚吸収及び死亡胎児の和）率が有意に高く（p＜0.05）、生存胎児 3 匹のうち、2 匹に神経管欠損（外脳症）がみられた。また、全投与群の胎児で骨化した尾椎数が減少した（いずれも p＜0.05）。

著者らは、胚・胎児毒性の生じない DBP の最大量を 370 mg/kg 体重/日と推定した。（Shiota and Nishimura 1982◎）。

NTP-CERHR（2003）は、体重増加の抑制に基づき、母動物毒性の LOAEL を 2,100 mg/kg 体重/日、NOAEL を 660 mg/kg 体重/日とした。また、全投与群における胎児の骨化遅延（骨化した尾椎数の減少）に基づき、最低用量の 80 mg/kg 体重/日を発生影響の LOAEL として選択し、この試験に NOAEL は設定できないとした。

本専門調査会としては、最低用量群からみられた胎児の骨化遅延（骨化した尾椎数の減少）がみられたことから、発生毒性に基づき本試験の LOAEL を 80 mg/kg 体重/日とし、NOAEL は設定できないと判断した。

③ 発生毒性試験（マウス）

C57 マウス（雌、各群 12 匹）に、DBP（0（オリーブ油）、50、300 mg/kg 体重/日）を妊娠 7～9 日に強制経口投与後、妊娠 16 日に帝王切開し、胎児が調べられた。その結果、300 mg/kg 体重/日投与群で、対照群に比べ、腹単位の胚吸収数の増加及び腹単位の生存胎児数の減少並びに胎盤の絶対重量の減少がみられた（いずれも p＜0.001）。生存胎児については、体重及び心臓、脳、肝臓の絶対重量が減少し、300 mg/kg 体重/日投与群で有意となった（いずれも p＜0.05）。また、300 mg/kg 体重/日投与群でのみ外部奇形（主として眼の形成不全、次いで脳ヘルニア）が生じ、その頻度は対照群 0/82（0/12 腹）に対し、16/64 匹（6/12 腹）であった（Xia et al. 2011△）。

本専門調査会としては、催奇形性を評価するには投与期間が通常（妊娠 6 日～15 日）より短いため、NOAEL/LOAEL は設定できでないと判断した。

④ 発生毒性試験（マウス）

雄の C3H マウスと交尾が成立した雌の C57BL/6 マウス（各投与群最大 20 匹、対照群 20 匹）の妊娠及び哺育期間（妊娠 0 日～）に、DBP（0、1,250、2,500、5,000、7,500、10,000、20,000 ppm、NTP 推定[18]：0、227、454、908，1,359、1,816、3,632 mg/kg 体重/日）を混餌投与し、児動物の B6C3F1 マウス（雌雄、各群 10 匹、20,000 及び雌の 10,000 ppm を除く）には離乳時（生後 28 日）から 4 週間にわたって母動物と同用量の混餌投与（雄 0、199、437、750、1,286、3,804 mg/kg 体重/日、雌 0、170、399、714、1,060 mg/kg 体重/日）を継続した。

その結果、母動物については、対照群に比べ、2,500 ppm 以上の投与群で妊娠期間が延長し（p≦0.05）、7,500 ppm 以上の投与群では妊娠 0 日～妊娠 17 日の体重増加が抑制された（p≦0.05）。また、10,000 及び 20,000 ppm 投与群では出産率が減少し、対照群 55%に対してそれぞれ 25%（統計学的有意差なし）及び 0%（p≦0.01）であった。児動物については、7,500 ppm 以上の投与群では同腹児数が減少し（p≦0.05）、10,000 ppm 投与群では生後 0 日の体重が低値であった（p≦0.01）。離乳後の児動物への直接投与 1、4 週目及び剖検時に体重が測定されたが、雄では 2,500 ppm～7,500 ppm の投与群で持続的に、雌では 7,500 ppm 投与群で剖検時のみ体重が低値であった（いずれも p≦0.05）。また、全投与群で雄の肝臓の相対重量及び雌の腎臓の絶対及び相対重量が増加した（いずれも p≦0.05、ただし 20,000 ppm 投与群における雌の腎臓の絶対重量は有意差なし）。（Marsman 1995○）。

NTP-CERHR（2003）は児動物の肝臓と腎臓の相対重量の増加に基づくと、発生毒性の NOAEL は特定されないとした。

本専門調査会としては、妊娠期間の延長及び雄児動物の離乳後の体重低値に基づき、本試験の発生毒性の NOAEL を飼料中 1,250 ppm（227 mg/kg 体重/日）と判断した。また、最低用量から雄児動物の肝臓及び腎臓の相対重量に変化がみられたが、絶対重量の変化はなく、病理組織学的検査は実施されていないため、毒性影響と判断するのは困難であった。

⑤ 発生毒性試験（ラット）

Ema ら（1993、1994、1995、1998）は、Wistar ラットの妊娠期間中に DBP を経口投与し、胚・胎児死亡や胎児の外部、骨格及び内部奇形を調べる一連の発生毒性試験を行った。

1993 年の報告では、Wistar ラット（雌、各群 11～12 匹）の妊娠 7～15 日に DBP（0（オリーブ油）、500、630、750、1,000 mg/kg 体重/日）を強制経口投与し、

[18]NTP-CERHR（2003）は、二つの NTP 試験（Tyl et al. 1988、Price et al. 1988）におけるマウスの飼料摂取率及び体重の平均値、すなわち 7.18 g/日及び 39.63 g から、体重当たりの DBP 摂取量（mg/kg 体重/日）を推定した。

GD20 に帝王切開した。その結果、母動物では対照群と比較して 630 mg/kg 体重/日以上の投与群で妊娠中の体重増加抑制が認められた（p＜0.05）。この 630 mg/kg 体重/日以上の投与群では、着床後胚損失率及び腹あたりの出生前死亡数（吸収胚と死亡胎児の和）が増加し、同腹生存胎児数が減少した（いずれも p＜0.05）。また、750 及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群では、全胚吸収が対照群の 0/11 匹に対してそれぞれ 10/12 匹及び 9/9（母動物 2 匹死亡）匹に増加した（p＜0.05）。生存胎児については、対照群と比べて 630 mg/kg 体重/日以上の投与群で体重が低値であった（p＜0.05）。また、腹単位の奇形の発生頻度は 630 mg/kg 体重/日投与群から増加し、750 mg/kg 体重/日投与群で有意となった（p＜0.05）。奇形は主に口蓋裂が観察された（Ema et al. 1993◎）。

NTP-CERHR （2003）は、母動物の体重増加抑制、児動物の出生前死亡率の増加、胎児体重の低下に基づき、母動物毒性と発生毒性の LOAEL を 630 mg/kg 体重/日、NOAEL を 500 mg/kg 体重/日としている。

本専門調査会としては、母動物の体重増加抑制並びに児動物の出生前死亡率の増加及び生存胎児体重の低値がみられたことから、母動物毒性及び発生毒性に基づき、本試験における LOAEL を 630 mg/kg 体重/日、NOAEL を 500 mg/kg 体重/日と判断した。

1998 年の報告では、Wistar ラット（雌、各群 11 匹）の妊娠 11～21 日に DBP（0、5,000、10,000、20,000 ppm：0、331、555、661 mg/kg 体重/日）を混餌投与し、妊娠 21 日に帝王切開した。その結果、母動物では対照群と比べて 10,000 ppm 以上の投与群で妊娠 11～21 日における体重増加抑制が認められた（p＜0.05）。生存胎児については、5,000 ppm 投与群では雌の体重が有意に高かったが、20,000 ppm 投与群では雌雄の体重が低値を示し、腹単位の外部奇形（主として口蓋裂）及び骨格奇形（主として胸骨分節の癒合：fused sternebrae）が増加した（いずれも p＜0.05）。さらに、10,000 ppm 以上の投与群の雄児動物では、肛門生殖突起間距離（AGD）が短縮し、動物数及び腹単位の停留精巣が増加した（いずれも p＜0.05）。（Ema et al. 1998△）。

NTP-CERHR（2003）及び NICNAS（2008）は、母動物の体重増加抑制、雄児動物の AGD の短縮及び停留精巣の増加に基づき、母動物毒性と発生毒性の LOAEL を 555 mg/kg 体重/日、NOAEL を 331 mg/kg 体重/日とした。

本専門調査会としては、母動物の体重増加抑制、雄児動物の AGD の短縮及び停留精巣の増加がみられたことから、母動物毒性及び発生影響に基づき本試験の LOAEL を 555 mg/kg 体重/日、NOAEL を 331 mg/kg 体重/日と判断した。なお、最低用量投与群の雌胎児体重の高値について考察が見当たらなかった。

Ema らは DBP による発生毒性の時期特異性を検討するため、Wistar ラット（雌、各群 10～13 匹）の妊娠 7 日～9 日、妊娠 10 日～12 日又は妊娠 13 日～15 日における DBP（0（オリーブ油）、750、1,000、1,500 mg/kg 体重/日：Ema et al. 1994◎又は 0（オリーブ油）、750、1,000、1,250 mg/kg 体重/日：Ema et al. 1995a◎）の強制経口投与試験を実施した。母動物を妊娠 20 日に帝王切開して調べた結果、着床後胚損失率は投与時期に関わらず対照群に比べて全投与群で増加し（いずれも $p<0.05$）、1,500 mg/kg 体重/日投与群では 100%に達した。一方、発生する奇形の種類及び頻度（腹単位）は投与時期により異なった。妊娠 10 日～12 日の投与では対照群と比べて奇形発生頻度に有意差はなかったが、妊娠 7 日～9 日の投与では全用量で骨格奇形（主として椎弓及び肋骨の癒合又は欠損）が用量依存的に増加し、妊娠 13 日～15 日の投与で奇形発生頻度は最大となり、全用量で外部奇形（主として口蓋裂）及び骨格奇形（主として胸骨分節の癒合）が用量依存的に増加した（いずれも $p<0.05$）。

なお、Saillenfait ら（1998◎）は、Ema らの試験と系統の異なる SD ラット（雌、各群 27 匹）を用い、妊娠 14 日に DBP（0（ミネラル油）、500、1,000、1,500、2,000 mg/kg 体重）を強制経口単回投与し、妊娠 21 日に帝王切開して胎児を観察した。その結果、対照群と比較し、1,500 mg/kg 体重以上の投与群で母動物の体重増加抑制（妊娠 14～21 日及び 0～21 日）、生存胎児体重の減少並びに胚吸収の増加がみられた（いずれも $p<0.05$）。催奇形性については、1,000 mg/kg 体重以上の投与群で骨格変異（過剰第 14 肋骨）を持つ胎児が増加し、1,500 mg/kg 体重以上では何らかの骨格変異を持つ胎児が増加した（いずれも $p<0.05$）。2,000 mg/kg 体重投与群では骨格奇形（胸骨分節癒合）頻度が増加し、骨格変異胎児（胸骨分節の不完全骨化、第 11、12 及び/又は 13 肋骨の短縮）を持つ腹数も増加した（いずれも $p<0.05$）。Saillenfait らは胚毒性又は催奇形性の示されない用量を 500 mg/kg 体重としている。なお、~~予備試験では、~~DBP 2,000 又は 3,000 mg/kg 体重を妊娠 13 日、14 日又は 15 日に強制経口単回投与した予備試験では、~~。~~妊娠 14 日の投与における着床後死亡率が最も高く、一方、3,000 mg/kg 体重投与群では、いずれの投与日にも、低頻度ながら口蓋裂が~~み~~認められた。

本専門調査会としては、Ema ら（1994、1995a）及び Saillenfait ら（1998）の試験は催奇形性に関するメカニズム解明のために有益な情報を与えるが、催奇形性を評価するには投与期間が通常（妊娠 6 日～15 日）より短く、また、比較的高用量であることから TDI の設定の根拠として用いることは適切ではない~~に利用できないと~~判断した。

⑥ 発生毒性試験（ラット）

F344/N ラット（雌、対照群 30 匹、各投与群 18～19 匹）の妊娠及び哺育期間（妊娠 0 日～）に DBP（0、1,250、2,500、5,000、7,500、10,000、20,000 ppm、NTP 推定[19]：0、92、184、368、551、736、1,472 mg/kg 体重/日）を混餌投与し、児動物（雌雄、各群 10 匹、20,000 ppm を除く）には離乳時（生後 28 日）から 4 週間にわたって母動物と同用量の混餌投与を継続した（雄 0、143、284、579、879、1,165 mg/kg 体重/日、雌 0、133、275、500、836、1,104 mg/kg 体重/日）。発生影響等のまとめを表 III-3 に示す。

事務局：発生影響等の詳細は本文中の記載から削除し、表に記載しました。

その結果、母動物については、5,000～10,000 ppm 投与群で出産率~~が対照群の93%に対し5,000及び20,000 ppm投与群でそれぞれ68%及び21%に~~低下~~し~~、~~5,000 ppm 投与群では~~妊娠期間~~~~が~~の~~わずか~~に~~な~~短縮~~した（いずれもp≦0.05）~~、哺育又は妊娠期間における~~。10,000 ppm投与群では妊娠18日及び出産後0日（児動物の生後0日）の体重が高値を示したが、哺育0日～28日の~~体重増加~~に~~の~~抑制が認められた~~（いずれもp≦0.05）~~。~~20,000 ppm投与群では妊娠18日の体重が低値を示し、妊娠0～18日の体重増加抑制が認められた（いずれもp≦0.01）。~~児動物~~で~~について~~は、~~、~~10,000 ppm 投与群で~~は、~~生後 1 日及び 4 日における~~一腹単位の~~生存率が減少し~~た（p≦0.01）。~~た。20,000 ppm 投与群で~~は~~は、一腹単位の~~総産児数及び生産児率が減少し~~（p≦0.01）~~、生産児はすべて生後 1 日までに死亡した。離乳前の出生児の体重は 2,500 ppm 投与群では生後 21 日から、5,000 ppm 投与群では生後 1 日から、7,500 ppm 以上の投与群では生後 0 日から離乳まで有意な低値を示した。離乳後の体重は、雄の 5,000 ppm 以上の投与群で持続的な低値（離乳後 1、4 週及び剖検時）を示し、雌の 7,500 ppm 以上の投与群で一時的な低値（離乳後 1 週のみ）を示した~~（いずれもp≦0.05）~~。試験終了時の児動物の剖検~~において~~では、~~雄では全投与群で肝臓及び腎臓の相対重量が増加し、5,000 ppm以上の投与群で肝臓の絶対重量が増加した（いずれもp≦0.05）。雌は2,500 ppm以上の投与群で肝臓の絶対及び相対重量が増加し、5,000 ppm以上の投与群で腎臓の相対重量が増加した（いずれもp≦0.05）。また、5,000 ppm 以上の投与群で精巣の絶対重量が減少し、10,000 ppm投与群で相対重量も減少した（いずれもp≦0.01）。~~肝臓又は腎臓の重量増加及び精巣の重量減少がみられ、~~病理組織検査において、~~肝臓及び腎臓に組織変化は認められなかったが、精巣上体では 5,000 ppm 以上の投与群~~に~~の4/10例に軽微な精子減少症、7,500及び10,000 ppm投与群の全例に中程度以上の~~精子減少症が認められた。（Marsman 1995◎）。

[19] NTP-CERHR（2003）は、二つの NTP 試験（Tyl et al. 1988、Price et al. 1986）におけるラットの飼料摂取率及び体重の平均値、すなわち 14.8 g/日及び 203.71 g から、体重当たりの DBP 摂取量（mg/kg 体重/日）を推定した。

NTP-CERHR（2003）は、出産率の低下及び妊娠期間の短縮に基づき、母動物毒性の NOAEL を 184 mg/kg 体重/日（2,500 ppm）としたが、全投与群の雄児動物における肝臓及び腎臓の相対重量の増加に基づくと、発生毒性の NOAEL は設定できないとした。

本専門調査会としては、雌児動物の肝臓の絶対及び相対重量の増加が飼料中 2,500 ppm 以上の投与群にみられたことから、本試験の NOAEL は飼料中 1,250 ppm と判断した。また、より高用量（飼料中 5,000 ppm～）で出産率の低下、児動物生存率の低下、母動物の妊娠期間中の体重増加抑制並びに出生児の低体重といった母動物毒性及び発生毒性がみられている。なお、最低用量で雄児動物の肝臓及び腎臓の相対重量変化がみられたが、絶対重量に変化がなく、病理組織学検査~~は~~が実施されていないため、毒性影響と判断するのは困難であった。

表 III-3　発生影響等のまとめ　（Marsman 1995）

母動物 用量＜濃度＞	妊娠 0 日～出産後 28 日（児動物の離乳：生後 28 日）にみられた影響	
	母動物	児動物
1,472 ＜20,000＞	↓妊娠 0 日～18 日の体重増加 ↓妊娠 18 日体重 ↓出産率（21%：対照 93%）	↓~~一腹あたりの~~総産児数（腹単位） ↓生産児率（腹単位） ↓生後 0 日体重(生産児はすべて生後 1 日までに死亡)
736 ＜10,000＞	↑妊娠 18 日・出産後 1 日 ↓哺育 0 日～28 日の体重増加	↓生後 0 日～28 日体重 ↓生後 1 日・4 日の児動物生存率（腹単位）
551＜7,500＞		↓生後 0 日～28 日体重
368＜5,000＞	↓妊娠期間 ↑妊娠 18 日・出産後 0 日体重 ↓出産率（68%：対照 93%） ↓哺育 0 日～28 日体重増加	↓生後 1 日～28 日の体重
184＜2,500＞		↓生後 21 日～28 日の体重
92＜1,250＞		

児動物 用量＜濃度＞	生後 28 日（離乳）～8 週齢（剖検）にみられた影響	
	雄児	雌児
雄 1,165/ 雌 1,104 ＜10,000＞	↓体重（持続的*）、 ↓4～8 週齢の体重増加 ↑肝臓絶対・相対重量、 ↑腎臓相対重量 ↓精巣絶対・相対重量 ・精巣上体の中程度以上の精子減少症（10/10 匹）	↓体重（一時的**） ↑肝臓絶対・相対重量 ↑腎臓相対重量
雄 879/雌 836 ＜7,500＞	↓体重（持続的*）、 ↓4～8 週齢の体重増加 ↑肝臓絶対・相対重量 、↑腎臓相対重 ↓精巣絶対重量 ・精巣上体の中程度以上の精子減少症（10/10 匹）	↓体重（一時的**） ↑肝臓絶対・相対重量 ↑腎臓相対重量
雄 579/雌 500 ＜5,000＞	↓体重（持続的*） ↑肝臓絶対・相対重量、 ↑腎臓相対重量 ・精巣上体の軽微な精子減少症（4/10 匹）	↑4～8 週齢の体重増加 ↑肝臓絶対・相対重量 ↑腎臓絶対・相対重量

雄 284/雌 275 ＜2,500＞	↑肝臓相対重量、 ↑腎臓相対重量	↑肝臓絶対・相対重量
雄 143/雌 133 ＜1,250＞	↑肝臓相対重量、 ↑腎臓相対重量	↑4～8 週齢の体重増加

濃度：飼料中 DBP 濃度(ppm)、用量：mg/kg 体重/日、↑/↓：対照群に比べ増加・上昇/減少・低下（p＜0.05）、*：離乳後 1 週、4 週及び剖検時の体重測定時、**：離乳後 1 週の測定時のみ

（Table 3,4,5 を加工し、本文中の記載を追加）

⑦ 生殖・発生毒性試験（ラット）

Mylchreest ら（1998、1999、2000）は、SD ラットの妊娠から哺育期、または妊娠後期に DBP（コーン油に溶解）を強制経口投与し、出生児の性成熟を含む生殖発生影響のエンドポイントを観察した一連の試験を行っている。

1998 年に報告された試験では、CD（SD）ラット（雌、各群 7～10 匹）の妊娠 3 日～出産後 20 日（出産後 1 日～2 日を除く）に DBP（0、250、500、750 mg/kg 体重/日）を強制経口投与し、児動物の剖検が 100～105 日齢で行われた。

その結果、対照群と比較して、500 mg/kg 体重/日以上の投与群で、母動物の子宮絶対重量が減少し（p＜0.05、750 mg/kg 体重/日投与群では有意差なし）、750 mg/kg 体重/日投与群では腹単位の出生児数が減少した（p＜0.05）。雄児動物については、500 mg/kg 体重/日以上の投与群で AGD（生後 1 日）が短縮した（p＜0.05）。剖検では、500 mg/kg 体重/日以上の投与群で精巣及び精嚢の絶対重量が、750 mg/kg 体重/日投与群で前立腺及び精巣上体の絶対重量が減少した（p＜0.05）。また、対照群（34 匹）にはみられない雄性生殖器系の奇形又は異常が投与群に生じ、250、500 及び 750 mg/kg 体重/日投与群では、それぞれ児動物の 3/32、17/34 及び 10/14 匹（9、50 及び 71%）が精巣上体の欠損又は発育不全を有しており、精巣萎縮と広範囲（50～100%）の精細管に中程度以上の変性及び萎縮に伴う生殖細胞の損失がみられた。また、250、500 及び 750 mg/kg 体重/日投与群では、尿道下裂が 1/32、7/34 及び 6/14 匹（3、21 及び 43%）に、異所性精巣又は精巣欠損が 1/32, 2/34 及び 4/14 匹（3、6 及び 29%）に、精嚢欠損が 0/32、2/34 及び 7/14 匹（0、6 及び 50%）に認められた（いずれも p 値の記載なし）。雌児動物では、膣開口及び性周期に投与の影響はみられなかったが、剖検において 500 mg/kg 体重/日投与群の 1 例に子宮、膣及び右腎臓の欠損が認められ、500 及び 750 mg/kg 体重/日投与群の各 1 例に短い子宮角（片側性）が認められた（Mylchreest et al. 1998◎）。

NTP-CERHR（2003）は、全投与群における雄の生殖器系の構造及び性成熟指標に対する有害影響に基づき、LOAEL を 250 mg/kg 体重/日と設定している。NICNAS（2008）も本試験に NOAEL を設定できず、精細管萎縮及び尿道下裂、精巣上体の発達不全/欠損に基づき生殖影響（F_1）及び発生影響の LOAEL を 250 mg/kg 体重/日とした。

本専門調査会としては、雄児動物に精細管萎縮及び尿道下裂、精巣上体の発達不全/欠損がみられたことから、雄の生殖発生毒性に基づき本試験の LOAEL を 250 mg/kg 体重/日とし、NOAEL は設定できないと判断した。

1999 年に妊娠期間の後半に DBP を投与した試験が報告された。CD（SD）ラット（雌、各群 10 匹）の妊娠 12～21 日に DBP（0、100、250、500 mg/kg 体重/日）を強制経口投与し、出生児の剖検が、雄は 100～105 日齢、雌は 25～30 日齢で行われた。

その結果、雄児動物については、対照群と比較し、全投与群において包皮分離の遅延が観察された（p＜0.05、ただし 250 mg/kg 体重/日投与群のみ有意差なし）。250 及び 500 mg/kg 体重/日投与群では、AGD の短縮（いずれも p＜0.05）並びに胸部の乳頭遺残（生後 14 日、対照群 0/57）が 35/62 及び 47/54 匹（56 及び 87%、p 値記載なし）にみられた。剖検では、250 及び 500 mg/kg 体重/日投与群に、精巣上体の形成不全・欠損が 6/62 及び 26/52 匹（10 及び 50%）に、輸精管の欠損が 1/62 及び 14/52 匹（2 及び 27%）に、停留精巣が 1/62 及び 5/52 匹（2 及び 10%）にみられた。さらに 500 mg/kg 体重/日投与群では、精巣、精巣上体及び精嚢の絶対重量が減少し（p＜0.05）、尿道下裂（21/52 匹、40%）及び前立腺の形成不全（3/52 匹、6%）が認められた（いずれも p 値記載なし）。精巣の病理組織検査では、500 mg/kg 体重/日投与群に精細管上皮変性及び精巣の間質細胞過形成が認められ、さらに精巣の間質細胞腺腫が同腹の 2 匹に認められた。なお、乳頭遺残と雄の生殖器系の奇形は対照群及び 100 mg/kg 体重/日投与群ではみられなかった。また、雌児動物の剖検では、子宮、卵巣及び膣が調べられたが、1998 年の報告と異なり投与による異常は認められなかった。Mylchreest らは、包皮分離の遅延に基づいて、DBP の LOAEL を 100 mg/kg 体重/日とし、NOAEL は確立できなかったとしている（Mylchreest et al. 1999◎）。

NICNAS（2008）、NTP（2004）も著者らと同じ所見に基づき、同様に、発生毒性の NOAEL は確立できなかったとしている。

本専門調査会としては、雄児動物に包皮分離の遅延がみられたことから、雄の生殖発生毒性に基づき、本試験の LOAEL を 100 mg/kg 体重/日とし、NOAEL は設定できないと判断した。

2000 年の続報では、NOAEL を確立するために 1999 年の報告よりも低用量で実施された試験が報告された。CD（SD）ラット（雌、各群 19～20 匹（最高用量投与群のみ 11 匹））の妊娠 12 日～21 日に、DBP（0、0.5、5、50、100、500 mg/kg 体重/日）を強制経口投与し、出生児は性成熟に達した時期（雄：生後 110±10 日、

雌：生後 80±5 日）に剖検された。雄児動物の生殖発生等へ~~へ~~の影響のまとめを表 III-4 に示す。

事務局：生殖発生影響等の詳細は本文中の記載から削除し、表に記載しました。

~~その結果、~~雄児では、~~動物において~~500 mg/kg 体重/日投与群で AGD~~（生後 1 日）~~が~~統計学的に有意に~~短縮し、100 ~~及び 500~~ mg/kg 体重/日以上の投与群で乳輪又は乳頭を有する雄児動物~~（生後 14 日）~~が~~対照群の 9/134 匹（7%）・5/19 腹に対してそれぞれ 44/141 匹（31%）・16/20 腹及び 52/58 匹（90%）・11/11 腹に~~増加した~~（動物及び腹あたり、いずれも p＜0.05）~~。また、外部生殖器が正常な場合、雄児では~~いずれの投与群でも包皮分離の遅延は観察されなかった。剖検時の検査では~~における雄性生殖器の奇形の検査では、~~500 mg/kg 体重/日投与群でのみ雄性生殖器に奇形がみられた~~、尿道下裂（5/58 匹・4/11 腹）、小型の腹腔内停留精巣（4/58 匹・3/11 腹）の他、精巣上体（23/58 匹・9/11 腹）、輸精管（16/58 匹・9/11 腹）、精嚢（4/58 匹・4/11 腹）及び前立腺（1/58 匹・1/11 腹）の欠損又は形成不全がみられた（いずれも p 値記載なし）。また、この 500 mg/kg 体重/日投与群でのみ、精巣（肥大精巣を除いて統計処理）、精巣上体、前立腺及び球海綿体筋-肛門挙筋（LABC）の絶対重量が減少した（腹単位、p＜0.05）。精巣の病理組織学検査では、重篤な精細管変性が対照群の 0/134 匹（0/19 腹）に対し、100 及び 500 mg/kg 体重/日投与群で 1/140 匹（1/20 腹）及び 25/58 匹（9/11 腹）にみられた（いずれも p 値記載なし）。また、500 mg/kg 体重/日投与群では精巣間質細胞の過形成（14/58 匹、5/11 腹）及び腺腫（1/58 匹）も認められた（いずれも p 値記載なし。）。しかし、~~一方、雌児動物~~においては、膣開口日齢、卵巣及び子宮重量及び生殖器官の肉眼的所見に投与の影響はみられなかった。また、雌児、雄児とも剖検時体重、肝臓、腎臓、甲状腺の絶対重量に投与の影響はみられなかった。

Mylchreest らは、乳頭の発達は可逆的変化の可能性があるが、臨界期におけるアンドロゲンの変化を反映する指標と考えられるとし、雄児動物で観察された乳輪又は乳頭遺残に基づき、発生毒性の LOAEL を 100 mg/kg 体重/日、NOAEL を 50 mg/kg 体重/日と報告している。なお、SD ラットは低頻度で重篤な精巣障害が自然発生するため、100 mg/kg 体重/日投与群でみられた重篤な精細管変性 1 例はおそらく投与によらないとしている（Mylchreest et al. 2000◎）。

NTP-CERHR（2003）は発生毒性として、EFSA（2005）及び ECHA（2012b）は雄の生殖発生影響として、雄児動物の乳頭遺残に基づき LOAEL を 100 mg/kg 体重/日、NOAEL を 50 mg/kg 体重/日とした。NICNAS（2008）も発生毒性について、同じ NOAEL、LOAEL 値を設定しているが、エンドポイントは乳頭遺残の増加及び精細管萎縮の増加である。

本専門調査会としては、雄児動物に乳輪又は乳頭遺残がみられたことから、雄の生殖発生毒性に基づき、本試験の LOAEL を 100 mg/kg 体重/日、NOAEL を 50 mg/kg 体重/日と判断した。

表 III-4　雄児動物への生殖発生等への影響のまとめ（Mylcreest et al. 2000）

用量（mg/kg 体重/日）		0	0.5	5	50	100	500
雄児（～離乳時）[a,b]							
AGD (生後 1 日)*		100%					↓88%
胸部乳輪/乳頭を有する動物(腹)数/母数（生後 14 日）		9/134 (5/19)**	8/119 (5/20)	13/103 (8/19)	12/102 (10/20)	↑44/144 ↑(16/20)	↑52/58 ↑(11/11)
雄児の剖検（生後 110 日）[a]							
腹数		(20)**	(20)	(19)	(20)	(20)	(11)
絶対重量(g)*	右精巣	1.840					1.701[c]
	右精巣上体	0.644					↓0.644
	前立腺背側葉	0.695					↓0.695
	球海綿体筋-肛門挙筋	1.226					↓0.226
精巣組織病理学検査数[d]		134(19)**	118(20)	103(19)	120(20)	140(20)	58(11)
精上皮変性	グレード 0	129(19)	111(20)	100(19)	117(20)	133(20)	27(8)
	グレード 1 (minimal)	5(4)	6(5)	3(3)	3(3)	5(1)	4(3)
	グレード 2(mild)		1(1)			1(1)	2(2)
	グレード 3(moderate)						
	グレード 4(severe)					1(1)	25(9)
間質細胞過形成							14(1)
間質細胞線種							1(1)
生殖器奇形 a 検査数		~~記載なし~~	~~記載なし~~	記載なし	~~記載なし~~	~~記載なし~~	58(11)
尿道下裂		記載なし					5(4)
小型の腹腔内停留精巣							4(3)
精巣上体欠損又は形成不全							23(9)
輸精管欠損又は形成不全							16(9)
精嚢形成不全							4(4)
前立腺の欠損							1(1)

↑(1：対照群に比べ増加・上昇/減少・低下（p＜0.05）、（　）内：腹数、*：腹単位で統計処理、**：雌児のみ 4 匹の腹が 1 例あり

a：器官重量値等は平均値のみ記載した（標準誤差は記載せず）。また、対照群は表中のすべてに記載したが、投与群は有意な変化のあった値等のみ記載した。病理所見、生殖器奇形について、例数 0 の場合は数字を記載しなかった。

b：出生日を生後 1 日とする。雄児動物の体重は、対照群と比べ、生後 1 日では投与群に有意な変化はなく、生後 14 日では 5 mg/kg 体重/日投与群で増加した（p＜0.05）が、離乳後では投与群に有意な変化はみられなかった。

c：0.5、100、及び 500 mg/kg 体重/日投与群にそれぞれ 1、2 及び 8 例みられた肥大精巣（2.7～3.9 g）を除いて統計処理した場合、↓1.589 g（p<0.003）

d：2 横断面の精細管上皮の変性が調べられた。部分的または完全な変性のみられた精細管のおよその割合（%）により、精上皮変性は次のようにグレード付けられた；50%超：グレード 4、21～50%：グレード 3、6～20%：グレード 2、5%以下＞0%：グレード 1、変性した精細管なし：グレード 0

（Table1、2、3 を加工し、Fig1、2、5 の記載を追加）

⑧ 生殖・発生毒性試験（ラット）

CD（SD）IGS ラット（雌、各群 6～8 匹）に、妊娠 15 日~~から児動物が~~～出産~~生~~後 21 日に~~なるまで~~DBP（0、20、200、2,000、10,000 ppm：実測投与量 0、1.5～3、14～29、148～291、712～1,372 mg/kg 体重/日）を混餌投与した試験が実施された。出生児~~（F1）~~は生後 21 日、生後 11 週及び~~生後~~20 週に剖検（雌雄各群 8～10 匹/時点、~~少なくとも~~1 匹/腹以上）し~~た。~~、~~児動物の~~病理組織学検査では~~、~~所見の観察された児動物数（発生頻度）及び重篤度が評価された。母動物及び児動物の体重・臓器重量にみられた統計学的に有意な変化（p＜0.05）等を表 III-5 に~~また雄の 10,000 ppm 投与群は動物数が不足したため剖検は実施されなかった。~~、児動物の病理組織学検査において有意な発生頻度の増加がみられた病理所見等を表 III-6 に示す。

事務局：生殖・発生影響等の表に記載したものは、本文中の記載から削除しました。

その結果、母動物では、対照群と比較して~~その結果、対照群と比較し、~~20 及び 10,000 ppm 投与群で妊娠 15 日～20 日の~~母動物の~~体重増加~~が~~に~~に~~わずか~~に~~な抑制~~されたが~~みられた。児動物では、~~（いずれも p＜0.05）。児動物については、2,000 ppm 以上の投与群で出生児に占める雄の割合が減少した（いずれも p＜0.05）。~~雄の~~20 ppm 投与群では雌雄とも生後 2 日に体重が高値を示した（腹単位、p＜0.05）。~~10,000 ppm 投与群で、~~は雄に~~AGD の短縮（生後 2 日）~~及び~~及び乳頭/乳輪の保持の増加（生後 14 日）が見られ~~がみられた（腹単位、いずれも p＜0.01）。剖検において~~、生後 21 日~~で~~にのみ~~は 10,000 ppm 投与群で~~精巣の~~絶対及び相対重量が減少~~、生後 11 週にのみ前立腺重量の絶対・相対重量の減少が認められた~~し、~~。~~雄の脳及び雌雄の肝臓の相対重量がそれぞれ増加した（いずれも p＜0.05）。~~

成獣では下垂体重量に変化がみられ、~~、~~雄雄では~~、~~生後 11 週~~のの~~ ~~10,000 ppm 投与群に変化はみられなかったが、~~20 ppm 以上の投与群（10,000 ppm 投与群を除く）~~で~~に用量依存的な~~相対重量の増加がみられ、200 ppm 以上の投与群では絶対~~重量~~も~~増加~~したがみられ~~（いずれも p＜0.05）。~~、生後 20 週~~では~~の全投与群に、~~、~~統計学的に有意ではないが、~~が、~~重量の~~投与群に~~微増傾向がみられた。これに反して、雌では生後 11 週の 10,000 ppm 投与群で絶対･相対重量が減少し、生後 20 週では 200 ppm 以上の投与群で相対重量が減少し、10,000 ppm 投与群で絶対重量の減少に至った。

~~（いずれも p＜0.05）（Lee et al. 2004）。~~

児動物の病理組織学的検査では、生後 21 日の 10,000 ppm 投与群で、雌雄とも好酸性の細胞質変化を伴う肝細胞肥大を観察した。また、下垂体重量に変化がみられたが、生後 11 週の雌児の 10,000 ppm 投与群で委縮がみられた以外に下垂体に病変は見られなかった。

雄性生殖器官~~雄の生殖器~~については、生後 21 日では~~、~~精巣の精細管に精母細胞の少ない、精細胞形成の低下がみられる動物~~の頻度及び重篤度~~が 20 ppm 以上の投与群で用量依存的に増加した~~（p＜0.05、ただし重篤度は 2,000 ppm 以上の投与群で有意）~~。散在性のライディッヒ細胞凝集巣~~が~~は全投与群でみられたが、2,000 ppm 以上の投与群では~~において~~全動物に認められ~~て~~、統計学的に有意な発生増加~~で~~に至った。また、この 2,000 ppm 以上の投与群ではコイリングの減少を示唆する精巣上体管横断面の減少した動物の頻度及び重篤度が増加した~~（いずれも p＜0.05）~~。生後 11 週の成獣では、200 ppm 以上の投与群で種々の程度の精細胞脱落がみられ、2,000 ppm 以上の投与群において統計学的に有意な発生増加をみるに至った~~（p＜0.05）~~。限局した病変ではセルトリ細胞の空胞化を伴い、全精子を喪失するような例ではセルトリ細胞遺残が観察された。この病変では、精細胞脱落に付随して、巨細胞がしばしば出現した。欠損程度には個体差や精細管による差がみられた。さらに 10,000 ppm 投与群の重症例では、ライディッヒ細胞過形成並びに精巣上体管内細胞残渣（4 例）及び精巣上体低形成（2 例）を認めた。

また、乳腺において雌雄に組織変性が認められている。~~は、~~生後 21 日では、雄の全投与群で、統計学的に有意ではないが、腺房乳芽~~（alveolar buds）~~の拡張又は乳管の拡張した動物が各群 1～3 匹にみられ~~た。~~、雌では~~、~~全投与群で腺房乳芽の低形成がみられた（200 ppm 投与群を除き統計学的に有意）。生後 11 週では、雄の全投与群で腺房細胞の空胞変性及び腺房萎縮が認められる動物の頻度及び重篤度が有意に増加したが（~~いずれも p＜0.05、~~200 ppm 投与群の腺房萎縮を除く）~~。~~、投与群間で頻度及び重篤度は同程度であり、空胞変性は投与動物のほとんどにみられた。~~腺房乳芽~~また、~~のサイズ（面積）測定を行わったところ、~~全投与群~~で~~に腺房乳芽面積の減少が認められた~~（p＜0.05）~~。生後 20 週では、雄の全投与群に腺房細胞の空胞変性又は腺房萎縮が認められる動物が存在し、腺房細胞の空胞変性は 200 ppm 投与群で、腺房萎縮は 200 及び 2,000 ppm 投与群で発生頻度及び重篤度が有意となった~~（いずれも p＜0.05）~~。

一方、雌では、生後 11 週の 10,000 ppm 投与群で下垂体の萎縮した動物~~の発生頻度~~が増加したが~~（p＜0.05）。~~、生後 20 週では内分泌に関連する器官に投与による病~~理組織学的な~~変~~化~~はみられなかった~~（Lee et al. 2004。）。有意な発生頻度の増加（p<0.05）がみられた病理所見等及びその経時変化を表 III-6 に示す。~~

著者らは、発生期の DBP 暴露は雌に対して下垂体機能を含んだ性成熟に影響を及ぼし、一方、~~雄に対して~~精巣毒性はほぼ可逆的であったが、雄への乳腺毒性は 20 ppm でも持続したとし、本試験の LOAEL を母動物の飼料中 20 ppm（1.5～3.0 mg/kg 体重/日）と報告している（Lee et al. 2004◎）。

EFSA（2005）及び ECHA（2012b）は最低用量からみられた、雄児における生後 21 日の精母細胞の形成低下及び生後 11 週の乳腺の組織変化（空胞変性又は腺房

萎縮）に基づき、F1 の雄の生殖発生毒性の LOAEL を 2 mg/kg 体重/日（飼料中 20 mg/kg、1.5～3.0 mg/kg 体重/日相当）とした。なお、EFSA は雌雄の生後 21 日の乳腺の変化にも言及している。一方、NICNAS（2013）は、乳腺腺房細胞の空胞変性の増加の雄の生殖能に対する意義は不明とし、雄児動物の生後 21 日における重篤な精母細胞発達の減少、散在性ライディッヒ細胞凝集巣及び精巣上体管横断面の減少の発生頻度の増加に基づき、雄の生殖能への影響及び発生毒性の LOAEL を 148 mg/kg 体重/日、NOAEL を 14 mg/kg 体重/日とし、生後 21 日では最低用量（1.5 mg/kg 体重/日）から軽微だが統計学的に有意な影響がみられ、LOAEL での重篤な影響は生後 20 週には可逆性がみられると付記し、~~不確実だが~~より低い LOAEL/NOAEL の可能性を示している。また、生後 20 週の雌児にみられた下垂体相対重量の減少に基づき雌の生殖発生影響の LOAEL を 29 mg/kg 体重/日、NOAEL を 3 mg/kg 体重/日としている（NICNAS 2013）

