

CONTENTS

速報 安全性試験結果レポート**霊長類を用いた幼若期からの長期投与試験でDEHP(DOP)は精巣毒性を示さず****発ガン性、環境ホルモン問題の決着に続き、
生殖関連の影響でもDEHPの安全性がより確かなものに**

可塑剤工業会（会長：阿部 紘一）では、欧米の可塑剤業界 と連携し、2000年9月より2年間にわたって「幼若マーモセット（キヌザル）を用いた DEHP の長期投与試験」を第三者研究機関に委託・実施。精巣への影響や体内での挙動を中心に DEHP の安全性を総合的にチェックしました。2003年1月にその試験結果がまとまり、結論は下記のようなものでした。

結 論

- 1) 霊長類では、ネズミと違い、DEHP は精巣に影響を及ぼさない
- 2) 精巣に蓄積しないなど、体内での挙動がネズミとは大きく違う

最も一般的な可塑剤である DEHP は、ネズミ（ラット、マウス）に大量に投与すると精巣の小型化が起きることが知られていました¹⁾。このことは、日本での DEHP のおもちゃへの使用規制（2003年8月より実施予定）における根拠ともなっています²⁾。

今回、霊長類では精巣に影響はなく、体内の挙動もネズミとは違うということが明らかになったため、ネズミの試験に基づく従来のリスク評価は再考すべきだと考えられます。

本試験は2003年3月、SOT の第42回年次総会で発表される予定です。

欧州 = 欧州可塑剤・中間体協議会 (ECPI: European Council for Plasticisers and Intermediates)

米国 = 米国化学品工業協会-フタル酸エステルパネル (ACC-PEP: American Chemistry Council - Phthalate Esters Panel)

SOT (Society of Toxicology = 毒性学会) は、国際的な学会であり、世界で最も権威ある毒性学会といわれています。

可塑剤工業会

東京都港区元赤坂 1-5-26 東部ビル 4F 〒 107-0051

TEL. 03-3404-4603(代表) FAX. 03-3404-4604

ホームページ <http://www.kasozai.gr.jp>

本件に関するお問い合わせは、可塑剤工業会 大久保まで

1. 試験の背景 / 目的 / 結果

幼若期の霊長類での影響と体内での挙動の違いがポイント

▶ Point 1

思春期前後(ネズミでは強い影響を受けた時期)の霊長類で精巣に影響なし

背景

これまでのいくつかの試験から、DEHPはラット・マウスに大量に投与すると精巣の小型化が起きることが知られ、特に思春期前後の未熟な時期には強く影響を受けることも分かっていました³⁾。

ラットでの試験に基づき、精巣毒性に関する無毒性量は3.7mg/体重kg/日とされ、厚生労働省では、DEHPのTDI(耐容1日摂取量)の下限を40µg/体重kg/日と設定しています。

可塑剤工業会では、まず1997年に、こうした変化は「成獣のサル(マーモセット)」では起きないことを試験で確かめています⁴⁾。

試験は(株)三菱化学安全科学研究所に委託したものです。マーモセットにDEHPを13週間経口反復投与し、ラット・マウスで起きた精巣の小型化は、投与量の大小にかかわらず一切認められませんでした。

海外でのカニクイザルを使った実験でも、同様の結果が得られています⁵⁾。

目的

日米欧3極の可塑剤業界では、DEHPの安全性をより確かなものとするため、今回の試験において、これまで明らかでなかった「思春期前後のサル」での精巣に対する影響を確かめることとしました。

結果

試験では、生後100日(離乳直後)の幼若なマーモセットに対し、成熟するまでの15カ月(65週間)という長期間にわたってDEHPを投与し、その影響を調べました。

その結果、精巣への影響は認められませんでした。幼若期、成獣といった発育段階に関係なく、霊長類ではDEHPは精巣に影響を及ぼさないことが明らかになりました。

▶ Point 2

DEHPをいったん吸収するが、ネズミと違って精巣に蓄積しない

背景

たとえ経口投与(試料を餌などに混ぜて口から与える)試験で何も影響が出なくても、ひょっとすると「吸収されずに体内(胃や腸)を素通りし、そのまま糞や尿として排出されてしまっている」のかもしれない。その場合、注射や腹腔内散布といった体内への直接の投与では影響が出るということもあり得ます。

DEHPは血液バッグなどの医療器具にも使われていることから、体内の動きと影響を詳細につかんでおく必要がありました。

ネズミに関しては、DEHPの代謝物が肝臓や精巣に蓄積して、そこで毒性を示すことが、以前、可塑剤工業会が行った試験で分かっていました⁶⁾。

目的

今回の試験では、精巣への影響を見るだけでなく、マーモセットでのDEHPの血中濃度と組織分布および排出といった「体内動態」についても調べました。

これは、精巣の変化がネズミには起こってサルには起きない理由を探るため、ネズミと霊長類でDEHPの体内での挙動がどう違うのかを明らかにするのが目的です。特に、霊長類ではDEHPは体内に吸収されるのか、精巣へ回って蓄積するのかといったことがポイントになります。

