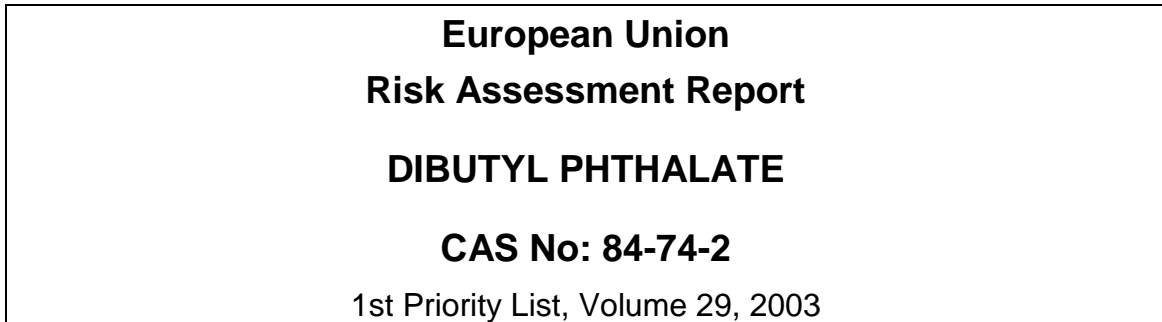
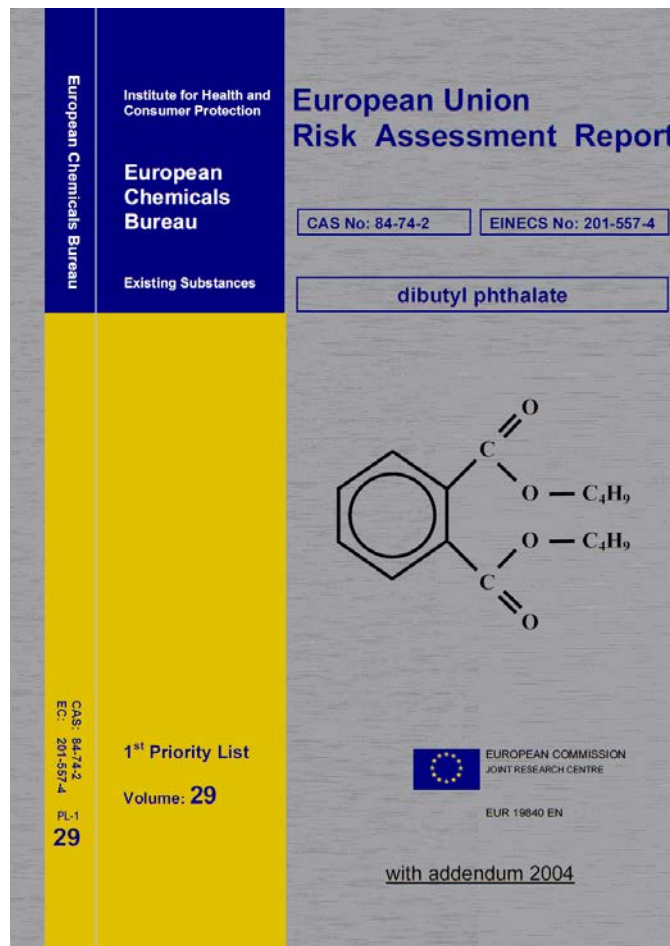


部分翻訳



欧州連合
リスク評価書 (Volume 29, 2003)
フタル酸ジブチル



国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部
2013年2月

本部分訳文書は、dibutyl phthalate (CAS No: 84-74-2)に関するEU Risk Assessment Report, (Vol. 29, 2003)の第4章「ヒト健康」のうち、第4.1.2項「影響評価：有害性の特定および用量反応関係」を翻訳したものである。原文(評価書全文)は、
http://esis.jrc.ec.europa.eu/doc/risk_assessment/REPORT/dibutylphthalatereport003.pdf
 を参照のこと。

4.1.2 影響評価：有害性の特定および用量（濃度）-反応（影響）評価

4.1.2.1 トキシコキネティクス、代謝、および分布

4.1.2.1.1 吸収および排泄

ラットおよびハムスターを用いた ^{14}C -フタル酸ジブチル(DBP)の経口投与試験により、DBPは消化管から容易に吸収され、投与した放射能の63~90%以上が48時間以内に尿中に排泄されたことが示されている(Foster et al., 1982; Tanaka et al., 1978; Williams and Blanchfield, 1975)。糞中への排泄はわずかであった(1.0~8.2%) (Tanaka et al., 1978)。

DBPを含んだプラスチック製包装材料に接触していた食品を摂取した13人の血液中DBP濃度の平均が0.10 mg/Lであったのに対し、曝露されていない男性9人の血液中濃度の平均は0.02 mg/Lであったことが報告されている。これらの数値は、DBPがヒトにおいても経口的に吸収されることを示すものである(Tomita et al., 1977)。

F344雄ラット[体重(bw)180~220 g]の刈毛した皮膚(直径1.3 cmの円形)に、エタノールに溶解した ^{14}C -DBPを43.7 mg/kg bw (157 μM /kg bw)の用量で皮膚適用し、プラスチックキャップで被覆した試験では、1日あたりの尿中排泄率は投与量の10~12%であり、7日以内に計約60%が尿中に排泄された。また、糞中には、24時間以内に投与量の約1% (7日以内に計約12%)が排泄された(Bronaugh et al., 1982; Elsisi et al., 1989)。

DBPの原液を用いた *in vitro* 試験において、ヒトの皮膚における吸収(2.40 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{時間}$)は、ラットの皮膚(93.35 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{時間}$)に比べ緩徐であることが示された(Scott et al., 1987)。

妊娠 Sprague-Dawley ラットを用いた胎盤通過試験では、妊娠14日に500 mg/kg bwまたは1,500 mg/kg bwの ^{14}C -標識DBPを単回経口投与し、投与後0.5~48時間のいくつかの時点で、母体および胎子の組織を採取した。胎子組織中の放射能は、投与量の0.12~0.15%未満であった。また、胎盤および胎子中の放射能濃度は母体血漿中濃度の1/3以下であり、母体組織

または胎仔組織に放射能の蓄積は認められなかった。これらの結果から、DBP の未変化体ならびにその代謝物である MBP(フタル酸-n-モノブチル)および MBP グルクロン酸抱合体は速やかに胎仔組織に移行するが、その放射能濃度は常に母体血漿中濃度を下回っていたことが示された。母体血漿、胎盤および胎仔から回収された放射能の大半は MBP であり、未変化体の DBP はわずかに検出されたのみであった (Saillenfait et al., 1998)。

胆管カニューレを挿入した雄ラットに、50%エタノールに溶解した ^{14}C -DBP を、500 mg/kg bw の用量で単回経口投与した。投与後 6 時間に採取した胆汁中から、投与量の 4.5%の放射能が回収された (Kaneshima et al., 1978)。

別の試験では、胆管カニューレを挿入したラット 2 匹を用い、 ^{14}C -DBP を 60 mg/kg bw の用量で単回経口投与した後、3 日間、胆汁を採取した。この結果、各個体の胆汁中への排泄率は、第 1 日に投与量の 27.6%および 52.8%、第 2 日には 4.5%および 3.85%であり、3 日間の合計が 32.2%および 56.7%であった。胆汁中の主要排泄物は、MBP および未変化の DBP(比率 1 : 1)であった (Tanaka et al., 1978)。

4.1.2.1.2 分布

Wistar 雄ラットに、コーン油に溶解した ^{14}C -DBP を 0.27 または 2.31 g/kgbw の用量で単回経口投与したが、どの臓器にも放射能の顕著な残留は認められなかった。投与後の放射能の分布は、両投与群で同様であった。投与の 4 時間後に、放射能が最も低値を示した臓器は脳(0.03%)、最も高値を示した臓器は腎臓(0.66%)であり、投与の 48 時間後には、組織中には微量の放射能(0.01%未満)しか検出されなかった。投与後 24 時間までに血中に認められた放射能は、いずれの用量群においても投与量の 0.4%であった (Williams and Blanchfield, 1975)。また、DMSO に溶解した ^{14}C -DBP を 60 mg/kg bw の用量で経口投与したラットにおいても、投与の 24 時間後、組織(計 14 の組織)への顕著な残留は認められていない。この試験では、脳、心臓、肺、脾臓、精巣、前立腺または胸腺への残留は全く認められず、肝臓に 0.06%、腎臓に 0.02%、筋肉に 0.3%、脂肪組織に 0.7%、腸に 1.53%、胃に 0.01%、血液中に 0.02%の放射能が検出された (Tanaka et al., 1978)。

Wistar 雄ラット 24 匹(bw 約 50 g)を用い、コーン油を 2%および非標識 DBP を 0.1%含むラット用粉末飼料を、最長 12 週間与えた。対照群(12 匹)には、コーン油だけを 2%含む粉末飼料を与えた。4、8 および 12 週間後の各時点で、投与群のラット 8 匹および対照群のラット 4 匹を屠殺した。4 週間試験では、投与群のラットのうち、4 匹の飼料には 10 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$ の ^{14}C -DBP も添加し、残りの 4 匹については、この放射性標識 DBP を含む飼料を最後の 24 時間だけ与えた。また、8 週間試験および 12 週間試験においては、最後の 24 時間にのみ、0.7

$\mu\text{Ci/kg}$ の $^{14}\text{C-DBP}$ を添加した飼料を与えた。試験終了時に動物を屠殺して、臓器および組織(脾臓、腎臓、脂肪組織、精巣、骨格筋、心臓、肺、脳)を摘出し、分析まで冷凍保存した。この結果、どの組織にも実質的な蓄積は認められなかった(Williams and Blanchfield, 1975)。

F344 雄ラット(体重 180~220 g)の刈毛した皮膚(直径 1.3 cm の円形)に、エタノールに溶解した $^{14}\text{C-DBP}$ を 43.7 mg/kg bw (157 $\mu\text{M/kg bw}$) の用量で皮膚適用し、プラスチックキャップで被覆したところ、適用の 7 日後に組織中に検出された放射能は投与量のわずか 0.5~1.5% であった。脂肪組織(0.41%)、皮膚(1.4%) および筋肉(1.1%) に体内残留放射能の大部分が認められ、その他の組織(脳、肺、肝臓、脾臓、小腸、腎臓、精巣、脊髄、血液)の放射能は合計しても 0.5% 未満であった。また、投与した放射能の 33% は、適用部位に残存していた(Elsisi et al., 1989)。

ラットに DBP 50 mg/m³ を 1 日 6 時間で 3 ヶ月間または 6 ヶ月間吸入投与し、いくつかの組織中の DBP 濃度を測定したところ(検出限界 0.03 mg/kg)、脳(3 ヶ月後に 0.42~0.68 mg/kg、6 ヶ月後に 0.54~1.46 mg/kg; 各時点 3~4 匹)、肺(3 ヶ月後に 0.03 以下~0.27 mg/kg、6 ヶ月後に 0.57~0.65 mg/kg; 各時点 2~3 匹)、肝臓(3 ヶ月後に 0.25~0.29 mg/kg、6 ヶ月後に 0.10~0.29 mg/kg; 各時点 3~4 匹)、腎臓(3 ヶ月後に 0.05~0.17 mg/kg、6 ヶ月後に 0.13~0.32 mg/kg; 各時点 3~4 匹) および精巣(3 ヶ月後に 0.09~0.16 mg/kg、6 ヶ月後に 0.03 以下~0.31 mg/kg; 各時点 3~4 匹) に DBP が認められた。0.5 mg/m³ での曝露では、3 ヶ月後に 0.03 以下~0.19 mg/kg、6 ヶ月後に 0.37~0.64 mg/kg (各時点 3 匹) の DBP が、脳中に認められた。肺中の DBP 残留濃度は、3 ヶ月後には測定した 3 匹のいずれにおいても検出限界以下(検出限界 0.03 mg/kg) であり、6 ヶ月後には 2 匹中 1 匹で 0.14 mg/kg であった(他の 1 匹は 0.03 mg/kg 以下)。肝臓中の残留濃度は、3 ヶ月後には 2 匹のラットで検出限界を下回った(0.03 mg/kg 以下) が、1 匹では 0.10 mg/kg であり、6 ヶ月後には 2 匹のラットで検出限界を下回った。腎臓中の残留濃度は、曝露 3 ヶ月後には 2 匹のラットで検出不能(0.03 mg/kg 以下)、1 匹で 0.05 mg/kg であり、曝露 6 ヶ月後には 2 匹のラットで検出不能(0.03 mg/kg 以下)、1 匹では 0.04 mg/kg であった。精巣中の残留濃度は、3 ヶ月後には 0.03 以下~0.07 mg/kg (測定対象 3 匹) であり、6 ヶ月後には 2 匹のラットで検出限界を下回った(0.03 mg/kg 以下) が、1 匹では 0.26 mg/kg であった(Kawano et al., 1980b)。

なお、この試験では、代謝物の測定は行われなかった。

4.1.2.1.3 生体内変化

DBP をラットに経口投与したところ、MBP、MBP のグルクロン酸抱合体、MBP の種々の ω - および ω -1-酸化生成物(より極性の高いケトンおよびカルボン酸塩)ならびに少量の遊離型

フタル酸が尿中に検出された(Albro and Moore, 1974; Foster et al., 1982; Tanaka et al., 1978; Williams and Blanchfield, 1975) (本項の最後に示した代謝図を参照のこと)。

非抱合型および抱合型 MBP の排泄には種差があることが示されている。非抱合型 MBP に対する MBP のグルクロン酸抱合体の比は、ラットでは 1、モルモットでは 1.5、ハムスターでは 2.3 であった(Tanaka et al., 1978)。また、Foster et al.(1982)の試験では、DBP 2 g/kg bw を経口投与されたラットおよびハムスターの尿中に認められた MBP のグルクロン酸抱合体は、それぞれ投与量の 37.6%および 52.5%であり、非抱合型 MBP は 14.4%および 3.5%であった。

肝ホモジネート(ラット、ヒヒ、フェレット)、腎ホモジネート(ラット)および小腸細胞調製物(ラット、ヒヒ、フェレット、ヒト)を用いた *in vitro* 試験により、DBP が加水分解されて MBP が生成されることが実証された(Lake et al., 1977; Rowland et al., 1977; Tanaka et al., 1978; White et al., 1980)。ラット肝ミクロソーム画分を用いた試験では、DBP から MBP への加水分解が非常に速やかに起こることが示された(2 時間以内に 73%)。フタル酸ジエステル加水分解酵素の活性には、種差が認められ、ヒヒ>ラット>フェレットの順であった。ラット、ヒヒおよびフェレットの小腸粘膜細胞、ならびにヒト小腸細胞の調製物すべてにおいて、DBP の MBP への加水分解が可能であった。ラットの消化管内容物による DBP から MBP への加水分解速度は、小腸内容物の存在下で最大であり、盲腸および胃の内容物ではこれより非常に小さいことが示された(Lake et al., 1977; Rowland et al., 1977)。ラット小腸から作製した反転腸管を用いた *in vitro* 試験では、小腸粘膜を通過した未変化の DBP はわずか 4.5%であり、DBP の 95.5%は粘膜上皮内でエステラーゼにより MBP に加水分解された後に漿膜側の灌流液に到達した。エステラーゼを阻害することにより MBP に加水分解される DBP の量は減少し、同量の MBP が腸管から吸収されたが、DBP 吸収量は有意に減少した(White et al., 1980)。

4.1.2.1.4 トキシコキネティクス、代謝および分布についての結論

実験動物における試験で証明されたように、フタル酸ジブチル(DBP)は経口投与後速やかに吸収、排泄される。ラットやハムスターでは、経口投与量の最大 90%以上が 24~48 時間以内に尿中に排泄された。糞中への排泄はわずかであった(1.0~8.2%)。

ヒトにおいても、DBP は経口的に吸収され得る。ラットでは経皮吸収が起こり、投与量の約 60%が 7 日以内に尿中に排泄され、糞中には投与量の約 12%が検出された。*In vitro* 試験では、ヒトにおける皮膚吸収(2.40 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{時間}$)はラットの皮膚(93.35 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{時間}$)に比べ緩徐であることが明らかにされた。