本専門調査会としては、~~雄児において~~生後 21 日~~の~~に精母細胞の形成低下がみられた動物が、最低用量から用量依存的に~~みられ~~増加したこと、又、投与群間で発生頻度の差はないが、~~、又、~~生後 21 日の雌児及び生後 11 週の雄児において、乳腺に組織~~生後 11 週の乳腺組織の~~変化がみられた~~（空胞変性又は腺房萎縮）~~動物が最低用量から増加~~が最低用量からみられ~~したことから、本試験の LOAEL を~~雄の~~生殖・発生への影響に基づき、~~飼料中 20 ppm、~~1.5～3.0 mg/kg 体重/日（母動物の飼料中濃度として 20 ppm）~~相当~~と評価し、NOAEL は設定できないと判断した。

本試験では、成獣における下垂体重量が、雄で増加傾向を示し、雌ではこれに反して減少傾向を示したこと、また、最低用量でみられた精巣及び前立腺への影響が生後 20 週では回復していること、一方、生後 11 週でみられた雄乳腺への器質的変化は、生後 20 週では 200 及び 2,000 ppm 投与群で持続していることを総合的に判断すると、雄と雌で相反する視床下部-下垂体-精巣軸の内分泌への影響が考えられた。なお、雄の~~精巣への影響はほぼ可逆的であったが、~~乳腺~~への影響~~の組織変性の毒性学的意義は明確ではないが、~~は~~精巣影響と入れ替わるように、~~生後 11 週では、~~最低用量投与群から動物のほとんどに~~みられ~~認められ、生後 20 週においても ~~200 ppm 以上の投与群で~~持続していることに留意~~すべきと考え~~した。

表 III-5　体重・臓器重量変化、その他の影響等のまとめ（Lee et al. 2004）

母	濃度 (ppm)	体重、その他の影響 妊娠 15 日~出産後 21 日	用量（平均 DBP 実測摂取量：mg/kg 体重/日） 妊娠 15 日～20 日	出産後 2 日～10 日	出産後 10 日～21 日
	10,000	↓体重増加*	712.30	1108.5	1371.8
	2,000		148.2	223.6	290.9
	200		14.4	22.7	28.5
	20	↓体重増加*	1.5	2.4	3.0

児	濃度	体重、その他の影響	臓器重量変化 [a]		
	(ppm)	生後 0 日～21 日	生後 21 日	生後 11 週	生後 20 週
雄	10,000	↓雄出生児比 ↓AGD** ↑乳輪/乳頭保持***	↑肝臓相対重量 ↑脳相対重量 ↓精巣絶対・相対重量	↓腎臓相対重量	(動物数不足のため実施せず)
	2,000	↓雄出生児比		↑下垂体絶対・相対重量	
	200			↑下垂体絶対・相対重量 ↑腹側前立腺絶対・相対重量	
	20	↑体重**	↓精巣絶対重量	↑下垂体相対重量	
雌	10,000		↑肝臓相対重量	↓下垂体絶対・相対重量	↓下垂体絶対・相対重量
	2,000				↑腎臓絶対重量 ↓下垂体相対重量
	200				↑腎臓絶対重量 ↓下垂体相対重量 ↑副腎絶対重量
	20	↑体重**			

濃度：飼料中 DBP 濃度、↑/↓：対照群に比べ増加・上昇/減少・低下（p＜0.05）、~~対照群と比較し、~~有意な変化があった影響のみ記載、*妊娠 15 日から 20 日、**生後 2 日、腹単位で統計処理***、生後 14 日

a: 絶対重量について、変化の有無は記載されているが、データの記載はない。

(table 1 及び 3 を加工し、本文中の記載を追加)

表 III-6　有意な増加がみられた病理所見等と経時変化（Lee et al. 2004）

児	濃度	病理所見（動物数/母数）[a]		
	(ppm)	生後 21 日	生後 11 週	生後 20 週
雄児	10,000	精母細胞形成低下(8/8)+ ﾗｲﾃﾞｨｯﾋ細胞凝集巣(8/8) 精巣上体管横断面減少(7/8)+ 肝細胞過形成(8/8) +	精細管の生殖細胞発生欠損(9/10)+ 腹側前立腺表面上皮扁平化(9/10)+	(動物数不足のため実施せず)
	2,000	精母細胞形成低下(8/8)+ ﾗｲﾃﾞｨｯﾋ細胞凝集巣(8/8) 精巣上体管横断面減少(5/8)+ 肝細胞過形成(0/8)	精細管の生殖細胞発生欠損(4/8) 腹側前立腺表面上皮扁平化(3/8)	
	200	精母細胞形成低下(4/8) ﾗｲﾃﾞｨｯﾋ細胞凝集巣(1/8) 精巣上体管横断面減少(0/8) 肝細胞過形成(0/8)	精細管の生殖細胞発生欠損(1/8) 腹側前立腺表面上皮扁平化(3/8)	
	20	精母細胞形成低下(4/8) ﾗｲﾃﾞｨｯﾋ細胞凝集巣(0/8) 精巣上体管横断面減少(0/8) 肝細胞過形成(0/8)	精細管の生殖細胞発生欠損(0/8) 腹側前立腺表面上皮扁平化(6/8)	
	0	精母細胞形成低下(0/8) ﾗｲﾃﾞｨｯﾋ細胞凝集巣(0/8) 精巣上体管横断面減少(0/8) 肝細胞過形成(0/8)	精細管の生殖細胞発生欠損(0/8) 腹側前立腺表面上皮扁平化(2/8)	
(乳腺)	10,000		腺房細胞の空胞変性(9/10)+ 腺房萎縮(5/10)+、↓腺房乳芽ｻｲｽﾞ [b]	(動物数不足のため実施せず)~~腺房細胞の空胞変性(6/10)~~

				~~腺房萎縮(8/10)+~~
	2,000		腺房細胞の空胞変性(8/8)+ 腺房萎縮(6/8)+、↓腺房乳芽ｻｲｽﾞ b	腺房細胞の空胞変性(6/10) 腺房萎縮(8/10)+
	200		腺房細胞の空胞変性(6/8)+ 腺房萎縮(2/8) 、↓腺房乳芽ｻｲｽﾞ b	腺房細胞の空胞変性(6/8)+ 腺房萎縮(8/8)+
	20		腺房細胞の空胞変性(8/8)+ 腺房萎縮(6/8)+、↓腺房乳芽ｻｲｽﾞ b	腺房細胞の空胞変性(5/10) 腺房萎縮(5/10)
	0		腺房細胞の空胞変性(1/8) 腺房萎縮(0/8)	腺房細胞の空胞変性(2/10) 腺房萎縮(1/10)
雌児	10,000	腺房乳芽の形成不全(4/8) 肝細胞過形成(8/8) +	小型下垂体(6/8)	
	2,000	腺房乳芽の形成不全(4/8) 肝細胞過形成(0/8)	小型下垂体(0/8)	
	200	腺房乳芽の形成不全(3/8) 肝細胞過形成(0/8)	小型下垂体(0/8)	
	20	腺房乳芽の形成不全(4/8) 肝細胞過形成(0/8)	小型下垂体(0/8)	
	0	腺房乳芽の形成不全(0/8) 肝細胞過形成(0/8)	小型下垂体(0/8)	

濃度：飼料中 DBP 濃度、↑/↓、：対照群に比べ増加・上昇/減少・低下（p＜0.05）、下線：有意に発生頻度（動物数）が増加した所見（p＜0.05）、＋：対照群に比べ有意に重篤度増加（p＜0.05）、組織病理学的変化は、minimal、slight、moderate、sever の 4 段階で評価された。
a：有意な増加がある所見ではその時点のすべての群には記載した。
b：腺房乳芽サイズは生後 11 週の雄児動物のみ測定

（Table 4 を加工）

⑨ 生殖・発生毒性試験（ラット）

SD ラット（雌、各群 20 匹）に、妊娠 1 日～出産後 21 日に DBP（0（コーン油、Tween 80）、50、250、500 mg/kg 体重/日）を強制経口投与し、児動物を生後 4 日に雌雄各 4 匹/腹に調整した各群 16 腹（最高用量群のみ 14 腹）を対象に児動物の発生及び成長した雄児の生殖系が調べられた。

母動物の体重に投与の影響はみられなかったが、対照群と比較して 500 mg/kg 体重/日投与群で出生児数が減少し、250 mg/kg 体重/日以上の投与群で出生児体重（生後 1 日）が雌雄とも低値を示した（いずれも腹単位、p＜0.01）。また、雄児動物（生後 4 日）の AGD 及び体重で除した AGD が短縮した（p＜0.05）。精巣の病理組織学的解析では、250 mg/kg 体重/日以上の投与群での用量依存的に増悪する精細胞形成不全が観察されている。

生後 70 日となった雄児動物（各群 20 匹）の剖検では、250 mg/kg 体重/日以上の投与群で精巣上体の絶対重量が減少した（500 mg/kg 体重/日投与群では相対重量の減少も有意）（いずれも p＜0.05）。さらに 500 mg/kg 体重/日投与群では精巣萎縮又は精巣上体の発育不全（欠損 1 例を含む）がそれぞれ 6 匹に生じた。また、250 mg/kg 体重/日以上の投与群では精巣上体の精子運動率の低下及び精巣の精細胞数の減少、500 mg/kg 体重/日投与群では精巣上体の精子数の減少がみられた（いずれも p＜0.01）。

著者らは児動物体重の低値及び雄児動物の生殖障害に基づき、生殖発生毒性の

NOAEL を 50 mg/kg 体重/日と特定し、同様の試験系を用いて妊娠 12 日～21 日に DBP を投与した Mylcreest ら（2000）の試験と良く一致した結果が得られたとしている（Zhang et al. 2004）。また、ECHA（2012b）は AGD 短縮、雄性生殖器重量の低下及び精子産生の低下に基づき生殖影響の NOAEL を 50 mg/kg 体重/日とした。

本専門調査会としては、雌雄の出生児において生後 1 日の体重の低値、雄児において生後 4 日の AGD 短縮並びに生後 70 日の精巣上体の絶対重量減少、精巣上体の精子運度率の低下及び精巣の精細胞数の減少がみられたことから、本試験の NOAEL を生殖・発生への影響に基づき、50 mg/kg 体重/日と判断した。

⑨⑩ 発生毒性試験（ラット）

SD ラット（雌、対照群 10 匹、各投与群 4～5 匹）の妊娠 12～20 日に、DBP（0（コーン油）、0.1、1、10、30、50、100、500 mg/kg 体重/日）を強制経口投与し、妊娠 21 日 に帝王切開し、雄胎児（2 匹/腹）の精巣各一個が、組織学的及び形態計測学的方法により調べられた。その結果、対照群と比較し、30 mg/kg 体重/日以上の投与群で、精巣あたりの総細胞数の減少、50 mg/kg 体重/日以上の投与群で精巣の容積（回転楕円体の公式を用いて計算）及び横断面の精細管数の減少、100 mg/kg 体重/日以上の投与群で多核化した生殖細胞（MNG[20]）数の増加がみられた（いずれも腹単位、p≦0.05）。著者らは妊娠ラットへの 30 mg/kg 体重/日程度の暴露による有意な異常を検出したとしている（Boekelheide et al. 2009△）。

本専門調査会としては、精巣あたりの総細胞数の減少がみられたことから、精巣毒性に基づき本試験の LOAEL を 30 mg/kg 体重/日、NOAEL を 10 mg/kg 体重/日と判断した。また、本試験は精巣毒性に特化した試験であり、メカニズム解明に有益な情報を与えるが、生殖への影響や発生毒性に関して NOAEL/LOAEL は設定できないと判断した。精巣あたりの総細胞数の減少がみられたことから、精巣毒性に基づき本試験の LOAEL を 30 mg/kg 体重/日、NOAEL を 10 mg/kg 体重/日と判断した。

⑪ 発生毒性試験（ラット）

SD ラット（雌、各群 3 匹以上）の妊娠 10～19 日に、DBP（0（コーン油）、250、500、700 mg/kg 体重/日）を強制経口投与し、娩出された雄児動物を生後 31 日に剖検して雄性生殖器系の発生への影響が調べられた。なお、雌児は生後 11 日に取り除かれた。また、陽性対照としてフルタミド（1、12.5、25 mg/kg 体重/日）が用いられた。

[20] Multinucleated Gonocite

その結果、対照群に比べ、700 mg/kg 体重/日投与群で生後 26 日及び生後 31 日（剖検日）の体重が減少し、500 及び 700 mg/kg 体重/日投与群では、乳頭遺残（生後 11 日）が対照群 0/201 匹に対して 3/36 及び 31/55 匹にみられ（p 値記載なし）、体重で除した AGD（生後 11 日）が対照群に比べ短縮した（いずれも p＜0.05）。また、700 mg/kg 体重/日投与群にのみ、尿道下裂（26/55 匹、47%）及び停留精巣（22/55 匹、46%）が生じ、統計学的に有意に増加した。生後 31 日における剖検（各群 15～60 匹）では、500 mg/kg 体重/日以上の投与群で LABC の絶対重量が減少し、700 mg/kg 体重/日投与群で剖検時体重並びに精巣、精巣上体、精嚢、腹側前立腺、及びカウパー腺の絶対重量が減少した（いずれも p＜0.05）。また、700 mg/kg 体重/日投与群において、精細管上皮変性、精巣上体尾部の形成不全及び腹側前立腺の萎縮が観察され~~た。~~、血清中では T 及びジヒドロテストステロン（DHT）の濃度濃度が有意に低下した。（Kim et al. 2010a△）。

本専門調査会としては、検査に用いた雄出生児数が不明であり、群により使用匹数の差が大きいため、本試験の NOAEL/LOAEL は設定できないと判断した。

なお、Jiang ら（2011 無）は、SD ラット（雌、各群 10 匹）の妊娠 12～18 日に DBP（850 mg/kg 体重/日）を投与したところ、対照群（0（コーン油））には生じなかった肛門直腸奇形（ARM）が雄出生児の 39.5%にみられたことを報告している（p＜0.05）。ARM 児の会陰部に陰嚢及び精巣がみられず、全例に鎖肛による二次的な巨大結腸症が併発した。病理組織学的検査では、ARM 児には直腸線上皮細胞と肛門の角化重層細胞の間の移行部がなく、腸上皮で覆われていた。

本専門調査会としては、ARM がみられた点に留意すべきだが、1 用量の試験であるため、本試験の NOAEL/LOAEL は設定できないと判断した。

~~⑪~~⑫ 発生毒性試験（ラット）

複数の報告において、妊娠後半の雌ラットへの DBP の経口投与により、雄胎児精巣等~~の~~に用量反応性の T 濃度変化~~の用量反応性~~が観察されている。

a. 胎児精巣のテストステロン濃度

SD ラット（雌、対照群 7 匹、各投与群 5 匹）の妊娠 12 日～19 日に DBP（0（コーン油）、0.1、1.0、10、50、100、500 mg/kg 体重/日）を強制経口投与し、妊娠 19 日に帝王切開し、雄胎児の精巣が調べられた。その結果、50 mg/kg 体重/日以上の投与群でスカベンジャー受容体クラス B1 型（SR-B1）及びステロイド産生急性調節タンパク質（StAR）の m-RNA 及びタンパク質の減少の発現に低下がみられた（p＜0.05）。また、上記の用量に 30 mg/kg 体重/日を加えて、別に実施された~~、~~精巣のテストステロン濃度~~を~~測定の~~する~~ための試験（各群 3～4 匹/1～4 腹）では、対照群に比べ精巣の T 濃度が 50 mg/kg 体重/日以上の投与群で減少していた（p＜0.05）。著者らは、精巣内 T の減少を伴うステロイド合成に関係する遺伝子

及びタンパク質の発現低下に関する無影響量（NOEL）及び最小影響量（LOEL）を 10 及び 50 mg/kg 体重/日とした（Lehmann et al. 2004 事務局）。なお、精巣の組織病理学的検査は実施されていない。ECHA（2012b）及び NICNAS（2013）は妊娠 19 日のラット精巣の T 濃度の低下に基づき、NOAEL 及び LOAEL を 10 及び 50 mg/kg 体重/日とした。

Struve ら（2009△）は、Lehmann ら（2004）と同様の投与スケジュールの試験（各群 7～9 匹/時点）を混餌投与（DBP112 又は 582 mg/kg 体重/日）で行い、高用量投与群では投与終了後 4 及び 24 時間で、低用量投与群では 24 時間で精巣中 T 濃度の有意な低下を観察している。なお、高用量投与群の雄胎児では AGD が有意に短縮し、精巣の組織病理学的検査では、両投与群に直経の増大した精細管やライディッヒ細胞の大凝集がみられ、高用量投与群の精細管に MNG が出現した。

また、Johnson ら（2011△）は上記 3 報と系統の異なる F344 ラット（雌、対照群 6 匹、各投与群 5 匹）を用いた。妊娠 12 日～20 日に DBP（0（コーン油）、100、500 mg/kg 体重/日）を強制経口投与し、妊娠 20 日に帝王切開した。その結果、母動物及び生存胎児の体重に投与の影響はみられなかった。雄児動物では両投与群で精細管の MNG の発生頻度が増加し、500 mg/kg 体重/日投与群で腹あたりの平均 AGD の短縮、精巣内 T 濃度の減少及び精巣内総コレステロールの減少がみられ（いずれも $p<0.05$）、ライディッヒ細胞ではステロール調節エレメント結合蛋白質 2（SREBP2）の発現が有意に抑制されていた。

b. 胎児精巣のテストステロン産生

Howdeshell ら（2008×）による SD ラット（雌、対照群 3 匹、各投与群 4 匹）の妊娠 8～ 18 日の DBP（33～600 mg/kg 体重/日）の経口投与試験では、妊娠 18 日の胎児精巣の *ex vivo* における T 産生量が、対照群と比較し 300 mg/kg 体重/日以上の投与群で減少したことが観察された。ECHA（2012b）は妊娠 18 日の胎児精巣の T 産生の減少に基づき、LOAEL 及び NOAEL を 300 及び 100 mg/kg 体重/日とした。

c. 成長後の雄児動物の血清テストステロン濃度

Shirai ら（2013 事務局）は SD ラット（雌、各群 4 匹）の妊娠 12 日～21 日に DBP（0（コーン油）、10、30、50、100 mg/kg 体重/日）を強制経口投与し、雄出生児（各群 4 匹/時点）を 5、7、9、14 又は 17 週齢時に調べた。その結果、同腹児数及び出生時の性比等に投与の影響はみられず、いずれの雄児動物の同様も体重であった。しかし 100 mg/kg 体重/日投与群において、対照群と比較して 9 週齢以降に精巣相対重量の減少及びライディッヒ細胞数の増加が認められた（$p<0.05$）。さらに血清 T 濃度は 5～17 週齢を通じて低値を示し、一方、血清 LH 濃度は 5、7

週齢に減少し、9 週齢以降では増加した（いずれも p＜0.05）。なお、電子顕微鏡による観察では、100 mg/kg 体重/日投与群の精巣ライディッヒ細胞の滑面小胞体に変化が生じており、5 週齢から非膨張嚢に富んだ滑面小胞体が観察され、9 週齢以降では存在量[21]が減少し（p＜0.05）、17 週齢には存在が認められなかった。

本専門調査会としては、a. ~~の~~Lehmann ~~et al.~~ら（~~-~~2004）、b. ~~の~~Howdeshell ら（~~et al.~~ 2008）及び c. ~~の~~Shirai ~~et al.~~ら（~~-~~2013）の試験は、子宮内暴露が胎児及び出生児の精巣の T 産生系へ及ぼす影響に関するメカニズム解明及び用量反応性について有益な情報を与えるが、動物数が少なく、ホルモンレベル及び遺伝子やタンパク質の発現の変化をエンドポイントとしているため、NOAEL/LOAEL は設定できないと判断した。また、a. Struve ら（2009）~~et al. 2009~~ 及び Johnson ら（2011）~~et al. 2011~~ の試験は、Lehmann ら（2004）~~Lehmann et al. 2004~~ と同様の~~同傾向の~~結果が得られ、雄胎児の AGD に短縮がみられているが、比較的高用量での影響であり、TDI の設定~~には利用できない~~の根拠として用いることは適切ではないと判断した。~~なお、雄児（胎児～出生児）の精巣における T 産生減少に基づき LOEL 及び NOEL を Lehmann ら（2004）の試験について 50 及び 30 mg/kg 体重/日、Shirai ら（2013）の試験について 100 及び 50 mg/kg 体重/日と判断した。発生期における雄性生殖系への影響のうち最も感受性の高いエンドポイントの一つと考えられる。~~

~~⑫~~⑬ 2 世代生殖・発生毒性試験（ラット）

SD ラット（雄雌、対照群 40 匹、各投与群 20 匹、10 週齢）に DBP（0、1,000、5,000、10,000 ppm、NTP 換算：雄 0、52、256、509 mg/kg 体重/日、雌 0、80、385、794 mg/kg 体重/日）を交配前 7 日から混餌投与し、投与を継続しながら 14 週間にわたり雌雄（F_0）を同居させ~~、~~た連続交配が行われた。母動物には連続交配の最終出生児（F_1）の離乳時まで投与を継続した。離乳後の F_1（雌雄、各群 20 匹）ni は F_0 と同用量の投与を継続し、88±10 日齢で同用量投与群の非同腹児同士を交配させた。観察された生殖・発生等への影響のまとめを表 III-7 に示す。

事務局：生殖・発生影響等について、表に記載したものは本文中から削除しました。

連続交配の結果、対照群に比べ全投与群で用量依存的に腹単位の出生児数が減少し、5,000 ppm 以上の投与群で出生児体重が減少した~~（いずれも p＜0.05）~~。連続交配後に試みられた対照群と 10,000 ppm 投与群の交差交配では、対照群同士に比

[21]電子顕微鏡写真のライディッヒ細胞の細胞質上の滑面小胞体塊のそれぞれに、直径 1μm の単位円を重ならないようにかぶせ、面積 5 μm×5 μm当たりの単位円数を滑面小胞体相対量数として定量した。

べ、対照群の雄と投与群の雌の交配による出生児の体重が減少し~~（p＜0.05）~~、雌に DBP 投与の影響が認められた。

また、交差交配~~した~~した F_0 のみ剖検されたが~~では~~、対照群と比べ、投与群の雌に剖検時体重の減少、雌雄に肝臓及び腎臓の相対重量の増加がみられた（いずれも p ≦0.004）。また、精子パラメーター（精子濃度、運動性、奇形精子率、精巣精子細胞数）及び雌の発情周期期間に投与による変化はみられなかった。

F_1 の交配では、対照群に比べ 10,000 ppm 投与群で交尾率[22]、妊娠率及び受胎率[23]が低下し、雌雄の F_1 の剖検時体重に減少がみられた~~（いずれも p＜0.05）~~。児動物（F_2）については、全投与群で出生時体重が用量依存的な低値を示した~~（いずれも p＜0.05）~~。交配後の F_1 の剖検では、10,000 ppm 投与群の雄で前立腺、精嚢及び精巣の相対重量が減少したほか、精巣の精子細胞が減少した~~（いずれも p＜0.05）~~。一方、雌では卵巣が調べられたが、卵巣相対重量に投与による統計学的に有意な変化はなかった（絶対重量の記載なし）。さらに病理組織学検査では~~10,000 ppm 投与群に、~~精細管変性~~が 8/10 匹、~~及び精巣間質細胞の過形成が~~7/10 匹に~~観察されたほか、10,000 ppm 投与群にのみ精巣上体の発育不全又は部分的欠損が~~5/10 匹に~~観察された（有意差の記載なし）（Wine et al. 1997◎）~~観察された生殖発生等への影響を表 III-7 に示す。~~

全投与群における腹単位の F_1 出生児数及び F_2 体重の減少に基づき、NICNAS（2008）は発生毒性として、EFSA（2005）は胎児毒性として LOAEL を 52（雄）～80（雌）mg/kg 体重/日（1,000 ppm）とした。一方、NTP-CERHR（2003）は同じ所見を F_0 の交配による同腹児数及び F_1 の交配による児動物の体重の減少と捉え、生殖影響及び雌の発生毒性の LOAEL を 52（雄）～80（雌）mg/kg 体重/日、NOAEL を設定できないとした。また NICNAS（2008）及び ECHA（2012b）は、F_1 の精細管変性及び精巣萎縮に基づき生殖影響の LOAEL を 256（雄）～385（雌）mg/kg 体重/日、NOAEL を 52（雄）～80（雌）mg/kg 体重/日とした。なお、NTP-CERHR（2003）及び EU RAR（2004）は、F_0 及び F_1 母動物の体重減少及び F_0 母動物の肝臓と腎臓の重量増加に基づき、母動物毒性の NOAEL を 385 mg/kg 体重/日としている。

本専門調査会としては、F_1 出生児数の減少及び F_2 出生時体重の低値が最低用量群からみられたことから、発生毒性~~及び胎児毒性~~に基づき本試験の LOAEL を雄で 52 及び雌で 80 mg/kg 体重/日と評価し、NOAEL は設定できないと判断した。

[22]交配ペア数に対する雌の交尾動物(膣栓を有す)数の割合
[23] 雌の交尾動物数に対する妊娠動物数の割合

表 III-7　生殖発生影響等のまとめ[a]（Wine et al. 1997）

飼料中 DBP 濃度 雄/雌用量(mg/kg 体重/日)		0 ppm 0/0	1,000 ppm 52/80	5,000 ppm 256/385	10,000 ppm 509/794
F0	交配ペア数	40	20	19	20
連続交配	腹単位の出生児数 出生児体重(g) 調整出生児体重(g)	12.9 5.96 6.04	↓11.9	↓11.0 ↓5.74 ↓5.66	↓10.7 ↓5.38 ↓5.30
交差交配	交差交配ペア数	19（対照群同士）	実施せず	実施せず	20(雄)/19(雌) ×対照
	調整出生児体重(g)	5.96			↓雌×対照 5.28*
剖検（交差交配後）	剖検時体重(g) 肝臓 相対重量(mg/g) 腎臓 相対重量(mg/g)	雌 379.0 雄/雌 37.6/34.0 雄/雌 6.6/7.0			↓雌 326.4 ↑雄/雌 43.3/38.9 ↑雄/雌 7.3/7.6
F1	交配ペア数	20	20	20	20
交配	交尾率(%) 妊娠率(%) 受胎率(%) 出生児(F2)体重(g) 調整出生児(F2)体重(g)	100(20/20) 95(19/20) 95(19/20) 5.97 5.98	↓5.60 ↓5.69	↓5.60 ↓5.50	↓30(6/20) ↓5(1/20) ↓17(1/6) ↓5.00* －
剖検	剖検時体重(g) 肝臓 相対重量(mg/g) 腎臓 相対重量(mg/g)	雄/雌 506.0/323.0 雄 40.7 雄 7.7		↑雄 8.2	↓雄/雌 466.7/281.2 ↑雄 8.2 ↑雄 1.3
	前立腺 相対重量(mg/g) 精嚢 相対重量(mg/g) 右精巣 絶対重量(mg)	1.7 5.0 1774.6			↓1.3 ↓3.9 ↓1087.9
	精子細胞数/精巣 精子細胞数/精巣重量	14.52×10^7 8.29×10^7			↓6.69×10^7 ↓4.37×10^7
(雄)	病理組織学検査数(匹)	10	実施せず	10	10
精巣	精細管変性 間質細胞過形成 肉芽腫	1 1		3 1	8 7 1
精巣上体	上皮細胞変性 間質性精巣上体炎 発育不全・部分欠損 液体存在/変性細胞 精子量減少	1 1 1 1		2 1 1 1	1 1 5 2 3
精嚢	精嚢炎 濃厚分泌物				1 1

調整出生児体重：平均同腹児（死産児、出生児を含む）数で調整、交尾率：mating index；雌の交尾動物(膣栓を有す)数/交配ペア数、妊娠率：pregnancy index；妊娠ペア数/交配ペア数、受胎率：fertility index；妊娠ペア数/雌の交尾動物数、↑/↓：対照群に比べ増加・上昇/減少・低下（$p<0.05$）、*：投与群は異なる（$p<0.05$）

a：器官重量値等は平均値のみ記載した（標準誤差は記載せず）。また、対照群は表中のすべてに記載したが、投与群は有意な変化のあった値等のみ記載した。病理所見、生殖器奇形について、例数 0 の場合は数字を記載しなかった。

（Table 1～6 から、抜粋、加工）

⑬⑭ 2 世代生殖・発生毒性試験（ラット）

Long Evans 頭巾斑ラット（雌雄、各群 10～12 匹）に DBP（0（コーン油）、雄：250、500、1,000 mg/kg 体重/日、雌：250、500 mg/kg 体重/日）を離乳時（生後

21 日）から強制経口投与し、性成熟時点で、投与群と対照群を交差交配した。雌の親動物（F_0[24]）には児動物（F_1）の離乳時まで投与を継続した。離乳後は DBP を投与せずに飼育し、性成熟した F_1 を用いて同一用量投与群間で連続交配が行われた。

その結果、F_0 の雄では性成熟の遅延がみられ、対照群に比べ全投与群で包皮分離の日齢が遅延した（いずれも $p<0.05$）。交差交配では、500 mg/kg 体重/日以上の投与群で、雌雄ともに受胎能の低下（$p<0.001$）が認められた。雄の不妊は精巣萎縮及び精子数の低下に起因するとされ、雌では性周期及び交尾は良好であったが、多くが妊娠中期で流産した。

DBP に子宮内及び経母乳暴露した F_1 は、対照群に比べて両投与群で何らかの泌尿生殖器奇形/異常を有する動物が増加し（いずれも $p<0.05$、腹単位又は動物数）、低頻度の尿道下裂、停留精巣、無眼球症、単角子宮及び少数の無腎症が含まれた。また、雄では、精巣上体尾部の精子数が減少し、250 mg/kg 体重/日投与群で対照群の 19%（統計学的有意差なし）、500 mg/kg 体重/日投与群で 34%（$p<0.05$）であった。この F_1 を用いた 11 繁殖周期（11 breeding cycle）にわたる連続交配では、得られた児動物（F_2）数が、対照群（$F_2$179 匹/24 腹/18 組）に比べ、両投与群で減少した（低用量群から 78/10/18（$p<0.05$）及び 20/4/4（有意差なし））。
著者らは F_1 の LOAEL を 250 mg/kg 体重/日とし、NOAEL は確立されなかったとしている（Wolf et al. 1999△）。

NTP-CERHR（2003）は、F_0 の雄の性成熟遅延、F_1 の精巣上体の精子数減少（統計学的有意差なし）、繁殖能低下、泌尿生殖器系の奇形増加、及び F_1 から得られた産児（F_2）の減少に基づき、生殖影響の LOAEL を 250 mg/kg 体重/日とし、NOAEL は設定しなかった。NICNAS（2008）では、F_1 の精巣上体の精子数の減少に基づく生殖影響に対する LOAEL と、F_0 の性成熟の遅延及び F_1 雄の奇形増加に基づく発生毒性に対する LOAEL を、いずれも 250 mg/kg 体重/日とした。

本専門調査会としては、最低用量群から F_1 の精巣上体の精子数の減少並びに F_0 の性成熟の遅延及び F_1 雄の奇形増加にがみられたことから生殖影響に基づき本試験の LOAEL 並びに発生毒性の LOAEL をいずれも 250 mg/kg 体重/日と評価し、NOAEL は設定できないと判断した。

~~⑭~~⑮ 生殖・発生毒性試験（ウサギ）

オランダベルトウサギ~~（Dutch belted rabbits）~~（雌、対照群 5 匹、投与群 8 匹）の妊娠 15 日～30 日に DBP（0（コーンシロップ水溶液）、400 mg/kg 体重/日）を強制経口投与した（子宮内暴露）。出生児は~~、~~生後 3 週に雌を間引いた後、生後 6 週に離乳し~~た~~、12 又は 25 週齢で雄児（対照群 12 匹/5 腹、投与群 17 匹/8 腹）を

[24] 原著では P0 と記載されている。

~~12 又は 25 週齢で~~剖検した~~（*in utero* exposure、子宮内暴露）~~。併行して、若齢の雄（11 匹/4 腹、4 週齢）の生後 4～12 週に DBP 400 mg/kg 体重/日を強制経口投与し（思春期投与）、12 又は 25 週齢で剖検して~~、~~子宮内曝露群と比較した~~（adolescente exposure、思春期投与）~~。そのほか、成獣の雄（各群 6 匹、6～8 か月齢）を用いた DBP（0、400 mg/kg 体重/日）の 12 週間強制経口投与試験が実施された。いずれの試験も~~なお、~~25 週齢での剖検は各群 6 匹に調整された。

その結果、母動物の生存や妊娠維持に投与の影響はみられなかった。また、対照群と比べて、三つの試験とも雄の体重に投与の影響はみられなかったが、子宮内暴露群では 12 週齢の精巣、12 及び 25 週齢の副性腺の絶対重量が減少し、思春期投与群でも 12 週齢の副性腺の絶対重量が減少した（いずれも $p<0.05$）。なお、子宮内暴露群の 1 匹に、未発達なペニス、包皮の奇形、尿道下裂、精嚢及び前立腺の形成不全、尿道球腺欠損及び両側の停留精巣がみられた。

試験終了時の精巣の病理組織学的検査では、三つの試験とも投与群の精細管胚上皮の欠損率が増加し（対照群を 3.5～3.6 とすると、投与群 5.3～6.7。いずれも $p<0.05$）、停留精巣（子宮内暴露群、思春期投与群各 1 例）に上皮内癌様の細胞がみられた。また、DBP 投与終了後に 22～24 週齢で採取した精液中の精子奇形率が、対照群（16%）に比べ子宮内曝露群（30%）及び思春期投与群（25%）で増加し（いずれも $p<0.01$）、子宮内曝露群では精液量及び精子濃度も減少していた（いずれも $p<0.05$）。しかし、子宮内曝露群及び思春期投与群の交尾行動に投与の影響はみられなかった。

そのほか、血清 T 濃度が、子宮内曝露群及び思春期投与群で 6 週齢に低下したが（$p<0.05$）、12 及び 25 週齢では投与による変化はみられなかった。しかし、12 週齢における性腺刺激ホルモン放出ホルモン負荷試験では、思春期投与群で血清 T 濃度増加が抑制され、負荷 120 分間後の濃度も対照群より減少した（$p<0.05$）。著者らは、発達期の DBP 暴露は非げっ歯類である、雄ウサギへ有害影響を及ぼし、子宮内又は青年期の雄は、成獣より生殖系への障害に対して感受性が高いとしている（Higuchi et al. 2003 **事務局△**）。

NICNAS（2008）は、母動物影響の NOAEL を 400 mg/kg 体重/日、児動物の精巣への影響に基づく発生に対する LOAEL 及び正常精子及び精子数減少、精巣重量減少、副性腺重量減少、T 濃度低下、精巣の病理組織学的変化に基づく繁殖に対する LOAEL を 400 mg/kg 体重/日とした。

本専門調査会としては、1 用量の試験のため本試験の NOAEL/LOAEL は設定できないと判断した。しかし、ラットを用いた試験で（Mylchreest et al. 1998、1999、2000）、母動物毒性又は一般毒性を伴わずに雄の生殖・発生毒性が生じる用量（100～500 mg/kg 体重/日）において、非げっ歯類の雄にも生殖系への影響がみられること、さらに暴露時期により感受性が異なることに留意すべきと考えた。

~~15~~16 代謝物（MBP）による 発生毒性試験

a. 発生毒性試験（ラット）（MBP）

Ema ら（1995b◎、1996◎）は、Wistar ラットに DBP 又は BBP の一次代謝物である MBP（アンモニア塩水溶液）を妊娠期間中に強制経口投与し、妊娠 20 日に帝王切開して催奇形性を調べた一連の発生毒性試験を行った。

1995 年の報告では、妊娠ラット（各群 11～15 匹）の妊娠 7 日～15 日に MBP（0（塩化アンモニウム水溶液）、250、500、625 mg/kg 体重/日）を強制経口投与した試験が行われた。その結果、対照群と比べ、500 及び 625 mg/kg 体重/日において、母動物の体重増加（妊娠 7 日～16 日、妊娠 16 日～20 日、及び妊娠 0 日～20 日）が抑制され、摂餌量（妊娠 7 日～16 日、及び妊娠 0 日～20 日）が低下した（いずれも $p<0.05$）。これらの用量において、腹単位の着床後胚損失率の増加及び生存胎児数の減少並びに生存胎児体重が減少した（いずれも $p<0.01$）。625 mg/kg 体重/日投与群では全胚吸収例も増加し（$p<0.01$）、生存胎児は 4 匹/2 腹のみであった。また、奇形発生のなかった対照群と比べ、500 mg/kg 体重/日投与群では外部、骨格又は内部奇形の、625 mg/kg 体重/日投与群では外部奇形の腹あたりの発生頻度が増加した（いずれも $p<0.05$）。主な所見は、口蓋裂、頸椎弓の癒合又は欠損、胸骨分節の癒合及び腎盂の拡張であった。著者らは、MBP によって生じた奇形のパターンが BBP 及び DBP と同様であることから、MBP 及び/又はその代謝物が BBP 及び DBP の催奇形性の原因となる可能性が示唆されると報告している（Ema et al. 1995b）。

NTP-CERHR（2003）は、本試験における体重増加の抑制に基づく母動物毒性、及び出生前死亡の増加、胎児体重の減少、外部・骨格奇形の増加、及び内臓変異に基づく発生毒性について、NOAEL を 250 mg MBP /kg 体重/日、LOAEL を 500 mg MBP /kg 体重/日とした。

本専門調査会としては、母動物の妊娠期間における体重増加の抑制、胎児の出生前死亡の増加・体重の減少・外部又は骨格奇形の増加・内臓変異に基づき、本試験における MBP の NOAEL を 250 mg /kg 体重/日及び LOAEL を 500 mg /kg 体重/日と判断した。

続報では、発生毒性の時期特異性を評価するために、投与期間を変えた試験を行った。妊娠ラット（各群 10～15 匹）の妊娠 7 日～9 日、妊娠 10 日～12 日又は妊娠 13 日～15 日（対照群：妊娠 7 日～15 日）に MBP（0（塩化アンモニウム水溶液）、500、625、750 mg/kg 体重/日）を強制経口投与した。その結果、母動物では投与期間及び妊娠 0 日～20 日における体重増加抑制が、妊娠 7 日～9 日又は妊娠 10 日～12 日に 625 mg/kg 体重/日以上を投与した群と、妊娠 13 日～15 日に 500

mg/kg 体重/日以上を投与した群に認められ、これらの投与群では腹あたりの着床後胚損失率も増加した（いずれも p＜0.05）。催奇形性は妊娠 10 日～12 日に投与した群で観察されなかったが、妊娠 7 日～9 日又は 13 日～15 日に 625mg/kg 体重/日以上を投与した群では外部奇形の発生頻度が増加し、妊娠 7 日～9 日に投与した全用量群及び妊娠 13～15 日に 625 mg/kg 体重/日以上を投与した群では、骨格奇形の発生頻度が増加した（いずれも p＜0.05）。このうち、頸椎弓の癒合又は欠損が妊娠 7～9 日に投与した全用量群で増加し、口蓋裂又は胸骨分節の癒合が妊娠 13～15 日に 625 mg/kg 体重/日以上を投与した群で増加していた（いずれも p＜0.05）。また、腎盂の拡張について、投与による有意な増加はみられなかった（Ema et al. 1996）。

NTP-CERHR（2003）は、本試験の結果は DBP による所見と一致しており、MBP（及び/又はそれに続く代謝物）は DBP の発生毒性（胚死亡及び奇形）の主な原因となる可能性を示唆するとしている。

