

## 平成12年度分担研究報告書

### フタル酸ジブチルの食品経路曝露によるリスクの不確実性分析

分担研究者 関沢 純 国立医薬品食品衛生研究所化学物質情報部情報第一室長  
江馬 眞 国立医薬品食品衛生研究所大阪支所生物試験部室長

#### 研究要旨：

フタル酸エステル類は、そのプラスチック可塑剤ほかなど使用範囲の広さと、製品中の使用濃度の高さから考えて、人の曝露の可能性が大である。他方ラットにおける肝腫瘍、高濃度曝露時の生殖・発生毒性の観察は人におけるリスクについて作用メカニズムを基に定量的に評価しておく必要性を示している。文献調査の結果を総合していくつかのフタル酸エステル類についてリスク評価を試みるとともに、評価における不確実性要因の検討を行った。

フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジルは共通の代謝物としてフタル酸モノブチルを有し、このものが影響における近似活性体と考えられており、その作用においてはエストロゲン受容体やアンドロゲン受容体を經由しないで抗アンドロゲニックな作用（雄の肛門生殖器間距離の短縮、停留睾丸など）を示す。他方、一般市民ではフタル酸ジブチルへの曝露の98%以上が食品経路摂取によることが知られている。毒性試験においては、母獣の体重への影響のない条件下で生殖・発生毒性（生存同腹仔の減少、同腹仔体重の減少：最小毒性発現量 66 mg/kg体重/日）が見られ、Mylichreestら(2000)の試験では生殖・発生毒性の無毒性量が50 mg/kg 体重であったことから一日許容摂取量 500  $\mu$ g/kg体重/日が算出された。この場合、肝肥大とペルオキシゾーム増加は補償的反応と考えられた。さらにわが国での最近の調査によるとフタル酸ジブチルの食品経路摂取量として14.3  $\mu$ g/人(0.286  $\mu$ g/kg bw/day)という推計値があり、この量は一日許容摂取量の $5.7 \times 10^{-4}$ に相当した。同様にフタル酸ブチルベンジルの摂取量として4.7  $\mu$ g/人(0.094  $\mu$ g/kg bw/day)が推定され、この値はフタル酸ブチルベンジルの一日許容摂取量1300  $\mu$ g/kg bw/dayの $7.2 \times 10^{-5}$ に相当した。同じ代謝物を經由すると推定される2種のフタル酸エステルについて両者の複合曝露があったとしても一日許容摂取量に対する安全余地は十分と考えられた。この2種のフタル酸エステルのリスク評価で、共通の代謝物であるフタル酸モノブチルの人の体内での生成速度とレベルのデータ、および許容摂取量のベースとなった病変について人での発症の蓋然性に関する知見を入手することにより、より精密なリスク評価がなされうると考えられた。

## A. 研究目的

共通の代謝物としてフタル酸モノブチルを有するフタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジルの事例をとおして内分泌かく乱化学物質によるリスクの意味と、リスクを評価する際に留意すべき事項について検討する。

## B. 研究方法

入手した文献から、フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジルの定量的な影響評価、作用メカニズムの検討と曝露レベルの推定によりリスクを評価し、評価における不確実性要因を検討した。

## B. 研究結果

### (1) フタル酸ジブチル

図1にフタル酸ジブチルの一般毒性の評価結果をまとめた。

フタル酸ジブチルは遺伝毒性を示さず、より強力な Peroxisome proliferator のフタル酸ジエチルヘキシルと異なり、ラットに肝腫瘍を誘起しない(CERHR, 2000)。投与量 279 mg/kg 体重におけるラットの肝肥大と Peroxisome 増加は補償的な反応と考えられ、一般毒性における無毒性量は 138 mg/kg 体重と推定された(NTP, 1995)。

次にフタル酸ジブチルの生殖・発生毒性影響について図2に要約して示した。すなわちラットにおける毒性影響のクリティカルな時期については以下の順での感受性が高いことが見られている。

胚～胎児> 新生仔～思春期> 成獣

Ema ら(1997a, 2000a)は、さらにフタル酸ジブチルを妊娠初期(0-11日)にラットに投与すると子宮機能の低下(脱落膜反

応の抑制)により着床後の胚致死率が増加し、妊娠中期の投与では8-9日の場合には頸椎および胸椎の奇形、妊娠15日後投与では口蓋裂と胸骨分節融合の増加(Ema ら1997b)、そして妊娠後期(15-17日)の投与では、胎児の体重低下のほかに雄胎児の精巣下降不全と肛門生殖器間距離の短縮(Ema ら, 1998; 2000b)が見られ、次世代雄の持続的な生殖器重量の低下も報告されている(Gray 1999)。