吸入曝露での吸収に関するデータは、得られていない。

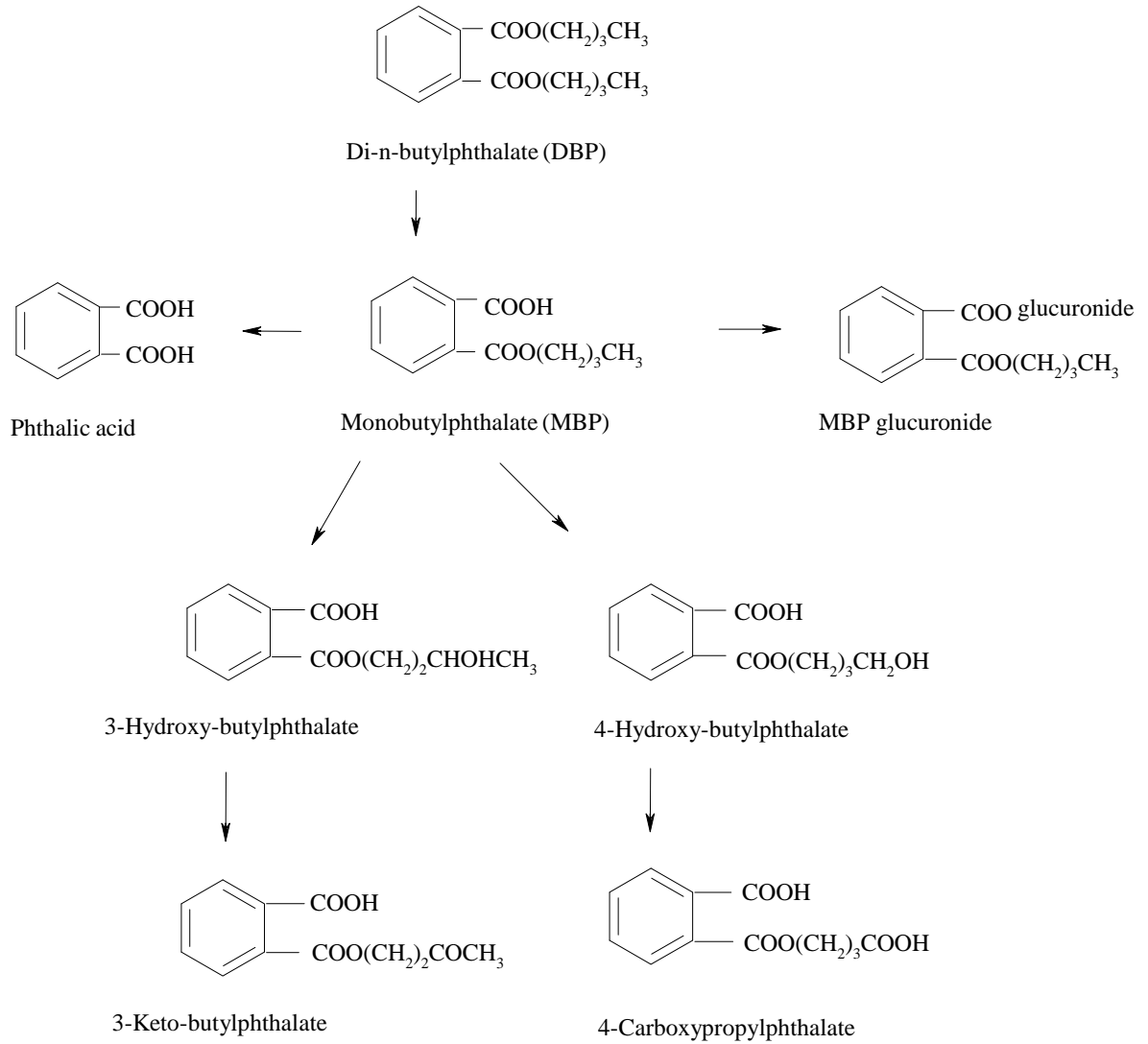
投与された DBP の多くは、まず胆汁中に排泄され、続いて腸肝循環に入る。実験動物においては、経口曝露および経皮曝露の後に組織への有意な蓄積は認められなかった。吸入に関するデータは乏しいが、吸入曝露により若干の組織蓄積が起こることが示唆された。

DBP の大半は、小腸で吸収される前に MBP およびこれに対応するアルコールに加水分解されるが、肝臓および腎臓においても加水分解が起こり得る。尿中に認められた代謝物は、MBP、MBP のグルコン酸抱合体、MBP の種々の ω -および ω -1-酸化生成物(より極性の高いケトンおよびカルボン酸塩)ならびに少量の遊離型フタル酸であった (以下の代謝図を参照のこと)。ラットではハムスターに比べ尿中の非抱合型 MBP の比率が高く、MBP およびそのグルクロン酸抱合体の排泄には種差があることが明らかにされた。なお、経皮曝露後および吸入曝露後の生体内変化に関するデータは得られていない。

ラットを用いた ^{14}C -標識 DBP の経口投与試験により、DBP およびその代謝物が経胎盤移行することが示された。胎盤および胎仔中の放射能濃度は母体血漿中濃度の 1/3 以下であり、胎仔組織中の放射能は投与量の 0.12~0.15% 未満であった。母体血漿、胎盤および胎仔中の放射能の大半は MBP であり、未変化体の DBP は未変化体の DBP はわずかに検出されたのみであった。また、母体組織または胎仔組織に放射能の蓄積は認められなかった。

Metabolic scheme for di-n-butyl phthalate

(Adapted from references Albro and Moore, 1974; Foster et al., 1982; Tanaka et al., 1978)



4.1.2.2 急性毒性

4.1.2.2.1 動物における試験

種々の動物種および投与経路を用いた試験が実施されている。これらの試験の概要を、Table 4.10 に示す。

Table 4.10 Acute toxicity studies in animals

Acute toxicity	Species	Protocol	Results	
A. Oral	mouse	unknown	LD ₅₀ 5,289 mg/kg bw (RTECS, 1993a)	
	mouse	unknown	LD ₅₀ 4,840 mg/kg bw (BIBRA, 1987)	
	rat	other *	LD ₅₀ 8,000 mg/kg bw (Smith, 1953)	
	rat	unknown	LD ₅₀ 6,300 mg/kg bw (BASF, 1961)	
	guinea-pig	unknown	LD ₅₀ 10,000 mg/kg bw (RTECS, 1993b)	
B. Inhalation	mouse	unknown	LC ₅₀ (2 h) 25 mg/L (Voronin, 1975)	
	rat	other *	LC ₅₀ (4 h) ≥15.68 mg/L (Greenough et al., 1981)	
	rat	unknown	LC ₅₀ (not avail.) 4.25 mg/L (RTECS, 1993c)	
C. Dermal	rabbit	unknown	LD ₅₀ >20,000 mg/kg bw (Clayton and Clayton, 1994; RTECS, 1993d)	
D. Other routes	i.v. i.m. i.p.	mouse	unknown	LD ₅₀ 720 mg/kg bw (RTECS, 1993e)
		rat	other *	LD ₅₀ >8,000 mg/kg bw (Smith, 1953)
		mouse	unknown	LD ₅₀ 3,400 – 4,000 mg/kg bw (BASF, 1961; Calley et al., 1966; Lawrence et al., 1975)
	i.p.	rat	unknown	LD ₅₀ 3,178 mg/kg bw (Singh et al., 1972)
	i.p.	rat	unknown	LD ₅₀ ca.4,200 mg/kg bw (BASF, 1958)
	s.c.	mouse	unknown	LD ₅₀ 20,800 mg/kg bw (RTECS, 1993f)

* See HEDSET

マウスおよびラットを用いた経口投与試験の LD₅₀ は、マウスでは 4,840～5,289 mg/kg bw (BIBRA, 1987; RTECS, 1993a)、ラットでは 6,300～8,000 mg/kg bw (BASF, 1961; Smith et al., 1953) とさまざまな値を示した。また、モルモットにおける経口 LD₅₀ 値は、10,000 mg/kg bw である (RTECS, 1993b)。なお、いずれの試験も、ガイドラインもしくは GLP 条件に準拠して実施されたものではなかった。

急性吸入試験により、マウスにおける 2 時間 LC₅₀ は 25 mg/L であることが示された。この試験では、眼や上気道における顕著な粘膜刺激、緩徐呼吸、運動失調、後肢の不全麻痺および麻痺が観察された (Voronin, 1975)。1 mg/L の濃度で 5.5 時間の曝露を受けたネコでも、0.25 mg/L の濃度で 2 時間の曝露を受けたマウスと同様に、鼻粘膜刺激が認められた (その他のデータは示されていない) (BIBRA, 1987; BUA, 1987)。また、ネコにおいて、11 mg/L の濃度で流涎、不穏および倦怠が認められたが、曝露中止後速やかな回復がみられた (その他のデータは示されていない) (BUA, 1987)。

Sprague-Dawley ラットを用いた試験では、雌雄各 5 匹からなる 1 群を、15.68 mg/L の濃度の DBP のエアロゾルに 4 時間曝露した。この試験では、対照群には空気曝露を行い、観察期間は 14 日間とした。この 1 ヶ月後、12.45 mg/L および 16.27 mg/L の濃度で DBP の 2 度目の試験が行われた。15.68、12.45 および 16.27 mg/L における吸入性画分 (すなわち、粒子径 4.7 μm 未満) は、それぞれ 56.9%、64.4% および 59.9% であった。15.68 mg/L 投与群では、雄で 5 匹中 2 匹、雌で 5 匹中 3 匹が死亡したが、12.45 mg/L 投与群および 16.27 mg/L 投与

群では死亡例は認められなかった。このように死亡の発現パターンが異常であったため、LC₅₀ 値は確定できないが、GLP 条件下で実施されたこの試験においては、LC₅₀ 値は 15.68 mg/L 以上であると推定された。15.68 mg/L 投与群では、呼吸数の減少が認められたが、ラットの行動には対照群との差はみられなかった。観察期間中、生存していた全個体に、過剰なグルーミングに起因する貧毛が認められた。肺/体重比を求めたところ、15.68 mg/L 投与群の早期死亡例では上昇が認められ、一方、12.45 mg/L 投与群および 16.27 mg/L 投与群の雄では対照群に比べ低値を示した。肺の肉眼検査では、赤色/暗色の病巣が投与群の動物に散発的に認められた。また、15.68 mg/L 曝露群の雄 1 匹および雌 1 匹で、全肺葉に白色の病巣が認められた。12.45 mg/L 投与群の雌 2 匹ならびに 16.27 mg/L 投与群の雄 1 匹および雌 1 匹の肺に、暗赤色領域が認められた (Greenough et al., 1981)。ラットを用いた別の試験で、LC₅₀ は 4.25 mg/L であったことが示されているが、この試験のロシア語の報告書原本は入手されていない。公表されているのは要約のみであり、曝露時間については言及されていない (RTECS, 1993c)。なお、上述の吸入試験はいずれも、ガイドラインに準拠して実施されたものではなかった。

ウサギを用いた経皮投与試験により、LD₅₀ 値は 20,000 mg/kg bw を上回ることが示された。この試験については、公表されているのは要約のみであり、ガイドラインもしくは GLP 条件に準拠して実施されたことに関するデータは示されていない (Clayton and Clayton, 1994; RTECS, 1993d)。

その他の投与経路 (静脈内、筋肉内、腹腔内、皮下) による急性毒性試験 (Table 4.10 を参照のこと) も、ガイドラインもしくは GLP 条件に準拠して実施されたものではなかった。

4.1.2.2.2 ヒトにおける試験

23 歳の男性が DBP (10 g) を誤飲した例が報告されている。この症例では、吐き気、嘔吐、めまいに続き、数時間後に流涙、羞明および眼の痛みが認められ、最終的に重度の角膜損傷 (びらん性角膜炎) が生じた。また、尿検査においては、顕微鏡的血尿、シュウ酸塩結晶および白血球数の異常が認められた。これに対し、散瞳薬および抗生物質による治療が行われ、14 日以内に回復がみられた (Cagianut, 1954)。

4.1.2.2.3 急性毒性についての結論

DBP のラットにおける経口 LD₅₀ 値は 6,300 mg/kg bw 以上であり、ウサギにおける経皮 LD₅₀ は 20,000 mg/kg bw を上回っている。吸入曝露については、ラットにおける DBP の 4 時間

LC₅₀は 15.68 mg/L 以上である。

EC 基準によると、DBP は、急性毒性に基づいて分類を行う必要はない。

4.1.2.3 刺激性

4.1.2.3.1 皮膚刺激性

動物における試験

OECD ガイドライン 404 に準拠してウサギに DBP 原液を経皮適用したところ、曝露直後および試験開始の 24 時間後に、3 匹中 2 匹で非常に軽度の紅斑が認められた。浮腫の発現はなく、紅斑は試験開始の 48 時間後には消失していた。なお、適用面積は 2.5×2.5 cm²であった。この試験の結果、DBP には皮膚刺激性はないものと判断された (BASF, 1990a)。

Vestinol C (DBP の商標名) の原液 0.5 mL をウサギ (雄 3 匹、雌 3 匹) の無処置皮膚および擦過皮膚 (面積 2.5×2.5 cm²) に経皮適用した。この試験では、各個体の無処置皮膚 1 ヶ所および擦過皮膚 1 ヶ所に Vestinol C を適用し、別の無処置皮膚 1 ヶ所および擦過皮膚 1 ヶ所には 10% ラウリル硫酸塩を適用して陽性対照とした (FDA の推奨法)。この結果、24 時間後に軽度の反応が認められたが、72 時間後には適用部位に反応は認められず、刺激指数は 0.54/8 と報告されている。したがって、Vestinol C は、FDA の基準によると非常に軽度の刺激性を有する物質に分類されるが、EC 基準によると非刺激性物質に該当すると判断された (Greenough et al., 1981)。

ヒトにおける試験

ヒトにおけるデータは得られていない。

4.1.2.3.2 眼刺激性

動物における試験

OECD ガイドライン 405 に準拠して実施されたウサギにおける DBP (原液) の試験では、1 時間後および 24 時間後にすべての動物で明瞭な結膜充血が認められたが、48 時間後には軽度～明瞭となり、72 時間後にはすべての徴候が消失していた。角膜および虹彩には、刺激

症状は認められなかった。したがって、この試験では、DBP は眼に対して刺激性はないものと判断された (BASF, 1990b)。

Vestinol C (DBP の商標名) の原液 0.1 mL をウサギ (雄 3 匹、雌 3 匹) の眼に適用する試験が行われた (FDA の推奨法)。この試験では、眼の洗浄は行わなかった。1 時間後、6 匹中 3 匹の動物で軽度の充血、他の 3 匹では非常に軽度の充血が認められ、24 時間後にも 6 匹中 2 匹で非常に軽度の充血がなおみられた。また、1 時間後に 6 匹中 3 匹の動物に非常に軽度の腫脹が認められた。48 時間後には、全個体の眼が正常に回復していた。また、角膜または虹彩にはいかなる反応も認められず、刺激指数は 0.11/110 と報告されている。したがって、この試験では、DBP は眼に対して刺激性はないものと判断された (Greenough et al., 1981)。

ヒトにおける試験

ヒトにおけるデータは得られていない。

4.1.2.3.3 気道刺激性

動物における試験

1 mg/L の濃度で DBP に 5.5 時間曝露されたネコにおいて、0.25 mg/L の濃度で 2 時間曝露されたマウスと同様に、鼻粘膜刺激が認められたことが報告されている (その他のデータは示されていない) (BIBRA, 1987; BUA, 1987)。

Wistar ラットを用い、DBP (純度 99.8%) の液体エアロゾルに 1 日 6 時間、週 5 日で 4 週間、頭部 - 鼻部吸入曝露を行った 28 日間吸入試験では、最高曝露濃度 (509 mg/m³) において、1 日の曝露終了後に鼻吻部に赤色痂皮形成 (18 時間以内に回復) が観察された。この痂皮形成は、10 匹中最高 4 匹で認められ、最長持続期間は第 13 日～第 27 日であった。病理組織学的検査では、全投与群 (1.18、5.57 および 509 mg/m³) において、鼻腔のレベル II、III および IV 切片でのいくつかの部位に粘液細胞の過形成が認められ、また、喉頭のレベル I 切片で類扁平上皮化生の発現率が用量依存性に増加していたことが示された。鼻腔の各領域の上皮は規則的であり、陥入は認められなかった。また、鼻腔全体に炎症徴候は認められなかった (Gamer et al., 2000)。

ヒトにおける試験

ヒトにおけるデータは得られていない。

4.1.2.3.4 刺激性についての結論

ウサギを用いた試験においては、DBP に皮膚刺激性および眼刺激性は認められなかった。したがって、EC 基準によると、DBP は得られた試験結果に基づき、分類を行う必要はない。

0.25 mg/L の濃度で 2 時間の吸入曝露を受けたマウスにおいて、鼻粘膜刺激症状が認められた。また、ラットでは、509 mg/m³(約 0.5 mg/L) の濃度の DBP エアロゾルへの反復曝露により、鼻吻部に赤色痂皮形成が生じた。1.18 mg/m³(約 0.001 mg/L) 以上の濃度において、鼻腔および喉頭に局所的(病理組織学的)な影響が認められたが、炎症徴候は認められなかった。これらのデータにより、DBP については、呼吸刺激に関する分類を行う必要はない。