本専門調査会としては、DBP と同様な所見がみられ、メカニズムについて有益な情報を与えるが、催奇形性を評価するには投与期間が通常より短期間であり、NOAEL/LOAEL の設定はすべきでないと判断した。

b. 発生毒性試験（ラット）（MBP）

Wistar-King A ラット（雌、各群 3～5 匹）の妊娠 15～18 日に MBP 約 1,000 mg/kg 体重/日相当（300 mg/日）を強制経口投与し、雄児動物の精巣の位置を評価したところ、対照群では妊娠 20 日には全ての精巣は下腹部に位置し、生後 30～40 日には陰嚢内に下降したが、子宮内で MBP に暴露した雄児では妊娠 20 日の精巣は対照群より腹腔内の高い位置にあり（膀胱頸部-腎下極間距離で相対化した膀胱頸部-精巣間距離の増加、p＜0.01）、生後 30～40 日には 22/26 匹（5 腹）が停留精巣（片側性 14 例、両側性 8 例）を示した（p＜0.001）。また、停留精巣の 87%は腹腔内にあり、残りの 13%は外鼠径輪（external inguinal ring）に位置していた（Imajima et al. 1997△）。

本専門調査会としては、DBP と同様な所見がみられ、メカニズムについて有益な情報を与えるが、1 用量の試験のため本試験の NOAEL/LOAEL は設定できないと判断した。

c. 生殖・発生毒性試験（コモンマーモセット）

妊娠コモンマーモセット[25]（9 匹）の妊娠 7 週～15 週に MBP（500 mg/kg 体重/日）を経口投与し、雄の出生児を生後 1～5 日（6 匹）又は成獣となった 18～21 か

[25] 1973 年から維持されたコロニーで飼育繁殖された

月齢（5 匹）にと殺した。対照として溶媒投与動物、年齢をマッチさせた未処置動物、成獣の参照データが用いられた。また、雄のコモンマーモセット新生双生児 5 組（生後 4～7 日）について、各組の一方を対照として、他方に MBP（0、500 mg/kg 体重/日）を 14 日間投与し、投与終了 4 時間後にと殺した。

その結果、MBP に子宮内暴露した雄出生児並びに新生児期に経口暴露した雄マーモセットいずれにも、投与による生殖器系の発達異常及び精巣の病変はみられなかった。また、暴露群及び対照群に MNG はみられず、血清 T 濃度、生殖細胞の分化・増殖、セルトリ細胞数にも投与の影響はみられなかった。なお、子宮内暴露群 2 匹に未分化の生殖細胞凝集がみられたが、一貫性が無く統計学的有意差は不明とされている（McKinnell et al. 2009△）。なお、生後 7～12 日の雄のコモンマーモセットへの MBP（500 mg/kg 体重/日）の単回投与では、5 時間後に有意な血清 T 濃度の減少が観察されている（p＜0.019）（Hallmark et al. 2007△）。

本専門調査会としては、1 用量試験のため本試験に NOAEL/LOAEL は設定できないと判断した。また、本試験において MBP の母体を介した子宮内又は新生児期暴露により、コモンマーモセットの雄の生殖系に影響は認められなかったが、DBP 及び MBP の体内動態に関して十分な知見がないため、判断は慎重にすべきと考えた。

~~⑯~~⑰ 内分泌系及び生殖・発生への影響のまとめ

入手した報告はほとんどがげっ歯類を用いたものであり、特にラットを用いた試験が多かった。また、みられた影響は同様の構造を持つフタル酸エステルである DEHP（内閣府 2013）と類似がみられ、マウスよりラットの方がより低い用量でみられる傾向があった。

生殖への影響は雌雄のげっ歯類にみられ、成獣を用いた交配試験では DBP 投与により妊娠率、出産回数、出生児数、出生児体重等が低下した（Lamb et al. 1987、Wine et al. 1997、Wolf et al. 1999）。また、胚吸収・出生前死亡の増加及び児動物の骨格奇形・変異や内部・外部奇形の増加といった発生や胎児への毒性がみられた（Lamb et al. 1987、Shiota and Nishimura 1982、Xia et al. 2011、Marsman 1995、Ema et al. 1993、1998、Saillenfait et al. 1998、Mylchreest et al. 1998）。これらの影響の多くは、比較的高用量（500 mg/kg 体重/日以上）でみられた。DBP の一次代謝物である MBP をラットに投与した試験でも（Ema et al. 1995b、1996）、DBP と同様な胎児への影響がみられている。

比較的低用量（500 mg/kg 体重/日以下）でもみられた影響は、妊娠又は哺育中の投与により、母動物を介して DBP に暴露した雄児の生殖系への影響であり、多く~~は~~の試験の投与期間は母ラットの妊娠期間後半をカバーするものであった~~に投与した試験であった~~（Li et al. 2009*、2010*、Mylcreest et al. 1998、1999、2000、

Kim et al. 2010a、Lee et al. 2004、Wine et al. 1997、Wolf et al. 1999、*：（4）に記載）。おおむね 500 mg/kg 体重/日以上からや生殖器重量の減少、尿道下裂などの外部殖器奇形、内部生殖器の発育不全や欠損がみられた。残留乳頭、AGD の短縮及び包皮分離の遅延、精細管変性に伴う生殖細胞の発達遅延といった精巣の組織病理学的変化及び~~、~~乳腺の組織病理学的変化は、より低用量（500 mg/kg 体重/日未満）~~事務局：臓器重量の変化等をわかりやすくするため表にまとめました。~~でも認められることがあった。精巣や乳腺への影響は~~、~~投与を中止するとある程度回復する~~こ~~と~~が~~報告されている（Lee et al. 2004、 Mylchreest et al. 2000）。一報のみであるが、子宮内暴露試験において、ラットで生殖発生毒性がみられた用量で非げっ歯類であるウサギを暴露すると、~~ラットに影響がみられる用量で子宮内～思春期暴露した非げっ歯類であるウサギに~~雄性生殖器系の奇形や~~精巣影響~~精細管変性が~~報告されている~~観察されている（Higuch et al. 2003）。

DBP の一次代謝物である MBP を妊娠ラットに投与した試験（Imajima et al. 1997）でも、DBP と同様に児動物に停留精巣が生じた。一方、雄のサル（コモンマーモセット）を MBP 投与により子宮内暴露した試験では生殖系やホルモンレベルに投与による変化はみられなかったが（Hallmark et al. 2007）、MBP の体内動態等に関する知見は少なく、種差の判断は困難である。

なお、亜急性試験（例えば Marsman 1995、Higuch et al. 2003、Moody et al. 2013）と生殖・発生毒性試験（Mylcreest et al. 2000）の比較や、2 世代試験（Wine et al. 1997、Wolf et al. 1999）の結果から、成獣より胎児~~や~~又は幼獣の方が、DBP 又はその代謝物による~~の~~精巣や生殖~~.~~・発生への影響に対する感受性が高いと考えられる。

内分泌系及び生殖・発生への影響に関する試験において、最も低い LOAEL が得られたのは、ラットの妊娠 15 日から出産後 21 日までの混餌投与試験（Lee et al. 2004）であり、雄出生児における生後 21 日の精母細胞の形成低下及び生後 11 週の乳腺の組織変性に基づく、生殖・発生への影響の LOAEL は飼料中 20 ppm、1.5～3.0 mg/kg 体重/日相当であり、NOAEL は設定できなかった。

参考データであるが、最近、ラットを用いた生殖発生毒性試験（Lee et al. 2004）で得られた LOAEL より低い用量の DBP を乳児期に経口投与することにより、雄マウスの生殖器官の発達及び成長後の生殖能に影響が生じる可能性を示唆する結果が報告された（Moody et al. 2013、詳細は（2）⑧a.に記載）。通例、生殖・発生毒性試験や多世代試験では、乳児に DBP を経母乳暴露しており、この結果と単純に比較して生殖・発生影響を判断することは、DBP 及びその代謝物の母乳への移行率、乳児における DBP の体内動態及び DBP の幼少期暴露における作用機序に関するデータが不足しているため、現時点では困難と考えられた。また、ヒトの乳幼児は環境媒体からも DBP に暴露していることから暴露実態の把握を含め、疫学研究結果、作用機序の解明等の調査研究に注視する必要があると考えられた。。

~~内分泌系及び生殖・発生への影響に関する試験について、最も低い LOAEL/NOAEL が得られた試験は○○○を用いた○日間の経口投与試験であり、○○に基づく LOAEL は、○○mg/kg 体重/日、NOAEL は○○ mg/kg 体重/日であった。~~

（7）遺伝毒性 *（審議済み）*

① *in vitro* 試験

DBP の *in vitro* 遺伝毒性試験を表 III-8 に示す。判定結果は、EU RAR 2004、IPCS EHC 1997 及び ATSDR 2001 の判定結果を示した。各機関の判定が異なる場合などについては表中に注（*）を付した。

表 III-8　DBP の *in vitro* 遺伝毒性試験

試験	対象	用量	判定結果 代謝活性化系 あり	判定結果 代謝活性化系 なし	出典
原核生物					
復帰突然変異	*Salmonella typhimurium* TA 98、TA100	10 mg/plate	－	n.d.	Kurata 1975
	S. typhimurium	不明	－（有無不明）		Yagi et al. 1976、1978
	S. typhimurium	不明	－	－	Rubin et al. 1979
	S. typhimurium TA 98、TA100、TA1535、TA1537	DBPの沈殿生成濃度	－	－	Florin et al. 1980
	S. typhimurium TA 98、TA100	≦1,000　μg/plate	－	－	Kozumbo et al. 1982
	S. typhimurium TA100	0.045、0.09、0.18 mM（≒12.5、25、50 μg/mL）、懸濁法、8-アザグアニン耐性試験	－	＋	Seed 1982
	S. typhimurium TA 98、TA100、TA1535、TA1537	100～10,000 μg/plate、DMSO、プレインキュベーション法	－	－	Zeiger et al. 1985
	S. typhimurium TA 98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538、TA2637	100～2,000 μg/plate	－	+[1]* TA100	Agarwal et al. 1985
	Escherichia coli　(*uvr*A-)	10 mg/plate	n.d.	－	Kurata 1975
DNA 修復試験	*Bacillus subtilis* H17(*rec*+)、M45(*rec*-)	62.5 μg/L（溶解限度）	n.d.	－	Sato et al. 1975
	B. subtilis　(*rec*A-)	10 mg/plate	n.d.	－	Kurata 1975
	E. coli (*pol*A-、*rec*A-)	10 mg/plate	n.d.	－	
真核生物					
突然変異	*Saccharomyces cerevisiae* XV185-14C	10、20、100 μg/mL	－	－	Shahin and von Borstel 1977
哺乳類細胞					
コメットアッセイ	ヒト口腔咽頭粘膜細胞	不明	n.d.	＋	Kleinsasser et al. 2000
	ヒト鼻粘膜細胞	不明	n.d.	＋	

突然変異	マウスリンパ腫L5178Y *Tk*+/-	12.5～150 nL/mL	＋	－	Hazleton Biotechnologies 1986
		0.0125～0.150 μL/mL（-S9）、0.015～0.060 μL/mL（+S9）	＋	－	Barber et al. 2000[2]*
		12、30、38、46、54、62、70　μg/mL	n.d.	+	Marshman 1995
染色体異常	チャイニーズハムスター卵巣細胞（Don）	0.28、2.78、27.8 mg/mL	n.d.	－	Abe and Sasaki 1977
	チャイニーズハムスター肺線維芽細胞	≧0.03 mg/mL	n.d.	－[3]*	Ishidate and Odashima 1977
	ヒト白血球	0.03 mg/mL	n.d.	－	Tsuchiya and Hattori 1977
姉妹染色分体交換	チャイニーズハムスター卵巣細胞（Don）	0.28、2.78、27.8 mg/mL	n.d.	+[4]*	Abe and Sasaki 1977

－：陰性、+：陽性、+/- S9：代謝活性化系（S9 mix）存在下及び非存在下
n.d.：データなし
[1]* EU RAR 2004 による。IPCS EHC 1997 では TA100 と TA1535 が弱陽性（mildly positive）を示したとしている。
[2]* IPCS EHC 1997、ATSDR 2001 及び EU RAR 2004 以外の知見、著者による判定。
[3]*EU RAR 2004 による。IPCS EHC 1997 では equivocal、ATSDR 2001 では（+）とされている
[4]* EU RAR 2004 にて marginally な陽性とされた。IPCS EHC 1997 では陰性とされている。
（ICPS EHC 1997、ATSDR 2001、EU RAR 2004 を基に作成）

細菌を用いた突然変異試験では、DBP は代謝活性化系の存在しない条件下での一部の試験で弱い陽性を示した。EU RAR 2004 は、Seed（1982）について S9 非存在下で細胞毒性のある 0.09 及び 0.18 mM で 2 倍未満の突然変異の誘発がみられ、弱い陽性と判定した。また、EU RAR 2004 は Agarwal ら（1985）の試験について、S9 非存在下での TA100 は 100 μg/plate で復帰突然変異率の増加が最大（3.5 倍）を示し（著者らによると有意な増加とされる）、200 μg/plate での増加は 2 倍未満で、それ以上の用量ではプラトー傾向を認め、equivocal な陽性と判定した。S9 非存在下の TA1535 の試験では、極めて弱い増加が最高用量でみられるとしたうえで陰性と判定している。細菌を用いた DNA 修復試験は代謝活性化系の非存在下で実施されており、いずれも陰性と判定されている。また、酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）における突然変異試験は陰性であった。

哺乳類細胞を用いた試験では、ヒトの粘膜細胞を用いたコメットアッセイにおいて一本鎖 DNA 切断が報告されている。マウスリンフォーマ試験は、代謝活性化系の存在下では陽性が認められ、代謝活性化しない条件下では陰性との報告がある（Hazleton Bio technologies 1986、Barber et al. 2000）。Marsman （1995）による試験は、代謝活性化系非存在下でのみ実施され、EU RAR 2004 は高い細胞生存率の減少を伴う用量において遺伝子突然変異が統計学的に有意に誘発されたとし、陽性と判定した。また、代謝活性化しない条件下で三つの染色体異常試験が報告されており、このうち Ishidate と Odashima（1977）について IPCS EHC 1997 で

は suspicious あるいは equivocal と判定しているが、EU RAR 2004 は陰性と判定している。また、Abe と Sasaki（1977）は姉妹染色分体交換も観察しており、ICPS EHC1997 は陰性と判定しているが、EU RAR 2004 は、用量依存性はないが統計学的には有意な 2 倍未満の弱い陽性反応が報告されていることから、わずか（marginally）に陽性としている。

② in vivo 試験

DBP の *in vivo* 遺伝毒性試験を表 III-9 に示す。小核試験については、IPCS EHC 1997、EU RAR 2004 の判定結果を示し、DNA 損傷試験及び優性致死試験については、著者の判定結果を示した。

表 III-9　DBP の *in vivo* 遺伝毒性試験

試験	対象	用量	判定結果	出典
小核試験	NMRIマウス	単回投与、OECD テストガイドライン 474 に従う、その他の詳細不明	－	BASF 1990d
	B6C3F1マウス（雌雄、各群10匹）末梢血赤血球	163～4,278 mg/kg体重/日、13週間混餌投与（1,250、2,500、5,000、10,000、20,000 ppm）	－	Marsman 1995[1]*
DNA 損傷	Pzh:Sfisマウス（雄）、肝臓細胞	500又は2,000 mg/kg体重/回（3回/週）、4、8週間又は、8週間投与後4週間休薬、強制経口投与	(+)	Dobrzynska et al. 2010[2]*
	Pzh:Sfisマウス（雄）、骨髄細胞		－	
優性致死	Pzh:Sfisマウス（雄、20匹、8週齢）	500又は2,000 mg/kg体重/回（3回/週）、8週間強制経口投与	－	Dobrzynska et al. 2011[2]*

－：陰性、(+) = 弱い陽性
[1]*試験の詳細は（2）①にも記載
[2]*IPCS EHC 1997、EU RAR 2004 以外の知見、著者による判定

マウスを用いた二つの小核試験はいずれも陰性と判定されている。

Dobrzynska らが、雄マウスに DBP2,000 mg/kg 体重/回（3 回/週）を 8 週間経口投与したところ、肝臓細胞のコメットアッセイにおいて、DNA 損傷の増加がみられたが、その増加は有意ではなかった。一方、骨髄細胞においては、DNA 損傷の頻度の増加は観察されなかった。著者らは、DBP は体細胞において弱い変異原性（陽性）を示すと報告している（Dobrzynska et al. 2010）。しかし、本報告はポーランド語で記載されており、入手できた抄録以外に、試験や結果の詳細は明らかではない。また、同じ著者らが DBP を 8 週間（3 回/週）経口投与した雄マウスを、未投与の雌と 1 回交配させたところ、優性致死率は 500 及び 2,000 mg/kg 体重/回投与でそれぞれ－4 及び 10%であり、有意な増加ではないとしている（Dobrzynska et al. 2011）。

③ 遺伝毒性のまとめ

DBP の遺伝毒性に関して、IPCS（EHC 1997）では DBP に関する多くの変異原性及び関連エンドポイントをレビューした結果、証拠の重みから DBP は遺伝毒性を有しないことが示唆されると結論している。一方、ATSDR（2001）は *in vitro* 試験では、陰性か、わずかに陽性の結果であり、DBP は *in vitro* における弱い変異原である可能性を指摘した。これらの後の EU（RAR 2004）の評価では、*in vitro* 試験のうち 1 試験（代謝活性化条件下のマウスリンフォーマ試験）が陽性であったが、同時に実験されていたフタル酸ジエチルでは陰性であったこと、また、*in vivo* で染色体異常が検出されていないことに言及し、様々な遺伝毒性試験及びその考察並びに他のフタル酸エステルが非遺伝毒性であることに基づき、DBP も非遺伝毒性物質と考えることが可能であると結論している。

本専門調査会としては、①，②に示す DBP の遺伝毒性試験結果から、*in vitro* で陽性を示す報告はあるが、DNA との反応に基づく変異を誘発することを示唆するものではなく、少なくとも *in vivo* では非遺伝毒性物質として考えるのが妥当であると判断した。

（8） 作用機序、その他の知見 *（審議済）*

①エストロゲン様作用

a. in vitro 試験

DBP のエストロゲン受容体（ER）への結合性及び主としてアゴニスト活性が調べられており、一部の報告で代謝物である MBP も検討された。報告結果を表 III-10 に示す。

表 III-10　DBP、MBP の ER 結合性、活性化に関する *in vitro* 試験

方法	受容体、細胞等	DBP 用量、標準物質	作用、結果	出典
受容体結合試験	ラット子宮細胞質	1～1,000 μM［+[^{3}H]-E2 1 nM］	IC_{50}＝47 μM（E2：1.3 nM）、競合結合	Zacharewski et al. 1998
	ヒト ERα	用量記載なし［+E2］	結合性を認めず*	経済産業省 2007
エストロゲン依存性細胞増殖試験	MCF-7 細胞（ヒト乳癌由来）	10 μM（12 日間）	↑細胞数（有意差不明）：溶媒対照×約 8	Harris et al. 1997
	ZR-75 細胞（ヒト乳癌由来）	0.1、1、10 μM（11 日間）	↑細胞数（10 μM）：＜溶媒対照×2	
組換え酵母を用いたレポーター遺伝子アッセ	ヒト ER 遺伝子導入酵母	0.01 nM～10 μM	E2 に対する相対結合性及び最大誘導：0%	Coldham et al. 1997
		0.5～1,000 μM	↑転写活性（有意差不明） 最大誘導：E2 の 35%	Harris et al. 1997

イ	（ツーハイブリッド法）	S9 処理(37℃、1h)又は未処理、0.156～10 μM、[+ E2]	アゴニスト活性：陰性 アンタゴニスト活性：陰性	国立環境研究所 2001
組換え培養細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイ	ラット ERα 遺伝子導入 CV-1 細胞（サル腎由来）	1、10、100 μM	エストロゲン様作用を認める ↑転写活性（10μM～）、 最大誘導:溶媒対照×2.6(E2 の 17%)	Shen et al. 2009
	ヒト ER 遺伝子導入 HeLa 細胞（ヒト子宮頸癌由来）、安定	0.1、1、10 μM	NE 転写活性 （E2 最大誘導：溶媒対照×23）	Zacharewski et al. 1998
	ヒト ER 遺伝子導入 MCF-7 細胞、一過性	0.1、1、10 μM	↑転写活性（10 μM）：溶媒対照×14（E2 最大誘導の 37%）	
	ヒト ERα、安定	用量記載なし	アゴニスト活性を認めず	経済産業省 2007
	ヒト ERα、一過性			
	ヒト ERβ、一過性			
	MVLN 細胞(MCF-7 細胞、安定)	0.02～50 μM	↑転写活性（5 μM～）、最大誘導：溶媒対照×1.2（E2 の 38%）	Ghisari et al. 2009

方法、受容体、細胞等	MBP 用量	作用、結果	出典
ヒト ER-レポーター遺伝子組換え酵母アッセイ	0.48～1,000 μM	エストロゲン様作用認めず	Harris et al. 1997
ラット ER-レポーター遺伝子導入 CV-1 細胞アッセイ	0.1、1、10 μM	転写活性に有意な変化なし	Shen et al. 2009

S9：ラット S9mix、一過性/安定：一過性発現系/安定発現系、↑：（統計学的に有意な）増加、[+標準物質]：受容体結合試験、アンタゴニスト活性測定時の共存標準物質、IC_{50}：50%阻害濃度、EC_{50}：50%効果濃度

*エストロゲン様作用（最大誘導の 25%時）：E2 の 10^{-7}

b. in vivo 試験

げっ歯類の子宮への影響を利用した、エストロゲン様作用のスクリーニング試験が実施されている。DBP の、卵巣摘出した未成熟 SD ラットへの 4 日間強制経口投与（20～2,000mg/kg 体重/日）試験（Zacharewski et al. 1998）、20 日齢の CD (SD) IGS 雌ラットへの 3 日間皮下投与（40～1,000 mg/kg 体重/日）試験（経済産業省 2007）及び 18 日齢の雌の CFLP マウスへの 3 日間皮下投与（0.05～5 mg/匹/日）試験（Coldham et al. 1997）では、E2 投与時に観察される子宮の湿重量の増加、さらにその内腔液を除いた重量（経済産業省 2007 のみ評価）の増加は、いずれも認められなかった。

また、卵巣摘出した成熟 SD ラットへの DBP（20～2,000 mg/kg 体重/日）の 4 日間強制経口投与試験では、E2 投与時に観察された膣上皮細胞の角化はみられなかった（Zacharewski et al. 1998）。また、若齢の雄ラットへの DBP 投与によるエストロゲン依存性の生殖細胞アポトーシスが報告されている。3 週齢の雄の SD ラットへ DBP（500 mg/kg 体重）又は陽性対照の安息香酸エストラジオールを経

口投与すると、対照群に比べ精細胞アポトーシス数の増加が認められたが、抗エストロゲン物質 ICI 182,780 によるラットの前処置により、有意に阻害された。(Alam et al. 2010a)。

c. エストロゲン様作用のまとめ

DBP の受容体結合試験、細胞増殖試験、組換え酵母又は培養細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイでは、エストロゲン様作用は認められないとする試験(Coldham et al. 1997、Zacharewski et al. 1998、国立環境研究所 2001、経済産業省 2007)、あるいは高用量で弱い作用が示されている試験(Harris et al. 1997、Zacharewski et al. 1998、Ghisari et al. 2009、Shen et al. 2009)が報告されている。また、MBP のレポーター遺伝子アッセイ(Harris et al. 1997、Shen et al. 2009)ではエストロゲン様作用はないと報告されている。

また、ラット、マウスを用いた短期の子宮肥大試験では、DBP の経口又は皮下投与によるエストロゲン様作用は認められなかった。

②アンドロゲン様作用

a. in vitro 試験

DBP のアンドロゲン受容体(AR)への結合性、アゴニスト又はアンタゴニスト活性が調べられており、一部の報告で代謝物である MBP も検討された。試験結果を表 III-11 に示す。

表 III-11 DBP、MBP の AR 結合性、活性化に関する *in vitro* 試験

方法	受容体、細胞等	DBP 用量 標準物質	結果、作用 アゴニスト活性	結果、作用 アンタゴニスト活性	出典
受容体結合試験	組換えラット AR	10 μM～50 mM*[1] [+[3]H]-メチルトリエノロン R1881 2nM]	結合性を認めず IC_{50}＝0.82 mM、DHT*[2] 相対結合性＝0.0022%		Kim et al. 2010b
	ヒト AR	～0.19 μM [+T]	結合作用は弱い IC_{50}＝＞0.19 μM(最大 42%阻害)		佐藤ら 2004
		用量記載なし [+DHT]	結合性を認めず		経済産業省 2007
組換え培養細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイ	AR-EcoScreen™ 細胞	～100 μM [+DHT 0.5 nM]	認めず	認めず	佐藤ら 2004*[3]
	ヒト AR、安定	用量記載なし [+DHT]	認めず	認めず	経済産業省 2007
	ヒト AR、一過性		認めず	データなし	
	MDA-kb2 細胞(ヒト乳線癌由来)、安定	0.1～100 μM [+DHT 1 nM]	認める EC_{50}＝6.17 μM 最大誘導:溶媒対照×3.97(DHT の 43%)	認める IC_{50}＝1.05 μM	Shen et al. 2009*[4]

		3.7、75、374 μM	最大誘導：溶媒対照×2	データなし	Christen et al. 2010
		4*[1]～925 μM［+DHT 1 nM］	データなし	認める IC_{50}=74 μM*[5]	

方法	受容体、細胞等	MBP 用量、標準物質	作用、結果		出典
			ｱｺﾞﾆｽﾄ活性	ｱﾝﾀｺﾞﾆｽﾄ活性	
受容体結合試験	ヒト AR	～0.19 μM［+T］	結合作用を認めず		佐藤ら 2004
組換え培養細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイ	AR-EcoScreen™ 細胞	～100 μM［+DHT 0.5 nM］	認めず	認めず	佐藤ら 2004*[3]
	MDA-kb2 細胞、安定	0.1～100 μM［+ DHT 0.5 nM］	認める EC_{50}＝11.3 μM 最大誘導：溶媒対照×11.29（DHT の 122%）	認める IC_{50}＝0.122 μM	Shen et al. 2009*[4]

一過性/安定：一過性発現系/安定発現系、［+標準物質］：受容体結合試験、アンタゴニスト活性測定時の共存標準物質、DHT：ジヒドロテストステロン
*1 グラフより読み取り
*2 DHT の IC_{50}=18 nM
*3 ヒト AR 遺伝子導入 CHO-K1 細胞（チャイニーズハムスター卵巣由来）、安定発現系、DHT の EC_{50}＝0.5 nM、酢酸シプロテロンの IC_{50}=0.15 μM
*4 MDA-kb2 細胞は AR 及び糖質コルチコイド受容体を発現するが、DBP 又は MBP による誘導はフルタミド（10 μM）共存下で有意に抑制された。DHT の EC_{50}：2.94×10^{-4} μM
*5 最大抑制（925μM）：80%、フルタミドによる最大抑制（10 μM）：60~70%

b. in vivo 試験

出生前（発生期間中）に DBP 又は MBP に暴露した雄ラットにみられる生殖器の奇形及び AGD 短縮、残留乳頭の増加又は包皮分離遅延といったアンドロゲン関連エンドポイントへの影響は（Wolf et al. 1999、Mylchreest et al. 1999、2000、Imajima et al. 1997）、DBP 及び MBP の抗アンドロゲン様作用を示唆する。

アンドロゲン様作用に関するスクリーニング試験として、げっ歯類の雄性副生殖器の重量変化を利用したハーシュバーガー試験が実施されている。Ashbey と Lefevre（2000）は、6 週齢で去勢した雄の Wistar ラット（7 週齢）への DBP（500～1,000 mg/kg 体重/日）の 10 日間強制経口投与を中心とした試験デザインの検討において、DBP は試験条件により抗アンドロゲン様作用が陰性を示す場合と陽性を示す場合があると報告している。なお、経済産業省（2007）による去勢 Wistar ラット（8 週齢）に DBP（50～1,000 mg/kg 体重/日）を 10 日間強制経口投与した試験では、アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用いずれも陰性であった。

また内分泌活性物質のスクリーニングとして、血中ホルモン濃度の変化に着目した無処置の雄の SD ラット（10 週齢）を用いた 15 日間試験が検討されている（O'Connor et al. 2002）[26]。DBP（250～1,000 mg/kg 体重/日）を強制経口投与

[26] （8）⑥ a.に甲状腺ホルモンの変化を記載

した結果、血清 E2 の低下（250 mg/kg 体重/日以上）が、より高用量（500 mg/kg 体重/日以上）で血清 T の低下が認められた。さらに FSH 及び LH の血清濃度上昇、軽度の精細管変性がみられたことから、O'Connor らは、DBP の抗アンドロゲン様作用は AR を介さない機序であるとしている。

c. 精巣におけるテストステロン産生

in vitro において、成体マウスのライディッヒ細胞腫由来の MA-10 細胞を用いた、フタル酸ジエステルの一次代謝物である 6 種類のフタル酸モノエステル（MEHP、MBP、MEP、MOP、MBzP 及び MMP）（1～100 μM、MEHP のみ 1～1,000 μM）の T 産生に対する直接作用が測定された。MEHP は 1 μM、MBP は 3 μM 以上の全濃度範囲で MA-10 細胞の LH（1 nM）刺激 T 産生を用量依存的に阻害し（$p<0.05$）、IC_{50} は MEHP で 4.11 μM、MBP で 3.31 μM であった。MOP は 10 μM 以上で最大 50%（100 μM）まで阻害し、MEHP、MBP と類似していた。MBzP は 3 μM 以上から阻害したが（$p<0.05$、10 μM を除く）、最大で 35%（100 μM）と微弱であった。MMP（10 μM を除く）及び MEP は有意な阻害はみられなかった（Clewell et al. 2010）。

in vivo では、~~においては、~~母動物への DBP 投与により子宮内暴露した雄ラットの胎児精巣~~における~~の T 産生~~能~~や~~胎児、~~雄出生児の T 濃度の低下~~が~~及びその作用機序に関して報告されている。

Howdeshell ら（2008×）が、妊娠 SD ラット（対照群 3 匹、各投与群 4 匹）の妊娠 8 日～18 日に DBP（0（コーン油）、33、50、100、300、600 mg/kg 体重/日）を強制経口投与し、妊娠 18 日で帝王切開し、胎児精巣（対照群 9 匹/3 腹、各投与群 12 匹/4 腹）の *ex vivo* における T 産生量を調べたところ、対照群と比べて 300 mg/kg 体重/日以上の投与群で減少し（$p<0.01$）、ED_{50} は 440 mg/kg 体重/日であった。なお、母動物体重や腹単位の生存胎児数、胚吸収及び胎児死亡率に投与の影響はみられなかった。また、同時に試験した BBP、DEHP 及び DiBP では 300 mg/kg 体重/日以上の投与群で、フタル酸ジペンチルは 100 mg/kg 体重/日以上の投与群で T 産生量が減少し、影響のみられない最大用量はそれぞれ 100 及び 50 mg/kg 体重/日であった。

Lehmann ら（2004）及び Struve ら（2009）は、妊娠 SD ラットの妊娠 12～19 日に DBP を強制経口又は混餌投与し、妊娠 19 日の胎児精巣の T 濃度の低下した用量（それぞれ 50 及び約 100 mg/kg 体重/日）以上の用量において、精巣のコレステロール合成経路遺伝子（*Cyp11a1*、*Cyp17a1*、*Scarb1*、*Star*）の m-RNA 濃度やタンパク質（SCARB1、STAR）の発現の減少が伴った（$p<0.05$）。

Johnson ら（2011）は、ステロール調節エレメント結合タンパク質（SREBP）に着目し、妊娠 F344 ラットの妊娠 12 日から DBP（500 mg/kg 体重/日）を強制経口投与し、妊娠 20 日に帝王切開し胎児精巣を調べた。その結果、対照群と比べ *Srebf2* 及び *Cyp11a1*、*Cyp17a1*、*Scarb1*、*Star* の m-RNA 濃度が減少していた（いずれも $p<0.05$）。SREBP2 はライディッヒ細胞で免疫発現が統計学的に有意に減少していたが、精巣ホモジネートのウエスタンブロット解析による精巣全体の濃度では統計学的有意差はなかった。なお、雄胎児の AGD 短縮並びに胎児精巣の T 及び総コレステロール濃度の減少が伴った（いずれも $p<0.05$）。

Shirai ら（2013 事務局）が妊娠 SD ラットの妊娠 12 日～21 日に DBP（100 mg/kg 体重/日）を強制経口投与し、雄出生児を 5～17 週齢にかけて観察したところ、精巣の電子顕微鏡による観察では思春期以前（5 週齢）からライディッヒ細胞の滑面小胞体に形態変化が生じており、対照群では多数が膨張していたのに対し、多くが非膨張嚢であった。さらに性成熟（9 週齢）以降に、統計学的に有意なライディッヒ細胞数の増加並びにその滑面小胞体量の減少が認められた。なお、血清 T 濃度は試験期間中ほぼ一定（1 ng/mL 未満）して対照群より低値を示し、血清 LH 濃度は性成熟に達した 9 週齢以降で増加していた（$p<0.05$）。Shirai らは、分子機構や用量反応性は完全に明らかではないが、これらの観察結果と T 及び LH の血清濃度変化の間に関連が示されるとしている。

また、高用量であるが Kim ら（2010a△）が妊娠 SD ラットの妊娠 10～19 日に DBP（250～700 mg/kg 体重/日）を強制経口投与したところ、700 mg/kg 体重/日投与群において、娩出された雄児動物（31 日齢）のジヒドロテストステロン（DHT）及び T の血清中濃度に低下がみられた（いずれも $p<0.05$）。一方、若齢（3 週齢）の雄 SD ラットへ DBP（500 mg/kg 体重/日）を単回経口投与すると、投与 3 時間後に血清 LH 及び精巣中 T の減少がみられたが、7 日間の反復投与では、精細胞の喪失による精巣委縮が生じたものの、精巣中 T 濃度は対照群の値とほとんど同一だったとの報告（Alam et al. 2010a）、雄の成獣ラットへの DBP（500 mg/kg 体重/日）15 日間投与で血清 T の低下がみられた報告がある（O'Connor et al. 2002）[27]

d. 複合影響

フタル酸エステル類は、抗アンドロゲン様作用が知られている他の環境化学物質とともに、複合影響をおよぼす可能性が指摘されている。

妊娠ラットの妊娠 14～18 日に、DBP と DEHP 又は DBP と BBP、あるいはこれらに AR アンタゴニスト 4 種を加えた混合物の経口投与を行うと、雄出生児に

[27] （8）②b.に記載

AGD 短縮[28]、残留乳頭/乳輪数[29]並びに尿道下裂及び精巣上体や精巣導帯の形成不全の発生頻度に用量相加的[30]あるいはそれ以上の増加がみられたとの報告（Rider et al. 2008、2009、Howdeshell et al. 2007）や、ラット胎児精巣の T 産生（*ex vivo*）を阻害する 5 種類のフタル酸エステル（DBP、DiBP、DPP、BBP 及び DEHP）を、妊娠ラットの妊娠 8 日～18 日に混合物として経口投与すると、累積的に作用し、用量相加的な雄胎児精巣のステロイド産生（*ex vivo*）の阻害や胎児死亡率の増加がみられたとの報告（Howdeshell et al. 2008）がある。さらに、妊娠 SD ラットに芳香族炭化水素受容体を介して作用する 2,3,7,8-テトラクロロジベンゾパラダイオキシン（妊娠 14 日、単回）と AR を介して作用する DBP（妊娠 14 日～18 日、4 日間反復）を経口投与すると、雄出生児に精巣上体又は精巣の奇形、輸精管形成不全、尿道下裂及び肝臓の肉眼的病理所見の発生頻度並びに精巣上体又は精巣の重量減少度に反応相加的[31]な予想を上回る増加がみられたことが報告されている（Rider et al. 2010）。

Sharpe（2008）のレビューでは、雄ラット胎児のフタル酸エステル暴露により、雄性プログラム期間（male programming window）内に T 濃度が低下すると、雄性生殖障害（disorder）が誘導されると考えられるが、各物質単独では濃度が低く影響がないか少ない場合でも、混合物では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を示唆している。また Rider ら（2010）は、ラットを用いた試験報告において、雄性生殖器官の発生に作用する化学物質混合物の子宮内暴露において、全く毒性機序のことなる化合物も含め、反応相加的な予測を上回る用量相加的な累積作用が頻繁に認められたことから、分化した組織において相互に接続するシグナル経路の動的相互作用をかく乱することにより、個々の化合物のメカニズムや作用様式に関わらず累積的な用量相加的影響が生じることを指摘している。

e. アンドロゲン様作用のまとめ

DBP のラット又はヒトの AR に対する作用について、*in vitro* 試験では、受容体結合試験において高用量~~の DBP に~~で弱い結合性を認めた~~が報告~~報告もあるが~~されているが~~（佐藤ら 2004）、結合性は認められないとした報告もある（Kim et al. 2010b、経済産業省 2007）~~と判断されている（Kim et al. 2010b、佐藤ら 2004）~~。また、組換え培養細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイでは、DBP のアゴニスト及びア

[28] 対照群の平均 AGD に対する減少率（%）

[29] 最大乳輪数（12）に対する残留乳輪数率（%）

[30] 用量相加：複合物質へのばく露の影響が、それぞれの組成成分を効力で補正した合計の影響と等しい（CERI 2013）

[31] 反応相加：複合物質へのばく露の影響が、それぞれの組成成分により起こりうるリスクの総計と等しい（CERI 2013 を一部改変）

ンタゴニスト活性は認められないと判断された報告（佐藤ら 2004、経済産業省 2007）、高用量においてアンタゴニスト活性が示されたとする報告（Shen et al. 2009、Christen et al. 2010）があった。このうち 2 報告で MBP の活性も検討しており、DBP で活性がみられた試験（Shen et al. 2009）では、より低用量で活性が示されたが、他の報告（佐藤ら 2004）では活性は認められないと判断された。また、*in vivo* におけるスクリーニング試験（ハーシュバーガー試験）では、DBP は試験条件により陰性と陽性を示す場合がある（Ashbey and Lefevre 2000）。さらに、成獣への投与でみられた種々の性ホルモン濃度の変化動向に基づき、DBP の抗アンドロゲン様作用は AR を介さないものとする見方がある（O'Connor et al. 2002）。

母動物への DBP 投与により子宮内暴露した雄ラットについて、胎児精巣における T 産生能又は T 濃度の低下（Howdeshell et al. 2008、Lehmann et al. 2004、Struve et al. 2009、Johnson et al. 2011）、さらに出生後に血清 T 濃度の低下（Shirai et al. 2013、Kim et al. 2010a）が報告されており、比較的低用量（50～100 mg/kg 体重/日）から影響がみられた試験があった。一方、高用量投与（500 mg/kg 体重/日～）で、若齢のラットの精巣中 T 濃度が一過性の低下を示した報告（Alam et al. 2010a）、成体ラットで血清 T の低下がみられた報告もある（O'Connor et al. 2002）。これらの報告における精巣のコレステロール合成酵素の発現やライディッヒ細胞の微細構造の変化から、DBP の作用機序にテストステロン生合成経路への関与が疑われている[32]。

また、精巣でのテストステロン生合成の低下、さらに生殖器官の奇形及び AGD 短縮、残留乳頭の増加又は包皮分離遅延といったアンドロゲン関連エンドポイントについて、DBP と他のフタル酸エステルや抗アンドロゲン様作用物質との相加作用が報告されており、各物質単独では濃度が低く影響がないか少ない場合でも、影響が生じる可能性が示唆されている（Sharpe 2008、Rider et al. 2010）。