結果

放射性ラベルしたDEHPをマーモセットに経口投与して、体内での動きを追いました。その結果、ネズ

ミと霊長類では体内の挙動が大きく違っていることが明らかとなりました。

マーモセットではDEHPおよびその代謝物は、腸で吸収されたあと、肝臓を経て胆汁の中に高濃度で排出され、再び腸に戻って糞と一緒に排泄されるというのが主な経路でした。

ネズミに見られるような肝臓や精巣への蓄積は見られませんでした。特に精巣では血液中の濃度よりはる

かに低い値でした 組織 / 血中濃度比が 0.3 以下。

ネズミと霊長類では、DEHP代謝物の精巣での蓄積性、つまり精巣の細胞への親和性に差があり、それが、ネズミで起こる精巣の小型化が霊長類には起きない理由の一つだと考えられます。今回のデータは、今後、ヒトの薬理動態モデルの改善にも役立つことと思われれます。

2. 試験の概要 / 結果

幼若マーモセットを用いた DEHP の 65 週間反復経口投与毒性試験

試験物質 DEHP (フタル酸ジ-2-エチルヘキシル)
試験機関 (株)三菱化学安全科学研究所
試験期間 2000年9月～2003年1月
試験動物 マーモセット (キヌザル) 生後約100日
投与期間 15ヵ月 (65週間)
投与頻度、経路 1回 / 日 経口
投与量 100、500、2,500 mg / 体重 kg / 日
溶媒 コーン油
群構成 (投与量 mg / 体重 kg / 日とオス / メスの数)
【一般毒性】 4群投与 (対照群含む)
 0 (5/6) \ 100 (6/6) \ 500 (7/6) \ 2,500 (6/5)
【精巣を電子顕微鏡で観察】 4群投与 (対照群含む)
 0 (3/0) \ 100 (3/0) \ 500 (3/0) \ 2,500 (3/0)
【薬物動態 (¹⁴C ラベル)】 2群投与 3期間
 100 (3/3) \ 2,500 (3/3)
 本試験は化審法 GLP (Good Laboratory Practice) に従って実施されたものです。

検査項目	
一般毒性試験	一般状態観察および体重測定 血液学的検査 血液生化学検査 血中ホルモン測定 解剖検査 病理組織検査 精子数測定 精巣、卵巣の病理組織学的検査 ペルオキシゾーム増殖因子レセプター (PPAR-) 測定 その他
薬物動態試験 (¹⁴ C ラベル)	組織分布状態測定 尿検査 その他

【一般毒性】

方法 / 生後約100日のマーモセットに対し、成熟するまでの15ヵ月 (65週間)、1日1回、DEHPを経口で与えた。その後、生殖器官、脳下垂体、甲状腺、肝、副腎、腎臓、脾臓の重量をはかり、顕微鏡で観察。精巣は電子顕微鏡で精査し、ペルオキシゾーム増殖活性レセプターを示す mRNA の量を調べた。

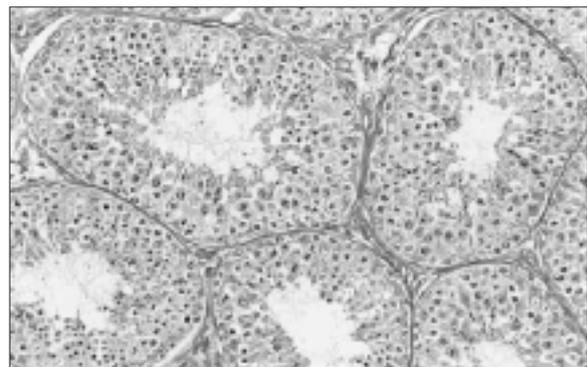
結果

投与群間で、平均体重、平均臓器重量に差はなく、顕微鏡による観察では、どの臓器にも投与に関する変化は認められなかった。

精巣の電子顕微鏡での観察でも、投与に関する変化は認められなかった。

精子数、性ホルモンともに変化はなく、試験終了時には正常に性成熟していた。

ペルオキシゾーム増殖活性レセプターを示す mRNA に差は認められなかった。



DEHP を 2,500mg / 体重 kg / 日、65 週間投与したマーモセットの精巣 (精細管) の顕微鏡写真。異常は何も認められない。



マーモセット (キヌザル)

【薬物動態】

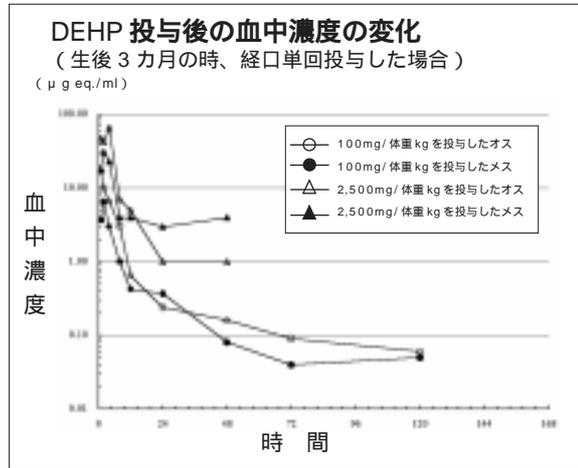
方法 / 3カ月齢および18カ月齢のマーマセットに対し、¹⁴CラベルしたDEHPを経口で単回投与し、血中濃度、組織分布および排出について調べた。