4.1.2.4 腐食性

本物質においては、評価を行う必要はない。

4.1.2.5 感作性

4.1.2.5.1 動物における試験

2 件のモルモットマキシマイゼーション試験(モルモットを用いた皮膚感作性試験)が報告されている。これらの 1 つは OECD ガイドライン 406 に、他方は GLP 条件下で FDA の推奨法に準拠して実施されたものであり、いずれの試験においても感作性反応は認められなかった(BASF, 1990c; Greenough et al., 1981)。

ウサギを用いた繰り返しパッチテストでは、感作性反応は認められなかった。なお、この試験は、ガイドラインに準拠しておらず、GLP 条件下で実施されたものでもなかった(BASF, 1957)。

4.1.2.5.2 ヒトにおける試験

44 歳の男性で、プラスチック製の腕時計ベルトに接触する左手首の皮膚に湿疹が認められた。男性が時計を右手に付け替えたところ、右手にも同様の湿疹が生じた。この症例では、プラスチック製のベルト、20%コロホニウム、1%p-t-ブチルフェノール、ブチルフェノール・ホルムアルデヒド樹脂および 5%DBP のパッチテスト(溶媒については示されていない)の

すべてで陽性反応が認められた(Husain, 1975)。

71歳の女性で、補聴器着用以降、「耳感染症」が反復して認められた。また、眼鏡フレームに接触する耳の後部および側頭部には皮膚炎が発症した。この症例は、ワセリンに混合した5%DBP、5%フタル酸ジメチルまたは5%フタル酸ジエチルのパッチテストで陽性を示し、眼鏡フレームまたは補聴器の削片を用いたパッチテストでは、これより弱い陽性反応が認められた(Oliwiecki et al., 1991)。

ポリ塩化ビニル(PVC)顆粒から靴を製造する工場の労働者を対象として、DBPのパッチテストが実施された。この試験では、皮膚炎の有無により被験者を2群(1群30人)に分け、他に30人の対照群をおいた。この結果、皮膚炎を有する労働者の30人中3人および皮膚炎のない労働者の30人中5人がパッチテストに陽性反応を示したが、対照群ではいずれの被験者にも反応が認められなかった。なお、このパッチテストに使用されたDBPの濃度および溶媒については明らかにされていない(Vidovic and Kansky, 1985)。

DBPを含む制汗剤スプレーの使用後、腋窩に皮膚炎が発症した2人の女性で、パッチテストが実施された。この結果、いずれの女性もDBPに陽性反応を示したが、同スプレーの他の成分に対しては陰性であった(Calnan, 1975; Sneddon, 1972)。

フタル酸エステル混合物(ワセリンに混合した2%フタル酸ジメチル、2%フタル酸ジエチルおよび2%DBP)を用いたルーチンのパッチテストでは、試験を行った1,532人のうち1人に陽性反応が認められた(Schulsinger and Mollgard, 1980)。

13～159人の被験者を対象とした11件の試験において、化粧品(DBPを6%または9%含むマニキュア、またはDBPを4.5%含む消臭剤)またはワセリンに混合した5%DBPのパッチテストが実施された。これらの試験には、48時間閉塞パッチテスト、マキシマイゼーション試験の変法、繰り返しパッチテスト(変法)、21日間反復刺激性試験、予知パッチテストおよび計画的な使用試験(2日間または4週間)が含まれていた。この結果、大半の試験(11件中9件)では、刺激性、(接触)感作性、または光感作性は認められなかったが、9%含有のマニキュアおよび4.5%含有の消臭剤をそれぞれ用いた2つの試験(被験者数13人および12人、被験者の背部の同じ部位に21時間および23～24時間パッチを貼付)で軽度の刺激症状が認められた(要約のみ入手)(著者不明、1985)。

4.1.2.5.3 感作性についての結論

2件のモルモットマキシマイゼーション試験において、DBPの皮膚感作性は認められなかつ

た。したがって、EC 基準によると、本物質は報告されている試験結果に基づき、分類を行う必要はない。

ヒトにおける DBP の感作性の有無に関する症例報告は、記述が不十分である上に矛盾した結果もみられることから、これらの結果から明確な結論を導き出すことは不適切である。

4.1.2.6 反復投与毒性

4.1.2.6.1 経口投与試験

動物における試験

動物における反復経口投与試験の結果の概要を **Table 4.11** に示す。

Table 4.11 Summary of repeated dose toxicity studies in animals

Repeated dose toxicity	Species	Protocol	Results
A. Oral * (general toxicity)	mouse	Other *: 0, 0.25 and 2.5% in diet (~ 0, 500 and 5,000 mg/ kg bw) for 86 or 90 days	LOAEL 500 mg/kg bw (Ota et al., 1973; 1974)
	mouse	Other **: 0, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 or 2.0% in diet for 13 weeks (~ males 163-3689 mg/kg bw; females 238-4,278 mg/kg bw)	0.25% ~ 353 mg/kg bw is NOAEL for males 0.5% ~ 812 mg/kg bw is LOAEL for males 0.125% ~ 238 mg/kg bw is LOAEL for females (NTP, 1995)
	rat	Other *: 0.5 and 5.0 % in diet (~250 and 2,500 mg/kg bw) for 34-36 days	LOAEL 0.5% ~ 250 mg/kg bw (Murakami et al., 1986)
	rat)	OECD 408 0, 0.04, 0.2 and 1.0% in diet (~0, 30, 152, 752 mg/kg bw) for 90 days	NOAEL 0.2% ~ 152 mg/kg bw LOAEL 1.0% ~ 752 mg/kg bw - (Schilling et al., 1992)
	rat	Other *: 0, 120 and 1,200 mg/kg bw by in olive oil by gavage for 3 months	LOAEL 120 mg/kg bw (Nikoronow et al., 1973)
	rat	Other **: 0, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 or 4.0% in diet for 13 weeks (~ males 176-2,964 mg/kg bw; females 177-2,943 mg/kg bw)	NOAEL 0.25% ~ 177 mg/kg bw LOAEL 0.5% ~ 357 mg/kg bw (NTP, 1995)
B. Oral (peroxisome proliferation)	rat	Other *: 0, 0.125% in diet (~0 and 62.5 mg/kg bw) for 1 year	NOAEL 0.125% ~ 62.5 mg/kg bw (Nikoronow et al., 1973)
	rat	Other *: 0, 0.01, 0.05, 0.25 and 1.25% in diet (~0, 5, 25, 125 and 625 mg/kg bw) for 1 year	NOAEL 0.25% ~ 125 mg/kg bw LOAEL 1.25% ~ 625 mg/kg bw (Smith, 1953)
	rat	Other **: 0, 20, 60, 200, 600 and 2,000 mg/kg of diet (~0, 1.1, 5.2, 19.9, 60.6 and 212 mg/kg bw) for 2 weeks	NOAEL 200 mg/kg of diet ~ 19.9 mg/kg bw based on increased LAH-11 # and LAH-12 # activities (Jansen et al., 1993)
	rat	Other **: 0, 0.6, 1.2 and 2.5% in diet (~0, 600, 1,200 and 2,100 mg/kg bw) for 3 weeks	LOAEL 0.6% ~ ca. 600 mg/kg bw based on increased PcoA ##, LAH-11 # and LAH-12 # activities and increased liver weights (Barber et al., 1987; BIBRA, 1986)
	rat	Other **: 0, 0.05, 0.1, 0.5, 1 and 2.5% in feed (~0, 51.5, 104, 515, 1,040, 2,600 mg/kg bw) for 4 weeks	NOAEL 0.1% ~ 104 mg/kg bw for peroxisomal proliferation (based on increased PcoA ## activity) LOAEL for increase of liver weights 0.05% ~ 51.5 mg/kg bw - (BIBRA, 1990)
	rat	Other **: 0, 0.04, 0.2 and 1.0% in diet (~0, 30, 152 and 752 mg/kg bw) for 3 months	NOAEL 0.2% ~ ca. 152 mg/kg bw (based on increased number and/or size of peroxisomes in the liver by histochemistry) - (Kaufmann, 1992)
C. Oral (testicular effects)	rat	Other **: 250, 500 and 1,000 mg/kg bw for 15 days	LOAEL 250 mg/kg bw (Srivastava et al., 1990)

* Tests showed limitations. See next pages and HEDSET

** See HEDSET

LAH-11 and LAH-12 = 11- and 12-lauric acid hydroxylase, indicators for peroxisomal proliferation

PCoA = cyanide-insensitive palmitoyl-CoA oxidase activity, an indicator for peroxisomal proliferation

一般毒性

規模は小さいが、ddY マウス (1 群雄 3 匹、雌 12 匹) に、0.25 または 2.5% の DBP (約 500 mg/kg

bw および 5,000 mg/kg bw) を 86 日間または 90 日間混餌投与した試験が行われている。高用量群において、肝臓に顕著な空胞変性および単細胞壊死が、尿細管に嚢胞形成および上皮細胞変性が認められた。低用量群では、肝臓および腎臓の組織学的変化は軽度であったが、実質細胞の変性が認められた (Ota et al., 1973; 1974)。

B6C3F1 マウス (1 群雌雄各 10 匹) を用いて適切に実施された 13 週間試験では、0、0.125、0.25、0.5、1.0 または 2.0% の DBP (雄で 0、163、353、812、1,601 および 3,689 mg/kg bw、雌では 0、238、486、971、2,137 および 4,278 mg/kg bw に相当) を混餌投与した。この結果、雌雄ともに、飼料中濃度 0.5% 以上の用量で、体重増加量が統計学的に有意に低下した。血液学的検査では、2.0% 群の雌で、統計学的に有意なヘマトクリット値の減少が認められた。また、0.5% 以上の群で、肝臓の相対重量が統計学的に有意に増加した。腎臓の絶対重量および相対重量の増加が、雌においてのみ全投与群に認められた。これらの増加には用量相関性はなかったが、2.0% 群の腎臓絶対重量を除き統計学的に有意な増加であった。精巣中の亜鉛濃度が、0.5% 以上の群の雄で、統計学的に有意な高値を示した。血清中テストステロン濃度には大きなばらつきがあったが、全般に曝露群で高値を示した。ただし、統計学的に有意な高値が認められたのは、0.125% 群のみであった。1.0% 群および 2.0% 群の雄、および 2.0% 群の雌では、肝臓の組織学的検査で、グリコーゲンの枯渇を示す細胞質変化が認められた。また、肝細胞の細胞質内に、ペルオキシソームの増殖を示す微細な好酸性顆粒が 2.0% 群の雌雄で認められた。肝臓へのリポフスチンの蓄積が、1.0% 以上の群で認められた。0、0.125、0.5 および 2.0% 群に対して行った生殖組織の検査では、2.0% 群で、左側の精巣上体重量の統計学的に有意な減少、および精巣 1g あたりの精子細胞数 (heads/g) の統計学的に有意な増加が認められた。精巣上体精子数の測定および発情周期の解析においては、有意な変化は認められなかった。したがって、この試験における雄の NOAEL は 353 mg/kg bw、LOAEL は 812 mg/kg bw である。また、雌では、最低用量である 238 mg/kg bw が LOAEL であり、NOAEL は確定できなかった (NTP, 1995)。

Wistar ラットを用い、OECD ガイドライン 408 に準拠して適切に実施された 3 ヶ月混餌投与毒性試験では、152 mg/kg bw が NOAEL であると考えられた。この上の用量であった 752 mg/kg bw では、血液学的パラメータ (ヘモグロビン値およびヘマトクリット値の低下、ならびに赤血球数の減少) および臨床化学パラメータ (トリグリセリド濃度の減少、血清グルコースおよびアルブミン濃度の上昇) の変化、シアン非感受性パルミトイル CoA 酸化酵素 (PcoA ; ペルオキシソーム増殖の指標となる) 活性の統計学的に有意な上昇、T3 の統計学的に有意な減少、ならびに肝臓および腎臓重量の統計学的に有意な増加が認められた。病理組織学的検査では、752 mg/kg bw 投与群で、肝細胞の脂肪蓄積の減少または欠如が認められた。神経機能検査では、いずれの用量群においても異常は認められなかった。また、この試験では、精巣に対する影響も認められなかった (Schilling et al., 1992)。

F344/N ラット(1 群雌雄各 10 匹)を用いて適切に実施された 13 週間試験では、0、0.25、0.5、1.0、2.0 または 4.0%の DBP(雄で 0、176、359、720、1,540 および 2,964 mg/kg bw、雌では 0、178、356、712、1,413 および 2,943 mg/kg bw に相当)を混餌投与した。この結果、飼料中濃度 2.0%以上の群の雌雄および 1.0%群の雄で、統計学的に有意な体重増加量の低下が認められた。4.0%群では雌雄ともに摂餌量が低下し、この用量群のすべての動物に消瘦が認められた。血液学的検査では、0.5%以上の群の雄に、ヘモグロビン値および赤血球数の統計学的に有意な低下が認められた。0.5%以上の群では雄のヘマトクリット値にも低下がみられたが、統計学的に有意な低下を示したのは 2.0%および 4.0%群のみであった。また、0.5%以上の群の雄では、統計学的に有意な血小板数増加も認められた。有核赤血球数は、4.0%群で雌雄ともに統計学的に有意な増加を示した。臨床化学検査では、2.0%および 4.0%群の雌雄でコレステロール値の統計学的に有意な低下が認められた。全用量群の雄および 1.0%以上の群の雌では、トリグリセリド値が統計学的に有意に低下し、雌雄いずれにおいても用量相関性が認められた。また、血清アルカリホスファターゼ(SAP)活性(2.0%および 4.0%群の雄、1.0%以上の群の雌)および胆汁酸濃度(2.0%および 4.0%群の雄、0.5%以上の群の雌)の統計学的に有意な上昇が認められた。PCoA 活性は、0.5%以上の群の雌雄で用量相関性に増加した。肝臓および腎臓の相対重量は、0.5%以上の群の雄および 1.0%以上の群の雌で、統計学的に有意に増加した。肝臓の顕微鏡検査では、1.0%以上の群の雌雄でグリコーゲンの枯渇を示す肝細胞細胞質の変化が認められた。4.0%群では微細な好酸性顆粒も観察され、電子顕微鏡検査により、この用量群では肝臓内のペルオキシソームが増加していることが示された。リポフスチンの蓄積は、1.0%以上の群で認められた。2.0%および 4.0%群の雄では、精巣重量の統計学的に有意な減少が認められた。精巣の顕微鏡検査により、1.0%以上の群で胚上皮の変性が用量依存性に認められ、4.0%群では胚上皮はほぼ完全に欠損していた。精巣中の亜鉛濃度および血清中テストステロン濃度の統計学的に有意な低値が 2.0%および 4.0%群で認められ、血清中の亜鉛濃度は 4.0%群で統計学的に有意な低値を示した。0、0.25、1.0 および 2.0%群に対して行った精子形成の評価では、2.0%群で、精巣あたりおよび精巣 1g あたりの精子細胞数、精巣上体精子の運動性、ならびに精巣上体 1g あたりの精巣上体精子数に、統計学的に有意な低下が認められた。したがって、この試験における NOAEL は、雌雄いずれにおいても飼料中濃度 0.25% (177 mg/kg bw に相当)である (NTP, 1995)。

以下に述べるラットを用いた他の試験[Table 4.11 の general toxicity(一般毒性)の欄に記載]は、ガイドラインに準拠したものでもなく、GLP 条件下で実施されたものでもなく、いずれも限定的なものである。しかし、これらの試験により、上述の試験で得られた NOAEL が支持されると考えられる。

Wistar 雄ラット(1 群 5 匹)を用いて 34~36 日間継続して行われた混餌投与試験では、飼料中濃度 0.5 および 5%の両群(250 および 2,500 mg/kg bw に相当)で、体重増加の減少が認め

られた。5.0%群では、精巣などの臓器重量およびいくつかの臨床化学パラメータについて、統計学的に有意な変化が認められた。肝臓には、両群で顕微鏡的变化が認められた。肝臓の超微細構造的変化は両群に認められ、5.0%群でより顕著であった(特にペルオキシソームの増加)。

したがって、この試験では、最低用量であった0.5% (250 mg/kg bw に相当)が LOAEL とされる (Murakami et al., 1986)。

Wistar ラットを用いた3ヵ月間強制経口投与試験では、1群雌雄各10匹のラットに、DBPを120または1,200 mg/kg bw の用量で投与した。この結果、行動、体重増加量、血液学的所見(ヘモグロビン値、赤血球数および白血球数)ならびに血清タンパク分画には、異常が認められなかった。いずれの用量群においても肝臓相対重量の統計学的に有意な増加が認められたが、腎臓および脾臓重量には変化がなかった。また、肉眼検査および顕微鏡検査(肝臓、腎臓、脾臓)では、異常は認められなかった。したがって、この試験では、最低用量であった120 mg/kg bw が LOAEL とされる (Nikoronow et al., 1973)。