③ 精巣毒性及び雄生殖器系の発生影響の作用機序

a. 精巣における酸化ストレスの誘導

Zhou ら（2010、2011）は、成体ラットに精巣及び精巣上体の構造及び機能に変化が生じた DBP 投与量 250～500 mg/kg 体重/日において、それぞれの器官に酸化ストレスマーカーであるマロン酸ジアルデヒド（MDA）濃度の増加、スーパーオキシドジスムターゼ（SOD）及びグルタチオンペルオキシダーゼ（GSH-Px）活性の減少、そのほか精巣にグルタチオン（GSH）濃度の減少、精巣上体に α グルコシダーゼ活性の減少がみられたことから、酸化ストレスの誘導による影響を示唆している。

[32] 試験の詳細は２．（６）⑪⑫に記載

b. 胎児～幼若期精巣の体細胞の増殖抑制、精巣形成不全と AGD 短縮

Boekelheide ら（2009）は妊娠 SD ラットに DBP 500 mg/kg 体重/日を妊娠 12 日から帝王切開前日又は妊娠 21 日まで強制経口投与し、雄の胎児（妊娠 17～21 日）及び出生児（生後 1～2 日）の精巣の経時変化を組織学的及び形態計測学的に観察した。胎児の精巣では投与により、体細胞の増殖が阻害されたが、アポトーシスに変化はみられなかった。また、出生後には投与群の細胞増殖は亢進し、生後 2 日までに精巣容積及び総細胞数は対照群と同程度になった。Boekelheide らは、DBP はラット胎児精巣の体細胞増殖の阻害により可逆的な精巣サイズの減少をもたらすが、発育不全の一因となる精細管の発生を変化させる根本的なメカニズムは、アポトーシスの増加より、むしろ体細胞増殖の低下であると結論している。

また、van den Driesche ら（2012）は、妊娠 Wistar ラットへ DBP（500 又は 750 mg/kg 体重/日）を強制経口投与し、胎齢 13.5 日～20.5 日、胎齢 15.5 日～18.5 日又は胎齢 19.5 日～20.5 日に胎児を暴露した。胎齢 21.5 日の雄胎児を調べると、胎齢 19.5～20.5 日暴露群を除き、対照群に比べ AGD の短縮並びに精巣の巣状形成不全（ライディッヒ細胞の大凝集[33]）の面積率の増加がみられた（いずれも $p<0.001$）。なお、精巣あたりの T 量は投与期間に関わらず減少した（$p<0.05$）。全ての児動物データ[34]を用いた線形回帰分析では、胎齢 21.5 日の AGD とライディッヒ細胞の大凝集の面積率に負の関連がみられ、暴露期間を胎齢 13.5～20.5 日に限定すると、AGD と精巣あたりの T 量との間に正の関連が、精巣あたりの T 量とライディッヒ細胞の大凝集の面積率との間に負の関連がみられた（いずれも $p<0.0001$）。van den Driesche らは胎齢 15.5～18.5 日に DBP に暴露した動物にみられるライディッヒ細胞大凝集の面積率の増加と AGD 短縮が強い関連をみいだし、DBP による精巣の形成不全及び初期の胎児ライディッヒ細胞機能不全の両方を決定する共通の初期メカニズムのために生じると考察している。

Moody ら（2013）は雄の C57BL/6J マウスの生後 4 日から DBP（1、10、100、500 mg/kg 体重/日）を強制経口投与したところ、~~3 日間投与後の~~生後 7 日（3 日間投与）では 500 mg/kg 体重/日投与群で精巣の増殖性細胞核抗原陽性のセルトリ細

[33]精巣の 3 断面における総ライディッヒ細胞凝集面積の 5%以上の面積の凝集

[34]併行した対照群、デキサメタゾン（100 μg/kg 体重/日、皮下投与）及びデキサメタゾンと DBP（500 mg/kg 体重/日）併合投与群を含む。著者らは、デキサメタゾンは DBP の内分泌作用を増悪するが、単独投与では検出可能な精巣形成不全を起こさずに中程度のライディッヒ細胞のステロイド合成機能の低下及び AGD の短縮させることを確認している（van den Driesche et al. 2012）。

胞（SOX9 陽性）の割合が減少したが、アポトーシスに投与による変化はみられなかった。

~~10 間投与後の~~生後 14 日(10 日間投与)では 1 mg/kg 体重/日以上の投与群で AGD の短縮、10 mg/kg 体重/日以上の投与群でセルトリ細胞成熟及び生殖細胞形成に遅れがみられた。免疫組織化学検査ではセルトリ細胞において、10 mg/kg 体重/日以上の投与群でインヒビン α 及び細胞質へのコネキシン 43（血液-精巣関門の発達に関与）の発現、100 mg/kg 体重/日以上の投与群で抗ミュラー管ホルモンの発現が増強した。また、ホルモンの血清濃度測定では、500 mg/kg 体重/日投与群でインヒビン α の上昇及び T の低下がみられたが（p＜0.05）、~~投与による~~ FSH の投与による変化はみられなかった。また、500 mg/kg 体重/日の精巣のアンドロゲン受容体シグナル遺伝子発現の変動を調べると、対照群と比較して、*Rhox*5 及び *Spinlw1* 低下、*AMH* 上昇がみられた。Moody らは分子生物学、内分泌学及び精巣の形態学的解析から、DBP の作用は、アクチビンの抑制因子インヒビンの発現上昇を介したアクチビンシグナル伝達の抑制による影響であると示唆しており、アクチビン A はアンドロゲン生合成酵素の調節に関与しているため、間接的な抗アンドロゲン作用によるものであると考えている。

Bao ら（2011△）が 5 週齢の雄 SD ラットへの DBP（0.1、1.0、10、100、500 mg/kg 体重/日）の 30 日間の強制経口投与したところ、100 mg/kg 体重/日以上の投与群で精巣の発達異常、精細管萎縮、生殖細胞の減少及び血清ホルモン濃度の異常といった毒性影響が認められた。さらに、10 mg/kg 体重/日以下投与群における精巣のプロテオミクスでは、20 種のタンパク質の発現に変化がみられ、精原～精子細胞核の HnRNPA2/B1[35]が 10 mg/kg 体重/日投与群で、セルトリ細胞のビメンチンが 0.1 及び 10 mg/kg 体重/日投与群で及びライディッヒ細胞の SOD1 が全投与群で、いずれも有意に発現が増加した。以上の結果から Bao らは、低用量の DBP は、精巣に明らかな形態変化は引き起こさないが、セルトリ細胞及びライディッヒ細胞の数と機能の変化とともに、精子形成に関与するタンパク質の発現を変化させると結論した。

c. 雄性生殖細胞の発達・分化の抑制、アポトーシス

胎齢 13.5 日から DBP 暴露（妊娠 Wistar ラットへの 500mg/kg 体重/日の経口投与）を開始した様々な胎齢の雄ラット胎児（又は乳児）の生殖細胞数及び分化が調べられている。DBP 暴露群の生殖細胞数は胎齢 14.5 日～生後 15 日まで一貫して対照群より少なく、その増減は胎齢 15.5 日に極小（対照群より 40%低値、p＜0.001）

[35] Heterogeneous nuclear Ribonucleoprotein A2/B1

になり、胎齢 19.5 日で極大（統計学的有意差なし）となった後、一貫して減少し、胎齢 21.5 日で対照群より 38%低値、生後 6～15 日では 77～67%低値を示した（いずれも p＜0.05）。この間の生殖細胞のアポトーシスは胎齢 14.5～17.5 日で部分的に観察されたが、胎齢 19.5～21.5 日では認められなかった。また分化については、暴露群の胎児生殖細胞において、対照群と比べ OCT4[36]（胎児幹細胞に発現）及び DMRT1[37]（雄の性決定等に発現）の発現及び消失の遅延が免疫組織化学的に観察されており、Jobling らはこれらのマーカーの性質上、ヒトに関係する可能性を示唆するものとしている（Jobling et al. 2011）。

一方、性成熟前である 3 週齢の雄の SD ラットへの DBP（500 mg/kg 体重）の単回投与により精細胞のアポトーシス数が増加し、経時的に回復したが、投与 6 日後まで有意であったこと（p＜0.05）が報告されている（Alam et al. 2010a）。

d. 雄性生殖器系の発生異常と分子メカニズム

Zhu ら（2009）及び Liu ら（2012）は妊娠 SD ラット（各群 10 匹）の妊娠 14～18 日に DBP（750 mg/kg 体重/日）を投与して作出した雄（生後 7 日）の尿道下裂モデル（発生頻度は 44～47%）を用いて検討した。Zhu らはランダムに選んだ尿道下裂児 10 匹と対照群児動物 10 匹の生殖結節における遺伝子発現を比べたところ、尿道下裂群は骨形成タンパク質 4 及び 7（*Bmp 4*、*Bmp7*）、ソニックヘッジホッグ（*Shh*）、パッチド 1（*Ptch1*）、線維芽細胞増殖因子（FGF）8、10 及び r2（*Fgf8*、*Fgf10*、*Fgfr2*）、トランスフォーミング増殖因子-β1 及び-βrIII（*Tgf-β1*、*Tgf-βrIII*）の m-RNA 濃度低下がみられた（いずれも p＜0.05）（Zhu et al. 2009）。続報（Liu et al. 2012）では尿道下裂児について、GT における AR 及び FGF8 の m-RNA 及びタンパク質の発現の低下並びに血清中 T 濃度の 43%の低下を確認しており、著者らは、胚発生に不可欠なアンドロゲン誘導増殖因子である FGF8 とアンドロゲンの間に相互作用が示され、DBP による尿道下裂や異常な器官発達に重要な役割を果たしている可能性があると結論した。

Zhang ら（2011）は妊娠 SD ラットの妊娠 14～18 日に DBP（750 mg/kg 体重/日）を投与すると、妊娠 19 日の雄胎児の生殖結節において β-カテニン及びグリコーゲン合成酵素キナーゼ-3β（GSK-3β）が減少し、Phospho-GSK-3β 及び核内因子 κB が増加していることをみいだした（いずれも p＜0.05）。なお、雌胎児では生殖結節の β-カテニンレベルに投与の影響はみられなかった。Zhang らは、DBP は、Wnt/β-カテニン経路の抑制により、ラットの雄胎児の GT の発生に影響を及ぼす可能性を示唆している。なお、投与群の雄胎児の 41.3%に尿道下裂が、44.8%に停留精巣が発生し、体重で除した AGD の短縮がみられている。

[36] Octamer-binding Transcription factor3/4
[37] Doublesex and MAB-3-Related Transcription factor 1

Kim ら（2010a△）は、妊娠 SD ラットの妊娠 10～19 日に、DBP（0（コーン油）、250、500、700 mg/kg 体重/日）を強制経口投与し、娩出された雄児動物を生後 31 日に剖検した。その結果、700 mg/kg 体重/日投与群で尿道下裂（動物の 47%）及び停留精巣（46%）が増加し、DHT 及び T の血清中濃度（生後 31 日）が有意に減少した（いずれも p＜0.05）。500 mg/kg 体重/日以上の投与群で停留精巣中の ERα の m-RNA 及びタンパク質の発現の増加がみられた（p＜0.05）。免疫組織化学的には（各群 6 匹、尿道下裂の有無不明）、700 mg/kg 体重/日投与群で近位陰茎での AR 及び 2 型 5α リダクターゼの発現が著しく低下し、近位陰茎尿道上皮における SHH 発現の有意な低下が認められた。なお、Jiang ら（2011 無）による妊娠 SD ラットの妊娠 12～18 日に DBP（850 mg/kg 体重/日）を投与では、肛門直腸奇形が雄出生児の 39.5%にみられた。この時の直腸末端組織では AR 遺伝子、*Shh* 及び *Bmp 4* の m-RNA の発現が低下した。

Scarino ら（2009）は、Wistar ラット（雌、各群 10 匹）の妊娠 12 日から出産後 21 日に DBP（0（コーン油）、100 mg/kg 体重/日）を経口投与し、雄児動物を生後 90 日で剖検し、前立腺（腹側）を調べた。腹側前立腺の絶対及び相対重量に対照群と投与群（各 10 匹）の間に有意な差はなかったが、組織の立体的解析（各 6 匹）では、対照群と比べ投与群の組織割合が上皮及び間質で増加し、内腔で減少した（いずれも p≦0.05）。また、上皮細胞の細胞増殖インデックス（Ki-67 陽性細胞割合）が増加し、間質の散在性炎症性湿潤所見数[38]が増加した（いずれも p≦0.05）。腹側前立腺ホモジネート（各 5 匹）の分析では AR 及び MMP 9[39]タンパク質の発現増加が認められた（p≦0.05）。なお、同じ研究グループによる同じ試験設計の 2 報告（ただし中間と殺等の結果有）において、雄児では投与群の胎児期の精巣に病理組織学変化（ライディッヒ細胞の大凝集、MNG の出現、間質組織割合の増加、原生殖細胞の存在する精細管割合の減少）がみられたが、90 日齢~~では~~の AGD、精子パラメーター並びに精巣上体の機能・構造及び AR 発現に変化はみられなかった（Scarano et al. 2010）。一方、雌児では対照群に比べ出生時体重が高値（p≦0.05）を示した以外、妊娠 20 日の胎児卵巣の組織病理学的所見、生後 4 日の AGD 及び残留乳頭、生後 60～80 日における卵巣の組織病理学的所見、発情周期、LH・FSH・プロゲステロン血清濃度、卵巣及び子宮重量、性行動及び交配試験結果に投与による変化はみられず、生殖発生又は機能はかく乱されなかった（Guerra et al. 2010）。

[38] 3 組織範囲/匹を観察し、所見のみられた範囲数

[39] Matrix Metalloproteinases 9

e. 精巣毒性及び雄生殖器系の発生影響の作用機序のまとめ

成体ラットへの DBP250～500 mg/kg 体重/日の経口投与により精巣及び精巣上体における酸化ストレスの誘導がみられた（Zhou et al. 2010、2011）。

胎児期あるいは胎児～授乳期に暴露したラット又は離乳前に暴露したマウスにおいて、精巣体細胞のアポトーシスの変化を伴わない増殖抑制（Boekelheide et al. 2009、Moody et al. 2013）、ライディッヒ細胞の機能不全を示す大凝集（van den Driesche et al. 2012）、MNG の出現（Scarano et al. 2010、他）、前立腺の組織割合の変化（Scarano et al. 2010）が報告されている。アポトーシスの変化を伴わない生殖細胞数低値及び生殖細胞の分化の遅延（Jobling et al. 2011）の報告もあるが、生殖細胞のアポトーシスの増加を認めた報告もあった（Alam et al. 2010a）。これらのは母ラットへの 100～850 mg/kg 体重/日、典型的には 500 mg/kg 体重/日の投与試験において観察された。マウスの報告（Moody et al. 2013）は生後 4 日から 500 mg/kg 体重/日を 10 日間投与した時の影響である。

また、雄性生殖器（奇形を呈したものを含む）について、様々な成長因子や転写活性化因子及び AR などの発現に関して~~が~~調べられている。DBP の直接投与では、10 mg/kg 体重/日投与で発現の変化がみられた試験があった（Bao et al. 2011、Moody et al. 2013）。母動物への投与により~~間接的~~母体を介して~~に~~胎児や乳児を暴露した試験は 100～850 mg/kg 体重/日の用量範囲で実施されている（Zhu et al. 2009、Liu et al. 2012、Zhang et al. 2011、Jiang et al. 2011、Kim et al. 2010a、Scarino et al. 2009、2010）。

雄ラットにおいて AGD の長さと胎児精巣 T 濃度に正の関連が示されているが（van den Driesche et al. 2012）、分子機構は明らかにされていない。一方、生後 4 日から離乳までの DBP 1 mg/kg 体重/日の経口投与により、雄マウスに AGD 短縮がみられたとの報告~~（Moody et al. 2013）もある。~~があり、間接的な抗アンドロゲン作用によるものと結論されている（Moody et al. 2013）。

④ 精巣毒性の種差

a. げっ歯類への経口投与試験

4～6 週齢の雄の SD ラット、TO 系マウス、Dunkin-Hartley 系モルモット及び DSN シリアンハムスターに DBP（2,000 mg/kg 体重/日）を 7～9 日間強制経口投与したころ、ハムスター以外の動物種の精巣の絶対重量に有意な減少がみられ、ラット及びモルモットでは、ほとんど全ての精細管が萎縮し、精子細胞と精原細胞の減少がみられたが、マウスでは軽度な巣状萎縮のみが観察され、ハムスターでは対照動物と区別できる変化は観察されなかった（Gray et al. 1982）。非げっ歯類である雄ウサギへの DBP（400mg/kg 体重/日）の子宮内暴露、思春期及び成獣となってから投与した試験でも精細管に変性がみられている（Higuchi et al. 2003）。

また、MBP を雄ラット（800 mg/kg 体重/日）又は雄ハムスター（1,600 mg/kg 体重/日）に 5 又は 9 日間経口投与すると、ラットでは全例で精細管の 90%以上が萎縮したが、ハムスターでは散発的な萎縮が 2/7 匹に生じた（Gray et al. 1982）。この報告に対し Foster ら（1983）は、ラット及びハムスターに DBP 又は MBP を経口投与すると、いずれもよく似た排泄プロフィールが示され、尿中に異なる代謝物は観察されないこと、又、*in vitro* において、小腸ホモジネートによる DBP の加水分解活性はハムスターとラットで同レベルであり、一方、精巣ホモジネートのβグルクロニダーゼ活性は、ハムスターよりもラットの方が統計学的に有意に高いことを調べ（基質により 2.2～6.5 倍）、DBP 又は MBP 経口投与後のハムスターにおける精巣障害の欠如は、精巣での非抱合型 MBP 濃度がラットと異なる可能性があることで説明しうるとしている。

b. 異種移植によるヒト胎児精巣モデル

マウス、ラット及びヒト胎児の精巣切片を、免疫不全げっ歯類を宿主として異種移植し、宿主に DBP を経口投与して精巣移植片の病理変化やステロイド合成能が調べられている。

Micthell ら（2012）は正常に発育したヒト胎児精巣（n=12、妊娠 12～20 週）を雄の去勢 CD-1 ヌードマウスの背部皮下に異種移植した。移植期間（6 週間）中はヒトの妊娠状態を模するため全宿主にヒト絨毛性ゴナドトロピンを投与し、最終 4 又は 21 日間に宿主に溶媒（対照、コーン油）、DBP 又は MBP（暴露群、いずれも 500 mg/kg 体重/日）を投与した。陽性対照としてラット胎児精巣（n=5～6、胎齢 17.5 日）を用い、宿主に DBP（0、500 mg/kg 体重/日）を移植当日から 4 日間投与した。移植期間終了後に精巣を回収した結果、ヒト胎児精巣の生着率（～80%）及び総移植片重量は対照と DBP 暴露群との間に統計学的有意差はなかった。また、異種移植精巣のテストステロン合成能は、宿主の血清テストステロン濃度及び宿主の精嚢重量で評価されたが、ヒト胎児精巣を移植した場合、投与期間に関わらず DBP 暴露による影響はなく、MBP を投与した場合も同様に影響はみられなかった。対照的にラット精巣の移植では、DBP 暴露により宿主の精嚢重量が減少（p=0.003）に示される T 合成能の低下が認められ、さらに暴露群の精巣移植片では、*Cyp11a1* 及び *StAR* の m-RNA 濃度が対照群より低下していた。Micthell らは、ヒト胎児精巣への DBP 暴露では、ラットで生じるほど T 合成が損なわれることはありそうにないと結論している。

Hegar ら（2012）は、宿主として雄の成体 Crl:NIH-Foxn1^{rnu} ヌードラット[40]（各群 7～9 匹）を用い、妊娠 F344 ラットの妊娠 16 日又は妊娠 C57BL/6NCrl マウスの妊娠 15 日に採取した胎児精巣を腎被膜下に移植した。左側を移植した宿主（対照群）には溶媒（コーン油）を投与し、右側精巣を移植した宿主（暴露群）には DBP（250、500 mg/kg 体重/日）を 2 日間投与した。また、ヒト胎児精巣（n=26、妊娠 10～23 週）は、1 mm^3 切片にして一個体を複数の宿主の腎被膜下に移植した。対照には自家対照（own control）を用い、宿主には溶媒（コーン油）を投与した。暴露群の宿主には DBP（100、250、500 mg/kg 体重/日）を 1～3 日間強制経口投与した。いずれも移植 24 時間後から投与を開始し、最終投与 6 時間後に移植片を回収して調べた結果、ラット及びマウスの胎児精巣ではいずれの暴露群でも多核生殖細胞が誘導され、対照群に比べ総生殖細胞あたりの多核生殖細胞（MNG）数が増加していた（いずれも $p<0.05$）。しかし、ステロイド合成の抑制はラットにのみ生じた（500 mg/kg 体重/日投与群における *Cyp17a1*、*Scarb1*、*Insul3* 及び ex vivo の精巣 T 産生の有意な減少）。また、ヒト胎児精巣の異種移植細胞片（各群 6 から 13 移植片、250 mg/kg 体重/日、2 日間投与群のみ 97 片）では全暴露群で MNG が誘導されたが（$p<0.05$）、ステロイド合成遺伝子の m-RNA（*CYP11A1*、*CYP17A1*、*SCARB1*、*STAR*、*INSUL3*）濃度に投与による有意な変化はなかった。

c. 精巣毒性の種差のまとめ

げっ歯類への DBP 投与における精巣毒性はラット≒モルモット＞マウスで、ハムスターにはほとんど影響がみられないことが報告されている（Gray et al. 1982）。一方、母動物毒性又は一般毒性を伴わずに、雄ラットに生殖発生毒性が生じる用量（100～500 mg/kg 体重/日）において、非げっ歯類のウサギの雄にも生殖系への影響が生じ、胎児期の曝露の方が成獣期より感受性が高いことが報告されている（Higuch et al. 2003）。また、授乳期間中に低用量（1 mg/kg 体重/日）を強制経口投与したマウスに、ラットと同様な組織学的な精巣病変がみられた（Moody et al. 1013）。最近報告された胎児精巣の異種移植の試みでは、マウス及びヒトの T 合成は DBP による影響はラットほどみられなかったが、いずれの種にも MNG が誘導されていた（Micthell et al. 2012、Hegar et al. 2012）。

[40]ラット又はマウスの胎児精巣を雄の成体 BALB/c ヌードマウス（8～10 週齢）を宿主（各群 8 匹）に DBP（0、250 mg/kg 体重/日）を 2 日間投与した場合、生殖細胞数、MNG/生殖細胞及びステロイド合成 mRNA 濃度変化はヌードラットを宿主とした場合と同じ結果を得たことが確認されている（Hegar et al. 2012）。

⑤細胞形質転換試験

遺伝毒性発がん物質のほかに発がんプロモーターも検出可能な、哺乳類細胞を用いた細胞形質転換試験が実施された。

マウス Balb3T3 細胞を、代謝活性化系非存在下で DBP（培養液中濃度：0.0034～0.082 μLDBP/mL）に 3 日間暴露後、4 週間培養したところ（細胞生存率 96.3～0.5%）、対照と比べて細胞形質転換巣数に有意な増加はみられなかった（Barber et al. 2000）。なお、代謝活性化系存在下での試験は実施されなかった。

⑥その他

a. 甲状腺ホルモン系への影響

in vitro 試験では、ラット下垂体 GH3 細胞の甲状腺ホルモン依存性の増殖に関して DBP（10 mM）は T_3（5 n M）の 13%の活性を示した。また、50 mM の DBP は共存する 0.5 nM の T_3 の活性を 50%阻害した（T-Screen 試験）（Ghisari et al. 2009）。また、甲状腺ホルモン受容体-レポーター遺伝子導入 CV-1 細胞を用いた転写活性化試験では、T_3（1 nM）による転写活性化は DBP 又は MBP（いずれも 1～100 μM）により阻害された。DBP 又は MBP の IC_{50} は 13.1 又は 2.77 μM であった。（Shen et al. 2009）。

一方、内分泌活性物質のスクリーニングとして、雄の SD ラット（10 週齢）に DBP（250～1,000 mg/kg 体重/日）を 15 日間強制経口投与し、血中ホルモン濃度変化を調べたところ、250 mg/kg 体重/日以上の投与群で血清 T_4 の低下が、より高用量の 500 mg/kg 体重/日以上の投与群で血清 T_3 の低下が認められた。しかし血清 FSH 濃度や甲状腺の相対重量及び検鏡所見に変化はなかった（O'Connor et al. 2002、（8）② b.に T、LH、E2、FSH の変化を記載）。

b. 糖質コルチコイド系への影響

in vitro 試験では、DBP（1 mM）はコルチコステロン 10 nM 共存下でヒト及びラット腎臓ミクロゾームの 11β-ヒドロキシステロイド脱水素酵素 2 型（11β-HSD2）活性を有意に阻害し、11β-HSD2 に対する IC_{50} はラットで 13.7 μM、ヒトでは阻害はより弱く＞1 mM であった。また、MBP はどちらにも阻害を示さなかった（Zhao et al. 2010）。

また、5 週齢の雄の SD ラットに DBP（250～2,000 mg/kg 体重/日）を 30 日間強制経口投与したところ、血清 T の減少が 500 mg/kg 体重/日以上の投与群で、血清糖質コルチコイドの上昇が 1,000 mg/kg 体重/日以上の投与群にみられた。精巣では 1,000 mg/kg 体重/日以上の投与群において 11β-HSD1 及び糖質コルチコイド受容体の mRNA 発現が増加する一方、StAR の mRNA 発現が減少した（いずれも $p < 0.05$）。副腎の相対重量に投与による有意な変化はみられなかった。その後、15

日間休薬するとこれらの変化はみられなくなり、著者らは、DBP 暴露により、糖質コルチコイド経路を介して T 産生が阻害され、暴露が終了すると回復する可能性を示唆している（Zhang et al. 2009a）。

c. ペルオキシゾーム増殖因子受容体（PPAR）の活性化

Bility ら（2004）は、フタル酸モノエステルは PPAR のリガンドとして機能する活性化代謝物と思われることから、*in vitro* において複数のモノエステルの PPAR 活性化作用を調べた。マウス又はヒト PPARα-レポーター遺伝子を組込んだマウス 3T3-L1 細胞を用いた転写活性化試験において、MBP（3～200 μM）を作用させたところ、転写活性化の増加した濃度及び最大誘導（溶媒対照に対する倍数）は、マウス PPARα で 100 μM 及び 3.7 倍、ヒト PPARα で 200 μM 及び 2.7 倍であった。本試験における PPARα の活性化能順位は（MnOP≒MINP）＞MEHP＞MBzP＞（MBP≒MEP）であり、マウスとヒトでは種差がみられ、マウスの方が低濃度で活性化され、誘導倍率も大きかった。さらに、ラット肝癌由来 FaO 細胞及びヒト肝癌由来 HepG2 細胞に MBP（10～100 μM）を作用させると、PPARα の標的遺伝子であるアシル CoA オキシダーゼの m-RNA は、ラット FaO 細胞でのみ増加した（2.86～2.70 倍、$p \leqq 0.05$、ノーザンブロット解析）。

d. メタボロミクス

メタボロミクスにより、DBP による発生異常やペルオキシゾーム増殖に関する代謝変化が生じていることが報告されている。

妊娠 C57 マウスの 妊娠 7 日～妊娠 9 日に DBP（0（オリーブ油）、50、300 mg/kg 体重/日）を強制経口投与後妊娠 16 日に母体血清、胎盤及び胎児脳組織のメタボロミクス解析が行われた。その結果、両投与群とも母体血清での分岐アミノ酸（バリン、イソロイシン及びアミノマロン酸減少、高用量群ではイソロイシンのみ減少）、クエン酸回路中間代謝物（フマル酸及びマレイン酸減少）、胎盤でのプリン体分解物（尿素、アラントイン及びキサンチン増加、低用量投与ではキサンチンのみ増加）、脂質代謝物（オレイン酸、ステアリン酸及びアラキドン酸増加、*cis*-5,8,11,14,17-エイコサペンタエン酸減少）胎児の脳組織での神経伝達物質（イソロイシン、バリン、グリシン、グルタミン酸及び γ-アミノグルタミン酸減少、ピログルタミン酸増加、高用量群ではピログルタミン酸のみ増加）に濃度変化（$p < 0.05$）がみられた。著者らは胎児の神経伝達物質代謝に影響をおよぼす母体の分岐アミノ酸の抑制、抗酸化系の混乱及び潜在的な胎児への脂肪酸輸送阻害が DBP の作用機序に含まれることを明らかにしたとしている（Xia et al. 2011）。

van Ravenzwaay ら（2010）は Wistar ラット（雌雄、9～11 週齢）へ DBP（150、1,000、7,000 ppm）を 28 日間混餌投与し、各ラットの血漿サンプルのメタボロミ

クスを調べた。雄では、7,000 ppm 投与群で測定代謝物 238 種中 47 種に変化（増加 6 種、減少 41 種）があり、1,000 ppm 投与群で変化が非常に弱くなり、150 ppm 投与群に至って生物学的意義の乏しい変化をみるのみとなった。雌では、7,000 ppm 投与群で 238 種中 12 種（増加 6 種，減少 6 種）が変化したのみで、1,000 ppm 投与群でわずかな変化に留まり、150 ppm 投与群でさらに軽微な変化となった。van Ravenzwaay らは、このメタボロミクスの一部はすでに確立したペルオキシゾーム増殖における変化のパターンとよく一致し、雄の 7,000 ppm 投与群でみられた肝臓の PCoA 酸化レベルの増加によって裏付けられるとしている。

e. その他

雄の Pzh:Sfis マウス[41]（雄、20 匹[42]、8 週齢）に、DBP（0（オリーブ油）、500、2,000 mg/kg 体重/回）の強制経口投与（3 回/週）を、精子形成サイクル全体にあたる 8 週間行い、投与雄 1 匹に対して無処置の雌 2 匹を交配した。さらに親世代の 1/4（10 匹）の雌から得た児動物を 8 週齢で同用量投与群同士を交配した。親世代の残りの 3/4（30 匹）の雌を出産前日に帝王切開して胎児を調べたが、奇形発生頻度に投与による変化はみられなかった。1/4（10 匹）の雌が出産した児動物には、両投与群で一時的（生後 2～5 週内）な平均体重の低値や成長遅滞[43]がみられ、開眼が遅れた（$p<0.01$）。また、低用量投与群では雌が雄のほぼ 1/2（36 : 64）で生まれ、膣開口に 2.5 日の遅れがみられた（$p<0.01$）。また高用量投与群では、雄（8 週齢）に精子頭部の奇形率が増加した（$p<0.001$）。なお、親世代、児動物のいずれの交配でも受胎能及び胎児の生存に投与の影響はみられなかった。著者らは、雄の DBP 暴露により次世代動物の性比のかく乱、雌児動物の性成熟の遅延及び雄児動物の精子の質のわずかな低下が引き起こされた可能性があるとしている（Dobrzynska et al. 2011）。本試験では DBP が投与された F_0 雄の生殖系に関するデータ及び F_0 雌の帝王切開群と自然分娩群の振り分け方法が記載されていない。また、F_1 で観察された影響について腹単位の集計がなされていないようである。

３．ヒトにおける影響

（１）急性毒性*（審議済み）*

IPCS が引用している Sandmeyer と Kirwin（1981）による誤飲例の報告がある。23 歳の健常男性労働者が DBP 10 g を誤飲したところ、遅発性の吐き気、嘔吐及びめまいの後、頭痛、目の痛みと炎症、流涙、羞明及び結膜炎がみられた。尿は黄褐色を

[41] アウトブレッドの集団
[42] 試験に用いた雄動物の総数なのか、一群当たりの動物数なのか明記されていない。
[43] 対照群の平均体重から、その標準偏差の 2 倍を差し引いた値未満の体重の動物

呈し、沈渣に極めて多数の赤血球及び白血球が含まれ、中程度のシュウ酸結晶を伴った。2 週間のうちに徐々に回復し、一か月後に完治した（IPCS 1997 **事務局**）。

（２）亜急性及び慢性影響 ***（一部未審議）***

① 職業暴露

Pan ら（2006◎）は、中国において、DBP 及び DEHP を可塑剤に使用している PVC 製フローリング製造工場の男性労働者 74 名（暴露群）と、年齢及び喫煙状況をマッチさせた建設会社の男性労働者 63 名（非暴露群）について、横断的調査を実施した。DBP 及び DEHP の代謝物である MBP 及び MEHP の尿中濃度を暴露指標として、血中の性ホルモン（FSH、LH、遊離テストステロン（fT）、E2）との関係が調べられた。その結果、暴露群は非暴露群に比べ、尿中 MBP 濃度の幾何平均値が高く（644.3 対 129.6 μg/g Cr、p＜0.001）、一方、血清中 fT 濃度の平均値が低かった（8.4 対 9.7 ng/dL、p=0.019）。また、暴露群について、年齢と飲酒で補正した偏相関分析では、MBP 濃度は、fT 濃度と負の相関（r＝–0.253、p＝0.03）が、LH/fT とは正の相関（r=0.216、p=0.034）が認められた。なお、尿中 MEHP 濃度も、暴露群の幾何平均値の方が有意に高かった。

②男性の生殖系に対する影響

ａ．精子パラメーター

雄のげっ歯類では、DBP の暴露が精液の質に影響を及ぼすことが知られている。ヒトにおいて、DBP の暴露指標として代謝物である MBP の尿中濃度や DBP の精液中濃度を用い、精子パラメーター（精液量、精子濃度、精子運動率、精子形態等）との関連性が調べられている。

Duty ら（2003○）は、2000～2001 年に不妊相談を受診したカップルの男性パートナー143 名を対象に、フタル酸エステル代謝物 8 種の尿中濃度と精液中の精子濃度、精子運動率及び精子形態との関連性について調べた。年齢、禁欲期間及び喫煙で調整したロジスティック回帰分析の結果、比重補正後の尿中 MBP 濃度が中央値（16.2 ng/mL）より高い群は、WHO（1999）の精液検査マニュアルの参照値[44]（以下、本項②では参照値という）未満の精子運動率となるおそれが 2.4 倍（95% CI＝1.1～5.0）となり、参照値未満の精子濃度又は精子正常形態率となるオッズも有意ではないが増加傾向がみられた（OR（95%CI）＝2.4（0.8～7.2）又は 1.7（0.8～3.9））。また、MBP 濃度の三分位間の増加に対する、参照値未満の精子運動率

[44] WHO laboratory manual for the examination of human semen and spermcervical mucus interaction. Fourth edition. World Health Organization. Cambridge：University Press, 1999 。参照値として精子運動率＝50%以上、精子濃度＝20×10⁶/mL 以上、精子正常形態率＝4%以上が用いられている。本調査では、参照値未満の精子運動率 63 例、精子濃度 22 例及び精子正常形態率 39 例を含む（参照値以下のパラメーターを複数持つ男性あり）

又は精子濃度となるオッズ増加に、量反応関係がみられた（p for trend＝0.02 又は 0.07）。なお、尿中 MBzP 濃度の増加に対する精子濃度が参照値未満となるオッズ増加にも有意な用量反応関係があった。Hauser ら（2006 **無**）は、この調査を拡大し、2000～2004 年に不妊相談を受診したカップルの男性パートナー463 名（20～54 歳）のうち不適格者を除いた 443 名[45]について、年齢、禁欲期間及び喫煙で調整したロジスティック回帰分析を行った。その結果、比重補正した尿中 MBP 濃度（中央値 17.7ng/mL）の増加に対し、参照値未満の精子濃度となる及び精子運動率となるリスクは用量反応関係を伴って増加した（第 1 四分位群に対する第 2、3、4 四分位群の OR（95%CI）＝3.1（1.2～8.1）、2.5（0.9～6.7）、3.3（1.2～8.5）、p for trend＝0.04 及び OR（95%CI）＝1.0、1.5（0.8～2.6）、1.5（0.8～2.6）、1.8（1.1～3.2）、p for trend＝0.04）。なお、MBzP 濃度の最高四分位群と精子濃度が参照値未満となるリスク増加に関連性が示唆された。一方、MEP、MMP 及び DEHP 代謝物濃度と精子パラメーターとの関連性は有意ではなかった。なお、Hauser ら（2007 **無**）はこの集団の 379 名の精子を用いてコメットアッセイを実施し、年齢及び喫煙で調整して重回帰分析した結果、比重補正した尿中 MBP 濃度の四分位範囲（IQR）の増加に対し、DNA tail（%）が 1.63%（95%CI＝0.20～3.08）増加した。Wirth ら（2008 **事務局**）による予備調査では、米国ミシガン州の不妊クリニックを訪れたカップルの男性パートナー45 名（平均 34.8 歳）を対象に、早朝尿のフタル酸エステル類代謝物 8 種の濃度と精子濃度、精子運動率及び精子形態との関連を調べている。DBP 代謝物として、MBP と MiBP（中央値：24.7 と 5.8 μg/L）を測定し、その合計を暴露指標とした。年齢、飲酒、人種等で調整した多重ロジスティック回帰分析の結果、DBP 代謝物尿中濃度の中央値を境にして比較すると、低濃度群に対する高濃度群における精子濃度、精子運動率又は形態正常精子率が参照値未満となるオッズ比（0.5、0.8 及び 3.3）は有意ではなかった。

一方、スウェーデンにおいて、Jönsson ら（2005 **事務局**）は、重大疾病を持たない無い 18～21 歳の男性 234 名を対象にフタル酸エステル代謝物 5 種の尿中濃度と生殖マーカーとの関連について横断的調査を行った。生殖マーカーとして、精液量、精子濃度、精子運動性といった精液パラメーターのほか、精子クロマチン完全性、精巣上体と前立腺機能の生化学マーカー、血清中の性ホルモン等（FSH、LH、性ホルモン結合グロブリン（SHBG）、T、E2、インヒビン B）濃度を測定したが、尿中 MBP 濃度による最高四分位群（＞36.3 nmol/mmol Cr）と最低四分位群（≦12.4 nmol/mmol Cr）の間で各生殖マーカーの平均値に統計学的有意差がなかった。

[45]参照値未満の精子運動率 60 例、精子濃度 212 例を含む（参照値以下のパラメーターを複数持つ男性あり）

なお、MEP の高濃度群では、運動性精子数の減少、非運動性精子数の増加及び血清 LH 濃度の低下がみられた。

また、Toshima ら（2012 **事務局**）は 2010 年に東京で不妊相談を受診したカップルの男性パートナー42 名（平均 36.8 歳）を対象とした調査を行った。重回帰分析の結果、精子濃度と比重補正した尿中 MBP 濃度（中央値 65.7 ng/mL）の間に有意な関連を見出したが、偏回帰係数は正であった（$p<0.05$）。

中国重慶市における二つの横断的調査が報告されている。Liu ら（2012 **事務局**）は、2009～2010 年に不妊診断を依頼したカップルの男性パートナー97 名（平均 31.5 才）[46]のフタル酸エステル代謝物 6 種の尿中濃度と精液量、精子濃度、精子運動率及び精子運動パラメーターとの関連を調べた。その結果、MBP のスポット尿中濃度（中央値 14.2 μg/g Cr）の第 1 三分位群に対する、第 2 及び第 3 三分位群の参照値未満となる精子濃度の、年齢、BMI、禁欲期間、喫煙及び教育で調整したオッズ比は、6.8（95%CI=0.6～75.3）及び 12.0（95%CI=1.01～143）であり、ごく弱い用量反応関係があった（p for trend=0.05）。一方、Han ら（2013 **事務局**）は、泌尿器並びに生殖に関する疾患の無い 20～40 歳（平均 32 歳）の一般男性 232 名について、MBP、MEP 及び MEHP の尿中濃度と精液量、精子の濃度、運動率、奇形率[47]、さらに精子のコメットアッセイ結果及び血清中性ホルモン濃度との関連を調べた。その結果、有意ではないが、尿中 MBP 濃度が中央値（23.3 μg/g Cr）より高い群では、低い群に比べ、精子が 40×10^6/mL より低くなるおそれが 1.97 倍（年齢と禁欲期間で調整、95%CI＝0.97～4.03）あった。しかし、他のフタル酸モノエステルも含め、その他のエンドポイントと有意な関連はみられなかった。