これらの影響のうち妊娠期間中の投与との関係では、ラットの場合妊娠の15-17日目の方が、12-14日目あるいは18-20日目よりも毒性影響への感受性が高いことが見いだされた(Ema ら, 2000b)。

NTPの試験によれば、66mg/kg 体重(母獣)への子宮内曝露で、ラットの睾丸と睾丸上の発生異常および、第2世代の子の体重低下が見られた(NTP, 1995)。この結果と自分たちの試験結果を踏まえて、Mylchreest ら(2000)は、生殖・発生毒性の無毒性量を50 mg/kg 体重と推定した。

Mylchreest ら(1999)は、観察された影響の内容(包皮分離の遅れ、睾丸萎縮、停留睾丸、前立腺不形成など)から、作用メカニズムはエストロゲン受容体、アンドロゲン受容体を介さない抗アンドロゲン作用と推定している。

フタル酸ジブチルへの曝露評価の結果を表1-4にまとめた。カナダの調査結果から一般市民は、食品、室内空気、環境大気、飲料水経路によるフタル酸ジブチルへの曝露はそれぞれ7, 0.12, 0.00026-0.00036, <0.02 μg/kg bw/day と見つめられた(表1, IPCS, 1997)。米国 ATSDR の調査結果では環境大気、飲料水経路によるフタル酸ジブチルへの曝露はそれぞれ0.0005-0.0009,

0.005  $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$  であり、これら経路による曝露レベルはほぼ同様であって食品に比較して無視しうるレベルであった(表 1, IPCS, 1997)。

さらに年齢別の曝露の違いについてカナダの推計値を表 2 に示した(IPCS, 1997)。この結果から曝露はむしろ 4 歳以下の子供(5  $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ )がもっとも大きく、ついで 11 歳以下の子供(4.3  $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ )、0-0.5 歳と 5-11 歳(2.4, 2.3  $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ )、12-19 歳(4.3  $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ )、20-70 歳(1.9  $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$ )の順であり、子供が相対的により大きく曝露されておりそれは食品経由の曝露によるという実状が推測された。

わが国における食品経由のフタル酸エステル曝露について、国内 3 地域の 1 週間の病院食からの陰膳法による推計値が報告されている(表 3, IPCS ; 1997)。この結果からはフタル酸ジエチルヘキシルへの曝露は約 10.4  $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$  であったが、フタル酸ジブチルの摂取量は 0.286  $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$  と推計され、カナダの推計値よりかなり低かった。

英国 MAFF(1996) の食品経由摂取量評価報告ではフタル酸ジブチルについて、13  $\mu\text{g}/\text{day}$  (高レベル曝露=97.5 パーセントイルの場合は 31  $\mu\text{g}/\text{day}$ )であり、これは体重 65 kg の成人の場合には 0.2  $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$  となり、ほぼ日本の場合と同じレベルであった(表 4, MAFF ; 1996)。

日本の食品経由摂取量と、生殖・発生毒性の無毒性量(NOAE) 50 mg/kg 体重から導かれる仮の一日耐容摂取量(TDI) 500  $\mu\text{g}/\text{kg bw}/\text{day}$  とを比較すると、その比は  $5.7 \times 10^{-4}$  であった。

英国の摂取レベルは同様にして仮の一日耐容摂取量(TDI)の  $4 \times 10^{-4}$  と推計された。

## (2) フタル酸ブチルベンジル

フタル酸ブチルベンジルは腸管また肝臓

で速やかにモノエステル(フタル酸モノブチルおよび、フタル酸モノルベンジル)に加水分解される。妊娠中または授乳中の母獣曝露によりフタル酸ブチルベンジルは仔に腎臓あるいは肝臓に体重増加減少に伴う相対臓器重量の増加を引き起こすが、この濃度より高い濃度で睾丸萎縮あるいは精子数減少を起こす。フタル酸モノブチルあるいはフタル酸モノルベンジルを投与した際にもフタル酸ブチルベンジルとほぼ同じレベルで着床阻害や骨形成の以上などの奇形が生じた。120-300 mg/kg/day の範囲で腎臓および肝臓の相対重量増加、腎症、ペルオキシゾーム増加、副睾丸精子数の減少(睾丸における病理変化はない)が見られたことから、132 mg/kg/day が NOAE とされ、この値から 1.3 mg/kg/day が TDI として算出された(IPCS, 1999)。

他方欧州連合の(Scientific Committee for Toxicity, Ecotoxicity and the Environment: CSTE, 1998)は NTP(1997) による改変 10 週交配試験における副睾丸精子数減少を基に 20 mg/kg/day を NOAE としている。