同著者グループは、Wistar ラット(1群雌雄各20匹)に0.125%のDBP(62.5 mg/kg bw)を投与した12ヵ月間混餌投与試験についても報告している。この結果、対照群における死亡率が10%であったのに対し、投与群では15%の動物が死亡した。しかし、体重増加量、摂餌量、血液学的所見(ヘモグロビン値、赤血球数および白血球数)、血清タンパク分画、臓器重量(肝臓、腎臓、脾臓)、肉眼的所見および顕微鏡的所見(肝臓、腎臓、脾臓)には、異常が認められなかった。したがって、この試験におけるNOAELは62.5 mg/kg bw とされるが、この試験は非常に限定的なものであった(特に単一用量であった点) (Nikoronow et al., 1973)。

雄ラット(1群10匹、系統は不明)を用いた1年間混餌投与試験では、最高用量群(飼料中濃度1.25%、625 mg/kg bw に相当)において、試験開始後1週間以内に50%の動物が死亡したが、肉眼検査および顕微鏡的検査では特異的な病理学的変化は認められなかった。他の用量群(飼料中濃度0.25、0.05 および0.01%、それぞれ125、25 および5 mg/kg bw に相当)では、生存率、体重増加量、摂餌量、血液学的所見(ヘモグロビン値、赤血球数、白血球数、白血球分画)、肉眼的所見および顕微鏡的所見に、投与による影響は認められなかった。なお、臓器重量の測定は行われなかった。したがって、この試験におけるNOAELは125 mg/kg bw とされるが、この試験は非常に限定的なものであった(ラットの系統が不明、単一の性のみ使用、生化学的検査が実施されていない、臓器重量が測定されていない) (Smith, 1953)。

ペルオキシソーム増殖

フタル酸エステル類には、マウスおよびラットの肝臓におけるペルオキシソーム増殖を誘

発するものがあることが知られており、肝臓の超微細構造的変化およびペルオキシソーム関連酵素[PCoA、11-および 12-ラウリン酸水酸化酵素(LAH-11、LAH-12)]の活性の変化が、この指標とされている。また、ペルオキシソーム増殖と長期曝露後の肝腫瘍の発生との関連性が示唆されている(ECETOC, 1992, 4.1.2.8 がん原性の項も参照されたい)。このため、多くの試験において、DBP のペルオキシソーム増殖誘発性が検討されている。

この影響の NOAEL として報告されている最低値は、Wistar 雄ラットに飼料中濃度 20、60、200、600 および 2,000 mg/kg (1.1、5.2、19.9、60.6 および 212.5 mg/kg bw に相当)の DBP を投与した 2 週間混餌投与試験で得られている。この試験における NOAEL は、PCoA 活性に関しては飼料中濃度 600 mg/kg (60.6 mg/kg bw)、LAH-11 および LAH-12 活性に関しては飼料中濃度 200 mg/kg (19.9 mg/kg bw)であった。したがって、ペルオキシソームに関連する酵素誘導全体における NOAEL は、飼料中濃度 200 mg/kg (19.9 mg/kg bw)である(Jansen et al., 1993)。

F344 雌雄ラットを用いた 3 週間混餌投与試験が、飼料中濃度 0.6、1.2 および 2.5% (約 600、1,200 および 2,100 mg/kg bw)の用量設定で行われた。しかし、この試験では、最低用量であった 0.6% (約 600 mg/kg bw)において、ペルオキシソーム関連酵素(PCoA、LAH-11 および LAH-12)活性の上昇が認められたため、NOAEL を確定することができなかった。加えて、同用量群において、肝重量の増加、ならびに血清中トリグリセリド値およびコレステロール値の低下が認められた(Barber et al., 1987; BIBRA, 1986)。

F344 雄ラットを用いた 4 週間混餌投与試験が、飼料中濃度 0.05、0.1、0.5、1 および 2.5% (51.5、104、515、1,040 および 2,600 mg/kg bw に相当)の用量設定で行われた。この試験における PCoA 活性の上昇に関する NOAEL は、飼料中濃度 0.1% (104 mg/kg bw に相当)であった。ただし、この試験では、すべての用量群で肝重量が統計学的に有意に増加し、用量相関性が認められた(BIBRA, 1990)。

Wistar ラット(1 群雌雄各 3 匹)に、飼料中濃度 400、2,000 または 10,000 mg/kg (約 30、152 および 752 mg/kg bw に相当)の DBP を投与した、3 ヶ月間の混餌投与毒性試験が行われた。投与期間終了時に、ペルオキシソームの数や大きさを組織化学的手法により測定し、肝臓におけるペルオキシソーム増殖の検討が行われた。この試験におけるペルオキシソーム増殖に関する NOAEL は、飼料中濃度 2,000 mg/kg (約 152 mg/kg bw)であると判断された(Kaufmann, 1992)。

精巣に対する影響

ラットでは、DBP への反復経口曝露後に、特徴的な精巣の変化が認められた。ラットにお

けるこのような精巣への影響を検討するために特別に行われた試験では、最低用量であった 250 mg/kg bw においても、精原細胞の変性に関連する精巣酵素の変化が認められた。また、病理組織学的検査により、同用量で精細管の 5% に変性が生じたことが示された (Srivastava et al., 1990)。500 mg/kg bw 以上の用量では、精巣重量の減少(萎縮)、副性腺重量の減少、精母細胞数の減少、精巣精細管の変性、精巣中の亜鉛濃度および血清テストステロン濃度の低下、精巣中のテストステロン濃度の上昇、ならびに尿中への亜鉛の排泄量の増加が認められた (Cater et al., 1977; Gray et al., 1982, 1983; Oishi and Hiraga, 1980b; Srivastava et al., 1990)。また、モルモットにおいても、2,000 mg/kg bw の DBP の反復経口投与(7 日間)により、精巣に重度の変化が認められた (Gray et al., 1982)。一方、マウスおよびハムスターは、精巣への影響に対する感受性が低いと考えられた。マウスにおいては、2,000 mg/kg bw を 9 日間強制経口投与した試験で軽度の影響が認められたものの、飼料中濃度 2% の DBP (約 2,400 mg/kg bw) を 7 日間混餌投与した試験では精巣への影響は認められなかった (Gray et al., 1982; Oishi and Hiraga, 1980a)。ハムスターにおいては、2,000 mg/kg bw または 3,000 mg/kg bw の 9 日間の経口投与 (Gray et al., 1982)、もしくは 500 mg/kg bw の 35 日間の経口投与 (Gray et al., 1983) では、精巣への影響は認められなかったが、1,000 mg/kg bw を 35 日間経口投与した場合には、明らかな影響が認められた (Gray et al., 1983)。精巣毒性の重症度における動物種差は、遊離型のパタル酸モノブチル (MBP) の濃度差によるものと考えられる。MBP は、DBP の代謝物で、ラットにおいて精巣の変化を誘発することが知られている (Foster et al., 1981, 1982; Oishi and Hiraga, 1980c; Tanaka et al., 1978; Zhou et al., 1990)。

ヒトにおける試験

ヒトにおけるデータは得られていない。

経口投与試験についての結論

一般毒性の NOAEL は、現行の標準法に従って実施されたラットにおける 3 ヶ月間経口投与試験の結果から導くことができ、その値は 152 mg/kg bw である。また、この試験における LOAEL は、752 mg/kg bw である。ラットは精巣への影響に対し特に感受性が高い動物であるにもかかわらず、この試験では、精巣の変化は認められなかった。また、神経機能検査においても、異常は認められなかった。

精巣への影響に重点を置いたラットにおける試験では、試験を行った最低用量(すなわち、250 mg/kg bw)は有害影響量であると考えられた。

パタル酸エステル類によるもうひとつの特徴的な影響は、ペルオキシソーム増殖である。

この影響に重点を置いた試験がいくつか行われており、この影響に関する NOAEL の最低値は、ペルオキシソーム関連酵素活性の上昇に基づくと、19.9 mg/kg bw であった。しかし、ヒトにおいては、この影響に対する感受性はラットに比べてはるかに低いか、または非感受性であることに留意が必要である (ECETOC, 1992)。

4.1.2.6.2 経皮投与試験

動物における試験

ウサギ(系統は不明)における 90 日間経皮投与試験が実施されたが、現行の標準法に従ったものではなかった。この試験の記述は不十分であり、各群の動物数および性別ならびに 1 日 1 回の適用の継続期間が示されていない。動物の刈毛した無傷の皮膚に 0.5、1.0、2.0 または 4.0 mL/kg bw の DBP を適用した結果、軽度の皮膚刺激および軽度の皮膚炎が認められたことが報告されているが、どの用量でこのような影響がみられたのかは示されていない。この試験ではほかに、4.0 mL/kg bw で軽度の腎障害が認められた (Lehman, 1955)。

ヒトにおける試験

ヒトにおけるデータは得られていない。

経皮投与試験についての結論

上記の 90 日間経皮投与試験は、皮膚経路における NOAEL を確立するには不十分である。

4.1.2.6.3 吸入試験

動物における試験

Sprague-Dawley 雄ラット(1 群 15 匹)を用いた 5 日間吸入試験では、0、0.5、2.5 および 7.0 ppm (約 0、6、28 および 80 mg/m³) の濃度の DBP に、ラットを 1 日 6 時間曝露した。この結果、体重、肺または肝臓の重量に対する影響は認められなかった。上位 2 つの高用量群で、ミクロソームのシトクロム P-450 含量およびシトクロム P-450 関連酵素の顕著な変化が肺で認められたが、肝臓では認められなかった。7.0 ppm 群では、血清中のアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALAT) 活性およびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (ASAT) 活性、

ならびに血清アルブミン値において、統計学的に有意な上昇が認められた。血清アルカリホスファターゼ(SAP)活性および血清総タンパク値には変化が認められなかった(Walseth and Nilson, 1984)。[経口投与では、ミクロソームのシトクロム P-450 含量およびシトクロム P-450 関連酵素に対する影響は主として肝臓にみられ、肺では認められなかった(Walseth and Nilson, 1986)のに対し、腹腔内投与では肝臓および肺のいずれにおいてもミクロソームの P-450 含量の変化が認められた(Walseth et al., 1982)。]

OECD ガイドライン 412 に準拠し、さらに臨床検査、神経機能検査および病理学的検査について OECD 407 に準拠して、吸入試験が適切に実施されている。Wistar ラット(1 群雌雄各 5 匹、平均体重は雄で 281.2 g、雌で 195.5 g)を、測定濃度 0、1.18、5.57、49.3 または 509 mg/m³ の DBP(純度 99.8%)液体エアロゾルに、1 日 6 時間、週 5 日で 4 週間、頭部-鼻部吸入曝露した[MMAD(mass median aerodynamic diameter: 空気動力学的質量中央径)は 1.5~1.9 μm、GSD(geometric standard deviation: 幾何標準偏差)は約 2]。

観察

就業日には 1 日 2 回、週末または公休日には 1 日 1 回、すべての動物の健康状態をチェックした。また、曝露期間中は 1 日 3 回、曝露後は 1 日 1 回、すべての動物の臨床検査を行った。週ごとの摂餌量、飲水量および体重を記録し、飼料効率を算出した。第 1、7、14 および 21 日には、動物を標準的な開放空間に移し、すべての動物について 2 分間、オープンフィールド観察を行った。

検眼鏡検査を、曝露前にはすべての動物、第 26 日には対照群および 509 mg/m³ 群の動物を対象として実施した。

曝露期間終了後(第 28 日)、すべての動物について機能観察総合評価(受動的観察の後、ホームケージから取り出してオープンフィールドでの観察を行い、その後で感覚運動検査および反射試験を実施)を行った。また、同日、機能観察の一つとして、すべての動物の自発運動量を測定した。

曝露期間終了時には、すべての動物に対し、血液学的検査、臨床化学検査、尿検査、臓器の絶対および相対重量の測定(脳および生殖器官を含む 10 の臓器)、ならびに肉眼的検査を行った。肉眼的異常が認められたすべての部位、ならびにすべての動物の鼻腔、喉頭、肺、肝臓、リンパ節(縦隔)、精巣および精巣上体/卵巣および卵管の病理組織学的検査を行った。加えて、対照群および 509 mg/m³ 群のすべての動物については、このほかに約 20 の組織(脳を含む)の病理組織学的検査を行った。

結果

死亡例はなかった。一般状態の観察では、509 mg/m³群で、最長で第13～27日までの間に、1日の曝露終了後、鼻吻部に赤色痂皮形成(18時間以内に回復)が、最高4匹で認められた。検眼鏡検査では、異常が認められなかった。

機能観察総合評価では、49.3 mg/m³群の雄で、立ち上がり行動が、対照群に比べて統計学的に有意に増加した。しかし、用量-反応関係は認められず、機能観察中にその他の異常は観察されなかったことから、これは偶発的に起こったものであると考えられる。オープンフィールド観察、ホームケージでの観察、感覚運動/反射試験および自発運動量の測定においては、投与に関連した所見は認められなかった。

時に、摂餌量、飲水量や飼料効率が統計学的に有意に減少することがあったが、濃度/時間-反応関係を伴うものではなく、雌雄のいずれか一方のみでしか認められた。したがって、これらの変化は偶発的に起こったものであり、投与との関連性はないと考えられた。雌雄の平均体重には、対照群と比較して統計学的有意差は認められなかった。

血液学的検査、臨床化学検査および尿検査では、投与に関連した異常は認められなかった。509 mg/m³群の雌で血清ナトリウム値の統計学的に有意な低下が認められたが、一方の性のみ認められたわずかな逸脱であったことを考慮すると、毒性学的意義はないものと考えられた。

肺の絶対重量の統計学的に有意な増加が、5.57 mg/m³群(+18.4%)および49.3 mg/m³群(+11.1%)の雄で認められたが、509 mg/m³群における増加(+8.1%)は、統計学的に有意ではなかった。精巣の絶対重量についても、統計学的に有意な減少が1.18 mg/m³群(-11.6%)、5.57 mg/m³群(-10.6%)および49.3 mg/m³群(-9.3%)で認められたが、509 mg/m³群における減少(-7.3%)は統計学的に有意ではなかった。また、臓器の相対重量には、統計学的に有意な変化は認められなかった。肺および精巣の絶対重量にみられた変化については、用量に伴う増加ではなかったことや相対重量の変化および組織学的所見が伴っていないを考慮すると、偶発的に起こったものと考えられた。肉眼的検査では投与に関連した変化は認められなかったが、病理組織学的検査において、鼻腔のレベルII切片(0/1.18、5.57、49.3 および 509 mg/m³群のそれぞれで、0/2/3/5/5匹の雄および0/3/5/5/5匹の雌)、レベルIII切片(0/0/2/4/5匹の雄および0/2/4/5/5匹の雌)およびレベルIV切片(0/0/1/2/5匹の雄および0/2/4/4/5匹の雌)のいくつかの部位で、粘液細胞の過形成の発現率が全投与群で用量依存性に増加したことが示された。この重症度は、用量の増加に伴ってグレード1(軽微)からグレード2(軽度)に増加した。鼻腔の各領域の上皮は規則的で陥入はなく、鼻腔全体に炎症徴候は認められなかった。また、喉頭においても、レベルI切片で(軽微な)類扁平上皮化生の発現率が用量依

存性に増加することが示された (0、1.18、5.57、49.3 および 509 mg/m³ 群のそれぞれで、0/1/3/4/5 匹の雄および 0/1/3/5/4 匹の雌)。鼻腔および喉頭にみられた影響は適応反応であるとも考えられるが、本質的には有害影響である。

結論

最高曝露濃度であった 509 mg/m³ まで、神経毒性などの全身的影響は認められなかった。したがって、この試験における全身的影響に関する NOAEC は、試験を行った最高濃度の 509 mg/m³ である。

この試験では、最低曝露濃度であった 1.18 mg/m³ においても、上部気道に有害な局所的影響が認められたため、この影響に関する NOAEC を確定することができない。したがって、この試験においては、上部気道への局所的影響に関する LOAEC が 1.18 mg/m³ である (Gamer et al., 2000)。

備考

この試験で用いられた曝露濃度は、報告が得られている経口投与試験、吸入試験および疫学調査における (無) 影響量を考慮し、適切に選択されたものである。

雄ラット (1 群 15 匹、体重 115~130 g、系統は不明) を用い、0、0.098、0.256 および 0.98 mg/m³ の濃度の DBP に 1 日 24 時間曝露した 93 日間吸入試験では、いかなる毒性徴候も観察されず、成長に異常は認められなかった。著者らは、1.0 mg/m³ 群および 0.25 mg/m³ 群で白血球数の減少および γ グロブリンの上昇が認められたと報告しているが、これらのパラメータの測定結果は図で示されており、これらの図から変化の統計学的有意差についての明確な結論を導くことはできない。さらに、臓器重量の測定ならびに肉眼的検査または顕微鏡的検査の実施の有無についても記述がなかった (Men'shikova, 1971)。