精液サンプル中のフタル酸エステル（ジエステル体）と精子パラメーターの関連が調査されている。Zhang ら（2006×）が、中国上海在住の 52 名（23～48 歳）を対象として調査したところ、精液中 DBP 濃度（n=37、平均値 0.16 mg/L）は、精液液化時間と正の相関（p=0.003）が、精液量と負の相関（p=0.020）が認められた。なお、液化時間は DEHP、DEP とも正に相関した。

Pant ら（2008 **事務局**）は、インドの農村部及び都市部の健康な男性（21～40 歳）から精液を採取し、パートナーの妊娠状況や受胎障害の診断に基づいて分類した受胎可能群（100 名）と不妊群（200 名）を比較した。その結果、精液中の DBP 濃度（平均 μg/mL±SD μg/mL）はそれぞれ農村部と都市部について、受胎可能群（農村部 0.18±0.03、都市部 0.63±0.10）より不妊群（農村部 1.10±0.16、

[46]参照値未満の精子運動率 11 例を含む

[47] Han らも WHO（1999）の参照値を採用しているが、精子濃度＝40×10^6/mL 以上、精子運動率＝A+B=50%又は A=25%（A:高速前進運動精子、B:低速前進運動精子）及び精子奇形率=15%を選択している。

都市部 1.65±0.22）の方が高かった（いずれも p＜0.05）。また、精液中の DBP 濃度は、精子の濃度及び運動率とは負の相関、DNA 断片化及び活性酸素種とは正の相関がみられた（r＝|0.18～0.20|、p＜0.05）。また、Pant ら（2011 無）による、乏精子症の 65 名、精子無力症の 65 名及び受胎能力のある 50 名の男性（21～40 歳）を対象とした調査では、乏精子症及び精子無力症群において、精液中 DBP 濃度と精子運動率との間に負の相関が示された（r=－0.25 及び－0.20、いずれも p＜0.01）。*in vitro* にて、この調査における最高濃度（13.5 μg/mL）以上の DBP を精子に暴露させたところ、精子運動率が暴露 12 時間後から用量及び時間依存的に有意に低下し、最高濃度の 10 倍を 96 時間暴露した時に細胞毒性（生存率 42%）がみられた。

以上のように、不妊の疑いについて受診した男性集団のいくつかの報告（Hauser et al. 2006、Liu et al. 2012）で尿中 MBP 濃度と精子濃度や精子運動率等との間に用量反応性のある負の関連が認められている一方、関連がない、あるいは正の関連があるとする報告（Wirth et al. 2008、Toshima et al. 2012）もあった。一般集団の調査では関連はないか、負の関連の傾向があっても有意には至らなかった（Jönsson et al. 2005、Han et al. 2013）。全体として、尿中 MBP 濃度と精子パラメーターとの間の関連性について、入手できた報告間での一貫した傾向はみられなかった。

また、精液サンプル中の DBP 濃度と精子パラメーターとの間に関連がみられているが（Zhang et al. 2006、Pant et al. 2008、2011）、精液中の DBP 濃度が暴露の指標として適切かどうかの評価が必要であると考えられる。また、*in vitro* データからは、精液をサンプリングした後に混入した DBP によって精子が影響を受けている可能性もあるということを示しているとも考えられる。そのほか、精液中の DBP 濃度が暴露指標に用いられているが、指標として適切かどうか、体内動態の観点からの検討が必要である。

b. 性ホルモンへの影響

Duty ら（2005a△）は、1999年～2003年にマサチューセッツの総合病院で採取された295名の男性（18～54歳）の尿及び血液検体を用い、フタル酸エステル代謝物の尿中濃度と血中性ホルモン（FSH、LH、SHBG、T、インヒビンB）の関連について調査した。年齢、BMI及び血液採取時刻で調整した線形回帰分析の結果、比重補正した尿中MBP濃度（中央値16.2 ng/mL）とインヒビンB濃度との間に正の関連傾向があり、四分位範囲の増加に対するインヒビンB濃度の増加（7.33 pg/mL（95% CI =－0.55～15.2 pg/mL、p=0.07））は中央値の4.8%（95%CI＝0～10）に相当した。なお、尿中MBzP濃度とFSH濃度には有意な負の関連があった。著者

らは、MBPはセルトリ細胞毒性が知られているが、血清中ホルモン濃度は予想されたパターン（インヒビンB減少、FSH増加）で変化せず、生理学的なものか、検定の繰り返しによるものか不明としている。この続報として、Meekerら（2009a**事務局**）は、425名（18~55歳）のサンプルを対象とし、測定ホルモンにE2、プロラクチンを追加した調査を行ったが、尿中MBP濃度（比重補正後の中央値17.7 ng/mL）は、いずれも有意な関連はみられなかった。なお、この調査では、尿中MEHP濃度とTやE2濃度の間に有意な負の関連がみられた。また、Jönssonら（2005**事務局**）による、スウェーデンの18～21歳の男性234名を対象とした横断的調査では、MBPの尿中濃度（未補正中央値78 ng/mL）と血清中性ホルモン（FSH、LH、SHBG、T、E2、インヒビンB）濃度に有意な関連はみられなかった。なお、同時に測定した尿中MEP濃度は血清LHの負に関連した（（２）② b. に精子パラメーター等との関係を記載）。

Main ら（2006 **無**）は、デンマーク及びフィンランドの 1997～2001 年の停留精巣に関する前向きコホート研究（停留精巣男児 62 名、健常男児 68 名）において、出産 1～3 か月後に母乳を採取し、そのサンプル中の 6 種のフタル酸モノエステル濃度を分析した。同時に、74%の男児（中央値 3.01 か月齢）から採取した血清サンプル中のゴナドトロピン、SHBG、T 及びインヒビン B を測定した。母乳中 MBP 濃度の中央値は 9.6 μg/L（範囲 0.6～10,900 μg/L）であった。母乳中 MBP 濃度と、血清中の SHBG、LH/fT 比と正の、fT と負の関連があった（p=0.01、0.006 及び 0.033）。そのほかのフタル酸モノエステルも同様な傾向があり、一部は有意な関連を示した。なお、いずれのフタル酸モノエステル濃度も停留精巣との関連は有意ではなかった。

以上の報告から、成人男性では、尿中 MBP 濃度と血中インヒビン B に正の関連傾向がみられたが（Duty et al. 2005a）、続報等では性ホルモン類の血中濃度と有意な関連はみられなかった（Meeker et al. 2009a、Jonnson et al. 2005）。また、Main ら（2006）は、母親の母乳中の MBP 濃度と乳男児の血清中 fT との間に負の関連等、げっ歯類のデータと類似する性ホルモンの変化がみられたが、子宮内暴露の寄与も否定できないため、出生前後のある種のフタル酸エステル暴露に対してヒトのライディッヒ細胞の発達と機能は脆弱である可能性が考えられるとしている。なお、母乳中の MBP 濃度が暴露指標として適切かどうかは、体内動態の観点からの検討が必要である。

③ 女性の生殖系に対する影響

尿中 MBP 濃度及び血中 DBP 濃度を暴露指標として、子宮内膜症等の婦人科疾患、妊娠期間及び乳癌等への影響が調べられている。

ａ．子宮内膜症、子宮筋腫、多嚢胞性卵巣症候群

Itoh ら（2009 **無**）は、日本において、不妊相談に来院した患者を対照 80 名（stage 0～I、中央値 32 歳）及び子宮内膜症 57 名（stage II～IV、中央値 33 歳）に分け、腹腔鏡診断前に採取した早朝尿中フタル酸エステル代謝物濃度と子宮内膜症の関係を調べた。対照群の尿中 MBP 濃度の中央値 43.3 μg/g Cr（症例群：47.6 μg/g Cr）で症例群を二群に分けて比較したが、低濃度群に対する高濃度群の子宮内膜症のオッズ増加は有意ではなかった（月経周期、不順の有無で調整（n=122）した OR=1.14、95%CI=0.54～2.39）。また、尿中 MBP 濃度と子宮内膜症の重篤度との間（stage 0～IV にかけての用量反応）に関係はみられなかった。

米国では Weuve ら（2010 **事務局**）が、国民健康栄養調査（National Health and Nutrition Examination Survey：NHANES）（1999～2004）に参加した 20～54 歳の女性 1,227 名について、子宮内膜症又は子宮筋腫と診断されたことがあると申告した女性とそれ以外の女性の尿中フタル酸エステル代謝物濃度を比較し、両疾患との関連を調べた。クレアチニン補正後の幾何平均尿中 MBP 濃度は、子宮内膜症の女性（n=87、7%）、子宮筋腫の女性（n=151、12%）及び、それ以外の女性（n=1,020）で 28.9、27.1 及び 25.5 μg/g Cr であった。年齢、人種、初潮年齢及び現在の妊娠・授乳状況で調整したロジスティック回帰分析の結果、尿中 MBP 濃度による最高四分位群の下位 3 群合計に対する子宮内膜症又は子宮筋腫のオッズは有意でなかったが、両疾患を合わせた場合のみ、オッズ比は 1.71（95%CI=1.07～2.75）と増加し、有意であった。

インドにおいて、Reddy ら（2006◎）は、子宮内膜症を持つ不妊の女性 49 名（症例群）と、症例群と年齢をマッチさせた、子宮内膜症ではないが、卵管障害、子宮筋腫等の不妊の女性 38 名（対照群 I）及び、子宮内膜症を含めその他の婦人科疾患がなく、妊孕性が確認された女性 21 名（対照群 II）を対象として、子宮内膜症と血清中 DBP 濃度の関連を調べた。血液サンプルが採取された。症例群の女性の血清中 DBP 濃度（0.44±0.41 μg/mL）は、子宮内膜症ではない女性と比較すると、有意に高かった（対照群 I： 0.08±0.14 μg/mL、p＜0.0001 及び対照群 II： 0.15 ±SD 0.21 μg/mL、p＝0.004）。また、DBP 濃度と子宮内膜症の重篤度（rAFS stage I～IV）の間には、有意な強い正の相関（r＝0.73、p＜0.0001）があった。同時に調査された BBP、DEHP 及び DNOP にも同様な関連が認められた。また、中国の調査では、多嚢胞性卵巣症候群（PCOS）患者 18　名（平均 25 歳）の血清中 DBP 濃度が、年齢をマッチさせた PCOS 及び子宮内膜症ではないが、卵管障害や骨盤内癒着症による不妊女性 16 名（対照群、平均 27.74 歳）よりも有意に高かった（平均 0.53 対 0.41 μg/mL 、p=0.027）。また、血清中 DEP 濃度も PCOS 患者群の方が高かった（Xu et al. 2011×）。

b. 妊娠期間、流産

Meeker ら（2009b **事務局**）は、メキシコにおける出生コホート内症例対照研究で、妊娠第三期に採取した尿中のフタル酸エステル濃度と妊娠期間の関係を調べている。37 週未満で分娩した早産群（30 名）と満期産群（30 名）の尿中 MBP 濃度の幾何平均値を比較すると、早産群の方が高かった（89.9 対 38.1 μg/L、p＝0.005）。また、配偶者状況や教育等で調整したロジスティック回帰分析では、尿中 MBP 濃度が中央値より高い群は、中央値より低い群に対して、早産のオッズ比が 10.7（95% CI＝2.4～47.4）と高く、比重又はクレアチニン補正後も有意であった（OR（95% CI）=4.5（1.2～16.6）又は 5.4（1.5～19.3））。一方、ニューヨークに居住する母子からなる多民族コホートの 352 組では、母親の妊娠第三期に採取した尿の MBP 濃度と妊娠期間との間に有意な関連ははなかった。なお、DEHP 代謝物、MEP 等の尿中濃度と妊娠期間に有意な正の関連があった（Wolff et al. 2008 **事務局**）。さらに、日本の母親と新生児 149 組の調査でも、母親の尿中 MBP 濃度と妊娠期間との間に有意な関連はなかった（Suzuki et al. 2010 **事務局**）。

また、Toft ら（2012 **事務局**）は、初回妊娠を 1992～1994 年に計画した、デンマークのカップルの女性 128 名について、最終月経初日から 10 日後に採取したスポット尿中フタル酸エステル代謝物 6 種を測定し、流産との関連について調査した。MBP の尿中濃度は、流産群 48 名が平均 255 ng/mL、生児出生群 80 名が平均 226 ng/mL で、統計学的有意差はなかった。なお、尿中 MEHP 濃度が高くなると流産のオッズが有意に増加した。

c. その他

López-Carrillo ら（2010◎）は北メキシコに在住する女性で、2007～2008 年に乳癌と診断された症例群 233 名（平均 53.4 歳）と年齢をマッチさせた対照群 221 名（平均 53.8 歳）による症例対照研究を実施した。治療開始前の早朝尿中の 9 種類のフタル酸エステル代謝物濃度が測定され、乳癌との関係が調べられた。MBP の尿中濃度の幾何平均は対照群の方が症例群に比べて有意に高かった。対照群の尿中 MBP 濃度の三分位に基づき、全体の集団を分け、リスク要因（年齢、初潮年齢、経産回数及び閉経状態）及び他のフタル酸エステル代謝物による交絡を調整して比較すると、乳癌のオッズ比や用量反応関係に有意な関連はなかった。なお、乳癌のオッズは、尿中 MEP 濃度が高いと増加し、MBzP 及び MCPP の尿中濃度が高いと減少した。

フタル酸エステル暴露と性成熟に関して、Colon ら（2000△）はプエルトリコの女児における早発乳房患者群（41 名、平均 31 か月齢、中央値 20 か月齢）と対照群（35 名、平均 70 か月齢、中央値 46 か月齢）を調査した。早発乳房患者 28 名の血清からフタル酸エステル類が高濃度で検出され、そのうち DBP は 19 名から

15～276 μg/L の範囲で検出された。対照群は 7 名から主に DEHP が検出されたが、DBP は検出されなかった。なお、個々の患者の DEHP と DBP 濃度に関連性はなく、年齢との関係も認められなかったとしている。

また、Adibi ら（2010 **事務局**）はフタル酸エステル暴露と胎盤の栄養膜分化等との関連を調べた。混合効果モデルを用いて解析した結果、米国人女性 54 名の妊娠第三期の尿中 MBP 濃度（幾何平均 34.6 ng/mL）が高いほど、胎盤の栄養膜分化を反映する遺伝子 3 種[48]の発現が低かった（p＝0.05）。なお、同時に調べた DEHP 代謝物、MiBP、MBzP の尿中濃度とも同様な関連があった。また、MBP 濃度の増加に伴う、ステロイド合成に関する遺伝子 4 種[49]の発現の用量反応関係は、U 字型の減少を示した（p for trend＝0.001）。

以上のように、いずれも横断的調査であるが MBP の尿中濃度と子宮内膜症の発症や重症度との間に有意な関連は報告されていない（Itoh et al. 2009、Weuve et al. 2010）。血中 DBP 濃度と子宮内膜症との間に正の関連が報告されているが（Reddy et al. 2006）、血中の DBP 濃度が暴露指標として適切かどうか、体内動態の観点からの検討が必要である。また、妊婦の尿中 MBP 濃度と早産のリスクとの間に関連がみられた報告（Meeker et al. 2009b）がある一方、妊娠期間や流産のリスクとは関連しないとする報告もある（Wolff et al. 2008、Suzuki et al. 2010、Toft et al. 2012）。

④ 母親の暴露と児の生殖・発生に対する影響、子どもの神経行動発達

ヒトの出生前の母親の尿サンプル中のフタル酸エステル代謝物濃度を指標として、出生前のフタル酸エステル暴露による生殖系や成長、神経発達等への影響が調べられている。また、血液（母体血、臍帯血）中、羊水中等のフタル酸エステル代謝物との関連の調査も行われている。

a. 出生児の AGD、出生時の身体サイズ

Swan ら（2005◎）は、米国における妊娠コホートにおいて、出生男児（n=85）の AGD と出生前の母親の尿サンプル（1999～2002 年に採取）のフタル酸エステル代謝物濃度との関連を調べた。MBP は 96.5%の検体から検出され、回帰分析の結果、尿中 MBP 濃度と年齢補正した AGI（AGD 測定時の体重で除した指標、mm/kg）の間に負の相関（p=0.031）が示された。また、年齢補正した ADI が 25%タイル値以下の Short 群（n=25）、75%タイル値以上の Long 群（n=17）及びその中間の Intermediate（n=43）に区分した場合の母親の尿中 MBP 濃度の平均値

---

[48] *PPARγ*、芳香族炭化水素受容体遺伝子（*AhR*）及びヒト絨毛性ゴナドトロピン遺伝子（*HCG*）

[49] *CYP19*、17β-水酸化ステロイド脱水素酵素遺伝子（*17β-HSD*）、P450 コレステロール側鎖切断酵素遺伝子（*P450scc*）、シトクロム P450 1B1 遺伝子（*CYP1B1*）

（中央値）は 38.7（24.5）、13.1（11.5）及び 22.2（13.1）ng/mL であった。さらに、尿中 MBP 濃度の最低四分位群に比較し、最高四分位群で AGI が年齢に基づく回帰式で予測されるより短くなる場合のオッズ比は 10.2（95%CI=2.5～42.2）であった。MEP、MBzP 及び MIBP にも同様な関連がみられた。著者らは、環境レベルのフタル酸エステルによる出生前暴露は、ヒトの男性生殖器官の発生に有害な影響を与える可能性があるという仮説が支持されるとしている。

続報では、106 組の母親-男児ペアに対象を拡大し、男児（平均 12.8 か月齢）の AGD と出生前の母親の尿中フタル酸エステル濃度との関連性を調査した。その結果、年齢と体重のパーセンタイルで補正した回帰モデルに従うと、MBP と AGD との間に負の関連がみられ（p=0.049）、尿中濃度の四分位範囲の上昇に対する AGD（中央値 70.2 mm）の推定変化率は−3.2%であった。その他、MEP 又は DEHP 代謝物と AGD が負に関連した。また、子どもの年齢と体重のパーセンタイルから予測した AGD 値と実測値の差（残差）により、上位 25%タイルの longer AGD 群（26 名）、下位 25%タイルの shorter AGD 群（29 名）及びその中間の intermediate AGD 群（51 名）に区分すると、MBP の尿中濃度の幾何平均値（中央値）はそれぞれ、12.6（11.4）、24.0（26.4）及び 12.1（14.2）ng/mL であった。なお、MEP 及び DEHP 代謝物は shorter AGD 群の方が longer AGD 群より平均尿中濃度が数倍高く、また、陰茎幅又は精巣の下降不全と相関した（Swan 2008◎）。

台湾では、Huang ら（2009 **事務局**）が 2005～2006 年の調査において母親と新生児 64 組（男児 33 名、女児 31 名）について、妊娠第一期の母親の尿及び羊水中のフタル酸エステル代謝物濃度（MEHP、MBP、MEP）と、新生児の出生時の身長、体重及び AGD との関連を調べている。全ての尿及び羊水中から MBP が検出され、クレアチニン補正後の尿中濃度と羊水中濃度に有意な正の相関が認められた。MBP 濃度の中央値は、尿中で女児 78.0 ng/mL、男児 79.6 ng/mL、羊水中で女児 85.5 ng/mL、男児 81.3 ng/mL であった。MBP の羊水中濃度の中央値を境に、新生児を高濃度群（中央値：女児 104 ng/mL、男児 98.7 ng/mL）と低濃度群（中央値：女児 67 ng/mL、男児 63.8 ng/mL）に分けて比較したところ、女児では、高濃度群が低濃度群と比べて、出生時の体重及び身長が大きく（p＝0.031 及び 0.018）、AGD（p＝0.024）及び、体重又は身長で除した AGD（AGI-W 又は AGI-L）（p＝0.007 又は 0.008）が短かった。また線形回帰分析によると、女児（29 名）では、羊水中 MBP 濃度と AGI-W 又は AGI-L との間に負の関連があった（いずれも $p<0.05$）が、男児では有意な関連はみられなかった。なお、女児では羊水中の MEHP と AGI-L 及び AGI-W の間に負の関連があった。

Suzuki ら（2012 **事務局**）は、日本人の母親と新生男児 111 組を対象とした調査を行った。MBP は、妊娠 9～40 週（平均 29 週）のスポット尿中の MBP 濃度（比重補正後の中央値 50.8 ng/mL）、と男児の AGI、体重、身長と間に有意な関連は

なかった。なお、同時に調査した MEHP では、尿中濃度と AGI の間に有意な負の関連があった。

Zhang ら（2009b○）は、中国上海在住の早産ではない母子 201 組を低出生体重児群（体重＜2,500 g）88 組と対照群 113 組の 2 群に分けたコホート内症例対照研究を 2005～2006 年に行った。母親の血液、臍帯血、胎便中のフタル酸エステル 5 種（DEP、DBP、DEHP、MBP 及び MEHP）の濃度を測定し、母親のフタル酸エステルの暴露と出生時体重等との関係を調べた。DBP は母体血及び臍帯血からのみ検出され、MBP は胎便からのみ検出された。母体血中及び臍帯血中 DBP 濃度は症例群の方が対照群より有意に高く（中央値：2.9 mg/L 対 2.2 mg/L、p=0.02 及び中央値：2.7 mg/L 対 1.8 mg/L、p=0.002）、胎便中 MBP 濃度も同様であった（中央値：2.2 mg/L 対 1.7 mg/L、p=0.003）。また、出生時体重と臍帯血中 DBP 濃度又は胎便中 MBP 濃度に負の相関がみられた（p=0.02 又は 0.000）。条件付きロジスティック回帰分析の結果、臍帯血中 DBP 濃度及び胎便中 MBP 濃度の最低四分位群に比較して、最高四分位群では低出生体重児となるオッズが有意に増加し、用量反応関係がみられた（OR（95%CI）＝3.54（1.54～6.15）及び 4.68（2.14～6.85）、p for trend＝0.008 及び 0.000）。なお、母親の DEHP の暴露により、出生時体重や身長の低下及び低出生体重児のリスク上昇が推定されている。

Wolff らは、1998～2002 年にニューヨークに居住していた妊娠後期の母親とその出生児からなる多民族コホートの 367 組について、母のフタル酸エステル暴露と妊娠期間及び子の身体サイズの関連を調査した。妊娠第三期に採取した尿中のフタル酸エステル代謝物 10 種の濃度を測定したところ、MBP の尿中濃度（中央値 6.2 μg/L）と妊娠期間及び出生時の体重、身長、頭囲との間の関連は有意ではなかった。代謝物個別のほか、フタル酸モノエステル低分子量代謝物（＜250 Da、Low-MWP：MMP、MEP、MBP 及び MiBP）の合計（ΣLow-MWP）に対する関係を調べたところ、ΣLow-MWP の尿中濃度と頭囲及び妊娠期間の間に正の関連がみられた。なお、MEHP と妊娠期間にも正の関連がみられた（Wolff et al. 2008 **事務局**）。また日本の母親と新生児 149 組の調査では、母親の尿中のフタル酸エステル代謝物 9 種と妊娠期間及び新生児の出生時の体重、身長及び頭囲との間に有意な関連は見いだされなかった（幾何平均 MBP 濃度：51.6 μg/g Cr）。（Suzuki et al. 2012 **事務局**）。フランスの母子 287 組（症例 72 名、対照 215 名）からなる男児外性器奇形に関する症例対照研究において、Philippat ら（2012 **事務局**）は、妊娠 6～30 週の尿中フタル酸エステル代謝物 11 種濃度と子の出生時の体重、身長、頭囲との間に、いずれも有意な関連はみられなかった（尿中 MBP 濃度の中央値：48.1 μg/L）と報告している。外性器奇形との関連に関する記載はない。

b. 性ホルモンレベル

Lin ら（2011 無）は、台湾における 155 組の母子（男児 81 名、女児 74 名）について、母親の妊娠第三期の尿中フタル酸エステル代謝物 7 種と臍帯血中の性ホルモン（fT、E2）濃度の関係を調べた。尿中 MBP 濃度（中央値：95.9 ng/g Cr）と性ホルモン濃度に有意な相関はなかった。なお、女児では尿中 DEHP 代謝物濃度と fT 濃度又は fT/E2 に負の相関がみられた。

c. 神経行動発達

母親の妊娠期の尿中代謝物濃度を指標として、フタル酸エステル暴露と出生児の遊び行動の性差、新生児期から乳幼児期の神経行動発達、児童期の自閉症との関連が調べられている。複数のフタル酸エステルの累積的な暴露との関連を調べた報告もある。さらに、小学生の尿中フタル酸エステル代謝物濃度と自閉症や知能指数の関係が調べられている。

Swan ら（2010◎）は、妊娠中期の母親の尿中のフタル酸エステル代謝物濃度に対する男児（74 名、平均 5.0 歳）と女児（71 名、平均 4.9 歳）それぞれの遊び行動スコア（男の子らしさ、女の子らしさ、複合）との関連を調べた。母親の尿中 MBP 濃度は男児の中央値で 12.5 ng/mL、女児で 18.0 ng/mL であった。遊び行動スコアは、母親が記入した調査票、遊び行動における性的二型性検査（改良 Pre-School Activity Inventory）を含む、により評価され、共変量（子どもの年齢、母親の年齢と教育及び典型的でない遊びに対する保護者の態度）で調整した重回帰分析が行われた。その結果、男児において、MBP 濃度の増加は複合スコアの低下（より男の子らしくない）と関連する傾向があった（p=0.07）。なお、尿中 DEHP 代謝物濃度は遊び行動の男の子らしさのスコアと、MiBP 濃度は遊び行動の複合スコア及び女の子らしさのスコアと有意に正に関連した。女児のスコアでは、いずれの代謝物の尿中濃度との間にも、有意な関連はみられなかった。著者らは、これらのデータから、男児は抗アンドロゲン性のフタル酸エステルに出生前に暴露すると、男の子に典型的な遊び行動が減る可能性が示されたとしている。

Yolton ら（2011○）は、米国オハイオ州の母子 350 組のコホートにおいて、妊娠中の 2 時点（16 週と 26 週）における母のフタル酸エステルの尿中代謝物濃度と生後 5 週間の出生児の神経行動学的影響の関係を調べた。新生児の神経行動学的試験[50]の結果と比較すると、有意な関連は 26 週の尿中代謝産物濃度とのみ認められた。妊娠 26 週（n=332）における総 DBP 代謝物（MBP 及び MiBP の合計）の幾何平均濃度は 113 nmol/L（MBP : 20.3 ng/mL 及び MiBP : 3.6 ng/mL）であった。

[50] NICU Network Neurobehavioral Scale（NNNS）

新生児の試験時年齢及び性別のほか、新生児の体重変化やハイリスク要因（早産、2,500g 未満の出生体重、新生児特定集中治療室（NICU）への入院）、妊婦の飲酒、血清中コチニン濃度、結婚歴あるいは同居の有無などを共変量とした、線形重回帰分析の結果、妊婦の DBP 暴露が高いほど、覚醒レベル（arousal）の低下、自己制御（self-regulation）の増大及び新生児をハンドリング（handling）する必要性の低下がみられ（p=0.04、0.052 及び 0.02）、新生児の行動の組織化の向上に関連した。また、尿中 DEHP 代謝物濃度の増加は、非最適化反射の増加と関連し、男児では有意であった（p=0.02）。

Kim ら（2011◎）は、韓国に住む母子の前向きコホートにおいて、2006～2009 年にかけて 460 組を対象に、生後 6 か月の出生児におけるベイリー乳幼児発達検査 II（BSID-II）[51]を行い、妊娠第三期の母親の尿中 MBP 濃度（平均 12.4 μg/L）と精神発達指標（MDI）及び運動発達指標（PDI）[52]との関連を調べた。共変量（子の出生時体重や性別、母親の年齢や教育レベル等）で調整した回帰分析の結果、子ども全体及び女児（206 名）では有意な関連がみられなかったのに対し、男児（211 名）では、母親の尿中 MBP 濃度と MDI 及び PDI の間に負の関連があった（p=0.04 及び 0.03）。なお、同時に測定した DEHP 代謝物濃度と子ども全体及び男児の MDI 及び PDI との間に負の関連があった。

Whyatt らは（2012○）、米国ニューヨーク市に住むアフリカ系又はヒスパニック系の母子、合計 319 組を対象とした前向きコホート調査を行い、平均妊娠 33.1 週の母親のフタル酸エステルの尿中濃度と、1999～2006 年に出生した子どもが 3 歳の時の精神、運動及び行動発達との関連性を調べた。BSID-II（男児 140 名、女児 156～157 名）を用いて MDI 及び PDI を求め、問題行動は母親の記入した child behavior checklist（男児 129 名、女児 148 名）で評価した。性別、人種、家庭環境の質等で調整した線形回帰分析の結果、子ども全体において、尿中 MBP 濃度（幾何平均値 38.0 ng/mL）と PDI スコアとの間に負の関連がみられた（p＜0.001）。また、運動発達遅滞（PDI スコア≦85）となるオッズが増加した（$\log_e$ MBP ユニットの増加につき OR＝1.64、95%CI＝1.10～2.44、p＜0.05）。そのうち女児には、MBP 濃度と MDI スコアとの間に負の関連がみられた（p＜0.001）。さらに精神遅滞（MDI スコア≦85）のオッズ（OR＝女児 1.44、男児 0.64）には性差があった（p＝0.037）。問題行動については、MBP 濃度が増加すると、子ども全体の内向行動が増加し（p≦0.001）、その下位尺度である臨床域の引きこもり行動（withdrawn behavior）のオッズが増加（OR=2.23、95%CI＝1.27～3.92、p≦0.01）した。そのうち男児では MBP 濃度と情動反応行動との間に正の関連がみられ（p

[51] Bayley Scales of Infant Development
[52] Mental Development Index 及び Phycomotor Development Index

＜0.01）、性差が認められた（p=0.03）。ほかに MiBP と PDI に負の、MBzP と内向行動に正の関連がみられた。著者らは出生前のフタル酸エステル暴露により、子どもの精神及び運動発達が遅延し、内向行動が増加する可能性が示されたとしている。

Engel らは、1998～2002 年の米国ニューヨーク市に住む母子を対象とする多民族出生コホートにおいて、母親の妊娠 25～40 週の尿中のフタル酸エステル代謝物 10 種を高分子量（＞250 Da、HMW、6 種）と低分子量（＜250 Da、LMW、MBP を含む 4 種）に分け、それぞれの合計（ΣHMW 又はΣLMW）濃度と子どもの認知行動発達との関連について一連の調査を実施している。生後 5 日以内の新生児に Brazelton 新生児行動評価を行った調査（n＝162～274）では、ΣLHW の増加に伴い、男児では運動機能が非線形的に向上したが、女児では反対のパターンを示した。また、女児においてはΣHMW の増加は Orientation（方位反応）及び Quality of Alertness（敏活性：乳児の総合的な応答性）スコアの減少と有意に関連した。なお、MBP（中央値 36.2 μg/L）のみに対する検討は示されていない（Engel et al. 2009 **事務局**）。その後、4～9 歳になった子どもの行動と実行機能を調べた報告[53]（n＝149～171）では、妊娠中の尿中 MBP の増加と出生児の攻撃性増加、外向行動増加又はワーキングメモリーの低下の間に関連がみられた。また、ΣLMW の増加が、注意の欠如、攻撃性、抑うつの増加や、適応性の低下といった問題行動や実行機能の低下と関連していた（Engel et al. 2010 **事務局**）。さらに、7～9 歳時に自閉症に関する検査[54]を行った調査（n＝134）では、MBP に対する有意な関連はみられなかったが、ΣLMW の増加が、社会性のトータルスコア及び、その下位尺度である認知、コミュニケーション及び社会意識の欠失と有意に関連した（Miodovnik et al. 2011 **事務局**）。

Kim ら（2009◎）は、韓国の 8～11 歳の就学児童 261 名を対象に、MBP の尿中濃度と注意欠陥多動性障害（ADHD）との関連を調べる横断的調査を行った。共変量（児童の IQ、性別、親の教育レベル等）で調整した回帰分析の結果、児童の尿中 MBP 濃度（平均 46.7 μg/L）と教師の採点による ADHD Rating Scale（ARS）スコアの間には関連はみられなかった。しかし、ADHD 児の不注意や衝動性を測定する持続的遂行検査（continuous performance tests）によると、尿中 MBP 濃度と見逃し（omission errors）及びお手付き（commission errors）との間にはそれぞれ正の関連が認められた（p=0.032 及び 0.030）。なお同時に測定した尿中 DEHP 代謝物濃度と ARS スコアの間に、有意な正の関連がみられた。Cho ら（2010

[53]Behavior assessment system for children-parent rating scales 及び Behavior rating inventory of executive function。

[54]Social responsiveness scale

△）は、2008 年に韓国の都市における小学校 5 校の小学生 621 名（平均 9.0 歳）のウェクスラー児童用知能検査結果と MBP の尿中濃度（幾何平均 48.9 μg/L）との関連について横断的調査を行った。共変量（年齢、性別、母乳哺育、居住地域、保護者の教育レベル、母親の知能指数）により調整した重回帰分析の結果、尿中 MBP 濃度と検査結果に有意な関連はみられなかった。なお、同時に調査した尿中 DEHP 代謝物濃度と言語性下位検査の「単語（vocabulary）」との間に有意な負の関連がみられた。

以上のように、前向きコホート研究において、妊娠後半の母親の尿中 MBP 濃度と出生男児の AGD との間に負の関連がみられ（Swan et al. 2005、Swan 2008）、動物実験の結果（例えば、Mylcreest et al. 1998、1999、Ema et al. 1998 等）と整合性があった。一方、関連がみられなかったとする報告（Suzuki et al. 2012）、羊水中 MBP 濃度と女児の AGD との間で負の関連がみられたとの報告（Huang et al. 2009）もあり、現時点で入手した報告間で一貫した傾向は得られていない。一方、妊娠中の母親の尿中 MBP 濃度と出生児の身体サイズとの間に有意な関連はみられなかったが（Wolff et al. 2008、Suzuki et al. 2012、Philippat et al. 2012）、臍帯血又は胎便中の DBP 又は MBP 濃度と低体重のリスクの関連が報告されている（Zhang et al. 2009b）。

また、妊娠後半の母親の尿中 MBP 濃度と出生児の神経行動発達の変化について関連が示されている。5 歳児の調査では、男児における男の子らしい遊び行動のスコアと負の関連が報告された（Swan et al. 2010）。神経行動発達試験において、生後 5 週の乳児では行動の組織化と正の関連がみられたが（Yolton et al. 2011）、6 か月児では男児にのみ運動及び精神の発達指標との間に負の関連が（Kim et al. 2011）、3 歳児では精神発達指標と負の、内向的な問題行動と正の関連が示され、そのうち女児では運動発達指標と負の、男児では情動反応行動と正の関連がみられた（Whyatt et al. 2012）。4～9 歳児の調査では、攻撃性増加、外向行動増加又はワーキングメモリーの低下と関連がみられたが（Engel et al. 2010）、同じ集団の 7～9 歳児に実施した ADHD の検査結果との関連はみられなかった。なお、学童期における横断的調査では、子どもの尿中 MBP 濃度と ADHD における不注意や衝動性を示す指標と正の関連がみられた（Kim et al. 2009）。

このように妊娠中の DBP 暴露と出生児の運動や精神発達の遅延や遊び行動の変化に関連が示され、男女差が認められたが、作用機序については不詳である。

⑤ 甲状腺機能

尿中代謝物等を暴露指標として、DBP 暴露と血中の甲状腺ホルモン（T_3、T_4、TSH）との関連が、子どもについては成長との関連も含め、調べられている。

フランスのニース地方で生まれた男児の停留精巣に関する前向きコホート症例-対照研究において、Brucker ら（2011 **無**）は対照群 76 名の臍帯血中の甲状腺ホルモン（TSH、遊離 T_3 及び遊離 T_4）濃度と DBP 暴露との関係を調査した。臍帯血及び母乳中の DBP 及び MBP を測定したところ、DBP は両試料の全検体から、MBP は約半数から検出された。重回帰分析の結果、母乳中 DBP 濃度と遊離 T_3 濃度との間に正の関連がみられた（p=0.0295）。なお、症例群（60 例）の甲状腺ホルモン濃度は、対照群と同様に、正常範囲であった。

2006～2007 年に、Boas ら（2012）はデンマークの 4～9 歳の男児 503 名及び女児 342 名を対象に、フタル酸エステル代謝物 12 種の尿中濃度と甲状腺機能（血清中 T_3、T_4 及び TSH）、インスリン様増殖因子 I（血清中 IGF-I）及び成長（身長 SD スコア及びその増加等）との関連性を調べた。年齢と性別で調整した回帰分析の結果、MBP の尿中濃度（幾何平均値：男児 124 μg/L、女児 114 μg/L）とは、いずれの指標とも有意な関連はなかった。なお、女児では、総フタル酸エステルスコア[55]と遊離及び総 T_3 濃度が、男児では DEHP 代謝物又はフタル酸モノカルボキシイソオクチル（DINP 代謝物）の尿中濃度と IGF-I 濃度が有意に負に関連した。また、男女ともに、大部分の尿中フタル酸エステル代謝物濃度は、身長、体重、体表面積並びに身長増加と負に関連したとしている。

Huang ら（2007 **無**）は、2005～2006 年に台湾の妊娠第 2 期の 75 名の女性（平均 33.6 歳）から採取した血清中の甲状腺ホルモン（TSH、総 T_3、総 T_4 及び遊離 T_4）とフタル酸エステル代謝物の尿中濃度の関係を調べた。尿中 MBP 濃度（中央値 195.0 μg/g Cr）と総 T_4 の間には弱い負の相関（r＝－0.368、p＜0.05）が認められた。さらに年齢、BMI 及び妊娠期間を調整した重回帰分析の結果、MBP 濃度と遊離及び総 T_4 との間に負の関連がみられた（p＜0.001 及び p＝0.003）。著者らは作用機序については不詳としている。

Meeker らによる、米国の不妊相談を受診した男性 478 名の調査では、スポット尿中の MBP 濃度（幾何平均 16.7 ng/mL、比重補正）と血中の総 T_3、遊離 T_4 及び TSH 濃度との間の関連は有意ではなかった（Meeker et al. 2007 **事務局**）。その後、Meeker らは 2007～2008 年の米国の NHANES に参加した 12 歳以上の男女 1,675 名の尿中のフタル酸エステルと甲状腺ホルモンの関係について横断的調査を行った。共変量（BMI、血清中コチニン、尿中ヨウ素等）で調整した重回帰分析の結果、MBP の尿中濃度と総及び遊離 T_3、総及び遊離 T_4、TSH 及びチログロブリンの血清中濃度との間に有意な関連はなかった。しかし、同時に測定した、DBP 及び DNOP の酸化代謝物である MCPP は遊離 T_3 との間に有意な負の関連が

[55] MEP、MBP、MBzP、MCiOP、DEHP 代謝物について、尿中濃度を四分位してそれぞれ 0～3 のスコアをつけ、5 種のスコアを合計したもの（範囲 0～15）

あった。また、DEHP 代謝物と総 T_3 の低下、総 T_4 及び TSH のとの間に有意な正の関連があった（Meeker and Ferguson 2011 **事務局**）。

以上のように、尿中 MBP 濃度と妊婦の血清中甲状腺ホルモン（T_4）に負の関連を認めた報告があり（Huang et al. 2007）、作用機序は不詳とされている。また子どもの甲状腺ホルモン濃度や身体の成長に関する調査や（Boas et al. 2012）、成人男性の調査では有意な関連はみられなかった（Meeker et al. 2007、Meeker and Ferguson 2011）。なお、母乳中 DBP 濃度と臍帯血中遊離 T_3 濃度との間に正の関連が、成人男性の尿中 DBP 濃度と血清中 T_3 濃度との間に負の関連が報告されている（Brucker et al. 2011、Meeker and Ferguson 2011）。