Tsumura ら(2001)の病院食を基にした調査によるとフタル酸ブチルベンジルの摂取量は 0.094  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$  (4.7  $\mu\text{g}/\text{人}/\text{day}$ )であり、英国 MAFF(1996)の評価では 8  $\mu\text{g}/\text{人}/\text{day}$  (高レベル曝露の場合は 20  $\mu\text{g}/\text{人}/\text{day}$ )であった。

Tsumura ら(2001)による摂取量推定値と IPCS(1999)の TDI を比較すると、日本人の食品経由フタル酸ブチルベンジルの摂取は、 $7.2 \times 10^{-5}$  のレベルであった。

他方、英国の摂取レベルは同様にして仮の一日耐容摂取量(TDI)の  $9.5 \times 10^{-5}$  と推計された。

## D. 考察

カナダの推計値(表 5、IPCS ; 1997;

Personal Communication) ではシリアル、澱粉性根菜、バターなど脂肪、野菜と果物の寄与が大きく、日本人の食パターンとの違いによる差もあることをうかがわせた。

欧州連合 CSTE は、塩化ビニル製のおもちゃから溶出する可能性のあるフタル酸エステルへの乳児の曝露について、最悪シナリオの仮定によるフタル酸ジブチル、フタル酸ブチルベンジルそれぞれの溶出量推定値、 $0.40 \mu\text{g/kg bw/day}$  と  $0.95 \mu\text{g/kg bw/day}$  を、それぞれの NOAEL 推定値  $52 \text{mg/kg/day}$  (余分の不確実性係数 5 をかけてある)、 $20 \text{mg/kg/day}$  と比較して、Margin of Safety を 26,000 と 20,000 とした (CSTEE 1998)。

英国 MAFF (1998) は、幼児向け食品中の 7 種のフタル酸エステルの分析結果から、出生時と 6 ヶ月の乳児の体重当たりの摂取量を推定した (表 6)。

また米国の国家毒性計画 (NTP) の「人の生殖リスクの評価センター (Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction : CERHR)」の「フタル酸エステル専門パネル (Expert Panel Review of Phthalates)」は、フタル酸エステルの安全性評価の結果、次のような見解を公表している (CERHR, 2000)。すなわち、フタル酸ジブチルを含む 5 つのフタル酸エステル (ジ-n-ブチル、ジイソデシル、ブチルベンジル、ジ-n-オクチル、ジ-n-ヘキシル) については、「低い」、「最小限度の」、あるいは「無視できる程度の懸念」(ジ-n-ブチルについては「最小限度の懸念」) を、しかしほかに比べてもっとも曝露レベルが高く、かつ毒性影響も強いと思われるフタル酸ジエチルヘキシルについては「より強い懸念」があるとした。

フタル酸ジエチルヘキシルについては重病の幼児の集中治療において曝露される可能性のある高濃度レベルでは、男の子に発

生段階の生殖臓器に影響が及ぶ「懸念が大きい」が、治療による救済のメリットが認められる。現状の成人曝露レベルに妊婦が曝露された場合に、胎児の発生に影響が及ぶ「懸念があり」、また乳児や幼児が現在の成人曝露レベルよりかなり高く曝露された時には男児の発生段階の生殖臓器に影響が及ぶ「懸念がある」が、成人の曝露については「最小限度の懸念」のレベルであるとした。

フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジルは近似活性体と考えられる共通の代謝物フタル酸モノブチルを生成し、エストロゲン受容体やアンドロゲン受容体を經由しないで抗アンドロゲニックな作用を示す。

フタル酸エステル類の生殖・発生毒性の作用メカニズムについての最近の研究によれば、精巣ライディッヒ細胞の微細構造の変化と間質組織の繊維化が報告されており、このことがライディッヒ細胞の黄体ホルモン刺激による testosterone 合成また分泌を低下させることにつながっているという (Jones ら 1993; Agarwal ら 1989)。

またフタル酸モノエチルヘキシルがラット培養細胞における卵胞刺激ホルモンの受容体結合による c AMP 蓄積を阻害し、その作用点は G 蛋白レベルではないかと推定される (Heindel & Chapin, 1989; Grasso ら 1993) さらにセルトリ細胞中のピメチンフィラメント崩壊による生殖細胞のセルトリ細胞からの分離による Fas シグナル伝達の阻害および可溶性の Fas リガンド生成と生殖細胞側における膜受容体の増加が生殖細胞のアポトーシスを結果的に促進させているのではないかと推定されている (Richburg & Boekelheide, 1996; Richburg ら 1999)。しかしこのようなメカニズムがフタル酸ジブチルやフタル酸ブチルベンジルにおいて、どの程度作用する可能性があるかは不明である。