Wistar 雄ラット (1 群 11~14 匹、体重 76~99 g) を用い、0.5 mg/m³ または 50 mg/m³ の DBP のミストに 1 日 6 時間 (土曜日のみ 3 時間)、週 6 日で 6 ヶ月間曝露した試験では、50 mg/m³ 群で成長の抑制ならびに脳、腎臓、肺および精巣の相対重量の増加 (有意な増加は脳および肺のみ) が認められた。なお、臓器の絶対重量については示されていない。血液学的検査では、両用量群ともにリンパ球の減少および好中球の増加が認められたが、用量相関性はみられなかった。生化学的パラメータの変化 (ALAT、ASAT、SAP 活性の軽度の上昇、血糖値の上昇、血清コレステロール値の低下およびトリグリセリド値の上昇) が、検査の各時点および両用量群で不規則に認められ、明確な用量相関性はみられなかった。

血液学的パラメータおよび生化学的パラメータの変化は図で示されているが、これらの図から統計学的有意差についての明確な結論を導くことはできない。肉眼的検査または顕微鏡的検査は、実施されなかった。この試験における NOAEL は、 0.5 mg/m^3 である (Kawano, 1980a)。

ヒトにおける試験

人工皮革の製造に従事し、フタル酸エステル〔主として DBP およびこれより高次のフタル酸エステル(フタル酸ジアルキル(DAP)-789)であったが、少量のアジピン酸エステルおよびセバシン酸エステルならびにリン酸トリクレジルも含まれていた〕に慢性的に曝露されていた作業員 147 人中 47 人が、多発性神経炎を発症した。これらの患者の大部分は、長期曝露を受けた者であった。このうち 22 人の作業員で神経系の機能障害が認められたことが報告されている。感覚機能検査では、前庭および嗅覚受容器の興奮性、ならびに皮膚感覚の早期の低下が認められた。なお、この作業場における可塑剤の蒸気またはエアロゾルの環境濃度は、 $1.7\sim 60 \text{ mg/m}^3$ であった。また、非曝露対照群を設けることはできなかった (Milkov et al., 1973)。

DBP を含めたフタル酸エステルの製造に携わる男性作業員を対象とした、神経症状に関する横断調査が実施された (Gilioli et al., 1978)。この調査の対象は、フタル酸エステルに曝露されていた作業員 23 人、無水フタル酸への曝露を受けていた者 6 人およびアルコールに曝露されていた者 9 人であった。フタル酸エステルの平均濃度は $1\sim 5 \text{ mg/m}^3$ 、ピーク濃度は最高 61 mg/m^3 であった。フタル酸エステル作業員の神経学的検査の結果、23 人中 12 人に多発性神経障害が確認された。また、23 人中 7 人に、痛みを伴う皮膚感覚の低下または手足の感覚の低下が両側性に認められ、3 人には振動感覚の低下が認められた。アルコール曝露群では 9 人中 2 人に感覚神経障害が、無水フタル酸曝露群では 6 人中 1 人に反射低下が認められた(要約のみ入手可)。

結論

報告されている 4 件の吸入試験のうち、試験期間が 5 日間、93 日間および 6 ヶ月間であった 3 件は、試験デザインが限定的なものであり、リスク評価に用いるには適さない。

4 件目の現行標準法に従って実施されたラットにおける 28 日間吸入試験では、最高曝露濃度であった 509 mg/m^3 まで、神経毒性影響を含む全身的影響は認められなかった。すべての曝露濃度 ($1.18, 5.57, 49.3$ および 509 mg/m^3) で、上部気道に有害な局所的(病理組織学的)影響がみられたが、炎症の徴候は認められなかった。また、最高曝露濃度であった 509 mg/m^3

群で、最長で第 13～27 日までの間に、1 日の曝露終了後に鼻吻部に赤色痂皮形成(18 時間以内に回復)が、10 匹中最高 4 匹で認められた。したがって、この試験では、 509 mg/m^3 (試験を行った最高濃度)が、神経毒性などの全身的影響に関する NOAEC であると結論される。また、最低曝露濃度であった 1.18 mg/m^3 が、上部気道への局所的影響に関する LOAEC である。

職業的曝露を受けた被験者における神経症状に関する疫学調査では、適切な対照群が設けられなかったこと、曝露集団が小さかったこと、プロトコルおよび結果の適切な記述がなされなかったこと、および DBP 以外の化合物との混合曝露であったことなど、不十分な点がいくつか認められた。したがって、これらの調査に基づいて、作業環境中でのヒトにおける DBP の神経毒性影響を評価することはできない。

4.1.2.6.4 反復投与毒性についての結論

現行の標準法に従って実施されたラットにおける 3 ヶ月間混餌投与試験の結果から、経口 NOAEL は 152 mg/kg bw であると考えられる。ペルオキシソーム増殖に関する NOAEL については、この影響を検討するために行われた試験において 19.9 mg/kg bw であることが示されたが、ヒトにおいては、この影響に対する感受性が相対的に低いことに留意が必要である。

反復経皮曝露に関しては、報告されている試験データは、NOAEL を確定するには不十分である。

反復吸入曝露に関しては、現行の標準法に従って実施されたラットにおける 28 日間吸入試験の結果に基づき、神経毒性などの全身的影響に関する NOAEC は 509 mg/m^3 (試験を行った最高濃度)と確定できる。また、同じ 28 日間吸入試験の結果から、反復吸入曝露による局所的影響に関する LOAEC は、 1.18 mg/m^3 であると考えられる。

4.1.2.7 変異原性

報告されている変異原性試験の概要を **Table 4.12** に示す。

Table 4.12 Summary of mutagenicity tests

Genetic toxicity	Species	Protocol	Results
<i>in vitro</i> studies:			
Bacterial test (gene-mutation)	<i>S. typhimurium</i> (4 strains)	other: Ames et al. (1975)	negative - and + S9 of rats and hamsters (Zeiger et al., 1985)
Bacterial test (gene-mutation)	<i>S. typhimurium</i> (4 strains)	other: Ames et al. (1975)	equivocal- S9 in TA100, + S9 negative. In all other strains - and + S9 negative (Agarwal et al., 1985)
Bacterial test (gene-mutation)	<i>S. typhimurium</i> (4 strains)	other: Ames et al. (1975)	negative - and + S9. One dose-level. Precipitation occurred (Florin et al., 1979) **
Bacterial test (gene-mutation)	<i>S. typhimurium</i> (TA100)	liquid suspension assay	positive - S9 (weak increases (<2x) at cytotoxic doses); + S9 negative (Seed, 1982)*
Bacterial test (gene-mutation)	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100)	modified Ames acc. to Batzinger et al. (1978)	negative - and + S9 up to 1 mg/pl (Kozumbo et al., 1982) **
Bacterial test (gene-mutation)	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100)	unknown	negative + S9. Not tested - S9. One dose-level of 10 mg/pl (Kurata, 1975) **
Bacterial test (gene-mutation)	<i>Escherichia coli</i> (uvrA-)	unknown	negative - S9. Not tested + S9. One dose-level of 10 mg/pl (Kurata, 1975) **
Yeast assay (gene-mutation)	<i>S. cerevisiae</i> (XV 185-14C)	unknown	negative - and + S9. Doses 10, 20 and 100 ul/ml (Shahin and von Borstel, 1977; Zimmermann et al., 1984)
Mouse lymphoma assay (gene-mutation)	L5178Y TK+/-	Clive and Spector, (1975)	negative - S9; positive + S9 (Hazleton, 1986)
Mouse lymphoma assay (gene-mutation)	L5178 TK+/-	Myhr et al. (1985)	positive - S9; not tested + S9 (NTP, 1995)
Cytogenetic assay (chromosomal aberrations)	CHL cells	unknown	negative - S9; not tested + S9 (Ishidate and Odashima, 1977) *
Cytogenetic assay (chrom. aberrations and SCE's)	Chin. hamster ovary cells	unknown	negative for chrom. aberr. - S9. Marginally positive for SCE'S - S9 (<2x increase). Not tested + S9 (Abe and Sasaki, 1977) *
Cytogenetic assay (chromosomal aberrations)	human leucocytes	unknown	negative. No data on metabolic activation. Only summary (Tsuchiya and Hallori, 1977) **
Bacterial test (indirect DNA-repair)	<i>Escherichia coli</i> (pol A-, rec A-)	unknown	negative - S9; not tested + S9. One dose-level of 10 mg/pl (Kurata, 1975) **
Bacterial test (indirect DNA-repair)	<i>Bacillus subtilis</i> (rec A-)	unknown	negative - S9; not tested + S9. One dose-level of 10 mg/pl (Kurata, 1975) **
Cell transformation assay	BALB/3T3 cells	unknown	negative - S9; not tested + S9 (Litton Bionetics, 1985) *

Table 4.12 continued overleaf

Table 4.12 continued Summary of mutagenicity tests

Genetic toxicity	Species	Protocol	Results
<i>in vivo</i> studies:			
SLRL test in <i>Drosophila</i> (gene-mutations)	<i>Drosophila melanogaster</i>	injection (no details)	negative at injection of 0.5 g DBP/kg bw Only summary (Izmerov et al., 1982) **
Micronucleus assay (chromosomal aberrations)	NMRI mice	OECD 474	negative (BASF, 1990d)
Micronucleus assay (chromosomal aberrations)	B6C3F1 mice 0, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0% in diet for 13 wks.	other see HEDSET	negative (NTP, 1995)

* Tests are not performed adequately but may contribute to the end-evaluation of genetic toxicity of DBP

** Tests cannot be used for end evaluation due to lack of documentation and will not be discussed below

Ames et al. (1975)の方法による、細菌を用いた試験が2件行われている。4菌株のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) が用いられ、様々な用量設定で実施された。これらのうち1件の試験では、ラットおよびハムスターの肝 S9mix の存在下および非存在下で 100~10,000 µg/plate の用量で試験を行い、陰性の結果を得ている (Zeiger et al., 1985)。もう1件の試験では、100~2,000 µg/plate の用量が検討された。この結果、TA100株で、S9の非存在下で復帰変異率が増加し、100 µg/plate の用量で最大の増加(3.5倍) (著者らによると有意な増加であった) が認められ、200 µg/plate では2倍未満の増加、これより高用量ではわずかな増加傾向がみられた。TA1535株では、S9の非存在下において、上位2つの高用量で非常に軽度の増加が認められた。代謝活性化の存在下およびその他の株においては、変異原性は認められなかった (Agarwal et al., 1985)。

TA100株のみについて、懸濁液試験が、S9の存在下および非存在下で 0.045, 0.09 および 0.18 mM/plate (約 12.5, 24 および 50 mg/plate) の濃度で実施された。この結果、S9の非存在下で、細胞毒性が認められた 0.09 mM および 0.18 mM の用量において、変異原性のわずかな増加(2倍未満)がみられた。S9存在下では、変異原性の増加は認められなかった (Seed, 1982)。

酵母細胞を用いた試験が GLP 条件下で実施され、代謝活性化の存在下および非存在下のいずれにおいても陰性結果が示された (Shahin and von Borstel, 1977; Zimmerman et al., 1984)。

適切に実施されたマウスリンフォーマ試験では、12.5~150 nL/mL の用量で、DBP の変異原性が検討された。この結果、DBP は、代謝活性化系の存在下で遺伝子突然変異を誘発したが、代謝活性化の非存在下では陰性の結果を得た (Hazleton, 1986)。また、代謝活性化の非存在下のみで実施された別のマウスリンフォーマ試験では、46 µg/mL 以上の用量で突然変異頻度が統計学的に有意に増加し、これに伴い細胞生存率の著しい減少が認められた (NTP,

1995)。

In vitro における染色体異常試験では、いずれも陰性結果が示された。これらの試験は GLP 条件下で実施されたものではなく、CHL 細胞および CHO 細胞を用いて、それぞれ最高用量 31 µg/mL および 0.28~287µg/mL で、代謝活性化の非存在下のみで行われた (Abe and Sasaki, 1977; Ishidate and Odashima, 1977)。CHO 細胞における試験では、わずかではあるが統計学的に有意な姉妹染色分体交換 (SCE) 頻度の増加 (2 倍未満) が、3 用量のすべてで認められたが、用量相関性はみられなかった (Abe and Sasaki, 1977)。

BALB/3T3 細胞では細胞形質転換は誘導されなかったことが報告されているが、この試験は GLP 条件下では行われておらず、代謝活性化の非存在下のみで実施されたものであった (Litton Bionetics, 1985)。

OECD ガイドライン 474 に準拠して適切に実施された、マウスを用いた小核試験では、陰性結果が示された (BASF, 1990d)。DBP を 13 週間混餌投与 (163~4278 mg/kg bw に相当する用量) したマウスの末梢血試料の分析において、小核形成の増加は認められなかった (NTP, 1995)。

In vitro では DBP と DNA との相互作用がみられたが、¹⁴C-DBP を経口投与したマウスでは肝臓 DNA への結合は認められなかった (要約のみ入手可) (Okada and Tamesama, 1978)。

変異原性についての結論

細菌を用いて遺伝子突然変異を検出した試験のうち、1 件の試験では、試験を行った 4 株のすべてで代謝活性化の存在下および非存在下で陰性の結果が示された。その他の 2 件の試験では、TA100 株のみで代謝活性化の非存在下で、それぞれ疑陽性および陽性の結果を得た。なお、陽性影響は軽度であり、細胞毒性用量において認められた。

酵母細胞における遺伝子突然変異試験では、陰性の結果が示された。

代謝活性化の非存在下のみで実施されたマウスリンフォーマ試験では、強い細胞毒性を示す濃度で遺伝子突然変異が誘発された。マウスリンフォーマ細胞を用いて適切に実施された遺伝子突然変異試験では、代謝活性化の非存在下では陰性であったが、代謝活性化の存在下で陽性影響が認められた。同試験 (Hazleton, 1986) においてフタル酸ジエチルは陰性を示したが、構造-活性相関を考慮すると、アルキル鎖長が短くなるほど変異原性が増加する可能性が考えられる。また、同試験では、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ジイソノニルおよびフタル酸ジイソデシルにおいても陰性結果が示さ

れた。

哺乳類細胞では染色体異常は認められなかったことが報告されているが、これらの試験は代謝活性化の非存在下でのみ実施されたものであった。このうち 1 件の試験では、SCE の誘発についても検討が行われており、わずかではあるが統計学的に有意な SCE 頻度の増加 (2 倍未満) が 3 用量のすべてで認められたが、用量相関性はみられなかった。

現行の標準法に従って実施された小核試験の結果は、陰性であった。また、DBP を 13 週間混餌投与したマウスにおいても、小核形成の誘導は認められなかった。

最後に、*in vitro* 試験では、1 件の試験において DBP の遺伝毒性作用が示唆されたが、同試験において、他のフタル酸ジアルキル(特に、フタル酸ジエチル)にはこの効果は認められなかった。また、*in vivo* における染色体異常試験では、DBP の遺伝子毒性は認められなかった。

上述の種々の遺伝毒性試験から得られた DBP に関するデータに基づき、また、他のフタル酸エステルには遺伝毒性がないことを考慮すると、DBP は遺伝毒性物質ではないと考えられる。

上記のデータによると、本物質については EC 基準に従って分類を行う必要はない。

4.1.2.8 がん原性

動物における試験

実験動物を用いて適切に実施された DBP の長期がん原性試験の報告は得られていない。

フタル酸エステルは、マウスおよびラットの肝臓におけるペルオキシソーム増殖を誘発することが知られている。一般に、短鎖のフタル酸ジアルキルよりも長鎖のものの方がペルオキシソーム増殖を強く誘発し、直鎖型よりも分岐鎖フタル酸エステルでより強い影響が認められることが報告されている (Barber et al., 1987)。

ペルオキシソーム増殖には、複製 DNA 合成および肝増殖が伴う。多くのペルオキシソーム増殖因子において、マウスやラットに高用量を長期間投与した場合に、遺伝子毒性が認められないにもかかわらず、肝細胞腫瘍が誘発されることが示されている。ペルオキシソーム増殖因子によりがんが誘発されるメカニズムは複雑であり、閾値を有し、以下のものが含まれると考えられる。

- 酸化ストレスおよびこれによる間接的な DNA 損傷
- 自然発生した前がん病変の進行
- 持続的な増殖刺激

腫瘍の進展においては、これらのメカニズムは相反するものではなく、互いに協調していると考えられる。

ペルオキシソーム増殖を誘発する化学物質に対する感受性には、著しい動物種差のあることが、種々の独立した試験により示されている。ラットおよびマウスは非常に感受性が高く、ハムスターではこれより弱い反応がみられるが、モルモット、霊長類およびヒトは非感受性または非反応性である (ECETOC, 1992)。