⑥ 呼吸器及びアレルギーへの影響

Jaakkola と Knight（2008 **無**）は 1950～2007 年の間に報告された PVC 製品からのフタル酸エステル暴露による呼吸器及びアレルギーへの影響に関する文献のレビューを行った。メタアナリシスの結果、住宅内の内装又は家具等の PVC 表面の存在について、子どもの喘息（固定効果モデル、OR=1.55、95%CI＝1.18～2.05、4 調査）及び子どものアレルギー（OR=1.32、95%CI＝1.09～1.60、3 調査）のリスクに正の関連が示された。

Kolarik ら（2008 **無**）は、ブルガリアにおいて、過去 12 か月にアレルギー症状（喘鳴、鼻炎、皮膚炎）のあった 2～7 歳の子ども 102 名（症例群）と症状のなかった子ども 82 名（対照群）を対象として、子どもの寝室から採取したハウスダスト中のフタル酸エステル濃度（DBP を含む 6 種）との関連を調査した。その結果、DBP は全てのサンプルから検出されたが、症例群と対照群の中央値に統計学的有意差はなかった（症例群 9.61 mg/g、対照群 9.87 mg/g）。なお、DEHP 濃度は症例群の方が高く、喘鳴の増加と有意に関連し、用量反応関係がみられた。Hsu ら（2012 **事務局**）は、台湾に住む 3～9 歳の子ども 101 名を対象に、ハウスダスト中のフタル酸エステル類（親化合物）の濃度及びそれらの代謝物の尿中濃度と、アレルギーや喘息等（症例群 59 名、対照群 42 名）との関係について調査した。その結果、ハウスダスト中の DBP 濃度（中央値：対照群 16.0 μg/g、症例群 22.6 μg/g）と眼症状のリスク（1 μg/g の増加に対する調整 OR＝1.19、95%CI＝1.03～1.38）、尿中 MBP 濃度（中央値：対照群 59.8 μg/g Cr、症例群 51.6 μg/g Cr）と喘息又は呼吸器症状のオッズ（10 μg/g Cr の増加に対する調整 OR＝1.16、95%CI＝1.01～1.32 又は OR：1.11、95%CI＝1.01～1.22）が増加した。また、尿中 MEHP 濃度の増加はアレルギー性鼻炎の重篤性に関連した。

⑦ 肥満度への影響、炎症及び酸化ストレスマーカー

Hatch ら（2008 **無**）は、1999～2002 年の米国の NHANES 参加者 4,369 名（6～80 歳）を年齢 4 区分と性別で計 8 分類し、尿中フタル酸エステル代謝物濃度と BMI 及び腹囲の関係について横断的調査を実施した。本報告では MBP と MiBP の合計である総 MBP との関係が調べられており、年齢区分別の総 MBP 尿中濃度の幾何平均は男性で 15.3～38.0 μg/gCr、女性で 24.6～48.0 μg/gCr の範囲にあり、いずれも 6～11 歳の区分が最も高かった。総 MBP の増加に伴い、60～80 歳の区分において BMI 及び腹囲の変化率に有意な減少傾向がみられた（BMI では p for trend=0.04（男性）、0.01（女性））。また、6～11 歳及び 12～19 歳の区分では両性ともはっきりした変化はみられなかったが、20～59 歳の区分では、有意ではないが、男性では増加傾向が、女性では減少傾向がみられた。なお、最も良好な関連性がみられたのは 20～59 歳の男性における MBzP の増加に伴う BMI と腹囲の増加で、MEHHP、MEOHP 及び MEP にも同様の傾向がみられた。女性では MEP の増加に伴う BMI と腹囲の増加傾向（12～19 歳）、MEHP では増加に伴う減少傾向（12～19 歳、20～59 歳）がみられた。

Stahlhut ら（2007 **無**）は、1999～2002 年に米国の NHANES に参加した 1,443 名の 19 歳以上の男性について、6 種類のフタル酸エステル代謝物の尿中濃度と腹囲及び HOMA[56]（インスリン抵抗性の指標）の関係を調べた。本報告では、MBP と MiBP の合計である総 MBP との関係が調べられており、総 MBP の尿中濃度は平均 33.8 μg/gCr であった。年齢、人種、脂肪・総カロリー摂取量、運動レベル、血清コチニン及び尿中クレアチニンにより補正した線形重回帰分析の結果、MBP 濃度と HOMA（n=622）との間に有意な関連がみられたが（p=0.011）、さらに腎臓機能や肝臓機能因子[57]で補正すると有意ではなくなった（p=0.081）。なお HOMA と尿中 MBzP、MEP 濃度の間には正の関連があった。また、有意ではないが、腹囲（n=1,292）と尿中 MBP 濃度の間には正の関連がみられた。なお、腹囲と MBzP、MEHHP、MEOHP 及び MEP との間に正の関連が示された。

Teitelbaum ら（2012 **事務局**）は、2004～2007 年に米国ニューヨーク市に住むヒスパニック及びアフリカ系の 6～8 歳の女児 299 名及び男児 80 名を登録した前向きコホート調査が行い、フタル酸エステル代謝物の尿中濃度と身体サイズの関連を調べた。尿採取の 1 年後の BMI 及び腹囲、身長とフタル酸エステル代謝物濃度を比較した結果、MBP を含め、いずれとも有意な関連はみられなかった。しかし、体型別に解析すると、過体重[58]の女児において、MBP を含む ΣLow-MWP 及び MEP

---

[56]HOMA=［fasting insulin（μU/mL）×fasting glucose（mmol/L）］/ 22.5

[57]糸球体濾過率、アルカリホスファターゼ及び γ グルタミルトランスペプチダーゼ

[58]米国疾病予防管理センター（2000）による年齢別、性別成長データにおける当該 BMI の 85 パーセンタイル以上。

の尿中濃度が増加すると、BMI 及び腹囲の幾何平均（年齢や運動などで補正）が増加し、用量反応関係がみられた（p for trend≦0.007）。 MBP の尿中濃度の中央値は女児で 62.7 μg/g Cr、男児で 74.0 μg/g Cr であった。

Svensson ら（2011 **事務局**）は、メキシコの乳がんコホート調査における対照群（成人女性）を、糖尿病の診断歴を申告した 39 名（平均 60.5 歳）とその他の 182 名（平均 52.4 歳）に分け、糖尿病と尿中のフタル酸エステル代謝物濃度との関連を調べた。尿中クレアチニンや教育等を調整した多重ロジスティック分析の結果、MBP との関連は有意ではなかったが（OR=1.10、95%CI=0.75～1.61）、糖尿病のオッズは、DEHP 代謝物の増加により、有意ではないが増加し、MBzP の増加では有意に減少した。

Ferguson らは米国の NHANES（1999～2006）の参加者のデータを用いて、尿中フタル酸エステル代謝物濃度と酸化ストレスや炎症の関係を調べている。2011 年の報告では、血中の炎症マーカー（C 反応性タンパク質（CRP））及び酸化ストレスマーカー（γ グルタミルトランスフェラーゼ（GGT））との関係を調べているが、MBP との関連は有意ではなかった。なお、MBzP 及び MiBP の増加は CRP の上昇と、MEHP の増加は GGT の増加と有意に関連した（Ferguson et al. 2011△）。続いて、血中の酸化ストレスマーカー（ビリルビン）及び炎症マーカー（アルカリホスファターゼ（ALP）、好中球絶対数（ANC）、フェリチン及びフィブリノゲン）との関係について調べた。共変量（年齢、性別、人種、血清コチニン、貧困収入率（poverty income ratio）、BMI、尿中クレアチニン）を調整した重回帰分析によると、MBP（幾何平均値 18.9 μg/gCr）の四分位範囲の増加に対して、ビリルビンに 4.38%の減少が、ALP 及び ANC に 11.1 及び 1.98%の増加が推定された（n=5,523～6,343、いずれも p＜0.05）。また、MBzP、MCPP、MiBP 及び DEHP 代謝物の増加により、ビリルビンは低下し、ANC、ALP 及びフェリチンはおおむね上昇するという関連があった。著者らは、フタル酸エステルは、酸化ストレス及び炎症の増加と関係することが示唆されたとしている（Ferguson et al. 2012△）。

Hong ら（2009 **事務局**）は、韓国都市部に住む成人 513 名を対象に、MBP の尿中濃度と酸化ストレスとの関連について横断的調査を行った。年齢、性別、体重、喫煙及び運動を調整した回帰分析の結果、MBP の尿中濃度の増加は酸化ストレスマーカーとしたマロンジアルデヒド（MDA）の尿中濃度増加に有意に関連した（p＝0.044）。

横断的調査の結果、尿中 MBP 濃度とインスリン抵抗性や糖尿病歴との間に有意な関連はみられないとの報告や（Stahlhut et al. 2007、Svensson et al. 2011）、腹囲や BMI の増減等に男性と女性、年齢区分で異なる傾向がみられた報告（Hatch

et al. 2008）がある。子どもの前向きコホート調査では体型によっては尿中 MBP 濃度と体重の間に関連がみられた（Teitelbaum et al. 2012）。以上のように、糖尿病や肥満との関連については、男女差、年齢差の存在が示唆される。

その他、尿中 MBP 濃度は酸化ストレスや炎症の増加に関連する可能性が示唆されている（Ferguson et al. 2011、2012、Hong et al. 2009）。

（3）ヒトにおける影響のまとめ（*一部審議*）

①まとめ

最近 10 年ほどの間に DBP の主要な尿中代謝物である MBP の尿中濃度を DBP 暴露の指標として、様々な~~エンドポイント~~影響指標との関連を調べた疫学調査が比較的多数~~が~~報告されている。主な調査結果は生殖・発生及び神経発達への影響に関するものであった。

成人男性については、DBP に職業暴露した集団では、対照の集団に比べ尿中 MBP 濃度が高く、血清中 fT 濃度が低いことが報告されている（Pan et al. 2006）。 また、不妊の疑いについて受診した男性の調査では、尿中 MBP 濃度が高い場合、精子濃度や運動精子率の低下のリスクが高まるとの報告（Hauser et al. 2006、Liu et al. 2012）があったが、そのような関連が確認できなかったとの報告（Wirth et al. 2008、Toshima et al. 2012）もある。

また、前向きコホート研究において、妊娠中の母親の DBP 暴露と出生児の生殖・発生指標や神経行動発達の関連が調べられている。母親の妊娠後半の尿中 MBP 濃度と出生児の AGD に関する調査では、尿中 MBP 濃度が高いほど男児の AGD が短縮するという関連が得られ（Swan et al. 2005、Swan 2008）、動物実験の結果（Mylcreest et al. 1999、Ema et al. 1998 等）と整合性があった。一方、そのような関連がみられなかったとの報告（Huang et al. 2009、Suzuki et al. 2012）もある。出生児の神経行動発達については、男女差がみられており、5 歳児の調査では、母親の尿中 MBP 濃度が高いほど、男児における男の子らしい遊び行動が減少したという報告（Swan et al. 2010）、また 6 か月児の神経発達検査において、男児でのみ運動及び精神の発達指標を示すスコアの低下との間に関連が示された報告（Kim et al. 2011）がある。なお、学童期における横断的調査では、子どもの尿中 MBP 濃度が増加すると ADHD 児における不注意や衝動性を示す指標も増加するという関連がみられた（Kim et al. 2009）。神経行動発達に対する影響の作用機序は不詳である。

その他、甲状腺ホルモンの変化や肥満や糖尿病などに関する様々な~~エンドポイント~~影響指標との関連を調べられている。しかし、以上のように、現時点で入手~~した~~できた文献からは、~~全体的~~どの影響指標についても~~に~~一貫した傾向の結果が得られ~~なかった~~ていない。また、尿中の MBP 濃度を DBP の暴露指標として用いる場合

の時間的性質に配慮した報告数自体も少ないことから、さらに調査結果の蓄積が必要と考えられる。

②今後の課題

疫学調査において、DBP の暴露指標として、主に代謝物である MBP の尿中濃度が利用されている。コンタミネーションの問題のある環境媒体中の DBP 濃度に比べ、代謝物は環境中には通常存在しないため、サンプルのコンタミネーションのおそれが少なく、さらにヒトが複数のルートから受けた暴露を総合的に反映することから、暴露指標としての信頼性は高い。しかし、DBP のように吸収・代謝・排泄の速い化合物の尿中代謝物濃度は長期暴露を反映するものではなく、サンプリング時期周辺の比較的短期間の暴露状況を反映しているものと考えるべきである。したがって、エンドポイントの性質にもよるが、疫学調査結果を判断する際には、暴露時期と影響を観察した時期の隔たりに留意するべきで、そのような点に配慮していない調査結果の解釈には慎重さが必要であると考えられる。

IV. ヒトに対する暴露量の推定

フタル酸ジエステル類のヒトに対する暴露量の推定には、環境媒体のジエステル体分析値からの推計と、モノエステル体などの代謝物の尿中排泄からの摂取量推計の二つのアプローチが一般に用いられている。

１．環境媒体からの暴露

（１）空気 *（審議済み）*

① 大気

環境庁が 2000 年春期に行った全国 20 地点における一般環境（工業地域、住居地域、郊外各 6 地点、東京、大阪各 1 地点）についての調査では、全ての地点で大気中に DBP が検出され、平均値は 0.022 μg/m^3（範囲 0.006～0.063 μg/m^3）であった（環境庁 2000）。

② 室内空気・戸外の空気

東京都による 2000 年度の調査では、夏期（2000 年 7～9 月）又は冬期（2000 年 12 月～2001 年 3 月）に、住宅（各期 22～21 戸）及びオフィスビルなど（各期 13～14 戸）の室内空気と戸外の空気（各期 17 測定点）が 24 時間にわたり採取された。

DBP は室内空気中に全ての測定で検出され、DBP 濃度の中央値（範囲）は、住宅については夏期で 0.883 μg/m^3（0.0784～7.22 μg/m^3）、冬期で 0.213 μg/m^3（0.0779

～0.939 μg/m³）、オフィスビルについては夏期で 0.744 μg/m³（0.282～4.7 μg/m³）、冬期で 0.536 μg/m³（0.110～4.11 μg/m³）であった。DBP 濃度は住宅においては冬期に比べ夏期が有意に高かったが、オフィスビルにおいては有意な差はみられなかった。また、外気中については、夏期は全測定点、冬期は 5 地点（29.4%）で検出され、DBP 濃度の中央値（範囲）は、夏期では 0.0798 μg/m³（0.0469～0.194 μg/m³）、冬期では 0.030 μg/m³ 未満（＜0.030～0.0402 μg/m³）であり、冬期に比べて夏期の濃度が有意に高かった。外気と比べると、夏期、冬期ともに室内空気の方が有意に DBP 濃度が高かった（斉藤ら 2002）。

同時期の東京都の別の調査では、春期（2000 年 4～5 月）の 6 世帯、秋期（2000 年 10～12 月）の 21 世帯の住宅の空気が 3 日間にわたり採取された。DBP の検出濃度は平均 0.75±標準偏差（SD） 1.17 μg/m³、中央値 0.39 μg/m³（範囲 0.01～6.18 μg/m³）であった（Otake et al. 2004）。

また、全国の 95 世帯について 2001 年 8～9 月に行われた調査では、各戸の居間、寝室の空気から DBP が 0.026～5.7 μg/m³ の範囲で検出され、戸外の空気からの DBP の検出範囲は 0.016～1.4 μg/m³ であった（環境省 2002）。

2006 年 10 月から 2007 年 1 月にかけて札幌で行われた室内気質中の有害物質暴露と住居者のシックハウス症候群との関連についての調査では、DBP は全ての室内空気試料（n＝40）で検出され（検出下限 0.0136 μg/m³）、検出濃度の中央値は 0.200 μg/m³（範囲 0.0796～0.740 μg/m³）であった。なお、本調査では、室内空気はガス状物と粒子状物との分離は行われず両者の合計で採取されている（Kanazawa et al. 2010）。

神野（2010）は、2009 年（季節不明）の関東近郊の一般家庭 24 軒について、寝室及び居間 48 室の室内空気を粒子状物質とガス状物質とに分別して 8 時間にわたって採取し、室内環境におけるフタル酸ジエステル類の汚染状況を調査している。DBP の検出濃度は、ガス状物で中央値が 0.10 μg/m³、最大値は 0.61 μg/m³ であり、粒子状物で中央値が 0.31 μg/m³、最大値は 0.99 μg/m³ であった。各世帯の居間と寝室の濃度の平均値（ガス状と粒子状を加算した値）の 95%タイル値は 1.2 μg/m³ であった。

（２）飲料水 *（審議済み）*

全国の水道事業者及び水道用水供給事業者が 2006 年度～2011 年度に実施した要検討項目の水質検査結果（原水及び浄水）が収集、集計されている。DBP の検出状況を表 IV-1 に示す。各年度の検出率は原水で 7%以下、浄水で 5%以下であった。原水における最高値は 0.01 mg/mL で、浄水における最高値は 0.03 mg/L であった

が、この 1 地点を除き 0.02 mg/L（要検討項目目標値 0.2 mg/L(暫定)の 10%）を超過する地点はなかった（厚生労働省 2013）。

表 IV-1 フタル酸ジ(n-ブチル)の原水及び浄水での検出状況(2006 年度～2011 年度)

年度	測定地点数		0.02 mg/L*を超過した地点（検出率**）		定量下限値以上、0.02 mg/L*以下の地点(検出率**)		各年度の最大値（mg/L）	
	原水	浄水	原水	浄水	原水	浄水	原水	浄水
2006	11	14	0	0	0	0	ND	ND
2007	156	229	0	0	3（1.9%）	3（1.3%）	0.00042	0.00172
2008	172	202	0	1 (0.5%)	7（4.1%）	5（2.5%）	0.006	0.03
2009	128	185	0	0	5（3.9%）	6（3.2%）	0.013	0.0012
2010	135	167	0	0	5（3.7%）	5（3.0%）	0.01	0.02
2011	122	157	0	0	8（6.6%）	7（4.5%）	0.009	0.001

* 要検討項目目標値 0.2 mg/L(暫定)の 10%、** 測定地点数に対する割合

(厚生労働省 2013 を一部抜粋、加工)

（3）ハウスダスト *(審議済み)*

2006 年 10 月から 2007 年 1 月にかけて札幌で行われた室内気質中の有害物質暴露と住居者のシックハウス症候群との関連についての調査では、ハウスダストは床全面及び棚上部（ドア、額縁等を含む）から採取された。DBP は棚試料の全て及び床試料の 97.6%（n＝41）に検出され（検出下限 0.0035 μg/mg）、検出濃度の中央値（範囲）は棚試料、床試料それぞれ 0.0223 μg/mg（0.0051～0.549 μg/mg）及び 0.0198 μg/mg（0.0018～1.48 μg/mg）であった（Kanazawa et al. 2010）。

また、神野（2010）は、2009 年度に関東近郊の一般家庭 24 軒の居間及び寝室の床・棚のハウスダストについて調査を行った。ハウスダストから検出された DBP 濃度は平均 0.023 μg/mg、中央値 0.014 μg/mg（範囲 0.0041～0.12 μg/mg）であった。なお各世帯の 95%タイル値は 0.1 μg/mg であった。

（4）食品 *(審議済み)*

① 食品中からの DBP の検出実態

食品中からの DBP の検出実態に関しては、主に加工食品、包装食品、乳幼児用食品についての調査が行われている。

外海（2001）は、愛知県、新潟県、大阪府、兵庫県、滋賀県内の小売店で、2000 年 11 月～2001 年 2 月に購入した市販食品 171 検体について、3 分析機関により分担して分析を行っている。結果を表 IV-2 に示す。DBP が比較的高い濃度で検出されたのは植物油（ND～2,400 μg/kg）及びワイン（tr～659 μg/kg）であったが、汚染源は特定されていない。

外海（2001）の調査とほぼ同時期の、環境省による調査結果を表 IV-2 に示す。2001 年 8～9 月の東京地区小売店で購入したインスタント食品、離乳食、粉ミルク計 36 件が調査された。インスタント食品及びフリーズドライの離乳食は製品表示の方法に従って簡単な調理を行ったもの、粉ミルクは製品表示の方法に従ってほ乳瓶で調製したものを試験試料としている。DBP はインスタント食品中 5/16 検体に検出され、最大検出濃度は 170 μg/kg であった（環境省 2001）。

乳児用の食品に関してまとめると、粉ミルク（調製粉乳）については、外海（2001）は製品中濃度として 13～248 μg/kg の範囲で DBP を検出し、製品表示に従った月齢の最も低い対象児における一日当たりの飲用量及び新生児の標準体重（3.1 kg、ただしフォローアップミルクは 9 か月児 8.6 kg）に基づき DBP 摂取量を 0.33～7.12 μg/kg 体重/日の範囲と推定している（外海 2001）。環境省（2001）の調査では、調整済み粉ミルクから 1 検体から、DBP が 30 μg/kg で検出された。

また、市販の離乳食（レトルト及びフリーズドライ）については、外海（2001）の報告では、DBP は tr～66 μg/kg の範囲で検出され、食事量と体重から一食当たりの換算では最大摂取量は 0.18 μg/kg 体重と推定されている。環境省の調査では、離乳食 16 検体からは DBP は検出されなかった（環境省 2001）（以上、表 IV-2 参照）。

表 IV-2　市販食品の DBP 検出実態（2000 年 11 月～2001 年 2 月：外海 2001、2001 年 8～9 月：環境省 2001）

大分類（検体数）	小分類	検出数	検体数	検出範囲（μg/kg）	検出下限値（μg/kg）	出典
飲料（20）	日本酒*	3	8	ND～6	1.2, 7.8	外海 2001
	ワイン	3	3	tr～659	1.2	
	ビール*	1	6	ND～tr	65.8, 7.8	
	非アルコール飲料	0	3	ND	7.8	
油脂類（17）	バター	0	3	ND	276.8	
	マーガリン	0	3	ND	276.8	
	ファットスプレッド	0	3	ND	276.8	
	植物油	3	8	ND～2400	51.2	
調味料（9）	ケチャップ	3	3	10～61	7.8	
	ドレッシング	3	3	21～62	78.1	
	マヨネーズ	3	3	20～30	78.1	
乳製品（9）	チーズ	0	3	ND	14.6	
	牛乳	0	3	ND	10.2	
	アイスクリーム	0	3	ND	20.4	
菓子類（9）	ビスケット	2	3	ND～70	14.6	
	チョコレート	1	3	ND～27	14.6	
	スナック菓子	0	3	ND	14.6	
パン・麺類（11）	麺類	6	6	1～17	6.9	
	パン類	5	5	6～20	6.7	

魚肉･畜肉加工品（16）	ハム・ソーセージ類 餃子、焼売類	7 8	8 8	ND ～18 2～16	6.9 6.7	
惣菜類（23）	魚肉練製品、コロッケ・フライ、キムチ等	21	23	ND～48	6.7	
即席食品（20）	レトルト食品* フリーズドライ食品 カップ麺	2 3 2	14 3 3	ND～60 33～79 ND～51	7.8, 98.6 78.1 14.6	
ベビーフード（31）	レトルト離乳食* フリーズドライ離乳食 乳児用おやつ	5 3 1	23 3 5	ND～11 15～66 ND～tr	3.3, 7.8 78.1 14.6	
粉ミルク（6）	粉ミルク（うち、フォローアップミルク 1 検体）	6	6	13～248	1.8	
インスタント食品**（16）	レトルトカレーライス（3）、冷凍天丼（1）、インスタントラーメン（3）、カップうどん（3）、カップラーメン（3）、カップやきそば（3）	5	16	ND～170	25	環境省 2001
離乳食***（16）	離乳初期用・中期用・後期用・完了期用 各（4）	0	16	ND	25	
粉ミルク（4）	（表示に従い調製）	1	4	ND～30	25	

ND：不検出　　tr：検出下限値以上、定量下限値未満
*分析を 2 機関で分担したため検出下限値が異なる。
**表示に従い簡単に調理
***フリーズドライ製品は表示に従い簡単に調理、瓶詰め及びレトルト製品はそのまま試料として供試

② 食事調査

2001 年に陰膳方式による病院給食及び家庭内の食事におけるフタル酸エステル類の実態調査が実施されている。

外海（2002）、Tsumura ら（2003）は、新潟県、愛知県、大阪府の計 3 病院における陰膳調査を実施した。2001 年における、各病院の 7～9 月中の任意の連続一週間の病院給食 21 食（21 検体）が、当該地方の計 3 分析機関により分析された。各機関の DBP の検出下限値は 2.3、11.6 及び 15.1 ng/g であり、それぞれ 15/21、3/21 及び 2/21 検体から DBP が検出された。Tsumura ら（2003）は、この結果に基づき 3 病院全体での一日平均摂取量を 13.1 μg/人/日と推定している（不検出検体は機関ごとの検出下限値の 50%を含むものとして計算）[59]。

同時期に、環境省により全国 9 地域各 3 世帯を対象に、2001 年 8～9 月における、家庭内の連続 3 日間の食事が調査された。飲み物を含んだ 1 日分の食事を 1 検体とし、計 81 検体について分析した結果を表 IV-3 に示す。12/81 検体から DBP が検出され、検出濃度の最高は 68 μg/kg、検出検体における平均検出濃度は 33 μg/kg であった（環境省 2001）。

[59] 3 機関のうち、最も高い検出下限値を共通の下限値として用いると平均摂取量は 15.0 μg/人/日と推定される（Tsumura et al. 2003）。なお、外海（2002）は、不検出検体は検出下限値の 20%の DBP を含むとして、8.9 μg/人/日と推定した。

表 IV-3　家庭内の食事中の DBP 濃度（2001 年 8～9 月、μg/kg）

地区	北海道	東北	関東	中部	関西	中国	四国	北部九州	沖縄
地点	札幌市１	仙台市１	文京区	名古屋市1	伊丹市	岡山市１	松山市１	福岡市１	沖縄市１
１日目	ND	ND	ND	31	ND	ND	ND	ND	ND
２日目	ND	ND	ND	ND	26	28	ND	ND	ND
３日目	ND	ND	ND	26	29	ND	ND	ND	ND
地点	札幌市２	仙台市２	練馬区	名古屋市2	箕面市	広島市	松山市２	福岡市２	島尻村
１日目	ND	ND	45	ND	ND	ND	ND	26	ND
２日目	ND	ND	28	ND	ND	35	ND	ND	ND
３日目	ND	ND	ND	ND	27	ND	ND	ND	ND
地点	江別市	遠田郡	八王子市	小牧市	高石市	岡山市２	松山市３	福岡市３	沖縄市２
１日目	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	68
２日目	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	29
３日目	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND：不検出、検出下限値：25 μg/kg　　（環境省 2001）

外食等については、大阪市内で 2000 年 8 月（市販弁当）又は 2000 年 11 月～2001 年 2 月（ファーストフード）に購入された 19 検体について調査が行われている。DBP は弁当、ファーストフードとも全ての検体で不検出であった（津村ら 2001、外海 2001）。また、同時期の環境省は 2001 年 8～9 月の東京地区のファーストフード店やレストランで購入した外食（ハンバーガーセット、丼もの、定食等）45 件の調査が行われている。外食からは 4 検体から DBP が検出され、最大検出濃度は 46 μg/kg、検出されたものの平均値は 35 μg/kg であった（環境省 2001）。

以上の結果を表 IV-4 に一覧した。

表 IV-4　市販弁当、外食等の DBP 検出実態

大分類（検体数）	小分類	検出数	検体数	検出範囲（μg /kg）	検出下限値（μg /kg）	購入時期	出典
弁当（10）	（幕の内弁当）	0	10	ND	18.6	2000 年 8 月	津村ら 2001
ファーストフード（9）	ハンバーガーセット	0	3	ND	98.6	2000 年 11 月～2001 年 2 月	外海 2001
	牛丼	0	3	ND	197.3		
	宅配ピザ	0	3	ND	197.3		
外食（45）	ファーストフード	3	5	ND～46	25	2001 年 8 月～9 月	環境省 2001
	和風ファーストフード	0	5	ND	25		
	ファミリーレストラン	0	10	ND	25		
	ステーキレストラン	0	5	ND	25		
	すし店	0	5	ND	25		
	その他食堂	1	5	ND～30	25		
	デパート食堂	0	10	ND	25		

ND：不検出　　tr：検出下限値以上、定量下限値未満

（5）その他（*審議済み*）

① 医療暴露

PVC 製の医療機器の使用中に、可塑剤として用いられた DEHP が一部溶出することが知られている（厚生労働省 2002a、b）。DBP も含め、国内での PVC 製医療機器への DEHP 以外のフタル酸エステルの使用実態は不明である。

② 玩具からの暴露

乳幼児に特有な暴露経路の一つに、フタル酸エステル類を含有するおもちゃ等の~~Mouthing~~マウシング[60]~~（乳幼児のおしゃぶり行為）~~などによる経口暴露が指摘されている

我が国では 2010 年に、日本の乳幼児のマウシング~~Mouthing~~実態と可塑剤として DINP を含有する試験片による溶出モデル実験の結果に基づき推定暴露量が試算された。DBP の暴露量は、実験的に求められた DINP の推定値と同じとみなされ、おもちゃ（おしゃぶりを除く）からの暴露量の 50～95%タイル値は 13.5～36.4 μg/kg 体重/日、最大暴露量は 74.2 μg/kg 体重/日と推定された。さらに「おしゃぶり」のマウシング~~Mouthing~~を含めると、それぞれ 15.1～49.3 μg/kg 体重/日及び 169 μg/kg 体重/日と推定された（厚生労働省 2010a）。

厚生労働省はこの検討を踏まえて、2010 年より食品衛生法において、乳幼児用のおもちゃの可塑化された材料からなる部分は、DBP、DEHP 及び BBP を 0.1%を超えて含有してはならないとした（厚生労働省 2010b）。当該規制以降、乳幼児のマウシング~~Mouthing~~による DBP への暴露は、おもちゃによるものは低減していると予想されるが、それ以外の製品（例えば日用品等）によるものは継続しており、実態は不明である。

なお、EU は乳幼児の DBP の暴露評価において、この経路に 0.81 μg/kg 体重/日の暴露を割り当てている（CSTEE 1998、EU RAR 2004）。

③ 化粧品、パーソナルケア用品

我が国において、化粧品やパーソナルケア製品の DBP 含有量の大規模な調査データは見当たらないため、この経路による暴露実態は明らかではない。

諸外国の状況をみると、韓国では 2004 年に市販化粧品 102 検体の調査が行われている。香水 11/42 検体及びマニキュア液 19/21 検体から DBP が検出された。それぞれ検出されたものの平均値は 445 μg/mL、最大値 5,050 μg/mL 及び平均値 1,670 μg/mL、最大値 3,900 μg/mL であった。Koo らは、女性使用者が皮膚暴露又

---

[60]乳幼児の自発的行動で、目的は探索行動と感覚的満足と考えられている。具体的にはおもちゃやおしゃぶりを含め、乳幼児の手の届く範囲の品物を口に入れる行動（厚生労働省 2010a）。

は経気道暴露（100%吸収）すると仮定した場合、暴露量の中央値は 0.103 又は 22.9 μg/kg 体重/日となると推定している（Koo and Lee 2004）。

また、米国では、尿中代謝物濃度から推定すると、人口の 95%は 10 μg/kg 体重/日以下であるが、出産年齢（20～40 歳）の女性の一部は、他の年齢層の女性や男性より高い DBP に暴露（中央値：1.7、95 パーセンタイル値：32、最高値：113 μg/kg 体重/日）されていた（Kohn et al. 2000）。NTP は、この理由は明らかではないが、DBP を含むパーソナルケア製品（香水、マニキュア、ヘアスプレー等）（Blount et al. 2000）の使用に関係している可能性が示唆されているとしている（NTP-CERHR 2003）。一方、米国で成人男性 406 名を対象としたパーソナルケア製品（フタル酸エステル含有量の記載なし）の使用パターンと尿中のフタル酸エステル代謝物濃度との関係の調査では、尿採取の 48 時間以内にローションを使用した男性（14.9 ng/mL）は、使用しない男性（16.8 ng/mL）に比べて尿中の MBP 濃度は有意に低下した。なお、MEP については、コロンやアフターシェーブの使用により尿中濃度が増加している（Duty et al. 2005）。

（６）暴露経路の積算に基づくヒトの一日摂取量推定 *（一部未審議）*

DBP は主として、呼吸、飲料水及び食品、ハウスダスト等を通じて暴露すると考えられており、環境媒体の摂取量とその DBP 濃度を用いて、暴露シナリオに基づき積算したヒトの一日摂取量が推定されている。（事務局：以下、表の後ろから移動）なお、経気道暴露と経口暴露で、吸収・代謝等、また、生じる影響が必ずしも同じではないことを考慮すると、両暴露経路による DBP 摂取量を合計する手法の適切性について留意する必要がある。

初期リスク評価（CERI・NITE 2005）における推定

CERI・NITE（2005）は化学物質の初期リスク評価において、DBP は、主に呼吸、飲料水及び食品を通じてヒトに摂取されると考え、成人における吸入、経口及び全経路の推定 DBP 摂取量として、それぞれ 0.96、4.0 及び 5.0 μg/kg 体重/日をヒト健康に対するリスク評価に用いた。なお、経口摂取の内訳は、飲料水由来が 2.8 μg/kg 体重/日、食品由来が 1.2 μg/kg 体重/日であった。

ただし、初期リスク評価の性格上、推定摂取量の算出には、室内空気中濃度として 2.4 μg/m^3（環境省による 2001 年度の調査における 95%タイル値）、飲料水濃度として 70 μg/L（水道技術研究センター1999～2001 年度の調査における最大値）及び、食品中濃度として 0.029 μg/g（環境省による 2001 年度の家庭内食事調査の 95%タイル値）が用いられた。本推定摂取量は、媒体中濃度データの最大または 95%タイル値を摂取すると仮定し、さらに室内空気のみを呼吸する極端な条件でもあり、確率的にはまずありえない最大見積もりと考えられる。

神野（2010）は、関東近郊の一般家庭 24 軒のハウスダストと室内空気中の DBP 濃度を測定し、初期リスク評価書（CERI・NITE 2005）に倣い、得られた 95%タイル値（0.1 μg/mg、1.2 μg/m^3）を用いて、ハウスダストに基づく経口摂取量を 0.1 μg/kg 体重/日、室内空気に基づく吸入摂取量を 0.48 μg/kg 体重/日と推定している。また、飲料水及び食品からの経口一日摂取量に CERI・NITE（2005）による評価値（4.0 μg/kg 体重/日）を採用し、室内空気、ハウスダストと合わせた推定一日摂取量を約 4.6 μg/kg 体重/日と概算した。その結果、DBP に関しては 1 日の推定摂取量のほとんどが食品及び飲料水を介した暴露によるとしている（神野 2010）。

以上の積算に基づくヒトの一日摂取量推定結果を表 IV-5 に示す。

表 IV-5 暴露経路の積算に基づくヒトの一日摂取量推定（初期リスク評価）

成人［体重 50 kg］*	経口経路		吸入経路		出典
	食品［2,000g/人/日］*	飲料水［2L/人/日］*	室内空気［20m^3/人/日］*	ハウスダスト［50mg/人/日］**	
媒体中濃度	0.029 μg/g	70 μg/L	2.4 μg/m^3	（推定に用いず）	CERI・NITE 2005
暴露量	58 μg/人/日	140 μg/人/日	48 μg/人/日		
体重あたり暴露量	4.0 μg/kg 体重/日		0.96 μg/kg 体重/日		
	経口と吸入摂取の合計：5.0 μg/kg 体重/日				
媒体中濃度	0.029 μg/g*	70 μg/L*	1.2 μg/m^3	0.1 μg/mg	神野 2010
体重あたり暴露量	4.0 μg/kg 体重/日*		0.48 μg/kg 体重/日	0.1 μg/kg 体重/日	
	経口と吸入摂取の合計：約 4.6μg/kg 体重/日				

［ ］：成人の体重、成人一人当たりの環境媒体一日摂取量の仮定値
*CERI・NITE 2005 の仮定、評価値を採用
** 神野 2010 の採用したもの。オランダ国立公衆衛生研究所の報告書（RIVM 2008）に基づく。

（7）バイオモニタリングデータ *（審議済み）*

尿中に排泄される各種のフタル酸エステル代謝物、特にモノエステル体とその酸化代謝物の濃度は、様々な経路によるフタル酸エステル暴露を横断的に反映するためヒトのフタル酸エステル暴露量の推定に用いられている。

① DBP の尿中代謝物濃度からの一日摂取量の換算

ヒトの尿中のフタル酸エステル代謝物濃度からフタル酸エステルの一日摂取量を推定するための換算式［1］が報告されている（David 2000、Koch et al. 2003）。

$$\text{Intake（μg/kg 体重/日）} = \frac{\text{UE（μg/g Cr）} \times \text{CE（mg/kg 体重/日）}}{\text{Fue} \times 1000\text{（mg/g）}} \times \frac{\text{MWd}}{\text{MWm}} \quad [1]$$

式［1］において、UE×CE の項はスポットサンプルのデータを 24 時間暴露に対応させるために外挿する際の補正項[61]であり、UE はクレアチニン 1 g 当たりの各代謝物尿中排泄量（μg）、CE は kg 体重当たりのクレアチニン一日排泄量（g/kg 体重/日）である。F_{UE} は摂取したフタル酸エステル~~ジエステル~~（親化合物）に対する各代謝物の尿中排泄量の比（モル分画排泄率値： fractional excretion values（mol basis））、MW_d はフタル酸~~ジ~~エステル（親化合物）の分子量（DBP ならば 278.4~~3~~）、MW_m は各代謝物の分子量（MBP ならば 222.2）である（David 2000、Koch et al. 2003）。

なお、Koch と Calafat （2009）によるレビューによると、Kohn ら（2000）も尿中に排泄されたモノエステル体からジエステル体摂取量への、やや異なる換算モデルを報告[62]しているが、同じデータ（Blount et al. 2000）の換算において、お互いによく近似した結果を与えているとされている。。

DBPの経口摂取量に対する代謝物の尿中へのモル分画排泄率値Fueは、英国のAnderson ら（2001）により調べられた値に基づく0.69が知られている（Koch et al. 2003）。また、ドイツのKochら（2012）による最近の試験では、0.84が提示されている。

また、CEについては、一般にHarper ら（1977）からの、男性の23 mg/kg体重/日、女性の18 mg/kg体重/日が用いられている（Koch et al. 2003、Kohn et al. 2000）。日本人のCEについては、年齢、身長、体重、性別等から日本人の尿中クレアチニン一日排泄量の予測式が作成される過程において、男性 256名（平均54±SD19歳）の平均22.5 mg/kg体重/日、女性 231名（平均52±SD19歳）、 の平均17.5 mg/kg体重/日との実測データが得られている（川崎ら1985、1991）。

② DBP の尿中代謝物濃度実態及び日本人の一日摂取量推定

我が国における DBP の尿中代謝物濃度から、DBP の一日推定摂取量を算出している報告がある。

Itoh ら（2005）は 2004 年 5 月に東京及び横浜地区に居住する日本人成人 35 名を調査し、スポット尿中 MBP 濃度（中央値 43 μg/L、範囲＜1.8～280 μg/L）、及び各人のクレアチニン排泄量とから、DBP の一日摂取量を幾何平均値 2.10 μg/kg 体重/日、中央値 1.3 μg/kg 体重/日（範囲 0.22～4.5 μg/kg 体重/日）と推定している。

---

[61] クレアチニンによる補正のほか、容量による補正も用いられている（Koch and Calafat 2009）。

[62] Kohn ら（2000）は線形 2-コンパーメントモデルに基づく換算（動物データ使用）を検討した。換算式は F_{UE} にあたる値を尿中排泄一次速度定数/全消失一次速度定数とするほかは［1］と同形をとる。

牧野は、2006 年度に調査した愛知県衛生研究所に勤務する健常な日本人成人男女 36 名の尿中のフタル酸モノエステル濃度から、フタル酸ジエステルの一日摂取量を推定している。MBP は全ての検体から検出され、クレアチニン補正濃度の平均値 78.7 μg/g Cr、中央値 58.7 μg/g Cr（範囲 22.8～554 μg/g Cr）に基づき DBP の推定一日摂取量は、平均値 1.80 μg/kg 体重/日、中央値 1.50 μg/kg 体重/日（範囲 0.69～9.41 μg/kg 体重/日）と推定された（牧野 2007）。