母獣の体重への影響のない条件下で生殖発生毒性が見られるが、フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジル両者の複合曝露があったとしても一日許容摂取量に対する安全余地は十分と考えられた。しかし、共通の代謝物であるフタル酸モノブチルの人の体内での生成速度と量データ、および許容摂取量のベースとなった病変について人での発症の蓋然性に関する知見を入手することで、より精密なリスク評価がなされうると考えられる。

## E. 結論

フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジルは近似活性体と考えられる共通の代謝物フタル酸モノブチルを生成し、エストロゲン受容体やアンドロゲン受容体を經由しないで抗アンドロゲニックな作用を示す。毒性試験における肝肥大とペルオキシゾーム増加は補償的反応と考えられたが母獣の体重への影響のない条件下で生殖発生毒性が見られ、一日許容摂取量 500 µg/kg 体重/日が算出された。

フタル酸ジブチルへの曝露の 98%以上は食品経路摂取だが、最近の調査結果ではフタル酸ジブチルの食品経路摂取量は 14.3 µg/人 (0.286 µg/kg bw/day) であり、この量は一日許容摂取量の  $5.7 \times 10^{-4}$  に相当した。同様にフタル酸ブチルベンジルの摂取量は 4.7 µg/人 (0.286 µg/kg bw/day) でありフタル酸ブチルベンジルの一日許容摂取量 1300 µg/kg bw/day の  $7.2 \times 10^{-5}$  に相当した。フタル酸ジブチルとフタル酸ブチルベンジル両者の複合曝露があったとしても一日許容摂取量に対する安全余地は十分と考えられたが、共通の代謝物であるフタル酸モノブチルの人の体内での生成速度と量データ、および許容摂取量のベースとなった病変について人での発症の蓋然性に関する知見を入手することで、より精密なリス

ク評価がなされうると考えられた。

## 引用文献

- CERHR (2001) CERHR news, Final phthalate expert panel reports, <http://cerhr.niehs.nih.gov/news/index.html>
- CSTEE (1998) Opinion on phthalate migration from soft PVC toys and child-care articles data made available since the 16<sup>th</sup> of June 1998, opinion expressed at the 6<sup>th</sup> CSTEE plenary meeting, Brussels, 26/27 November 1998, [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scct/out19\\_en.html](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scct/out19_en.html)
- IPCS (1997) Environmental Health Criteria 189, Di n-butyl phthalate, World Health Organization, Geneva pp.205
- IPCS (1999) Concise International Chemical Assessment Document No.17, Butyl benzyl phthalate, World Health Organization, Geneva pp.41
- MAFF (1996) Food surveillance information sheet, Number 82, March 1996, Phthalates in food, <http://www.foodstandards.gov.uk/maff/archive/food/infosheet/1996/no82/table1.htm>
- MAFF (1998) Food surveillance information sheet, Number 168, December 1998, Phthalates in infant formulae - follow-up survey, <http://www.foodstandards.gov.uk/maff/archive/food/infosheet/1998/no168/168phtha.htm>
- Mylchreest E, Wallace DG, Cattley RC & Foster MD (2000) Dose-dependent alterations in androgen-regulated male reproductive development in rats exposed to di(n-butyl) phthalate during late gestation, Toxicol. Sci., 55, 143-151
- NTP (1995) NTP Technical report on

toxicity studies of dibutyl phthalate (CAS 84-74-2) administered in feed to F344/rats and B6C3F1 mice, National Toxicology Program, Research Triangle Park, NTP Toxicity series No.30, pp.107  
NTP (1997) Toxicology and carcinogenicity studies of butyl benzyl phthalate (CAS No.85-68-7) in F344/N rats (feed studies), National Toxicology Program, Research Triangle Park, NTP Technical Report No.458, pp.92

Personal communication from M.E. Meek of Environmental Health Directorate, Health Canada

Tsumura Y, Ishimitsu S, Saito I, Sakai H, Kobayashi Y & Tonogai Y (2001) Eleven phthalate esters and di(2-ethyl hexyl)adipate in one-week duplicate diet samples obtained from hospitals and their estimation of daily intake, Food Addit. Contam., 18(5) 449-460

## **F. 研究発表**

### 1. 論文発表

### 2. 学会発表

関澤 純、江馬 真(2000)環境ホルモン物質としてのリスク評価の検討、日本環境ホルモン学会第3回研究発表会、2000年12月、横浜

## **G. 知的所有権の取得状況**

1.特許 なし

2.実用新案登録 なし

3.その他 なし