ヒトにおける試験

ヒトにおけるデータは得られていない。

がん原性についての結論

動物においてもヒトにおいても、適切な長期毒性試験やがん原性試験の報告は得られていない。

4.1.2.9 生殖毒性

4.1.2.9.1 動物における試験

信頼し得る生殖毒性試験および発生毒性/催奇形性試験の概要を **Tabel 4.13** に示す。

EURAR V29: DIBUTYL PHTHALATE

Table 4.13 Summary of reproduction and developmental studies in animal

Species	Protocol	Results
Reproduction (oral studies)		
mouse	continuous breeding protocol (one generation) 0, 0.03, 0.3 and 1.0% in diet (-0, 40, 420 and 1,410 mg/kg bw)	115 d (including 7 d premating and 98 d during cohabitation) NOAEL for embryotoxicity and parental toxicity is 0.3% in diet (~420 mg/kg bw (Lamb et al., 1987; Morissey et al., 1989)
rat	continuous breeding protocol (two generations) 0, 0.1, 0.5 and 1.0% in diet (- 0, 52, 256 and 509 mg/kg bw for males and 0, 80, 385 and 794 mg/kg bw for females).	119 d (including 7 d premating and 112 d during cohabitation). 0.1% in diet (52 mg/kg bw for males; 80 mg/kg bw for females) is the LOAEL for embryotoxicity. The NOAEL for maternal toxicity is 0.5% in the diet (385 mg/kg bw) (NTP, 1995; Wine et al., 1997)
rat	other; 0, 120 and 600 mg/kg bw 3 mos exposure followed by a 7d mating period	NOAEL 600 mg/kg bw for maternal toxicity and embryotoxicity (Nikoronow et al., 1973)
rat	other; 0, 5, 50 and 500 mg/kg bw via the diet to male rats only, 60 days before mating up to weaning of F1 pups	NOAEL 500 mg/kg bw with respect to fertility of male rats and embryotoxicity (IRDC, 1984)
rat	other; 0, 5, 50 and 500 mg/kg bw via the diet to female rats only, 14 days prior to mating up to weaning of F1 pups. F1 pups fed 7 weeks post-weaning	NOAEL for maternal toxicity, female fertility and embryotoxicity is 50 mg/kg bw (IRDC, 1984)
rat	other; 0, 250, 500 and 1,000 mg/kg bw exposure of P ₀ generation only; two generations were produced	LOAEL 250 mg/kg bw Effects: delayed puberty in males of P ₀ generation, urogenital abnormalities and decreased fertility of F ₁ males and females (Gray et al., 1999)
Developmental toxicity (oral studies)		
mouse	other: 0, 0.005, 0.05 or 0.5% in diet (based upon food intake 0.05 and 0.5% were calculated to be 100 and 400 mg/kg bw) day 1-18 of gestation	NOAEL 0.05% in diet (100 mg/kg bw) for maternal as well as embryotoxicity and teratogenicity (Hamano et al., 1977)
mouse	other: 0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 1.0% in diet (~80, 180, 350, 660 and 2,100 mg/kg bw) day 1-18 of gestation	NOAEL for embryotoxicity is 0.2% (~350 mg/kg bw); NOAEL for maternal toxicity and teratogenicity is 0.4% (~660 mg/kg bw) (Shiota et al., 1980)
rat	other; 500, 630, 750, 1,000 mg/kg bw day 7-15 of gestation	NOAEL 500 mg/kg bw for teratogenicity. 500 mg/kg b.w is a LOAEL for maternal and embryo-toxicity (Ema et al., 1993)
rat	other; 0, 0.5, 1.0 or 2.0% in the diet (~331, 555 and 661 mg/kg bw) from day 11-21 of gestation	NOAEL 0.5% in diet (~331 mg/kg bw). Critical effect: undescended testes, decreased anogenital distance in male progeny (Ema et al., 1998)
rat	other: 0, 120 and 600 mg/kg bw day 1-21 of gestation	NOAEL 120 mg/kg bw for embryotoxicity (Nikoronow et al., 1973)
rat	other: 0, 250, 500 and 750 mg/kg bw from day 3 of gestation throughout gestation and lactation. Pups were allowed to mature.	LOAEL 250 mg/kg bw Critical effect: disturbed development of male reproductive tract (Mylichreest et al., 1998)
rat	other: 0, 500, 1,000, 1,500 and 2,000 mg/kg bw on day 14 of gestation	NOAEL 500 mg/kg bw. At doses ≥1,000 mg/kg bw higher incidences of skeletal variations. At doses ≥1,500 mg/kg bw increased no. of resorptions and reduced fetal body wts. (Saillenfait et al., 1998)
rat	other; 0, 100, 250 and 500 mg/kg bw from day 12-21 of gestation.	LOAEL 100 mg/kg bw. Critical effect: delayed (2-days) preputial separation (one litter) (Mylichreest et al., 1999)
rat	other: 0, 250, 500 and 1,000 mg/kg bw exposure of P ₀ generation only; two generations were produced	LOAEL 250 mg/kg bw for delayed puberty in males of P ₀ generation, urogenital abnormalities and decreased fertility of F ₁ males and females (Gray et al., 1999)

生殖毒性試験

CD1 マウスを用いた経口投与による生殖試験が、一世代の出産を含める形で連続交配プロトコルに従って実施されている。1 群雌雄各 20 匹の動物に、交配前の 7 日間、飼料中濃度 0、0.03、0.3 および 1.0% (約 0、40、420 および 1,410 mg/kg bw) の DBP を混餌投与した。その後、動物を交配对に振り分け、さらに 98 日間の交配期間中も投与を継続した。雌雄各 40 匹の対照群には、基礎飼料を与えた。98 日間の同居期間終了後に雌雄を分け、最後の出産までの間、かつ少なくとも 21 日間も曝露を継続した。連続交配期間終了時に、対照群および 1% 群の F₀ 動物を用いて、7 日間の交差交配試験を行った。この結果、1.0% 群の F₀ 親動物に、成長の有意な抑制(雄のみ)および肝重量の有意な増加(雌のみ)が認められた。また、同濃度群で、妊娠率、交配对あたりの出産回数、一腹あたりの生存仔数および生存出生仔率の統計学的に有意な減少が認められた。これより低用量では、これらの影響は認められなかった。また、交差交配試験においては、雌で影響が認められ、雄では認められなかった。この交差交配試験では、対照群の雄と 1% 群の雌との交配時に、妊娠率、一腹あたりの生存仔数、生存出生仔率および生存仔体重に、統計学的に有意な減少が認められた。したがって、この試験における親動物に対する毒性および胎仔毒性に関する NOAEL は、飼料中濃度 0.3% (約 420 mg/kg bw) である (Lamb et al., 1987; Morissey et al., 1989)。

Gray et al. (1999) は、LE hooded ラットを用いた多世代試験を実施した。この試験では、P₀ 世代(1 群雌雄各 10~12 匹)のみに対して雄雌両方に、離乳期から春期発動期、性成熟期、交配および哺乳期間を通じて、0、250 または 500 mg/kg bw の DBP を強制経口投与した。また、雄のみで、1,000 mg/kg bw 投与群を設けた。P₀ 動物の交配時には、投与群の動物と非投与対照群の動物を交配させた。F₁ 動物には投与を行わず、春期発動後に動物を選択して(1 群雌雄各 16 匹)、11 繁殖周期にわたり連続交配状況下におき、生殖能力を評価した。

P₀ 世代では、全用量群の雄に春期発動(包皮分離)の遅延が認められた。DBP の投与による、膣開口の早期化や持続的な膣上皮の角化(亜慢性のエストロゲン曝露があることを示す影響)は、認められなかった。500 mg/kg bw 投与群の雌雄および 1,000 mg/kg bw 投与群(雄群のみ設置)で、生殖能力の低下が認められた。雄の不妊は、精巣の萎縮および精子生産能の低下に関連したものであった。一方、500 mg/kg bw 投与群の雌では、発情周期が認められ交配には成功したが、妊娠中期に流産する動物が多くみられた。母動物を介した子宮内曝露および経母乳曝露だけを受けた F₁ 仔動物では、低頻度の精巣上体の欠損、尿道下裂、異所性精巣、腎無形成および子宮の異常(部分的な形成不全または一方の子宮角の着床障害)を含む、泌尿生殖器の奇形や異常が認められた(0、250 および 500 mg/kg bw の DBP が投与された母動物から生まれた F₁ 動物のみのデータによる)。また、投与群の少数例で無眼球症がみられた。さらに、投与群の母動物から生まれた F₁ 雄では、精巣上体尾部における精子数が減少していた。F₁ 仔動物の生殖能力については、同様に投与しながら連続交配状況下

においたところ、F₂ 仔数の有意な減少(出生仔数/妊娠数は 0、250 および 500 mg/kg bw 投与群でそれぞれ 179/24、76/10 および 20/4)といった低下が認められた。したがって、この試験では、最低用量であった 250 mg/kg bw が LOAEL である。

Sprague-Dawley ラットを用いた経口投与による生殖試験が、二世世代の出産を含める形で連続交配プロトコルに従って実施されている。1 群雌雄各 20 匹の動物に、交配前の 7 日間、飼料中濃度 0、0.1、0.5 および 1.0% (雄で 0、52、256 および 509 mg/kg bw、雌で 0、80、385 および 794 mg/kg bw) の DBP を混餌投与した。その後、動物を交配对に振り分け、さらに 112 日間の同居期間中も投与を継続した。雌雄各 40 匹の対照群には、基礎飼料を与えた。112 日間の同居期間終了後に雌雄を分け、最後の出産までの間、かつ少なくとも 21 日間も曝露を継続した。その後、親動物と同じ濃度で F₁ 動物への投与を開始した。連続交配期間終了時に、対照群および 1% 群の F₀ 動物を用いて、7 日間の交差交配試験を行った。この結果、連続交配期間中に、1% 群の F₀ 雌で成長の抑制が認められた。また、全用量群で一腹あたりの生存仔数の合計が、統計学的に有意に減少し、用量相関性が認められた。0.5% 群および 1.0% 群では、生存仔体重が、統計学的に有意に低下した。DBP が雌雄のいずれに影響を及ぼすかを検討するためにデザインされた交差交配試験では、交配、妊娠または受胎率に対する影響は認められなかった。1.0% 群の F₀ 雌で、体重減少ならびに肝臓および腎臓の相対重量の増加が認められた。1.0% 群の F₀ 雄では、肝臓、腎臓および右精巣上体尾部の相対重量の減少が観察された。0.5% 群の F₁ 雄では腎臓重量の統計学的に有意な増加が認められた。精子パラメータ(精子の濃度および運動性、異常精子率または精巣精子細胞数)、性周期および発情周期には、影響はみられなかった。投与群の雌(1.0% 群)から生まれた出生仔の体重には、統計学的に有意な低下が認められた。

連続交配期間中、F₀ 親動物を用いた交差交配試験後、1.0% 群の F₁ 親動物では、F₂ 世代の産出に際し、交配、妊娠および受胎率に統計学的に有意な低下が認められた。F₂ 生存仔の体重は、全用量群で統計学的に有意に低下した(一腹あたりの産仔数で補正後も同様)。1.0% 群の F₁ 雌親動物で、体重および臓器(右卵巣、肝臓、腎臓)の絶対重量の統計学的に有意な低下が認められた。1.0% 群の F₁ 雄親動物では、体重およびすべての生殖器官の相対重量が低下したが、肝臓および腎臓の相対重量には統計学的に有意な増加が認められた。また、1.0% 群で、精巣上体精子数および精巣の精子細胞数が統計学的に有意に減少した。精巣上体の欠損または発育不全が、1.0% 群の F₁ 雄の 12/20 匹で、これより低用量の両群の F₁ 雄のそれぞれ 1/20 匹で認められた。また、1.0% 群の雄 4/20 匹および 0.5% 群の雄 1 匹で、精巣の萎縮が認められた。1.0% 群の雄 3/20 匹では精巣が陰嚢内に下降しておらず、4/20 匹で精嚢の発育不全、4/20 匹で包皮や陰茎の発育不全が認められた。病理組織学的検査では、1.0% 群の F₁ 雄 8/10 匹、および 0.5% 群の F₁ 雄 3/10 匹で精細管の変性が認められた。また、1.0% 群の F₁ 雄 7/10 匹で精巣間質細胞の過形成が認められた。精嚢の病理組織学的検査では、1.0% 群

の F₁ 雄 1/10 匹で、濃厚な分泌物を伴う精囊炎が認められた。いずれの用量群においても、F₁ 雌の性周期または発情周期の長さには、影響は認められなかった。

この試験の結果から、DBP は、成熟ラットや成長期のラットが曝露を受けた場合、生殖毒性を示すと考えられた。また、第二世代で、第一世代に比べより強い影響が認められた。この試験では、最低用量であった飼料中濃度 0.1% (雄で 52 mg/kg bw、雌で 80 mg/kg bw) が胎仔毒性の LOAEL であり、母体毒性の NOAEL は飼料中濃度 0.5% (385 mg/kg bw) である (NTP, 1995; Wine et al., 1997)。

Wistar 雌ラットを用いて、受胎能に関する試験が行われている。交配前の 3 ヶ月間、0、120 または 600 mg/kg bw の DBP で動物を曝露し、その後 7 日間の交配期間を設けた。妊娠ラットは、妊娠 21 日に屠殺した。この試験は、ガイドラインに準拠しておらず、GLP 条件下で実施されたものではなく、十分な情報が示されていない。試験の結果、母体毒性または胎仔毒性は認められなかったことから、この限定的な試験における胎仔毒性および母体毒性に関する NOAEL は、600 mg/kg bw とされる (Nikoronow et al., 1973)。

Charles River COBS CD ラットを用いて、受胎能に関する試験が、GLP 条件下で実施されている。雄または雌ラットを、それぞれ交配の 60 日前および 14 日前から、交配、妊娠および哺育期間を通じて DBP に曝露した。雌だけに曝露を行った試験では、全試験群から F₁ 離乳仔を選択し、離乳後 7 週間にわたり対照飼料または母動物と同じ飼料を与えた (IRDC, 1984)。

雄においては、この受胎能に関する試験では、生存率、外観、行動、体重、血液学的所見および生殖能に対する影響は認められなかった。投与群の雄の臓器重量については、500 mg/kg bw 投与群で、肝臓および腎臓の相対重量および絶対重量の両方において、統計学的に有意な増加が認められた。腎臓相対重量の統計学的に有意な増加は、50 mg/kg bw 投与群および 5 mg/kg bw 投与群の雄でも認められたが、これらの群における増加は高用量群ほど顕著ではなく、用量相関性はなかった。腎臓の病理組織学的検査では、異常は認められなかった。これに加え、適切に実施されたラットにおける 3 ヶ月間試験において、350 mg/kg bw 以上の用量群のみで、腎重量の増加が認められたことが報告されている。したがって、この雄における受胎能に関する試験で観察された 50 mg/kg bw 投与群および 5 mg/kg bw 投与群での腎重量の増加は、生物学的に重要な所見ではないと考えられる。繁殖成績、出産、新生仔生存率、新生仔の発育、臓器重量および哺乳時の病理組織学的所見には、異常が認められなかった。したがって、この試験における雄の生殖能および胎仔毒性に対する NOAEL は、試験を行った最高用量の 500 mg/kg bw である (IRDC, 1984)。

雌においては、この受胎能に関する試験では、生存率、外観、行動、血液学的所見または

生殖能に対して、投与による影響は認められなかった。500 mg/kg bw 投与群で、交配前、妊娠の全期間および授乳期間中に、雌ラットの成長がわずかに抑制され、第7、9および11週には統計学的に有意な抑制が認められた。50 mg/kg bw 投与群においても、妊娠の全期間を通じ体重増加の抑制がみられたが、高用量群ほど顕著ではなかった。投与群の雌の臓器重量については、500 mg/kg bw 投与群で、腎臓の相対重量に統計学的に有意な増加が認められた。病理組織学的検査では、異常は認められなかった。繁殖成績、出産および新生仔生存率には異常が認められなかった。500 mg/kg bw 投与群で、仔動物の出生時体重の低下および哺乳期間を通じた発育抑制が認められた。離乳仔の臓器重量および病理組織学的所見には、異常は認められなかった。7週間の離乳後観察期間中も、投与継続の有無によらず全用量群で体重減少が認められ、時に統計学的有意差に達することもあったが、用量相関性は認められなかった。7週間の離乳後観察期間の後に行った臓器重量測定では、500 mg/kg bw を混餌投与された離乳仔で精巣重量のわずかな減少がみられた。このときの病理組織学的検査では、同群の離乳仔の6/10匹に、精巣病変(片側性の軽度の肉芽腫2例、片側性の重度の変性1例、両側性の中等度の変性1例、両側性の軽微な変性2例)が認められた。また、500 mg/kg bw を混餌投与した母動物から生まれ、離乳後7週間は対照飼料を与えられた離乳仔群でも、2/9匹に精巣病変(片側性の軽微な変性1例、片側性の重度の変性1例)が認められた。したがって、この試験では、母体毒性および胎仔毒性のNOAELは50 mg/kg bw である(IRDC, 1984)。