結果

投与2時間後、組織 / 血中濃度比が高かったのは、胆汁が20以上、腎臓が2。他のすべての臓器では、生殖器も含め、平均値で1を下回っていた(血中濃度より低かった)。精巣では0.3だった。

主な排出ルートは糞(投与量の35~65%)、尿(10~22%)

投与後24時間で、血中濃度はおよそ1/100に下がり、速やかに排出されていた。



3. 発ガン性・環境ホルモン問題の現状 / 今後の取り組み

発ガン性は国際ガン研究機関が否定、内分泌攪乱作用は環境省が否定

発ガン性

DEHPの発ガン性については、1980年代、ラット・マウスにDEHPを高濃度で投与すると肝臓に腫瘍が発生するという報告⁷⁾がありましたが、その後の研究で、そうした変化はラット・マウスなどのげっ歯類に特有の作用であり、霊長類であるサルでは起きないことが確認されています⁸⁾。

2000年には、国際ガン研究機関(IARC:国連・WTOの下部機関)が、DEHPの発ガン性評価ランクをそれまでの「2B」から、より安全な「3」へと改正し、ヒトに対して発ガン性がないことを明確に示しました。

IARCによる発ガン性評価の分類(2000年)

グループ/評価	物質	
1	ヒトに対して発ガン性がある	アスベスト、煙草の煙、アルコール性飲料、他
2A	ヒトに対しておそらく発ガン性がある	ディーゼルエンジンの排ガス、ベンツピレン、他
2B	ヒトに対して発ガン性がある可能性がある	コーヒー、酢漬けの野菜、サッカリン、ガソリン、他
3	ヒトに対する発ガン性について分類できない	DEHP、お茶、水道水(塩素処理した飲料水)、他
4	ヒトに対しておそらく発ガン性がない	カプロラクタム(1物質のみ)

環境ホルモン問題

かつてDEHPは、試験管内試験で弱いエストロゲン活性を示したという報告⁹⁾があり、環境省では「環境ホルモン戦略計画 SPEED'98」の「内分泌攪乱作用が疑われる物質」にDEHPを含めていました。

しかし、その後可塑剤工業会では、試験管内試験および霊長類を用いた詳細な生体内試験を行って、DEHPはエストロゲン活性を示さないことを確認しています¹⁰⁾。

環境省でも、試験管内試験とげっ歯類を用いた生体内試験を行い、2002年6月、ヒト(哺乳類)への影響に関して、DEHP(他、一緒に試験をした9物質)は『低用量(文献情報等により得られた人推定暴露量を考慮した比較的低濃度)での明らかな内分泌攪乱作用は認められなかった。』との報告¹¹⁾を出しています。

今後の取り組み

今後とも可塑剤工業会では、広く社会に役立っているDEHPの安全性をより確かなものにしていくための努力を続けていきます。

(出典)

- 小泉睦子ら、フタル酸エステルの生殖・発生無毒量、精巣毒性の週令差、種差及びDEHPの1日耐容摂取量 日本食品化学学会誌 7、65-73(2000)および8、1-10(2001)
- 厚生労働省『薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会毒性・器具容器包装合同部会報告について』(2002年5月29日)
- 1に同じ
- Kurata, Y., Kidachi, F., Yokoyama, M., Toyota, N., Tsuchitani, M., and Katoh, M. (1998) Subchronic toxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate in common marmosets: lack of hepatic peroxisome proliferation, testicular atrophy, or pancreatic acinar cell hyperplasia. Toxicol. Sci., 42, 49-56
- George Pugh, Jr., et al., Effects of Di-isononyl Phthalate, Di-2-ethylhexyl Phthalate, and Clofibrate in Cynomolgus Monkeys: Toxicological Sciences, 56, 181-188(2000).
- (株)三菱化学安全科学研究所, ¹⁴C 標識 DEHP のラットにおける胎児移行性, 2001 (未発表)
- NTP. Technical Reports Series No.217(1982).
- Kurata, Y., Toyota, N., Tsuchitani, M., Katoh, M., et al., Subchronic Toxicity of di(2-ethylhexyl)phthalate(DEHP) in common marmoset: Lack of Hepatic Peroxisome Proliferation, Testicular Atrophy, or Pancreatic Acinar Cell Hyperplasia, Toxicological Sciences, 42, 49-56(1998).
- Environmental Health Perspectives, 103, Supplement 7, October, 1995: Estrogens in Environment.
- (株)三菱化学安全科学研究所, フタル酸エステルのエストロゲン活性試験, 1997.
- 環境省『平成14年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会について』(2002年6月14日)