また、続く 2007 年度の調査では健常な 20 及び 30 歳代の日本人男女 12 名（対照群）のスポット尿と母子ともに健康な周産期女性 51 名の分娩翌日の尿を調査し、フタル酸ジエステルの一日摂取量を推定している。MBP は全ての検体から検出された。対照群及び周産期女性の尿中 MBP 濃度の中央値 35.9 μg/g Cr（範囲 12.1～93.6 μg/g Cr）及び 44.9 μg/g Cr（19.4～142 μg/g Cr）に基づき、DBP の推定一日摂取量は、それぞれ中央値 1.39 μg/kg 体重/日（範囲 0.53～4.42 μg/kg 体重/日）及び 1.22 μg/kg 体重/日（0.51～3.87 μg/kg 体重/日）と推定された（牧野 2008）。

上記以外にも、最近の日本人の尿中 MBP 濃度の報告がある。

Suzuki らの 2005～2008 年に採取した 149 名の妊婦（平均 31.9 歳）のスポット尿の調査では、全検体より MBP が検出され、尿中濃度の幾何平均値は 51.6 μg/g Cr（46.2 ng/mL）、中央値は 52.2 μg/g Cr（48.1 ng/mL）、25%tile 値は 29.7 μg/g Cr（24.8 ng/mL）、75%tile 値は 91.3 μg/g Cr（96.5 ng/mL）及び範囲 4.29～415 μg/g Cr（2.92～504 ng/mL）、であった（Suzuki et al. 2010）。

最近、環境省による 2011～2012 年度に採取した 40 歳以上、60 歳未満の 99 名の早朝尿を対象とした調査が報告された。全検体から MBP が検出され、2011 年度分の全国 3 地域の 15 名の尿中 MBP 濃度の中央値は 20 μg/g Cr（範囲 11～670 μg/g Cr）、2012 年度分の別の 3 地域の 84 名の中央値は 17 μg/g Cr（範囲 6.6～54 μg/g Cr）であった。全対象者の中央値は 19 μg/g Cr である（環境省 2013）

これらの日本人の DBP の尿中代謝物濃度（尿中 MBP 濃度）実態及び一日摂取量推定を表 IV-6 に示した。なお、表中の尿中 MBP 濃度は、一日推定摂取量を算出するため、スポット尿中 MBP 濃度を尿中クレアチニン濃度で補正した値である。

表 IV－6　日本人の DBP の尿中代謝物濃度実態及び一日摂取量推定

n 数	年齢等	尿	クレアチニン補正尿中 MBP 濃度（μg/gCr）			DBP 一日推定摂取量（μg/kg 体重/日）			文献
（性別等）	（歳）	（採取年月）	中央値	最小	最大	中央値	最小	最大	
35 名（男 10・女 25）	成人	スポット（2004 年 5 月）	31	<6.1	140	1.30	0.22	4.5	Itoh et al. 2005
36 名（男 23・女 13）	成人	スポット	58.7	22.8	554	1.50	0.69	9.41	牧野 2007
12 名（男 7・女 5）	（平均 31.8）	スポット	35.9	12.1	93.6	1.39	0.53	4.42	牧野 2008

51 名 （周産期女性）	（平均 31.4 ）	（分娩翌日）	44.9	19.4	142	1.22	0.51	3.87	
149 名 （妊婦）	（平均 31.9 ）	スポット （2005～8 年）	52.2	4.29	415	（推定せず）			Suzuki et al. 2010
99 名	（40≦、<60）	早朝 (2011～12 年度)	19	6.6	670	（推定せず）			環境省 2013

Itoh et al. 2005、牧野 2007、2008 において、摂取量の推定には式［1］（David 2000、Koch et al. 2003a）を用い、MBP の F_{UE} として 0.69（Koch et al. 2003a）が採用され、CE には川崎ら（1991）の予測式を用いて対象者~~個人~~ごとに算出された値が用いられている。

最近になって Koch ら（2012）により新たに DBP の Fue（0.84）が提示されている。それを用いると、たとえば Itoh ら（2005）の算出した 0.22～4.5 μg/kg 体重/日は、0.18～3.70 μg/kg 体重/日となる程度でほとんど変わりない。

また表 IV－6 に示されるように、これまで測定された尿中 MBP 濃度は、報告によってあまり大きな平均値、中央値の違いはなく、したがって、最近のデータ（Suzuki et al. 2010、環境省 2013）から推定される DBP 摂取量も、Itoh ら（2005）や牧野ら（2007、2008）の報告で推定された摂取量と大きな差はないと考えられる。

（8）ヒトに対する暴露状況のまとめ *（一部未審議）*

室内空気中の DBP 濃度は冬季より夏季が高く、また、室内空気濃度は外気濃度より高かった。室内空気濃度は、2000 年ごろと最近のデータの間に大きな差はみられなかった。飲料水については、2006 年度から 2011 年度にかけた原水及び浄水の調査において、浄水中に DBP が最大 30 μg/L 検出された地点があった。2000 年前後以降の食品中の DBP 濃度データは得られなかった。なお、食品用の容器包装について DBP に対する特段の管理措置はとられていない。そのほか、ハウスダスト、化粧品などから暴露する可能性がある。環境媒体（飲料水、室内空気、食品、ハウスダスト）中の DBP 濃度から積算した一日摂取量については、成人で約 5 μg/kg 体重/日との推定があるが、各媒体の最大レベルの濃度を用いた最大見積もりと考えられた。また、一般に主要な暴露源と考えられている飲料水、室内空気、食品、ハウスダストのうち、食品については最近のデータが不足していた。

DBP 代謝産物である尿中 MBP 濃度から換算した推定摂取量（中央値）は、対象者数は多くないが、複数の報告において 1～2 μg/kg 体重/日の範囲にあった。なお、ここ 10 年ほどの報告を比較すると、日本人の平均的な尿中 MBP 濃度に大きな違いはみられなかった。

環境媒体中の DBP 濃度を基にして、確率論的に一日暴露量を推定する方法には、全ての暴露媒体が網羅できていない可能性、その反対に一般公衆にとっては比較的

特殊な暴露媒体・経路に実際以上の寄与を割り振ることになっている可能性、あるいはサンプリング・分析過程の汚染によってそもそも暴露媒体中の DBP 測定値が信頼できない可能性、などのいくつかの不確かさが存在する。さらに、DBP は検出感度が悪いため、飲料水や食品からの摂取量見積もりに大きな不確かさがある。

一方、尿中代謝産物の排泄レベルから一日摂取量を推定する方法には上記のような問題点があまりないが、DBP のトキシコキネティクスやクレアチニン排泄量の個~~人~~体差及び民族差などにより、計算に用いる Fue 値が変動することが不確かさの最も大きな要因となる。

現時点では、どの暴露源が最も日本人の暴露に寄与しているか、また、想定した以外の暴露源が存在する可能性があるのか判断するのは難しい。

V. 国際機関等の評価 *（審議済み）*

１．米国

（１）米国環境保護庁（EPA）

統合リスク情報システム（Integrated Risk Information System：IRIS）

① 経口参照用量（Oral RfD）（EPA/IRIS 1990）

EPA/IRIS による経口 RfD 算出

臨界影響	用量	不確実係数	修正係数	参照用量（RfD）
死亡の増加 ラット	NOAEL: 飼料中 0.25% （125 mg/kg 体重/日*）	1,000**	1	1×10^{-1} mg/kg 体重/日
亜慢性～慢性経口試験 （Smith 1953）	LOAEL: 飼料中 1.25% （600 mg/kg 体重/日*）			

*Smith（1953）中に示された一日摂取量（mg/kg）の図から EPA が推定
**10（種差）×10（ヒトにおける高感受性亜集団の保護）×10（慢性試験よりも試験期間が短いこと及び研究の欠陥（例えば雄のみを使用））

② 発がん性（EPA/IRIS 1993）

EPA は、入手可能な文献中に DBP の発がん性に関する適切なデータが見当たらなかったことから、DBP を発がん分類 D：分類できない（not classifiable）に分類した。

（２）米国環境健康科学研究所（NIEHS）

国家毒性プログラム-ヒト生殖リスク評価センター（NTP-CERHR）（NTP 2003）

まず、CERHR の専門家パネルにより検討が行われた。パネルは、発達中の雄性生殖器系が構造及び機能的異常発生に最も感受性が高く、ラットでは妊娠中の母動物の

100 mg/kg 体重/日の DBP 暴露でも影響がみられるとし、ラットの雄性生殖器系発生への影響の NOAEL を 50 mg/kg 体重/日（Mylchreest et al. 2000）とした。生殖毒性については、成熟雌ラットへの 250 mg/kg 体重/日の DBP 暴露でも生殖機能への有害影響（繁殖性低下）が報告されているが（Gray et al. 1999）、これ以下の用量での用量反応性は判断できないとしている。雄に関しては、ラットの多世代試験（Wine et al. 1997）における F_0 同腹児数の減少に基づき、LOAEL を 52～80（雌 - 雄）mg/kg 体重/日と判断した。また、暴露推計にはカナダ保健省による、食品や空気等の環境媒体中濃度に基づく、年齢区分された暴露推定（Chan and Meek 1994）を選択した。検討結果は 2000 年に報告書として公表された。

NTP は 2003 年に、専門家パネルの報告書やそれに対するパブリックコメント、さらに最新の知見を踏まえて、DBP のヒト生殖発生影響に関する評価をまとめた。NTP は、ヒトでの直接的な証拠はないが、DBP はげっ歯類による試験では発生及び生殖に有害影響を及ぼすことが明確に示されることから、おそらく（probably）ヒトの発生又は生殖に同様又は別の悪影響を及ぼす可能性が潜在し、DBP の暴露が十分高い場合、ヒトの生殖又は発生に悪影響が及ぶであろうと判断した。また健康への懸念について、妊娠女性の DBP 暴露が専門家パネルの推定値（2～10 μg/kg 体重/日）レベルである場合には、発生影響に対する懸念はごくわずか（minimal）であると結論した。しかし、出産年齢女性の一部についての最近の DBP 暴露推定値（～100 μg/kg 体重/日、Kohn et al. 2000）に基づくと、ヒトの発達、特に雄性生殖器系の発達への有害影響に関しては、ある程度の懸念（some concern）があると結論している。NTP は暴露された成人における生殖毒性についての懸念は無視しうる（negligible）と結論した。

２．欧州連合（EU）

（１）欧州化学品庁（European Chemical Bureau：ECB）

ECB は 2004 年の評価において、労働者、消費者、環境を介した暴露についてヒトの健康影響を評価した。

暴露評価では、労働者について DBP の製造、DBP 含有製品の製造、加工及び最終利用過程における吸入及び経皮暴露、消費者（成人及び小児）について DBP 含有化粧品（特にマニキュア）及び接着剤の使用、食品へのセロファン包装及び乳幼児用のおもちゃやケア用品の使用による経口暴露、環境を介した暴露について ~~B~~DBP 発生源周辺の食品、飲料水及び大気を介した暴露（地域別に複数のシナリオを含む）のほか、母乳からの暴露が考慮されたシナリオが検討された。これら複数の暴露シナリオにより推定された暴露量から、動物試験で得られた NOAEL 等を starting point に用いてヒトの安全マージン（MOS）が算出された。経口暴露に対して混餌投与によるラットの 2 世代生殖毒性試験でみられた胚毒性に基づく LOAEL 52 mg/kg 体重/日（NTP 1995、Wine et al. 1997）及びラットを用いた 3 か月間混餌投与試験（Schilling et al.

1992）に基づく全身毒性の NOAEL 152 mg/kg 体重/日が選択された。吸入暴露に対してラットを用いた 28 日間吸入暴露試験に基づく全身毒性の NOAEC 509 mg/m^3（Gamer et al. 2000）が選択された。具体的には、なお、経皮暴露については評価に適切な試験がなく、吸収率を加味したアセスメント係数により他経路に対する starting point から外挿して評価が行われた。

評価の結果、ECB は消費者の及び環境からの暴露について「現時点では、更なる情報/試験の必要はなく、また既に実施されているリスク低減措置を超えた措置を実施する必要もない」と結論した。飲食に関連する MOS を抜粋すると、セロファン包装食品に対する MOS は 1,925、母乳からの暴露に対する MOS は 8,667 であった。また、環境からの暴露の複数のシナリオのうち、最低の MOS は 562（このうち、空気からの暴露に対する MOS は 216,000）であった。労働者については「リスクを低減する必要がある；既に実施されているリスク低減措置は考慮されるべきである」と結論している（EU RAR 2004）。

（２）欧州食品安全機関（EFSA）

2005 年に EFSA は食品接触材料に用いられる DBP の再評価を行った。従来の暫定 TDI 0.05 mg/kg 体重/日はげっ歯類肝臓におけるペルオキシゾーム増殖に基づいた値（Scientific Committee for Food 1995）であった。EFSA は、現在では、このエンドポイントはヒトのリスク評価には関連性がないとの共通認識を背景に、入手可能な毒性学的根拠に基づくと、DBP のリスク評価において根拠となる最も感受性の高いエンドポイントは生殖及び発生影響であると判断した。

最も低用量で影響がみられた試験はラットにおける発生毒性試験（Lee et al. 2004）で、妊娠 15 日から出産後 21 日まで母動物に DBP を混餌投与したところ、生後 21 日の児動物に最低用量から精巣精母細胞発達の減少及び雌雄に低頻度の乳腺の変化が用量依存的にみられた。また、雄児動物では用量相関性はないが有意な乳腺への影響が生後 11 週まで持続した。EFSA は、雄性生殖細胞の発達の欠損及び乳腺の変化に基づくと、これらの所見は最低用量である飼料中 20 mg/kg（1.5～3.0 mg/kg 体重/日）以上の投与群からみられるため、NOAEL は設定できないとした。また、これらの影響は可逆性であり、他のより長期の生殖毒性試験における NOAEL 又は LOAEL が 30 倍程度高いことを考慮すると、当該 LOAEL に対して不確実係数 200 を適用すれば十分であると考察した。

すなわち、EFSA は LOAEL 2mg/kg 体重/日に不確実係数 200 を適用し、DBP の TDI を 0.01 mg/kg 体重/日とした（EFSA 2005）。

（３）欧州化学品機関局（European Chemicals Agency：ECHA）

① 化学物質の登録・評価・認可・制限に関する規則（REACH 規則）に規定された再評価（2010）

ECHA は 2010 年に、子どものおもちゃやケア用品への DBP 制限に関して、2004 年のリスク評価（EU RAR）以降に得られた DBP の新たな知見を加味した再評価を行った。考慮されたデータは暴露関連（使用量、用途、バイオモニタリング情報など）であり、2004 年の評価時に用いられた LOAEL（52 mg/kg 体重/日、NTP 1995、Wine et al. 1997）の他に、抗アンドロゲン作用に基づく LOAEL 2 mg/kg 体重/日（Lee et al. 2004）を用いて 2 歳児の MOS が確認された。検討の結果、2004 年の評価時に比べて EU における DBP の使用量は少なくなっていた。文具やシャツなどの部品等に小児への暴露が考えられる新規用途があったが、少数例であり、製品中の DBP 濃度は低かった。そのうち 2 歳児のラバークロッグ（履物の一種）の使用について、健康への懸念が生じたが、極めて特異な激しい条件を仮定したもので、新たな規制が必要かどうか、さらに検討が必要とされた。以上より ECHA は健康に対して大きな問題となるような新たな使用用途はないと結論した。従って、現行規制を早急に再検討する必要はないと判断した（ECHA 2010）。

② 4 種のフタル酸エステルの制限に対する意見及び背景文書（2012）

REACH 規則において、可塑化された材料中に DEHP、BBP、DBP 又は DIBP のうち、一つ又はそれ以上を、合計 0.1%を超えて含有する室内製品及び皮膚や粘膜に接触するような製品の上市の禁止が提案された。リスク評価委員会（~~Committee for Risk Assessment：~~RAC）はスクリーニング（first tier）リスク評価として、ヒトの健康リスクを低減するためにこの制限が適切かどうか評価した。

RAC は、これら 4 種のもっとも感受性の高いエンドポイントと考えられる抗アンドロゲン様作用機序を介した生殖毒性について、動物データにおける NOAEL 又は LOAEL から推定した導出無影響レベル（DNEL）[63]とヒトの推定暴露量と比較した。具体的には、フタル酸エステルごとに~~、~~個別又は複数~~の~~を組み合わせ~~の~~た暴露経路の積算~~又は~~した、又は尿中代謝物量に基づく推定暴露量に対するリスク判定比（RCR）[64]を確認したほか、ハザードインデックス法[65]を選択して 4 種の RCR の総計を求めた。

---

[63] DENL（Derived No-Effect Levels）は、本背景文書（ECHA 2012a）において動物試験における NOAEL 又は LOAEL をアセスメント係数（種差及び個~~人~~体差又は LOAEL を用いる場合は NOAEL へ外挿するための不確実性を示す）で除した値である。

[64] RCR（Risk characterization Ratio）＝暴露/DNEL
ある化学物質の RCR が 1 を超えると、その化学物質のリスクは制御されていないことを示す。

DBP ~~に~~の starting value として~~については~~、Lee ら（2004）のラットを用いた発生毒性試験における児動物の生後 21 日目の精母細胞発達の低下と成獣となった雄児の乳腺の変性に基づく LOAEL 2 mg/kg 体重/日が ~~starting value として~~選択された。アセスメント係数として種差 10 及び個~~人~~体差 10、NOAEL への外挿のための 3 が適用され、DENL として 0.67 mg/kg 体重/日が導かれた。

RCR は、現実的な最悪ケースシナリオにおける食品を介した DBP 暴露（97.5 パーセンタイル値）に対して 2 歳児、6/7 歳児及び成人で、それぞれ 0.149、0.104 及び 0.045 であった。一方、尿中代謝物量から推定（Fredericksen et al. 2011、Koch 2011、Wittassek et al. 2007）された総暴露量（95 パーセンタイル値）に対する RCR は、DBP について子どもで 0.955、成人で 1.090、4 種のフタル酸エステルの RCR の総計について子どもで 1.59、成人で 1.23 であった。このように RCR の総計は 1 を超過したが、RAC は、尿を採取した 2007 年時点の暴露状況を反映した RCR であり、ハザードや暴露推定に不確実性があること、さらに最近 10 年の 4 種のフタル酸エステルの使用は着実に減少しており、体内負荷量の下降（例えば Goen et al. 2011 に示される）に影響を与えていると考えられることから、現状の RCR は 1 より低くなると予想した。

以上より RAC は、、現在（2012 年）これら 4 種のフタル酸エステルの暴露によるリスクがあることは、入手可能なデータでは示されないことから、この提案は正当化（justify）されないと考える。数年以内にこれらのフタル酸エステルに承認要件が課されるため、結果として生じる使用減少により、さらにリスクは低減するとの意見を採択した（ECHA 2012a、b）。

３．オーストラリア

化学物質通知評価スキーム（National Industrial Chemical Notification and Assessment Scheme：NICNAS）

NICNAS は、既存化学物質としてフタル酸エステルの評価を行っている。第 1 段階（phase 1）として、オーストラリアに流通する、あるいはその可能性があるフタル酸オルトエステル 24 種類について有害性評価を行い、2008 年に結果を公表した（NICNAS 2008）。続いて評価の第 2 段階（phase 2）として、24 種のうち優先既存化学物質と特定された DBP を含む 9 種類のフタル酸エステルのリスク評価が進められ、2013 年に DBP のリスク評価結果が公表された（NICNAS 2013）。

---

[65] ハザードインデックス＝Σ Ci/DNELi、Ci：含まれる化学物質 i の混合物中濃度又は推定暴露量、DNELi：含まれる化学物質 i の DNEL。ハザードインデックスが 1 を超えると、そのリスクは制御されていないことを示す。

（１）既存化学物質有害性評価（2008）

DBPの実験動物に対する経口暴露での急性毒性は低い（ラット LD_{50} 6,300～8,000 mg/kg体重、BASF 1961）。利用可能な全てのデータとその証拠の重み付けに基づくと、DBPは体細胞及び生殖細胞の両方において遺伝毒性を示さない物質であると考えられる。反復投与毒性について、ラットでの3か月間経口試験（Schillinget al. 1992）における肝及び腎重量の変化及び血液学的・臨床化学的パラメーターの変化に基づき、LOAELは752 mg/kg体重/日、NOAELは152 mg/kg体重/日であった。この用量では精巣や神経系への影響はみられなかった。

DBPの発がん性に関しては実験動物でもヒトでも適切な研究は得られていない。

ラットにおける生殖試験では精巣への影響がみられている。ラットの2世代試験では、繁殖影響のLOAELは、F1の精巣萎縮に基づき飼料中0.5%（雄では256 mg/kg体重/日、雌では385 mg/kg体重/日）であり、NOAELは飼料中0.1%（雄では52 mg/kg体重/日、雌では80 mg/kg体重/日）であった（NTP 1995）。妊娠 15日～出産後 21日にDBP暴露したラットの1世代試験では生殖・発生影響のLOAELは精母細胞の有意な発達低下に基づき、飼料中2000 ppm（148～291mg/kg体重/日）であり、NOAELは飼料中200 ppm（14～29 mg/kg体重/日）であった（Lee et al. 2004）。発生時期のみの暴露でも同様の影響がみられており、最も感受性の高いエンドポイントは精巣の形態学的（testicular morphology）影響及び生殖成熟に対する影響である。妊娠12～21日にDBP暴露したラットではLOAELは雄児動物の精細管萎縮及び乳頭保持に基づき100 mg/kg体重/日であり、NOAELは50 mg/kg体重/日であった（Mylchreest et al. 2000）。ヒトにおけるDBPの生殖、発生に関するデータはないが、代謝物であるMBPについては性ホルモン結合グロブリンやfTレベルの変化、及び男児における発達影響に関する限定的な証拠がある（NICNAS 2008）。

（２）既存化学物質評価（2013）~~*（審議済み）*~~

化粧品及び子どものおもちゃやケア用品といった消費者製品用途のDBPを対象にリスク評価が実施された。

NICNASは、DBPやペルオキシゾーム増殖剤の反復投与による肝臓毒性のメカニズムはヒトに関連しないと考えた。遺伝毒性試験や形質転換試験の結果、DBPに遺伝毒性はなく、遺伝毒性発がん物質ではありそうにないと判断した。又、動物を用いた適切な長期間の発がん性試験は入手できなかったが、DBP及び脂質低下剤によるげっ歯類におけるペルオキシゾーム増殖の作用機序並びにヒトではDBP暴露と発がん性を関連付ける証拠が存在しないことを考慮し、ヒトに発がん性があるとみなさなかった。NICNASはヒトの健康に関連するDBPの毒性の重要なエンドポイントは生殖及び発生への影響に基づく生殖毒性であり、雄性生殖器が最も感受性の高い標的器官であると考えた。検討の結果、げっ歯類に仮定される作用機序の主要な

要素であるステロイド生合成及びインスリン様ペプチド3 発現の変動がヒトに適用できることを考慮すれば、げっ歯類にみられる生殖毒性はヒトに関連するものと判断された。そこで、~~DBPの妊娠期暴露後にみられる生殖器奇形と矛盾しない、~~有力な作用機序の主要素であ~~る~~り、DBPの妊娠期暴露後に観察される生殖器管奇形と整合する~~内分泌かく乱、特にテストステロン合成の脱制御及び、特に~~アンドロゲンの低下に基づき、DBPのリスク判定に最も適切なNOAELを10 mg/kg体重/日（Lehmann et al. 2004）とした。

リスク推計ではNOAEL10 mg/kg体重/日を、暴露経路に応じて生体利用率等を加味して算出した内部暴露量で除したMOEが算出された。子どものおもちゃやケア製品のマウシング~~mouthing~~による暴露及び経皮暴露の合計に対して、MOEは4,878～28,571（ワーストケース～典型的暴露シナリオ）であり、生殖発生影響リスクは低いと判定された。化粧品による経皮暴露（ワーストケース暴露シナリオのみ）では、MOEは子どもで162～233（新生児～12か月齢）と100を超えたが、一般集団では64であった。NICNASは、ワーストケースシナリオが当てはまる高暴露者はMOEが100未満となるおそれがあり、妊娠・授乳中の女性において子どもへの生殖発生影響のリスクがあるとした[66]（NICNAS 2013）。

４．日本~~*（審議済み）*~~

厚生労働省　厚生科学審議会　水質基準の見直し（2003）

平成 15 年（2003 年）の厚生科学審議会生活環境水道部会水質管理専門委員会により、次のように水質基準の見直しの検討がなされた。

DBPの低用量効果の有無については未だ明らかになっておらず、現在のところ、DBPの最小毒性量は66 mg/kg体重/日（Wine et al. 1997）、無毒性量は50 mg/kg体重/日（Mylchreest et al. 2000）と判断される。Mylchreest et al.（2000）の実験における投与期間は妊娠後期の9日間だけであり、雄児の生殖器系に対する毒性影響が認められている。一方、Wine et al.（1997）の連続繁殖試験における投与期間は14週間であり、繁殖全般にわたる指標を評価検討した報告であり、明確な毒性影響である生存児数の減少に基づいて求められた最小毒性量であり、この最小毒性量66 mg/kg体重/日をTDI設定の根拠とすることは適切と考えられる。DBPのNOAEL算定には、不確実係数は通常の100（種差：10、個体差：10）に、最小毒性量からTDIを求めることから更に10を付加し、不確実係数を1,000とし、TDIは暫定的に66 μg/kg体重/日とすることが妥当と考えられる。

---

[66] NICNAS は 100 より大きい MOE は、種差及び個体~~人~~差それぞれ 10 の保守的な初期不確実係数をカバーするため、通常、リスクの懸念は低いとみなされることを ICPS（1994）及び ECTOC（2003）から引用をしている

検討の結果、暫定的 TDI 66 μg/kg を基に、DBP の主要摂取経路（Kavlock et al., 2002）は食品であることから、水の寄与率を 10%、体重 50 kg のヒトが 1 日 2 L 飲水するとし、評価値を 0.2 mg/L（≒0.165 mg /L）（暫定値）とすることが妥当と考えられる（厚生労働省 2003）。

VI. 食品健康影響評価*（一部審議）*

1　＜別紙：略号等＞

略号	日本語名称
AGD	肛門生殖突起間距離
ALP	アルカリ・ホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AR	アンドロゲンレセプター
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
BBP	フタル酸ベンジルブチル
BMI	肥満度指数 BMI＝体重(kg)/身長(m)^2
CERHR	ヒト生殖リスク評価センター
DBP	フタル酸ジブチル
DEHP	フタル酸ビス（2-エチルヘキシル）
DEP	フタル酸ジエチル
DIDP	フタル酸ジイソデシル
DINP	フタル酸ジイソノニル
DPP	フタル酸ジペンチル
DPrP	フタル酸ジプロピル
E2	エストラジオール
EFSA	欧州食品安全機関
EPA	環境保護庁
ER	エストロゲンレセプター
FSH	卵胞刺激ホルモン
fT	遊離テストステロン
GD	妊娠日数
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
IGF-I	インスリン様増殖因子Ⅰ
IQ	知能指数
LH	黄体形成ホルモン
LOAEL	最小毒性量
MBP	フタル酸モノブチル
MBzP	フタル酸モノベンジル
MCP	モノサイクロヘキシルフタレート
MCPP	フタル酸モノ-3-カルボキシプロピル
MDI	精神発達指数
MiBP	フタル酸モノイソブチル
NHANES	国民健康栄養調査
NNK	4-（N-メチル-N-ニトロソアミノ）-1-（3-ピリジル）-1-ブタノン
NOAEL	無毒性量
NTP	米国国家毒性プログラム

PA	フタル酸
PCoA	パルミトイル CoA
PCOS	多嚢胞性卵巣症候群
PDI	運動発達指数
PND	出生後日数
PNW	出生後週齢
PVC	ポリ塩化ビニル
RfD	参照用量
S9	(肝)ホモジネート 9000 x g 上清画分
SCF	食品科学委員会
SOD	スーパーオキシドジスムターゼ
T	テストステロン
T3	トリヨードチロニン
T4	チロキシン
TG	中性脂肪

1　＜参照＞

ATSDR（A gency for Toxic Substances and Disease Registry）：Toxicological profile,　Di-*n*-butyl phthalate. U.S. Department of Health and Human Services 2001

Adibi JJ, Whyatt RM, Hauser R, Bhat HK, Davis BJ, Calafat AM, et al.: Transcriptional biomarkers of steroidogenesis and trophoblast differentiation in the placenta in relation to prenatal phthalate exposure. Environ Health Perspect 2010; 118: 291-296

Alam MS, Andrina BB, Tay TW, Tsunekawa N, Kanai Y, Kurohmaru M: Single administration of di(n-butyl) phthalate delays spermatogenesis in prepubertal rats. Tissue Cell. 2010b; 42:129-135

Alam MS, Ohsako S, Matsuwaki T, Zhu XB, Tsunekawa N, Kanai Y: Induction of spermatogenic cell apoptosis in prepubertal rattestes irrespective of testicular steroidogenesis: a possible estrogenic effect of di(n-butyl) phthalate. Reproduction. 2010a; 139:427-437

Albro PW, Moore B: Identification of the metabolites of simple phthalate diesters in rat urine. J Chromatogr 1974; 94: 209-218

Anderson WAC, Castle L, Scotter MJ, Massey RC, Springall C: A biomarker approach to measuring human dietary exposure to certain phthalate diesters. Food Addit Contam 2001; 18: 1068-1074

Ashby J, Lefevre PA: Preliminary Evaluation of the Major Protocol Variables for the Hershberger Castrated Male Rat Assay for the Detection of Androgens, Antiandrogens, and Metabolic Modulators. Regul Toxicol Pharmacol 2000; 31: 92-105

Auharek SA, de Franca LR, McKinnell C, Jobling MS, Scott HM, Sharpe RM: Prenatal plus postnatal exposure to Di(n-Butyl) phthalate and/or flutamide markedly reduces final sertoli cell number in the rat. Endocrinology. 2010; 151:2868-2875

Bao AM, Man XM, Guo XJ, Dong HB, Wang FQ, Sun H, et al. Effects of di-n-butyl phthalate on male rat reproduction following pubertal exposure. J Androl. 2011; 13:702-709.

Barber E, Cifone M, Rundell J, Przygoda R, Astill B, Moran E, Mulholland A, Robinson E, Schneider B. Results of the L5178Y mouse lymphoma assay and the Balb/3t3 cell invitro transformation assay for eight phthalate esters. J Appl Toxicol 2000; 20: 69-80.

Bility MT, Thompson JT, McKee RH, David RM, Butala JH, Vanden Heuvel JP, et al: Activation of mouse and human peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) by phthalate monoesters. Toxicol Sci 2004; 82:170-182.

Boas M, Frederiksen H, Feldt-Rasmussen U, Skakkebæk NE, Hegedüs L, Hilsted L, et al.: Childhood exposure to phthalates: associations with thyroid function, insulin-like growth factor I, and growth. Environ Health Perspect 2010; 118: 1458-1464

Boekelheide K, Kleymenova E, Liu K, Swanson C, Gaido KW: Dose-dependent effects on cell proliferation, seminiferous tubules, and male germ cells in the fetal rat testis following exposure to di(n-butyl) phthalate. Microsc Res Tech. 2009; 72: 629-638

Brucker-Davis F, Ferrari P, Boda-Buccino M, Wagner-Mahler K, Pacini P, Gal J,et al.: Cord blood thyroid tests in boys born with and without cryptorchidism: correlations with birth parameters and in utero xenobiotics exposure. Thyroid. 2011; 21: 1133-41

CERI（(財)化学物質評価研究機構）・NITE（(独)製品評価技術基盤機構）化学物質の初期リスク評価

書 Ver. 1.1 No.11 フタル酸ジ-n-ブチル. 新エネルギー・産業技術総合開発機構 2005

CERI: 平成 24 年度化学物質複合影響評価手法検討調査業務報告書. 環境省請負業務；2013 http://www.env.go.jp/chemi/report/h25-01.pdf

CPSC: Toxicity revew. Di-Butylphthalate (DBP) 2010

CPSC: Consumer product safety improvement act of 2008, Public law 110-314–AUG. 14, 2008. http://www.cpsc.gov/cpsia.pdf

CPSC（United States Consumer Product Safety Commission）: FAQs: Bans on Phthalates in Children's Toys November 15, 2011 http://www.cpsc.gov/Regulations-Laws--Standards/CPSIA/Phthalates/FAQs-Bans-on-Phthalates-in-Childrens-Toys/

CSTEE （EU Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment）: Phthalate migration from soft PVC toys and child-care articles. Opinion expressed at the CSTEE third plenary meeting Brussels, 24 April 1998

Cater BR, Cook MW, Gangolli SD, Grasso P. Studies on dibutyl phthalate-induced testicular atrophy in the rat: effect on zinc metabolism. Toxicol Appl Pharmacol. 1977;41:609-618.

Cho SC, Bhang SY, Hong YC, Shin MS, Kim BN, Kim JW, et al.: Relationship between environmental phthalate exposure and the intelligence of school-age children. Environ Health Perspect 2010; 118: 1027-1032

Christen V, Crettaz P, Oberli-Schrämmli A, Fent K. Some flame retardants and the antimicrobials triclosan and triclocarban enhance the androgenic activity in vitro. Chemosphere. 2010;81:1245-1252

Christen V, Crettaz P, Oberli-Schrämmli A, Fent K: Antiandrogenic activity of phthalate mixtures: validity of concentration addition. Toxicol Appl Pharmacol. 2012; 259: 169-176

Clewell RA, Kremer JJ, Williams CC, Campbell JL, Sochaski MA, Andersen ME, et al.: Kinetics of selected di-n-butyl phthalate metabolites and fetal testosterone following repeated and single administration in pregnant rats. Toxicology 2009; 255: 80-90

Clewell RA, Campbell JL, Ross SM, Gaido KW, Clewell HJ 3rd, Andersen ME: Assessing the relevance of in vitro measures of phthalate inhibition of steroidogenesis for in vivo response. Toxicol In Vitro. 2010; 24: 327-334.

Clewell RA, Thomas A, Willson G, Creasy DM, Andersen ME: A dose response study to assess effects after dietary administration of diisononyl phthalate (DINP) in gestation and lactation on male rat sexual development. Reprod Toxicol 2013; 35: 70-80

Coldham NG, Dave M, Sauer MJ: Analysis of di-n-butylphthalate biotransformation in cattle by liquid chromatography/ion trap mass spectrometry/mass spectrometry. J Mass Spectrom 1998; 33: 803-810

Coldham NG, Dave M, Sivapathasundaram S, McDonnell DP, Connor C, Sauer MJ: Evaluation of a recombinant yeast cell estrogen screening assay. Environ Health Perspect. 1997; 105: 734-742

Colón I, Caro D, Bourdony CJ, Rosario O: Identification of phthalate esters in the serum of young Puerto Rican girls with premature breast development. Environ Health Perspect 2000;

108: 895-900

David RM: Exposure to phthalate esters. Environ Health Perspect 2000; 108: A440-A443

Di Carlo FJ: Structure-activity relationships (Sar) and structure-metabolism relationships (Smr) affecting the teratogenicity of carboxylic acids. Drug Metab Rev 1990; 22: 441-449

Dobrzyńska MM, Tyrkiel EJ, Hernik A, Derezińska E, Góralczyk K, Ludwicki JK. The effects of di-n-butyl phthalate on the somatic cells of laboratory mice. Rocz Panstw Zakl Hig. 2010;61(1):13-19. Polish.（要約）

Dobrzyńska MM, Tyrkiel EJ, Pachocki KA. Developmental toxicity in mice following paternal exposure to Di-N-butyl-phthalate (DBP). Biomed Environ Sci.2011; 24:569-578.

Drake AJ, van den Driesche S, Scott HM, Hutchison GR, Seckl JR, Sharpe RM: Glucocorticoids amplify dibutyl phthalate-induced disruption of testosterone production and male reproductive development. Endocrinology. 2009; 150: 5055-5064

Duty SM, Ackerman RM, Calafat AM, Hauser R: Personal care product use predicts urinary concentrations of some phthalate monoesters. Environ Health Perspect 2005b; 113: 1530-1535

Duty SM, Silva MJ, Barr DB, Brock JW, Ryan L, Chen Z, et al.: Phthalate exposure and human semen parameters. Epidemiology 2003; 14: 269-277

Duty SM, Calafat AM, Silva MJ, Ryan L, Hauser R: Phthalate exposure and reproductive hormones in adult men. Hum Reprod. 2005a; 20: 604-610

ECHA: Committee for Risk Assessment (RAC) Committee for Socio-economic Analysis (SEAC) Background document to the Opinion on the Annex XV dossier proposing restrictions on four phthalates 5 December 2012a

ECHA: Evaluation of new scientific evidence concerning the restrictions contained in Annex XVII to regulation (EC) No 1907/2006 (REACH) Review of new available information Di-butylphthalate (DBP) Jury 2010

ECHA（European Chemicals Agency）: Committee for Risk Assessment (RAC) Opinion on an Annex XV dossier proposing restrictions on four phthalates ECHA/RAC/RES-O-0000001412-86-07/F Adopted 15 June 2012b

EFSA (European Food Safety Authority): Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food (AFC) on a request from the Commission related to Di-Butylphthalate (DBP) for use in food contact materials. The EFSA Journal 2005; 242: 1-17

EPA/IRIS (US Environmental Protection Agency (EPA)/ Integrated Risk Information System (IRIS)): Dibutyl phthalate (CASRN 84-74-2). Oral RfD assessment last revised 1990, Carcinogenicity assessment last revised 1993 http://www.epa.gov/iris/

EU RAR (European Union Risk Assessment Report): dibutyl phthalate with addendum 2004, European Commission 2004; EUR 19840 EN

EC (European Commission) : COMMISSION REGULATION (EU) No 10/2011 of 14 January 2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food, OJ 2011. 1. 15; No L12:1-89, 15.1.2011, Amended by: Commission Implementing Regulation (EU) No 321/2011 of 1 April 2011, OJ 2011. 4. 2; No L 87:1-2, Commission Regulation (EU) No

1282/2011 of 28 November 2011. OJ 2011. 12.10; L328: 22-29

Elsisi AE, Carter DE, Sipes IG: Dermal absorption of phthalate diesters in rats. Fundam Appl Toxicology 1989; 12: 70-77

Ema M, Amano H, Itami T, Kawasaki H: Teratogenic evaluation of di-n-butyl phthalate in rats. Toxicol Lett. 1993; 69: 197-203

Ema M, Amano H, Ogawa Y: Characterization of the developmental toxicity of di-n-butyl phthalate in rats. Toxicology. 1994; 86:163-174

Ema M, Kurosaka R, Amano H, Ogawa Y: Comparative developmental toxicity of n-butyl benzyl phthalate and di-n-butyl phthalate in rats. Arch Environ Contam Toxicol. 1995 ; 28: 223-228

Ema M, Kurosaka R, Amano H, Ogawa Y: Developmental toxicity evaluation of mono-n-butyl phthalate in rats. Toxicol Lett. 1995; 78: 101-106

Ema M, Kurosaka R, Harazono A, Amano H, Ogawa Y: Phase specificity of developmental toxicity after oral administration of mono-n-butyl phthalate in rats. Arch Environ Contam Toxicol. 1996; 31: 170-176

Ema M, Miyawaki E, Kawashima K: Further evaluation of developmental toxicity of di-n-butyl phthalate following administration during late pregnancy in rats. Toxicol Lett. 1998; 98: 87-93

Engel SM, Miodovnik A, Canfield RL, Zhu C, Silva MJ, Calafat AM, et al.: Prenatal phthalate exposure is associated with childhood behavior and executive functioning. Environ Health Perspect 2010; 118: 565-571

Engel SM, Zhu C, Berkowitz GS, Calafat AM, Silva MJ, Miodovnik A, et al.: Prenatal phthalate exposure and performance on the Neonatal Behavioral Assessment Scale in a multiethnic birth cohort. Neurotoxicology 2009; 30: 522-528

FDA (US Food and Drug Administration): 21CFR (Code of Federal Regulations title 21) § 175.105, 175.300, 176.170, 176.180, 176.300, 177.1200, 177.2420, 177.2600. 2013,Last updated: 2013. 4. 1 http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm

Ferguson KK, Loch-Caruso R, Meeker JD. Exploration of oxidative stress and inflammatory markers in relation to urinary phthalate metabolites: NHANES 1999-2006. Environ Sci Technol. 2012; 46: 477-85.