生殖毒性試験についての結論

飼料中濃度1%(1,410 mg/kg bw に相当)を最高用量とした一世代試験では、いずれの用量においても雄マウスの生殖能に影響は認められなかったが、雌では、最高用量で生殖能への明らかな影響が認められた。また、同用量で、胎仔毒性も認められた。このマウスにおける試験でのNOAELは、母動物の生殖能への影響および胎仔毒性に基づき、飼料中濃度0.3%(420 mg/kg bw に相当)である。

ラットの生殖毒性試験に関して得られているデータからは、雌のみに曝露を行った一世代繁殖毒性試験で、胎仔毒性に基づき、50 mg/kg bw というNOAELが得られている。また、同試験プロトコルにより雄のみに曝露を行った試験では、500 mg/kg bw というNOAELが得られている。

しかし、連続交配プロトコルに従って実施し、雌雄ともに曝露を行ったラットの二世代繁殖毒性試験では、最低用量であった飼料中濃度0.1%(雄で52 mg/kg bw、雌で80 mg/kg bw)が胎仔毒性に関するLOAELであると考えられた(NTP, 1995; Wine et al., 1997)。ただし、52

mg/kg bw⁵(飼料中濃度 0.1%)というLOAEL値が得られた試験は、NOAELが 50 mg/kg bwであった試験に比べ、より感度の高い評価項目(精子パラメータ、発情周期、精巢の詳細な病理組織学的所見など)を用いた、より詳細な試験であったことに注意が必要である(Foster, 1997)。Foster(1997)によると、その連続交配試験のプロトコルにより、化合物が内分泌活性を有するか否かを的確に判断できるとされている。

結論として、連続交配プロトコルによるラットの二世世代繁殖毒性試験では、最低用量であった 52 mg/kg bw で仔動物の体重および一腹あたりの生存仔数に影響が認められ、このとき母体毒性は認められなかった。その他に入手し得た、ラットにおける生殖毒性試験では、250 mg/kg bw 以上の用量で生殖能への影響および胎仔毒性が認められた。

なお、DBP への経皮曝露または吸入曝露による生殖毒性試験や受胎能に関する試験についての情報は、得られていない。

発生毒性試験

マウスおよびラットを用いた発生毒性試験が報告されているが、ガイドラインに準拠して実施された試験はなく、GLP 条件に関するデータは得られていない。

Hamano et al.(1977)が行った試験では、マウス(ICR-JCL系)に妊娠1日～18日に投与が行われ、最低用量は、飼料中濃度 0.005%であった。その上の高用量群は、飼料中濃度 0.05%および 0.5%(100 mg/kg bw および 400 mg/kg bw に相当)であった。この結果、いずれの投与群においても、自然流産数および生存仔を出産したマウスの数に、対照群との差は認められなかった。0.5%群で、母体毒性(腎重量の増加)および胎仔毒性(生存仔数の減少)が認められた。加えて、0.5%群では、外表異常(眼瞼閉鎖不全、脳ヘルニア、口蓋裂、二分脊椎)の発生率に統計学的に有意な高値が認められ、催奇形性が示された。また、この用量では、骨格(特に胸骨)の異常の発生率にも増加(統計学的には有意ではない)が認められた。骨化率は、いずれの投与群においても正常であった。したがって、この試験における母体毒性、催奇形性および胎仔毒性に関する NOAEL は、飼料中濃度 0.05% (100 mg/kg bw に相当)であ

⁵ EUの毒性・環境毒性・環境に関する科学委員会(Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment; CSTEE)の評価との整合性を図るため、LOAEL値として52 mg/kg bwという値を選択した。CSTEEは、柔らかいPVC製玩具および育児用品からのフタル酸エステルの移行についての見解を求められた際、二世世代繁殖毒性試験で得られた飼料中濃度 0.1%という値が最も重要なLOAELであると判断し、DBPのLOAELを52 mg/kg bwに確定した(CSTEE, 1998)。しかし、観察された胎仔毒性は、父動物に投与したときよりも母動物に投与した場合に発現する可能性が高いことから、実際には、飼料中濃度1%というLOAELは52 mg/kg bwではなく80 mg/kg bwに相当すると考えられる。安全域(MOS)の解釈に際しては、この点が考慮される。

る(要約のみ入手可)。

Shiota et al. (1980)が行った試験では、マウス (ICL-ICR 系)を用い、妊娠 1 日～18 日に 0.05、0.1、0.2、0.4 または 1.0% (約 80、180、350、660 および 2,100 mg/kg bw) の DBP が混餌投与された。この結果、1.0%群で、母動物の成長が統計学的に有意に抑制された。また、胎仔死亡率および吸収胚数の増加が 0.1%以上の群で認められたが、統計学的に有意な増加を示したのは 1.0%群のみであり、用量相関性はなかった。黄体数および着床数は、正常であった。胎仔体重の減少が全投与群で認められたが、統計学的に有意であったのは 1.0%群および 0.4%群のみであった。また、全投与群で、骨格変異の発生率が増加し(腰肋)、統計学的に有意な骨化遅延(骨化した尾骨数の減少を指標とした)が認められた。低用量の 3 群で胎児体重への影響、全用量群で骨格変異の発生率への影響が認められたが、これは対照群の一腹仔数が少なかったためであると考えられる。この試験では、1.0%群において、不十分ではあるが催奇形性を示す証拠が得られた。この用量における生存胎仔はわずかに雄 2 匹、雌 1 匹であったが、これらの生存胎仔 3 匹中 2 匹に脳ヘルニアが認められた。したがって、胎仔毒性に関しては、NOAEL は飼料中濃度 0.2% (約 350 mg/kg bw) である。また、母体毒性および催奇形性については、飼料中濃度 0.4% (約 660 mg/kg bw) が NOAEL である。なお、この試験では、評価対象とされた腹数が少なく、試験の記述も不十分であったことに留意が必要である。

Wistar ラットを用いた発生毒性試験では、妊娠 7 日～15 日に 500、630、750 または 1,000 mg/kg bw の DBP が強制経口投与された。用量依存的に、顔面被毛の赤褐色の汚れおよび立毛のみられた動物数が増加した。1,000 mg/kg bw 投与群では、母動物の死亡例 (2/11) が認められた。母動物の体重増加は全投与群で用量依存性に抑制され、630 mg/kg bw 以上の用量で有意差が認められた。摂餌量の統計学的に有意な減少が、妊娠期間中 750 mg/kg bw 投与群および 1,000 mg/kg bw 投与群で認められた。一腹あたりの着床数には異常が認められなかったが、1,000 mg/kg bw 投与群の全個体および 750 mg/kg bw 投与群の 10/12 匹で、全着床胚吸収が認められた。630 mg/kg bw 投与群および 500 mg/kg bw 投与群では、それぞれ 2/12 腹および 2/11 腹が、完全に吸収された。対照群では、胚吸収は認められなかった。630 mg/kg bw 以上の用量群では、一腹あたりの吸収胚数および死亡胎仔数ならびに一腹あたりの着床後胚損失率の統計学的に有意な増加、および一腹あたりの生存胎仔数の統計学的に有意な減少が認められた。500 mg/kg bw 投与群においても、吸収胚数、死亡胎仔数および着床後胚損失率の増加傾向がみられ、また一腹あたりの生存胎仔数には減少傾向がみられたが、いずれも統計学的に有意ではなかった。胎仔体重については、750 mg/kg bw 投与群および 630 mg/kg bw 投与群で統計学的に有意な減少が認められ、500 mg/kg bw 投与群で減少傾向がみられたが統計学的に有意ではなかった。外表奇形の発生率は、630 mg/kg bw 投与群および 750 mg/kg bw 投与群で増加を示し、750 mg/kg bw 投与群では有意差が認められた。最も多くみられた

奇形は、口蓋裂であった。骨格奇形のある胎仔の発生数は、630 mg/kg bw 投与群で高かったが、統計学的に有意ではなかった(主として胸骨分節および頸椎弓の癒合)。750 mg/kg bw 投与群では、骨格検査を実施できる胎仔が少なすぎたため、十分な評価が行えなかった。したがって、この試験における母体毒性および胎仔毒性に関する LOAEL は 500 mg/kg bw であり、催奇形性については、500 mg/kg bw が NOAEL である(Ema et al., 1993)。

Ema et al.(1994)はこの追跡試験として、Wistar ラットを用いて、妊娠 7~9 日、1 日~12 日または 13~15 日に、750、1,000 または 1,500 mg/kg bw の DBP を経口投与(強制)した。この試験では、妊娠 20 日に母動物を屠殺した。着床後胚損失率は、いずれの投与期間においても、1,500 mg/kg bw 投与群では 100%であり、750 mg/kg bw 投与群および 1,000 mg/kg bw 投与群で統計学的に有意な増加が認められた。妊娠 10~12 日の投与では、催奇形性は認められなかった。7~9 日の投与では、750 mg/kg bw 投与群および 1,000 mg/kg bw 投与群で骨格奇形(頸部および胸部の脊柱ならびに肋骨の奇形)の発生数が有意に増加したが、外表奇形も内部奇形も認められなかった。13 日~15 日の投与では、750 mg/kg bw 投与群および 1,000 mg/kg bw 投与群で、胎仔における、外表奇形および骨格奇形(口蓋裂、胸骨分節癒合など)の発生率が有意に増加した。奇形の発生頻度には、用量相関性がみられた。

Ema et al.(1997b)は、妊娠 Wistar ラットを用いた試験で、妊娠 0 日~11 日に飼料中濃度 2% (約 895 mg/kg bw) の DBP を混餌投与した結果、9/10 腹に全胚吸収がみられたことを報告している。また、この試験では、雌個体あたりの着床後胚損失率が 98.7%であり、母動物の体重増加および摂餌量に有意な減少が認められた。

Ema et al.(1997a)はまた、ラットにおける骨格奇形および外表奇形の臨界期を特定する目的で、一連の試験を行った。妊娠 6~16 日のいずれか 1 日に、オリーブ油を媒体とした DBP を 1,500 mg/kg bw の用量で単回経口投与し、妊娠 20 日に母動物を屠殺した。この試験では、母動物に死亡例はなかった。投与直後 2 日間、母動物の体重増加には、有意な減少が認められた。また、妊娠 6~13 日のいずれか 1 日に DBP を投与した母動物で、妊娠 0~20 日を通じての体重増加が有意に減少した。妊娠 16 日に DBP を投与した母動物で、体重の正味増加量(体重 - 妊娠子宮重量)および摂餌量の有意な減少が認められた。妊娠 7 および 11 日を除く妊娠 6~16 日のいずれか 1 日の投与では、着床後胚損失率が有意に増加した。また、胎仔体重の減少が、妊娠 6、7、8、9、10(雌の胎仔のみ)、11 または 15 日での母親への投与の場合にみられたが、妊娠 12、13、14 または 16 日での投与の場合にはみられなかった。骨格奇形を有する胎仔、骨格奇形と内部奇形を有する胎仔、および外表奇形と骨格奇形を有する胎仔の発生率の有意な増加が、それぞれ 8 日、9 日および 15 日での投与の場合に認められた。頸椎の奇形は 8 日での投与の場合に頻発し、頸椎、胸椎および肋骨の奇形ならびに腎盂拡張が、主として 9 日での投与の場合にみられた。また、口蓋裂および胸骨分節癒合は、15 日での投与の場合にのみ認められた。

Sallenfait et al. (1998)が行った試験では、妊娠 Sprague-Dawley ラットを用い、妊娠 14 日に 0、500、1,000、1,500 または 2,000 mg/kg bw の DBP を単回経口投与し、妊娠 21 日に母動物を屠殺した。この結果、1,500 mg/kg bw 投与群および 2,000 mg/kg bw 投与群で、母動物の体重増加および妊娠子宮重量が統計学的に有意に減少し、胚吸収率の増加および胎仔体重の減少が認められた。また、2,000 mg/kg bw 投与群で、一腹あたりの生存胎仔数の減少がみられ、1,000 mg/kg bw 以上の用量群で、骨格変異の発生率の増加を認めた。なお、この試験では、着床後胚損失は認められなかった。したがって、この試験における NOAEL は、最低用量であった 500 mg/kg bw である。

Nikoronow et al. (1973)による試験では、妊娠 Wistar ラット (1 群 10 匹)を用い、妊娠の最初の 21 日間、オリーブ油を媒体とした DBP を 0、120 または 600 mg/kg bw の用量で強制経口投与した。この結果、600 mg/kg bw 投与群で、吸収胚数が統計学的に有意に増加し、胎仔数および胎仔体重には統計学的に有意な減少が認められた。死亡胎仔数および骨格奇形の発生率には影響がみられなかった。120 mg/kg bw 投与群および 600 mg/kg bw 投与群の両群で、胎盤重量の統計学的に有意な減少が認められた。この試験は限定的なものであったが、胎仔毒性に関する NOAEL は 120 mg/kg bw とされる。

近年行われたラットにおける発生毒性試験において、出産前および新生仔初期の生殖器官の発達に対する DBP の影響が検討された。この試験では、1 群 10 匹の妊娠 CD ラット (Sprague-Dawley)を用い、妊娠 3 日からの妊娠期間および仔動物の生後 20 日までの授乳期間を通じて、コーン油を媒体とした DBP (純度 99.8%) を、0、250、500 または 750 mg/kg bw の用量で経口投与した。なお、出産日およびその翌日 (生後 1~2 日) の 2 日間は、投与を中断した。離乳時 (出産後 21 日) に母動物を屠殺し、仔動物は性成熟に達した時点 (生後 100 日~105 日) で屠殺した。

観察

母動物に対しては、1 日 1 回一般状態を観察し、体重を 1 日 1 回、摂餌量を週に 1 回記録した。死亡または瀕死のため安楽死させた母動物については、子宮内容物を含め肉眼的病理検査 (肉眼的外観検査ならびに生存胎仔数、死亡胎仔数、吸収胚数、着床部位数) を行った。出産後 21 日に屠殺した母動物は、体重および臓器重量 (卵巣、子宮、肝臓、腎臓) を測定し、着床痕を計数した。

生後 1 日に、生存仔数を計数し、さらに仔動物における毒性徴候の有無を検査し、また、死亡率を記録した。仔動物の肛門-生殖突起間距離を測定し、これに基づいて雌雄に分け、体重を測定した。哺育期間中、各群 (雌雄および腹ごとによる群) の仔動物の体重を週に 1 回測定し、外表異常の有無を検査した。離乳時、仔動物は、処置および性別によって 3~5

匹の群に分けて飼育し、個体ごとの体重を週に1回記録した。生後29日から、性成熟に至るかまたは生後48日のいずれか早い日まで、1日1回膣開口の有無を確認した。膣開口日から2週間、毎日膣洗浄を行った。雄については、生後38日から包皮分離が確認されるまで、生殖器の検査を行い、同時に停留精巣および尿道下裂の有無も検査した。性成熟後(100~105日齢)の屠殺時に、すべての雄および一腹あたり3匹の雌について剖検を実施し、体重、臓器重量(肝臓、腎臓、副腎、精巣、精囊、精巣上部、前立腺、子宮、卵巣)、精巣の位置、ならびに内部生殖器および外部生殖器の肉眼的形態を記録した。生殖器に肉眼的病変の認められたすべてのラット、および各用量群の各腹から選択した最高2匹までの形態学的に正常なラットについて、精巣の病理組織学的検査を行った。また、右側の精巣上部尾部における精子の運動性を測定した(欠損していた場合は、精子の分析は行わなかった)。

結果

母動物の体重および摂餌量には、影響が認められなかった。750 mg/kg bw 投与群の雌3匹および500 mg/kg bw 投与群の1匹は妊娠せず、着床痕も認められなかった。交配した雌の妊娠率は一般に85~90%であることから、この明らかな妊娠率の低下は、交配に成功しなかった雌が、無作為的に投与群へ割り振られたためと思われる。しかし、着床(妊娠5~6日)より前の妊娠3日から投与を開始していたため、着床前胚損失があった可能性も考えられる。子宮重量の減少が500 mg/kg bw 投与群および750 mg/kg bw 投与群で認められたが、用量相関性はなかった(有意差が認められたのは500 mg/kg bw 投与群のみ)。750 mg/kg bw 投与群では、出生時の一腹あたりの生存仔数が有意に減少した。この用量群の母動物では、妊娠後半に体重増加のわずかな低下が認められ、一腹仔数が少なかったことと整合している。しかし、出産後21日の剖検において、着床痕数の減少は、この用量群では認められなかった。仔動物の生存出生率、体重および性比には、影響が認められなかった。哺育期間中および離乳以降の仔動物の体重にも、影響は認められなかった。離乳までの仔動物の生存率は、750 mg/kg bw 投与群で有意に減少したが、離乳から生後100日~105日の屠殺までの生存率には影響がみられなかった。

雄の仔動物においては、出生時に500 mg/kg bw 投与群および750 mg/kg bw 投与群で、肛門-生殖突起間距離の短縮がみられ、性成熟時には全用量群で、内部生殖器および外部生殖器の奇形発生率に、用量依存性の増加が認められた。尿道下裂の発生率は、250、500 および750 mg/kg bw 投与群の雄で、それぞれ3%、21%および43%であった。精巣上部の発育不全または欠損は、250、500 および750 mg/kg bw 投与群の雄で、それぞれ9%、50%および70%の動物にしばしば両側性に認められた。これに伴って、精細管萎縮(全用量群で50~100%の精細管に影響がみられた)および精子形成の異常または低下がみられた。500 および750 mg/kg bw 投与群で、精囊の欠損または重量減少(各群それぞれ16%および32%)が認められ

た。前立腺の平均重量には、750 mg/kg bw 投与群で 27%の減少がみられた。剖検時、500 および 750 mg/kg bw 投与群の各 1 匹の動物で、前立腺の欠損が認められた。全用量群の仔動物の雄で腎盂拡張の発生率の増加がみられ、腎臓の平均重量の有意な減少が 750 mg/kg bw 投与群で認められた。

雌の仔動物では、生殖器系に対する DBP 投与の影響はわずかであった。500 mg/kg bw 投与群のラット 1/30 匹(1/8 腹)および 750 mg/kg bw 投与群のラット 2/9 匹(1/4 腹)で、膣開口を認めなかった。これらの動物を除く投与群の動物では、膣開口および初回発情の日齢、発情周期の長さ、および膣スメアでの角化細胞の出現頻度に、有意な変化は認められなかった。剖検時、500 mg/kg bw 投与群の膣開口が認められなかったラットでは、明らかな膣は確認できず、子宮および左側の腎臓の欠損が認められた。また、500 mg/kg bw 投与群の別のラットでは、右子宮角の大きさが左子宮角の半分であることが確認された。750 mg/kg bw 投与群の 1 匹は、左子宮角の長さは正常であったが、右子宮角は卵巣近くの遠位部のみしか存在しなかった。したがって、この試験では NOAEL を確定することができない。この試験の結果により、DBP は、これらの用量では、エストロゲン活性を有するのではなく、抗アンドロゲン活性を示すことが示唆された (Mylchreest et al., 1998)。

Mylchreest et al. (1999) による追試験において、DBP は、出生前の曝露により、既知の抗アンドロゲン剤であるフルタミドと同様に、アンドロゲン受容体と直接相互作用することなく、アンドロゲンが制御する雄の性分化を阻害することが示された。妊娠ラットに、最高用量の 500 mg/kg bw (コーン油を媒体とする) を妊娠 12 日～21 日に強制経口投与した結果、1 匹の母動物で妊娠 18 日以降に体重減少が認められ、この個体は死亡または瀕死の胎仔を出産した。全用量群 (100、250 および 500 mg/kg bw) の F₁ 雄 (100～105 日齢の性成熟時に屠殺) で、包皮分離の遅延が認められた。最低用量群 (100 mg/kg bw) におけるこの遅延 (2 日間) の原因の少なくとも一部は、ある一腹の仔動物で著しい遅延がみられたことであった。また、250 および 500 mg/kg bw 投与群で、雄の生殖器 (F₁) の奇形 (すなわち乳頭遺残や肛門-生殖突起間距離の短縮) が認められた。さらに、500 mg/kg bw 投与群では、これに加えて、尿道下裂や停留精巣、前立腺や精巣上部および精輸管の発育不全、精細管上皮の変性、および精巣間質細胞の過形成 (2 腹の仔のうち 5 匹) がみられた。500 mg/kg bw 投与群の雄 2 匹 (同腹児) では、ほかに間質細胞腺腫が認められた。F₁ 雌では、子宮または膣の発達異常もしくは腎無形成は認められなかった。フルタミドとは異なり、DBP では、膣嚢の形成を伴わない前立腺の欠損や尿道下裂の発生は少なかった。

Gray et al. (1999) は、妊娠 LE hooded ラットに、DBP を妊娠 16 日～19 日に経口投与 (500 mg/kg bw) した結果、雄の仔動物 (9 ヶ月齢で屠殺) に肛門-生殖突起間距離の短縮がみられ、乳頭遺残が誘発され、また、アンドロゲン依存性組織の重量の持続的な減少が誘導されたことを報告している。また、妊娠 SD ラットに DBP 500 mg/kg bw を妊娠 14 日～哺育 3 日に投与し

た場合も、雄の仔動物(6ヵ月齢で屠殺)の性分化に同様の変化がみられ、この影響は、4日間(妊娠16~19日)の曝露を受けたLE hooded ラットよりも顕著に認められた。

Gray et al.(1999)はまた、LE hooded ラットを用いた多世代試験も実施した。この試験では、P₀世代の雌雄動物(1群雌雄各10~12匹)のみに、離乳後から春期発動期、性成熟期、交配および哺育期間を通じて、DBPを0、250または500 mg/kg bwの用量で強制経口投与した。また、雄のみで、1,000 mg/kg bw投与群を設けた。P₀動物の交配時には、投与群の動物と非投与対照群の動物を交配させた。F₁動物には投与を行わず、春期発動後に動物を選択して(1群雌雄各16匹)、11回の繁殖周期にわたり連続交配状態に置き、生殖能力を評価した。

P₀世代では、500 mg/kg bw投与群の雌雄および1,000 mg/kg bw投与群(雄のみ)で、生殖能力の低下が認められた。雄の不妊は、精巣の萎縮および精子生産能の低下に関連したものであった。一方、500 mg/kg bw投与群の雌では、発情周期が認められて交配には成功したが、妊娠中期に流産する動物が多くみられた。F₁仔動物(DBPを0、250および500 mg/kg bwの用量で投与された母動物から生まれたF₁動物のみのデータ)では、低頻度の精巣上体の欠損、尿道下裂、異所性精巣、腎無形成および子宮の異常(部分的な形成不全または一方の子宮角の着床障害)を含む泌尿生殖器の奇形/異常が認められた。投与群の少数例で無眼球症がみられた。また、F₁雄では精巣上体尾部における精子数が減少していた。同用量が投与された雌雄を連続交配状態に置いた結果からは、F₁仔動物の生殖能力の低下(F₂出生仔数の有意な減少：出生仔数/腹数は0、250および500 mg/kg bw投与群でそれぞれ179/24、76/10および20/4)が認められた。したがって、この試験では、最低用量であった250 mg/kg bwがLOAELである。

Ema et al.(1998)の試験では、妊娠Wistar ラットを用い、妊娠11日~21日に、DBPを0、0.5、1.0または2.0% (それぞれ、約0、331、555または661 mg/kg bw)含む飼料を与え、妊娠21日に母動物を屠殺した。投与期間中、飼料中濃度1.0%群および2.0%群で、母動物の体重増加および摂餌量の有意な減少がみられ、用量相関性が認められた。着床後胚損失ならびに生存仔数、吸収胚数または死亡胎仔数の変化は認められなかった。2.0%群では、雌雄の胎仔の体重に有意な減少が認められた。同群では、胎仔の口蓋裂および胸骨分節癒合の発生率が増加した。また、1.0%群および2.0%群で、雄の胎仔に停留精巣(内部奇形)および肛門-生殖突起間距離の短縮の発生数が増加した。投与群の雌胎仔の肛門-生殖突起間距離は、対照群における値と同等であった。したがって、この試験におけるDBPのNOAELは、飼料中濃度0.5%(約331 mg/kg bw)である。

発生毒性試験についての結論

ラットおよびマウスを用いた発生毒性試験が実施されている。これらの試験のいくつかについては、ガイドラインに準拠しているかまたは GLP 条件下で実施されたかが明確にされていないが、胎仔毒性および催奇形性が認められたことが報告されている。マウスを用いた一つの試験では、母体毒性、胎仔毒性および催奇形性に関する NOAEL は、飼料中濃度 0.05% (100 mg/kg bw に相当) であった。マウスを用いた別の試験では、胎仔毒性に関する NOAEL は、飼料中濃度 0.2% (約 350 mg/kg bw) であった。なお、後者の試験における母体毒性および催奇形性に関する NOAEL は、飼料中濃度 0.4% (約 660 mg/kg bw) である。この試験では、飼料中濃度 1.0% (約 2,100 mg/kg bw) において、母体毒性がみられ、不十分ではあるが催奇形性を示す証拠が得られている。しかし、この後者の試験は、動物数および報告内容の点で不備のあるものであった。

近年行われたラットにおける複数の発生毒性試験において、250 mg/kg bw 以上の経口投与により、母動物の妊娠中もしくは妊娠・授乳中に母動物を介して曝露を受けた仔動物に、包皮分離の遅延、および雄性生殖器官(内部および外部)の発達の著しい阻害が認められた。母体毒性は、500 mg/kg bw 以上の経口投与で認められた。雌の仔動物では、250 mg/kg bw 以上の用量で、生殖器官の奇形が散発的にみられたが、陰開口および性周期には影響が認められなかった。ラットにおける発生毒性試験で検討された最低経口投与用量である 100 mg/kg bw においても、雄の動物に包皮分離の遅延が認められた。これらの試験の結果により、DBP は、エストロゲン活性を有するのではなく、抗アンドロゲン活性を示すことが示唆された。データが得られたラットにおける試験からは、NOAEL を確定することはできなかった。

経皮曝露または吸入曝露による DBP の発生毒性試験の情報は得られていない。

エストロゲン活性

近年(すなわちここ数年間)、フタル酸エステル類などの環境汚染物質がエストロゲン活性を有する可能性が懸念されている。ここ 2 年間に、この問題に関するいくつかの試験が公表されており、多くの *in vitro* 試験により、多数の環境汚染物質について、エストロゲン活性の有無が検討されている。しかし、これらの試験で認められた陽性影響とヒトの健康との関連性については、まだ明らかにされていない。

Jobling et al.(1995)は、2種のヒト乳がん細胞株(すなわち ZR-75 および MCF-7)を用いた *in vitro* 試験により、DBP のエストロゲン活性の有無を検討した。この結果、ZR-75 細胞の増殖において、DBP による細胞分裂促進作用が認められたが、この増殖反応は、 β -エストラ

ジオールやオクチルフェノールによる反応よりも弱いものであった。DBP はまた、一過性に形質移入された MC-7 細胞を用いた試験において、エストロゲン受容体の転写活性を促進することが示された。加えて、DBP は、 10^{-11} M の β -エストラジオール存在下で、エストロゲン受容体の転写活性を増加させた。

Harris et al. (1997) は、組換え酵母を用いた *in vitro* スクリーニング試験により、DBP がエストロゲン活性を有することを明らかにした。しかし、DBP の活性は低く、 17β -エストラジオールの活性の 10^{-7} 倍であると考えられた。Harris et al. (1977) はまた、DBP がヒト乳がん細胞 (ZR-75 および MCF-7) に対して分裂促進活性を示すことを明らかにした。

Zacharewski et al. (1998) もまた、エストロゲン受容体に対するリガンド競合結合試験、ならびに哺乳類細胞 (ヒト乳がん MCF-7 および HeLa 細胞) や酵母を用いた遺伝子発現試験により、DBP のエストロゲン活性を *in vitro* で検討した。加えて、子宮重量および膈上皮細胞の角化に対する DBP の影響を、それぞれ卵巣を摘出した未成熟ラットおよび成熟ラット (Sprague-Dawley) を用いて *in vivo* で検討した。この結果、*in vitro* において、DBP は 17β -エストラジオールと競合し、ラット子宮由来のエストロゲン受容体に結合することが示されたが、エストロゲン受容体に対する親和性は低かった。DBP は、MCF-7 細胞においては、エストロゲン受容体を介した遺伝子発現をわずかに誘導したが、HeLa 細胞ではエストロゲン受容体を介した作用は認められなかった。また、組換え *Saccharomyces cerevisiae* (出芽酵母) PL3 株においては、DBP の弱いエストロゲン活性が認められた。

上記の *in vivo* 試験では、子宮重量または膈上皮細胞の角化において、DBP による、再現性のある用量依存性の増加は認められなかった。Gray et al. (1999) は、卵巣摘出成熟ラットを用いて、*in vivo* で、3 日間子宮肥大試験および性行動 (交尾受け入れ行動) 試験を行った。200 または 400 mg/kg bw/日の皮下投与もしくは 1,000 mg/kg bw/日の強制経口投与を 2 日間行い、3 日目にプロゲステロンを 0.5 mg 皮下投与した。この試験でも、DBP のエストロゲン様作用は認められなかった。

エストロゲン活性についての結論

いくつかの特殊な *in vitro* 試験において DBP に弱いエストロゲン活性が認められたが、*in vivo* 試験ではエストロゲン様作用を確認することはできなかった。したがって、*in vitro* で観察された効果が *in vivo* におけるエストロゲン活性に結びつくかどうかは疑わしい。

4.1.2.9.2 ヒトにおける試験

横断調査が行われており、DBP への曝露を受ける工程で作業をしていた女性 189 人を対象に、婦人科検診が実施された。DBP 濃度は 0.5 mg/m^3 を上回っていたが、定量的なデータは示されておらず、対象者は他に種々の不特定の化合物にも曝露されていた。また、対照群におけるデータは、明記されていない。生殖能力の低下および膣周期の変化が認められ、ホルモンの変化が誘導されたことが示唆された(要約のみ入手可) (Aldyreva et al., 1975)。

ヒトにおける試験についての結論

職業曝露を受けた女性における生殖毒性に関する疫学調査では、適切な対照群が設けられなかったこと、曝露集団が小さかったこと、プロトコルおよび結果の適切な記述がなされなかったこと、および DBP 以外の化合物との混合曝露であったことなど、不十分な点がいくつか認められた。したがって、この調査に基づいて、作業環境中でのヒトにおける DBP の生殖毒性を評価することはできない。

4.1.2.9.3 生殖毒性についての結論

生殖毒性試験、受胎能に関する試験および発生毒性試験については、雌のみに曝露を行った一世代繁殖毒性試験の結果から、胎仔毒性に関する NOAEL は 50 mg/kg bw であると確定することができる。しかし、より感度の高いエンドポイント(精子パラメータ、発情周期、精巣の詳細な病理組織学的所見など)を用いて連続交配プロトコルに従って実施され、雌雄ともに曝露を行ったラットの二世代繁殖毒性試験からは、母体毒性を示さない胎仔毒性の LOAEL は 52 mg/kg bw であると確定できる。この試験のプロトコルは、化合物が内分泌活性を有するか否かの判定に有効な手段であると考えられている。したがって、リスク評価においては、LOAEL 値として 52 mg/kg bw を使用する。

入手し得たマウスにおける発生毒性試験に基づき、催奇形性、胎仔毒性および母体毒性に関する経口 NOAEL は、 100 mg/kg bw と確定される。この上の用量であった 400 mg/kg bw では、母体毒性とともに催奇形性および胎仔毒性が認められた。

妊娠中もしくは妊娠・授乳中に曝露を行ったラットにおける発生毒性試験で、 250 mg/kg bw 以上の経口用量で、雄の仔動物に、包皮分離の遅延および生殖器官の奇形が認められた。また、母体毒性は、 500 mg/kg bw 以上の用量で認められた。ラットにおける発生毒性試験で検討された最低経口投与用量である 100 mg/kg bw においても、雄の仔動物に包皮分離の遅延が認められたことから、入手し得たラットにおける試験からは、NOAEL を確定するこ

とはできなかった。

経皮曝露または吸入曝露による DBP の生殖毒性試験、受胎能に関する試験および発生毒性試験のデータは得られていない。

いくつかの特殊な *in vitro* 試験において、DBP に弱いエストロゲン活性が認められたが、*in vivo* 試験ではエストロゲン様作用を確認することはできなかった。したがって、*in vitro* で観察された効果が *in vivo* におけるエストロゲン活性に結びつくかどうかは疑わしい。さらに、上述の発生毒性試験の結果からは、DBP がエストロゲン様作用よりも抗アンドロゲン作用を有することが示唆される。また、職業曝露を受けた女性における生殖毒性に関する疫学調査は、作業環境中でのヒトにおける DBP の生殖毒性を評価する根拠とするには不十分である。

入手し得た生殖毒性試験、受胎能に関する試験および発生毒性試験のデータに基づくと、DBP は、EC 基準により、生殖能に対する影響に関してはカテゴリ III、発生毒性の影響に関してはカテゴリ II に分類され、リスクフレーズ R 62「生殖能を損なうリスク有り」およびリスクフレーズ R 61「胎児に害を及ぼす可能性有り」の表記が必要である。