Ferguson KK, Loch-Caruso R, Meeker JD: Urinary phthalate metabolites in relation to biomarkers of inflammation and oxidative stress: NHANES 1999-2006. Environ Res. 2011; 111: 718-26.

Foster PMD, Cook MW, Thomas LV, Walters DG, Gangolli SD: Differences in urinary metabolic profile from di-n-butyl phthalate-treated rats and hamsters. A possible explanation for species differences in susceptibility to testicular atrophy. Drug Metab Dispos 1983; 11: 59-61

Ghisari M, Bonefeld-Jorgensen EC. Effects of plasticizers and their mixtures on estrogen receptor and thyroid hormone functions. Toxicol Lett. 2009;189:67-77

Gray T, Rowland I, Foster P, Gangolli S. Species differences in the testicular toxicity of phthalate

esters. Toxicol Lett 1982; 11: 141-147

Guerra MT, Scarano WR, de Toledo FC, Franci JA, Kempinas Wde G: Reproductive development and function of female rats exposed to di-eta-butyl-phthalate (DBP) in utero and during lactation. Reprod Toxicol 2010; 29: 99-105.

Hallmark N, Walker M, McKinnell C, Mahood IK, Scott H, Bayne R et al: Effects of monobutyl and di(n-butyl) phthalate in vitro on steroidogenesis and Leydig cell aggregation in fetal testis explants from the rat: comparison with effects in vivo in the fetal rat and neonatal marmoset and in vitro in the human. Environ Health Perspect. 2007; 115: 390-396

Han X, Cui Z, Zhou N, Ma M, Li L, Li Y, et al.: Urinary phthalate metabolites and male reproductive function parameters in Chongqing general population, China. Int J Hyg Environ Health. 2013 Jun 26. doi:pii: S1438-4639(13)00082-5. 10.1016/j.ijheh.2013.06.006. [Epub ahead of print]

Hanioka N, Takahara Y, Takahara Y, Tanaka-Kagawa T, Jinno H, Narimatsu S: Hydrolysis of di-n-butyl phthalate, butylbenzyl phthalate and di(2-ethylhexyl) phthalate in human liver microsomes. Chemosphere 2012; 89: 1112-1117

Harris CA, Henttu P, Parker MG, Sumpter JP. The estrogenic activity of phthalate esters in vitro. Environ Health Perspect 1997; 105: 802-811

Hatch EE, Nelson JW, Qureshi MM, Weinberg J, Moore LL, Singer M, et al.: Association of urinary phthalate metabolite concentrations with body mass index and waist circumference: a cross-sectional study of NHANES data, 1999-2002. Environ Health 2008; 7: 27

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: 682-691

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. Hum Reprod 2007; 22: 688-695

Hayashi Y, Ito Y, Yanagiba Y, Kamijima M, Naito H, Nakajima T: Differences in metabolite burden of di(2-ethylhexyl)phthalate in pregnant and postpartum dams and their offspring in relation to drug-metabolizing enzymes in mice. Arch Toxicol 2012; 86: 563-569

Heger NE, Hall SJ, Sandrof MA, McDonnell EV, Hensley JB, McDowell EN et al: Human fetal testis xenografts are resistant to phthalate-induced endocrine disruption. Environ Health Perspect. 2012; 120:1137-1143.

Herrera E. Implications of dietary fatty acids during pregnancy on placental, fetal and postnatal development--a review. Placenta. 2002; 23 Suppl A:S9-19.

Higuchi TT, Palmer JS, Gray LE Jr, Veeramachaneni DN: Effects of dibutyl phthalate in male rabbits following in utero, adolescent, or postpubertal exposure. Toxicol Sci. 2003; 72: 301-313

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: 958-971

Hogberg J, Hanberg A, Berglund M, Skerfving S, Remberger M, Calafat AM et al: Phthalate diesters and their metabolites in human breast milk, blood or serum, and urine as biomarkers of exposure in vulnerable populations. Environ Health Perspect 2008: Mar; 116: 334-339.

Hong YC, Park EY, Park MS, Ko JA, Oh SY, Kim H, et al.: Community level exposure to chemicals and oxidative stress in adult population. Toxicol Lett 2009; 184: 139-144

Hoshi H, Ohtsuka T. Adult rats exposed to low-doses of di-n-butyl phthalate during gestation exhibit decreased grooming behavior. Bull Environ Contam Toxicol. 2009; 83: 62-66.

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. Toxicol Sci 2007; 99: 190-202

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. Toxicol Sci. 2008; 105: 153-165

Hsu NY, Lee CC, Wang JY, Li YC, Chang HW, Chen CY, et al.: Predicted risk of childhood allergy, asthma, and reported symptoms using measured phthalate exposure in dust and urine. Indoor Air 2012; 22: 186-199

Huang PC, Kuo PL, Chou YY, Lin SJ, Lee CC: Association between prenatal exposure to phthalates and the health of newborns. Environ Int 2009; 35: 14-20

Huang PC, Kuo PL, Guo YL, Liao PC, Lee CC: Associations between urinary phthalate monoesters and thyroid hormones in pregnant women. Hum Reprod 2007; 22: 2715-2722

IPCS（International Programme On Chemical Safety）：IPCS/UNEP/ILO/WHO Environmental Health Criteria 189, Di-n-butyl Phthalate. WHO 1997 http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc189.htm

Imajima T, Shono T, Zakaria O, Suita S: Prenatal phthalate causes cryptorchidism postnatally by inducing transabdominal ascent of the testis in fetal rats. J Pediatr Surg. 1997; 32: 18-21.

Ito Y, Kamijima M, Hasegawa C, Tagawa M, Kawai T, Miyake M,~~-~~ et al~~Hayashi Y, Naito H,Nakajima T~~ : Species and inter-individual differences in metabolic capacity of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) between human and mouse livers. Environ Health Prev Med. 2013 Sep 28. [Epub ahead of print]

Itoh H, Iwasaki M, Hanaoka T, Sasaki H, Tanaka T, Tsugane S: Urinary phthalate monoesters and endometriosis in infertile Japanese women. Sci Total Environ 2009; 408: 37-42

Itoh H, Yoshida K, Masunaga S: Evaluation of the effect of governmental control of human exposure to two phthalates in Japan using a urinary biomarker approach. Int J Hyg Environ Health 2005; 208: 237-245

Jaakkola JJ, Knight TL: The role of exposure to phthalates from polyvinyl chloride products in the development of asthma and allergies: a systematic review and meta-analysis. Environ Health Perspect 2008; 116: 845-853

Jansen EHJM, van den Ham WA, de Fluiter P, van Leeuwen FXR. Report nr. 618902013 Toxicological investigation of dibutylphthalate in rats. the National Institute of Public Health and Environmental Protection (RIVM), 1993

http://rivm.openrepository.com/rivm/handle/10029/256253

Jiang Z, Guerrero-Netro HM, Juengel JL, Price CA: Divergence of intracellular signaling pathways and early response genes of two closely related fibroblast growth factors, FGF8 and FGF18, in bovine ovarian granulosa cells. Mol Cell Endocrinol. 2013; 375:97-105

Jobling MS, Hutchison GR, van den Driesche S, Sharpe RM: Effects of di(n-butyl) phthalate exposure on foetal rat germ-cell number and differentiation: identification of age-specific windows of vulnerability. Int J Androl. 2011; 34: e386-96.

Jobling S, Reynolds T, White R, Parker MG, Sumpter JP: A variety of environmentally persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic. Environ Health Perspect. 1995; 103: 582-587

Johnson KJ, McDowell EN, Viereck MP, Xia JQ: Species-specific dibutyl phthalate fetal testis endocrine disruption correlates with inhibition of SREBP2-dependent gene expression pathways. Toxicol Sci. 2011; 120: 460-474.

Jönsson BA, Richthoff J, Rylander L, Giwercman A, Hagmar L: Urinary phthalate metabolites and biomarkers of reproductive function in young men. Epidemiology 2005; 16: 487-493

Kanazawa A, Saito I, Araki A, Takeda M, Ma M, Saijo Y, et al.: Association between indoor exposure to semi-volatile organic compounds and building-related symptoms among the occupants of residential dwellings. Indoor Air 2010; 20: 72-84

Kaneshima H, Yamaguchi T, Okui T, Naitoh M: Studies on the effects of phthalate esters on the biological system (Part 2) - in vitro metabolism and biliary excretion of phthalate esters in rats. Bull Environ Contam Toxicol 1978; 19: 502-509

Keys DA, Wallace DG, Kepler TB, Conolly RB: Quantitative Evaluation of Alternative Mechanisms of Blood Disposition of Di(n-butyl) phthalate and mono(n-butyl) phthalate in rats. Toxicol Sci 2000; 53: 173-184

Kim BN, Cho SC, Kim Y, Shin MS, Yoo HJ, Kim JW, et al.: Phthalates exposure and attention-deficit/hyperactivity disorder in school-age children. Biol Psychiatry 2009; 66: 958-963

Kim MY, Cho MH: Tumorigenesis in B6C3F1 mice exposed to ozone in combination with 4-(N-methyl-N-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone and dietary dibutyl phthalate. Toxicol Ind Health. 2009a; 22: 189-195.

Kim MY, Cho MY: Toxicity and carcinogenicity of ozone in combination with 4-(N-methyl-N-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone and dibutyl phthalate in B6C3F1 mice for 16 and 32 weeks. Biomed Environ Sci. 2009b; 25:216-222.

Kim TS, Jung KK, Kim SS, Kang IH, Baek JH, Nam HS et al: Effects of in utero exposure to DI(n-Butyl) phthalate on development of male reproductive tracts in Sprague-Dawley rats. J Toxicol Environ Health A. 2010a; 73: 1544-1559.

Kim TS, Yoon CY, Jung KK, Kim SS, Kang IH, Baek JH, et al.: In vitro study of Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) endocrine disruptor screening and testing methods- establishment of a recombinant rat androgen receptor (rrAR) binding assay. J Toxicol Sci. 2010b; 35: 239-43.

Kim Y, Ha EH, Kim EJ, Park H, Ha M, Kim JH, et al.: Prenatal exposure to phthalates and infant development at 6 months: prospective Mothers and Children's Environmental

Health (MOCEH) study. Environ Health Perspect 2011; 119: 1495-1500

Koch HM, Christensen KLY, Harth V, Lorber M, Brüning T: Di-n-butyl phthalate (DnBP) and diisobutyl phthalate (DiBP) metabolism in a human volunteer after single oral doses. Arch Toxicol 2012; 86: 1829-1839

Koch HM, Drexler H, Angerer J: An estimation of the daily intake of di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) and other phthalates in the general population. Int J Hyg Environ Health 2003; 206: 77-83

Kohn MC, Parham F, Masten SA, Portier CJ, Shelby MD, Brock JW, et al.: Human exposure estimates for phthalates. Environ Health Perspect 2000; 108: A440-A442

Kolarik B, Naydenov K, Larsson M, Bornehag CG, Sundell J: The association between phthalates in dust and allergic diseases among Bulgarian children. Environ Health Perspect 2008; 116: 98-103

Koo HJ, Lee BM: Estimated exposure to phthalates in cosmetics and risk assessment. J Toxicol Environ Health A 2004; 67: 1901-1914

Krauskopf LG. Studies on the toxicity of phthalates via ingestion. Environ Health Perspect. 1973; 3:61-72.

Kremer JJ, Williams CC, Parkinson HD, Borghoff SJ: Pharmacokinetics of monobutylphthalate, the active metabolite of di-n-butylphthalate, in pregnant rats. Toxicol Lett 2005; 159: 144-153

Kwack S-J, Han E-Y, Park J-S, Bae J-Y, Ahn, I-Y, Lim S-K, et al., Comparison of the Short Term Toxicity of Phthalate Diesters and Monoesters in Sprague-Dawley Male Rats Toxicological Research, 2010; 26: 75-82,

Kwack SJ, Kim KB, Kim HS, Lee BM. Comparative toxicological evaluation of phthalate diesters and metabolites in Sprague-Dawley male rats for risk assessment. J Toxicol Environ Health A. 2009; 72:1446-1454.

Lake BG, Phillips JC, Linnell JC, Gangolli SD: The in vitro hydrolysis of some phthalate diesters by hepatic and intestinal preparations from various species. Toxicol Appl Pharmacol 1977; 39: 239-248

Lamb JC 4th, Chapin RE, Teague J, Lawton AD, Reel JR: Reproductive effects of four phthalic acid esters in the mouse. Toxicol Appl Pharmacol. 1987; 88: 255-269

Lee KY, Shibutani M, Takagi H, Kato N, Takigami S, Uneyama C et al.: 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. 2004; 203: 221-238

Lehmann KP, Phillips S, Sar M, Foster PM, Gaido KW: Dose-dependent alterations in gene expression and testosterone synthesis in the fetal testes of male rats exposed to di (n-butyl) phthalate. Toxicol Sci. 2004; 81: 60-68

Li Y, Li T, Zhuang M, Wang K, Zhang J, Shi N: High-dose dibutyl phthalate improves performance of F1 generation male rats in spatial learning and increases hippocampal BDNF expression independent on p-CREB immunocontent. Environ Toxicol Pharmacol. 2010; 29: 32-38.

Li Y, Zhuang M, Li T, Shi N: Neurobehavioral toxicity study of dibutyl phthalate on rats following

in utero and lactational exposure. J Appl Toxicol. 2009; 29: 603-611

Lin LC, Wang SL, Chang YC, Huang PC, Cheng JT, Su PH, et al.: Associations between maternal phthalate exposure and cord sex hormones in human infants. Chemosphere 2011; 83: 1192-1199

Liu L, Bao H, Liu F, Zhang J, Shen H: Phthalates exposure of Chinese reproductive age couples and its effect on male semen quality, a primary study. Environ Int. 2012; 42: 78-83

Liu SB, Ma Z, Sun WL, Sun XW, Hong Y, Ma L et al: The role of androgen-induced growth factor (FGF8) on genital tubercle development in a hypospadiac male rat model of prenatal exposure to di-n-butyl phthalate. Toxicology. 2012; 293: 53-58

López-Carrillo L, Hernández-Ramírez RU, Calafat AM, Torres-Sánchez L, Galván-Portillo M, Needham LL, et al.: Exposure to phthalates and breast cancer risk in northern Mexico. Environ Health Perspect 2010; 118: 539-544

Main KM, Mortensen GK, Kaleva MM, Boisen KA, Damgaard IN, Chellakooty M, et al.: Human breast milk contamination with phthalates and alterations of endogenous reproductive hormones in infants three months of age. Environ Health Perspect 2006; 114: 270-276

Marsman D: NTP technical report on the toxicity studies of Dibutyl Phthalate (CAS No. 84-74-2) Administered in Feed to F344/N Rats and B6C3F1 Mice. Toxic Rep Ser. 1995; 30: 1-G5

Marsman DS. 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

McKinnell C, Mitchell RT, Walker M, Morris K, Kelnar CJ, Wallace WH, Sharpe RMet al: ffect of fetal or neonatal exposure to monobutyl phthalate (MBP) on testicular development and function in the marmoset Hum Reprod. 2009 ; 24: 2244-2254.

Meeker JD, Calafat AM, Hauser R: Di(2-ethylhexyl) phthalate metabolites may alter thyroid hormone levels in men. Environ Health Perspect. 2007; 115: 1029-34.

Meeker JD, Calafat AM, Hauser R: Urinary metabolites of di(2-ethylhexyl) phthalate are associated with decreased steroid hormone levels in adult men. J Androl 2009a; 30: 287-297

Meeker JD, Ferguson KK: Relationship between urinary phthalate and bisphenol A concentrations and serum thyroid measures in U.S. adults and adolescents from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2007-2008. Environ Health Perspect 2011; 119: 1396-1402

Meeker JD, Hu H, Cantonwine DE, Lamadrid-Figueroa H, Calafat AM, Ettinger AS, et al.: Urinary phthalate metabolites in relation to preterm birth in Mexico city. Environ Health Perspect 2009b; 117: 1587-1592

Miodovnik A, Engel SM, Zhu C, Ye X, Soorya LV, Silva MJ, et al.: Endocrine disruptors and childhood social impairment. Neurotoxicology 2011; 32: 261-267

Mitchell RT, Childs AJ, Anderson RA, van den Driesche S, Saunders PT, McKinnell C et al: Do phthalates affectsteroidogenesis by the human fetal testis? Exposure of human fetal testis xenografts to di-n-butyl phthalate. J Clin Endocrinol Metab. 2012; 97: E341-8.

Mylchreest E, Cattley RC, Foster PM: Male reproductive tract malformations in rats following

gestational and lactational exposure to Di(n-butyl) phthalate: an antiandrogenic mechanism? Toxicol Sci. 1998; 43: 47-60

Mylchreest E, Sar M, Cattley RC, Foster PM: Disruption of androgen-regulated male reproductive development by di(n-butyl) phthalate during late gestation in rats is different from flutamide. Toxicol Appl Pharmacol. 1999; 156: 81-95

Mylchreest E, Wallace DG, Cattley RC, Foster PM: Dose-dependent alterations in androgen-regulated male reproductive development in rats exposed to Di(n-butyl) phthalate during late gestation. Toxicol Sci. 2000; 55: 143-151

NICNAS (National Industrial Chemicals Notification And Assessment Scheme) : Priority Existing Chemical Assessment Report No. 36 Dibutyl phthalate. NOVEMBER 2013

NICNAS: Existing Chemical Hazard Assessment Report Dibutyl Phthalate. June 2008

NICNAS: Existing Chemical Information Sheets, Phthalates. December 2009

NTP (National Toxicology Program): NTP-CERHR Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Di-n-Butylphthalate (DBP) 2003 http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/ohat/phthalates/dbp/DBP_Monograph_Final.pdf

Nikonorow M, Mazur H, Piekacz H. Effect of orally administered plasticizersand polyvinyl chloride stabilizers in the rat. Toxicol Appl Pharmacol. 1973: 253-9

O'Connor JC, Frame SR, Ladics GS: Evaluation of a 15-day screening assay using intact male rats for identifyingantiandrogens. Toxicol Sci. 2002; 69: 92-108.

Otake T, Yoshinaga J, Yanagisawa Y: Exposure to phthalate esters from indoor environment. J Expo Anal Environ Epidemiol 2004; 14: 524-528

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. Environ Health Perspect 2006; 114: 1643-1648

Pant N, Pant AB, Shukla M, Mathur N, Gupta YK, Saxena DK: Environmental and experimental exposure of phthalate esters: The toxicological consequence on human sperm. Hum Exp Toxicol 2011; 30: 507-514

Pant N, Shukla M, Kumar Patel D, Shukla Y, Mathur N, Kumar Gupta Y, et al.: Correlation of phthalate exposures with semen quality. Toxicol Appl Pharmacol 2008; 231: 112-116

Philippat C, Mortamais M, Chevrier C, Petit C, Calafat AM, Ye X, et al.: Exposure to phthalates and phenols during pregnancy and offspring size at birth. Environ Health Perspect 2012; 120: 464-470

RIVM（National Institute for Public Health and the Environment）: RIVM Report 609021064, Exposure to chemicals via house dust. 2008

Reddy BS, Rozati R, Reddy BV, Raman NV: Association of phthalate esters with endometriosis in Indian women. BJOG 2006; 113: 515-520

Rider CV, Furr J, Wilson VS, Gray LE Jr. A mixture of seven antiandrogensinduces reproductive malformations in rats. Int J Androl. 2008 ;31:249-262.

Rider CV, Furr JR, Wilson VS, Gray LE Jr: Cumulative effects of in utero administration of

mixtures of reproductive toxicants that disrupt common target tissues via diverse mechanisms of toxicity. Int J Androl. 2010; 33: 443-462.

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. Toxicol Pathol. 2009; 37: 100-113.

Rowland IR, Cottrell RC, Phillips JC: Hydrolysis of phthalate esters by the gastro-intestinal contents of the rat. Food Cosmet Toxicol 1977; 15: 17-21

Saillenfait AM, Payan JP, Fabry JP, Beydon D, Langonne I, Gallissot F, et al.: Assessment of the developmental toxicity, metabolism, and placental transfer of di-n-butyl phthalate administered to pregnant rats. Toxicol Sci 1998; 45: 212-224

Scarano WR, Toledo FC, Guerra MT, de Campos SG, Júnior LA, Felisbino SL, et al: Long-term effects of developmental exposure to di-n-butyl-phthalate (DBP) on rat prostate: proliferative and inflammatory disorders and a possible role of androgens. Toxicology 2009; 262: 215-223

Scarano WR, Toledo FC, Guerra MT, Pinheiro PF, Domeniconi RF, Felisbino SLet al: Functional and morphological reproductive aspects in male rats exposed to di-n-butyl phthalate (DBP) in utero and during lactation. J Toxicol Environ Health A 2010; 73: 972-984.

Scott RC, Dugard PH, Ramsey JD, Rhodes C: In vitro absorption of some o-phthalate diesters through human and rat skin. Environ Health Perspect 1987; 74: 223-227, Errata, Environ Health Perspect 1989; 79: 323

Sharpe RM: "Additional" effects of phthalate mixtures on fetal testosterone production. Toxicol Sci. 2008; 105: 1-4

Shen O, Du G, Sun H, Wu W, Jiang Y, Song L, et al: Comparison of in vitro hormone activities of selected phthalates using reporter gene assays. Toxicol Lett. 2009; 191: 9-14

Shiota K, Nishimura H: Teratogenicity of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and di-n-butyl phthalate (DBP) in mice. Environ Health Perspect. 1982; 45: 65-70

Shirai M, Wakui S, Wempe MF, Mutou T, Oyama N, Motohashi M, et al: Male Sprague-Dawley rats exposed to in utero di(n-butyl) phthalate: dose dependent and age-related morphological changes in Leydig cell smooth endoplasmic reticulum. Toxicol Pathol. 2013; 41: 984-991

Silva MJ, Barr DB, Reidy JA, Kato K, Malek NA, Hodge CC, et al.: Glucuronidation patterns of common urinary and serum monoester phthalate metabolites. Arch Toxicol 2003; 77: 561-567

Stahlhut RW, van Wijngaarden E, Dye TD, Cook S, Swan SH: Concentrations of urinary phthalate metabolites are associated with increased waist circumference and insulin resistance in adult U.S. males. Environ Health Perspect 2007; 115: 876-882

Struve MF, Gaido KW, Hensley JB, Lehmann KP, Ross SM, Sochaski MA, et al.: Reproductive toxicity and pharmacokinetics of di-n-butyl phthalate (DBP) following dietary exposure of pregnant rats. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol 2009; 86: 345-354

Suzuki Y, Niwa M, Yoshinaga J, Mizumoto Y, Serizawa S, Shiraishi H: Prenatal exposure to phthalate esters and PAHs and birth outcomes. Environ Int 2010; 36: 699-704

Suzuki Y, Yoshinaga J, Mizumoto Y, Serizawa S, Shiraishi H: Foetal exposure to phthalate esters and anogenital distance in male newborns. Int J Androl 2012; 35: 236-244

Svechnikova I, Svechnikov K, Söder O: The influence of di-(2-ethylhexyl) phthalate on steroidogenesis by the ovarian granulosa cells of immature female rats. J Endocrinol 2007; 194: 603-609

Svensson K, Hernández-Ramírez RU, Burguete-García A, Cebrián ME, Calafat AM, Needham LL, et al.: Phthalate exposure associated with self-reported diabetes among Mexican women. Environ Res 2011; 111: 792-796

Swan SH, Liu F, Hines M, Kruse RL, Wang C, Redmon JB, et al.: Prenatal phthalate exposure and reduced masculine play in boys. Int J Androl 2010; 33: 259-269

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. Environ Health Perspect 2005; 113: 1056-1061

Swan SH: Environmental phthalate exposure in relation to reproductive outcomes and other health endpoints in humans. Environ Res 2008; 108: 177-184

Tanaka A, Matsumoto A, Yamaha T: Biochemical studies on phthalic esters. III. Metabolism of dibutyl phthalate (DBP) in animals. Toxicology 1978; 9: 109-123

Teitelbaum SL, Mervish N, Moshier EL, Vangeepuram N, Galvez MP, Calafat AM, et al.: Associations between phthalate metabolite urinary concentrations and body size measures in New York City children. Environ Res 2012; 112: 186-193

Toft G, Jönsson BA, Lindh CH, Jensen TK, Hjollund NH, Vested A, et al.: Association between pregnancy loss and urinary phthalate levels around the time of conception. Environ Health Perspect 2012; 120: 458-463

Tomita I, Nakamura Y, Yagi Y: Phthalic acid esters in various foodstuffs and biological materials. Ecotoxicol Environ Saf 1977; 1: 275-287

Toshima H, Suzuki Y, Imai K, Yoshinaga J, Shiraishi H, Mizumoto Y, et al.: Endocrine disrupting chemicals in urine of Japanese male partners of subfertile couples: A pilot study on exposure and semen quality. Int J Hyg Environ Health 2012; 215: 502-506

Tsumura Y, Ishimitsu S, Saito I, Sakai H, Tsuchida Y, Tonogai Y: Estimated daily intake of plasticizers in 1-week duplicate diet samples following regulation of DEHP-containing PVC-gloves in Japan. Food Addit Contam 2003; 20: 317-324

US NML HSDB (U.S. National Library of Medicine: HSDB (Hazardous Substances Data Bank): DIBUTYL PHTHALATE. Last updated on 2010-09-07 http://toxnet.nlm.nih.gov/index.html

WHO/UNEP (World Health Organization/United Nations Environment Programme): State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals - 2012 (Bergman Å, Heindel JJ, Jobling S, Kidd KA, Zoeller RT, eds). Geneva:UNEP/WHO. 2013. http://www.who.int/iris/bitstream/10665/78101/1/9789241505031_eng.pdf

Weuve J, Hauser R, Calafat AM, Missmer SA, Wise LA: Association of exposure to phthalates with endometriosis and uterine leiomyomata: Findings from NHANES, 1999-2004. Environ Health Perspect 2010; 118: 825-832

White RD, Carter DE, Earnest D, Mueller J: Absorption and metabolism of three phthalate diesters by the rat small intestine. Food Cosmet Toxicol 1980; 18: 383-386

Whyatt RM, Liu X, Rauh VA, Calafat AM, Just AC, Hoepner L, et al.: Maternal prenatal urinary phthalate metabolite concentrations and child mental, psychomotor, and behavioral development at 3 years of age. Environ Health Perspect 2012; 120: 290-295

Williams DT, Blanchfield BJ: The retention, distribution, excretion, and metabolism of dibutyl phthalate-7-^{14}C in the rat. Journal of Agricultural Food Chemistry 1975; 23: 854-858

Wine RN, Li LH, Barnes LH, Gulati DK, Chapin RE: Reproductive toxicity of di-n-butylphthalate in a continuous breeding protocol in Sprague-Dawley rats. Environ Health Perspect. 1997; 105: 102-107

Wirth JJ, Rossano MG, Potter R, Puscheck E, Daly DC, Paneth N, et al.: A pilot study associating urinary concentrations of phthalate metabolites and semen quality. System Biol Reprod Med 2008; 54: 143-154

Wittassek M, Koch HM, Angerer J, Brüning T: Assessing exposure to phthalates - The human biomonitoring approach. Mol Nutr Food Res 2011; 55: 7-31

Wolf C Jr, Lambright C, Mann P, Price M, Cooper RL, Ostby J, et al.: 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. 1999; 15: 94-118

Wolff MS, Engel SM, Berkowitz GS, Ye X, Silva MJ, Zhu C, et al.: Prenatal phenol and phthalate exposures and birth outcomes. Environ Health Perspect 2008; 116: 1092-1097

Xia H, Chi Y, Qi X, Su M, Cao Y, Song P, et al. : Metabolomic evaluation of di-n-butyl phthalate-induced teratogenesis in mice. Metabolomics. 2011; 7: 559-571

Xu C, Lin H, Zhao Y, Zhang Y: Determination of serum levels of three phthalate esters in patients with polycystic ovary syndrome. Sci. Res. Essays, 2011; 6: 1057-1062.

Xu Y, Agrawal S, Cook TJ, Knipp GT: Di-(2-ethylhexyl)-phthalate affects lipid profiling in fetal rat brain upon maternal exposure. Arch Toxicol 2007; 81: 57-62

Yolton K, Xu Y, Strauss D, Altaye M, Calafat AM, Khoury J: Prenatal exposure to bisphenol A and phthalates and infant neurobehavior. Neurotoxicol Teratol 2011; 33: 558-566

Zacharewski TR, Meek MD, Clemons JH, Wu ZF, Fielden MR, Matthews JB: Examination of the in vitro and in vivo estrogenic activities of eight commercial phthalate esters. Toxicol Sci. 1998; 46: 282-293

Zhang LF, Qin C, Wei YF, Wang Y, Chang JK, Mi YY, et al: Differential expression of the Wnt/ß-catenin pathway in the genital tubercle (GT) of fetal male rat following maternal exposure to di-n-butyl phthalate (DBP).Syst Biol Reprod Med. 2011; 57: 244-250

Zhang X, Qu N, Zheng J, Zi L, Yang Z. Di (n-butyl) phthalate inhibits testosterone synthesis through a glucocorticoid-mediated pathway in rats. Int J Toxicol. 2009a; 28: 448-56

Zhang Y, Lin L, Cao Y, Chen B, Zheng L, Ge RS: Phthalate levels and low birth weight: a nested case-control study of Chinese newborns. J Pediatr 2009b; 155: 500-504

Zhang YH, Zheng LX, Chen BH. Phthalate exposure and human semen quality inShanghai: a cross-sectional study. Biomed Environ Sci. 2006; 19: 205-9.

Zhao B, Chu Y, Huang Y, Hardy DO, Lin S, Ge RS: Structure-dependent inhibition of human and rat 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2 activities by hthalates. Chem Biol Interact. 2010; 183: 79-84.

Zhao B, Chu Y, Huang Y, Hardy DO, Lin S, Ge RS: Structure-dependent inhibition of human and rat 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2 activities by phthalates. Chem Biol Interact. 2010; 183: 79-84.

Zhou D, Wang H, Zhang J, Gao X, Zhao W, Zheng Y: Di-n-butyl phthalate (DBP) exposure induces oxidative damage in testes of adult rats. Syst Biol Reprod Med. 2010; 56: 413-419

Zhou D, Wang H, Zhang J: Di-n-butyl phthalate (DBP) exposure induces oxidative stress in epididymis of adult rats. Toxicol Ind Health. 2011; 27:65-71

Zhu YJ, Jiang JT, Ma L, Zhang J, Hong Y, Liao K,et al: Molecular and toxicologic research in newborn hypospadiac male rats following in utero exposure to di-n-butyl phthalate (DBP). Toxicology. 2009; 260: 120-125

van Ravenzwaay B, Coelho-Palermo Cunha G, Strauss V, Wiemer J, Leibold E, Kamp H, et al.: The individual and combined metabolite profiles (metabolomics) of dibutylphthalate and di(2-ethylhexyl)phthalate following a 28-day dietary exposure in rats. Toxicol Lett. 2010; 198: 159-170

van den Driesche S, Kolovos P, Platts S, Drake AJ, Sharpe RM: Inter-relationship between testicular dysgenesis and Leydig cell function in the masculinization programming window in the rat. PLoS One. 2012; 7: e30111

化学工業日報社: 16112 の化学商品 2012; 1198-1199

加藤隆一：臨床薬物動態学　改訂第 4 版。南江堂, 2009; 261

可塑剤工業会: 生産・出荷統計データ：生産実績推移月別・品種別、国内出荷実績推移 月別・品種別、フタル酸エステル用途別出荷実績推移（年別）2011 年、2013 年

外海康秀: フタル酸エステル類及びフェノール類の食品汚染実態及び摂取量に関する調査研究。 平成 12 年度厚生科学研究費補助金(生活安全総合研究事業)報告書 2001; 1-39

外海康秀: フタル酸エステル類及びフェノール類の食品汚染実態及び摂取量に関する調査研究。 平成 13 年度厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業)報告書 2002; 1-28

環境省: 財団法人 日本食品分析センター: 平成 13 年度内分泌攪乱化学物質に関する食事調査（フタル酸エステル類）報告書 2001 (総合政策局環境保健部環境安全課委託事業)

環境省: 平成 13 年度内分泌攪乱化学物質における室内空気調査結果について。平成 14 年度第 2 回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料 3-2, 2002 年 10 月 7 日
http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/commi_98/kento1402/mat03-2.pdf

環境省：日本人における化学物質のばく露量について－化学物質の人への曝露量モニタリング調査（2011～）。環境保健部環境リスク評価室
http://www.env.go.jp/chemi/dioxin/pamph/ja_full2013.pdf

環境庁: 平成 11 年度外因性内分泌攪乱化学物質大気環境調査結果について。平成 12 年度 第 2 回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料 2, 2000 年 10 月 31 日

http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/commi_98/kento1202/ref02.pdf

経済産業省: 化学物質審査規制法: 一般化学物質の製造・輸入数量: 平成 22 年度製造・輸入数量実績（平成 24 年 3 月 30 日）
http://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/information/volume_general.html

経済産業省: 化学物質審査規制法: 一般化学物質の製造・輸入数量: 平成 23 年度製造・輸入数量実績（平成 25 年 3 月 25 日）
http://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/information/volume_general.html

経済産業省: 平成 21 年度 第二種監視化学物質の製造・輸入数量の合計量の公表について。平成 22 年 10 月 28 日, 2010
http://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/information/volume_monitor.html

経済産業省：CAS 番号 84-74-2 ジブタンー１ーイル＝フタラート Dibutan-1-yl phthalate VIII.健康毒性情報 内分泌かく乱作用に関する試験結果及び有害性評価書。化学物質審議会 審査部会・管理部会 内分泌かく乱作用検討小委員会 独立行政法人 製品評価技術基盤機構 化学物質総合情報提供システム 2007 (データ掲載) http://www.safe.nite.go.jp/japan/db.html

厚生省: 食品、添加物等の規格基準. 告示第 370 号, 昭和 34 年, 1959

厚生労働省: おもちゃに係るフタル酸エステルの規格基準の一部改正について。同別添 2 おもちゃの Mouthing によるフタル酸エステルの暴露。同別添 3 リスクの試算。 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会資料 2010a 年 6 月 2 日; 25-33, 79-97

厚生労働省: フタル酸ジ（n-ブチル）（整理番号 12039）。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, 水質管理専門委員会, 2003
http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/kijun/dl/ken24.pdf

厚生労働省: ポリ塩化ビニル製の医療用具から溶出する可塑剤（DEHP）について。厚生労働省医薬局安全対策課長通知, 薬安発第 1017001 号, 同 1017002 号, 同 1017003 号, 平成 14 年 10 月 17 日, 2002b
http://www.info.pmda.go.jp/mdevices/md2002-1017001.html

厚生労働省: 医薬品・医療用具等安全性情報 第 128 号. 厚生労働省医薬局, 平成 14 年 10 月, 2002a
http://www.mhlw.go.jp/houdou/2002/10/h1031-1a.html#7

厚生労働省: 食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について。厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知, 食安発 0906 第 1 号, 平成 22 年 9 月 6 日, 2010b
http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/kigu/dl/100906-1.pdf

厚生労働省: 水質基準に関する省令の一部改正等について。厚生労働省健康局長通知, 健発 0128 第 2 号, 平成 23 年 1 月 28 日, 2011

厚生労働省: 平成 24 年度第 2 回水質基準逐次改正検討会資料 5 最近の要検討項目の検出状況について。平成 25 年 2 月 28 日, 2013

国際化学物質安全性カード(ICSC)日本語版: フタル酸ジブチル(ICSC 番号:0036)。国立医薬品食品衛生研究所 最終更新日: 2002.10 http://www.nihs.go.jp/ICSC/

国立環境研究所: 化学物質のエストロゲン活性データ 83 ページ AA0083 Di-n-butyl Phthalate CAS No.84-74-2. 2001 http://www.nies.go.jp/archiv-edc/estrogen/index.html

内閣府：器具・容器包装評価書 フタル酸ビス（２－エチルヘキシル）（DEHP）2013 年 2 月。食品安全委員会, 2013

高取聡, 阿久津和彦, 近藤文雄, 和泉俊一郎, 牧野恒久, 中澤裕之: 高速液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析法によるヒト母乳中のフタル酸モノエステル類の分析。 分析化学 2007; 56: 1025-1031

高木麻衣, 吉永淳: 日本人小児のハウスダストを介した化学物質曝露のリスク評価。 室内環境 2009; 12: 103-114

斎藤育江, 大貫文, 瀬戸博, 上原眞一, 鈴木孝人: 室内空気中化学物質の実態調査（フタル酸エステル類及びリン酸エステル類等）-平成 12 年度-。東京衛研年報 2002; 53: 191-198

財務省貿易統計: 全国の貿易統計: 外国貿易等に関する統計: 普通貿易統計: B.集計結果: 検索ページ: 統計品別表 輸入 2008～2012 年全期 品目コード 291734010（オルトフタル酸ジブチル） 累計第２数量（KG）http://www.customs.go.jp/toukei/info/

佐藤かな子, 野中良一, 池田美樹, 佐藤毅, 上村尚, 長井二三子: 安定型形質転換細胞を用いたレポータージーンアッセイによるフタル酸エステル類のアンドロゲン及び抗アンドロゲン作用の検討。東京健安研セ年報 2004; 55: 307-314

神野透人: 家庭用品に由来する化学物質の多経路暴露評価手法の開発に関する調査研究。平成 21 年度厚生科学研究費補助金(化学物質リスク研究事業)報告書 2010: 89-121

川崎晃一, 上園慶子, 伊藤一枝, 上野道雄: 年齢・身長・体重を用いた 24 時間尿中クレアチニン排泄量予測式の作成とその検討 。日本公衛誌 1991; 8: 567-574

川崎晃一, 上園慶子, 吉川和利, 宇都宮弘子, 今村京子: 尿中クレアチニン排泄量に関する研究（3）－年齢・身長・体重・除脂肪量からの 24 時間排泄量予測－。健康科学 1985; 7: 35-42

津村ゆかり, 石光進, 中村優美子, 吉井公彦, 開原亜樹子, 外海泰秀: 調理用 PVC 製手袋使用規制後における市販弁当中のフタル酸エステル類及びアジピン酸ジ(2-エチルヘキシル)濃度。食品衛生学雑誌 2001; 42: 128-132

通商産業省: 通産省公報 No.7725, 昭和 50 年 8 月 27 日 1975

牧野恒久: 化学物質による子どもへの健康影響に関する研究。平成 18 年度厚生科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）総括・分担研究報告書 2007: 68-89

牧野恒久: 化学物質による子どもへの健康影響に関する研究。平成 19 年度厚生科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）総括・分担研究報告書 2008: 44-53

細川正清, 今井輝子：Ｉ-B カルボキシルエステラーゼ,創薬動態:医薬品創製のための考え方と最新情報。DMPK 誌ニュースレター編集委員会編, 玉井郁巳責任編集, 日本薬物動態学会, 2006: 6-7

増本幸二, 新開統子,上杉達: 特集, NST のための小児の栄養管理：新生児における栄養管理。静脈経腸栄養 2012; 27: 1195-1201

Zhu HJ, Appel DI, Jiang Y, Markowitz JS: Age- and sex-related expression and activity of carboxylesterase 1 and 2 in mouse and human liver. Drug Metab Dispos. 2009 Sep;37:1819-1825.

1