

投与により3/3例に間代性痙攣が観察されたことを考慮すると、同症状は、間代性痙攣の部分現象として発現したものと考えられ、MEHP投与による神経毒性が発現した可能性が示唆された。なお、DEHP投与群では、呼吸不整および痙攣は投与期間を通じて認められなかった。

MEHPおよびDEHPに共通する所見として、臨床検査では、アルブミン濃度の増加、AST活性、ALT活性およびALP活性の上昇、フィブリノーゲン量の減少ならびに中性脂肪濃度の減少傾向がMEHPの700 mg/kg群およびDEHPの2,000 mg/kg群で認められ、病理学検査では、肝細胞の肥大および好酸性顆粒状変化がMEHPの200 mg/kg以上の群およびDEHPの200 mg/kg以上の群で認められたほか、巣状壊死がMEHPの700 mg/kg群およびDEHPの200 mg/kg以上の群で散見された。AST活性、ALT活性およびALP活性の上昇は、高用量群のみに認められた極めて軽度な変化であり、また、巣状壊死の認められた個体とAST活性、ALT活性およびALP活性の上昇が認められた個体は必ずしも一致しないことから、これら血液生化学検査値の変動の要因として、細胞膜の透過性の変化など、肝細胞壊死以外の原因を考慮する必要がある。なお、本試験で肝細胞内に観察された好酸性顆粒は電子顕微鏡観察によりPPARの標的細胞内小器官であるペルオキシゾームである^{5),6)}ことが報告されている。さらに、精巣ではSertoli only syndrome、精細管内の多核細胞形成、セルトリ細胞の空胞化、精細管の萎縮および間細胞の過形成などを特徴とする精巣障害が観察されたが、フタル酸エステルによる精巣障害の主な原因は、セルトリ細胞内の細胞骨格を形成する中間径フィラメントあるいはアクチンフィラメントの障害によ

るもの⁷⁾⁸⁾と考えられており、MEHPも同様の作用を有することが確認された。一方、副腎では、球状帯細胞のび慢性空胞化がMEHPの200 mg/kg以上の群およびDEHPの200 mg/kg以上の群でそれぞれ認められた。今回観察された所見は同種ラットの無処置対照群では認められない所見であり、DEHPあるいはMEHP投与により惹起された変化であると考えられるが、その毒性学的意義は明らかではない。さらに、病理学検査においてごく軽度の皮質尿細管の変性がMEHPの700 mg/kg群およびDEHPの2,000 mg/kg群の各1例に認められたが、変化がごく軽度で極めて小範囲の限局性変化であることから、被験物質投与による変化であると特定する事は出来なかった。因みに、近年B6C3F1マウスにDEHPを飼料に添加し、104週間投与すると、1,500ppm投与群の雌に慢性進行性ネフロパチーがおきる⁹⁾ことが報告されている。

なお、今回いずれか一方の物質のみに認められる影響として、MEHPでは先述の通り、瀕死となった動物において痙攣が認められ、一方、DEHPでは、軽度の貧血が認められた。

E. 結論

MEHP, DEHP両物質に共通する影響として、肝毒性および精巣毒性が認められ、腎臓および副腎に対する影響も示唆された。また、いずれか一方の物質のみに特異的な影響としては、MEHPで神経毒性および呼吸器への影響が、DEHPで赤血球の異常が、それぞれ認められた。

F. 参考文献

1) Snedecor GW, Cochran WG. Statistical Methods: 8th ed. Iowa State University Press; 1989.

2) Yoshida M. Exact probabilities associated with Tukey's and Dunnett's multiple comparisons procedures in imbalanced one-way ANOVA J Japanese Soc Comp Statist 1988; 1: 111-22.

3) Steel RGD. A multiple comparison rank sum test: Treatments versus control. Biometric 1959; 15: 560-72.

4) Thomas JA and Thomas MJ. Biological Effects of Di-(ethyhexyl)Phthalate and other Phthalic acid Esters/CRC Crit. Reviews in Toxicol. 13; 283-317, 1984.

5) Moody DE and Reddy JK, Hepatic peroxisome(microbody) proliferation in rats fed plasticizers and related compounds. Toxicop. appl. Pharmacol. 45; 497-504 1978.

6) Thomas JA and Thomas MJ, Biological Effects of Di-(ethyhexyl)Phthalate and other Phthalic acid Esters/ CRC Crit. Reviews in Toxicol. 13; 283-317, 1984.

7) Dalgaard M, Nellemann C, Lam HR, Sorensen IK and Ladefoged O., The acute effects of mono (2-ethylhexyl) phthalate (MEHP) on testes of prepubertal Wistar rats, Toxicol Lett. 122; 69-79, 2001.

8) Saitoh Y, Usumi K, Nagata T, Maromo H, Imai K and Katoh M, Early Changes in the Rat Testis Induced by Di-(2-Ethylhexyl)Phthalate and 2,5-Hexanedione-Ultrastructure and Lanthanum Trace Study., J Toxicol. Pathol. 10; 51-57, 1997.

9) David RM, Moore MR, Finney DC and Guest D., Chronic toxicity of Di(2-ethylhexyl)phthalate in mice, Toxicol Sci. 58; 377-385, 2000.

G. 健康危険情報

なし

H. 研究発表

なし

I. 知的財産所有権の出願・登録状況

1) 特許取得

該当なし

2) 実用新案登録

該当なし

3) その他

該当なし

Sex: Male

Group No. Dose mg/kg/day	Finding Part	No. of animals	Day of Treatment												
			1	2	3	4	5	6	7	8	9				
01	No. of animals		7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
control	Normal	0	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
02	No. of animals		7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
MEHP	Normal	70	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
03	No. of animals		7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
MEHP	Normal	200	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7

*: 1 Before administration, 2 After administration, A Additional observation

Sex: Male

Group No. Dose mg/kg/day	Finding Part	Day of Treatment																	
		1--->		2--->		3--->		4--->		5--->		6--->		7--->		8--->		9--->	
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
04	No. of animals	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
MEHP	Normal	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
700	Prone position																		
	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Lateral position																		
	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Decrease in locomotor activity																		
	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Jumping																		
	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Irregular respiration																		
	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Soiled fur Abdomen																		
	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Salivation																		
	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Abdominal distention																		
	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mucous feces																		
	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
05	No. of animals	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
DEHP	Normal	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
200																			

*: 1 Before administration, 2 After administration, A Additional observation

Group No. Dose mg/kg/day	Finding Part	Day of Treatment																	
		10---	11---	12---	13---	14---	15---	16---	17---	18---	19---	20---	21---	22---	23---	24---	25---	26---	
06	No. of animals	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
DEHP 700	Normal	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
07	No. of animals	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
DEHP 2000	Normal	7	7	7	5	7	6	7	6	7	6	7	6	7	7	6	7	6	7
	Salivation	0	0	0	2	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0
	Total	0	0	0	2	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0

*: 1 Before administration, 2 After administration, A Additional observation

Table : 1 -continued Clinical signs Exp.No. RD-07-007
 Sex: Male

Group No. Dose mg/kg/day	Finding Part	Day of Treatment																	
		19--->	20--->	21--->	22--->	23--->	24--->	25--->	26--->	27--->	28--->	29--->	30--->	31--->	32--->				
06	No. of animals	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
DEHP 700	Normal	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
07	No. of animals	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7
DEHP 2000	Normal	7	7	7	7	6	7	6	7	6	7	7	7	7	7	7	7	7	7
	Salivation	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*: 1 Before administration, 2 After administration, A Additional observation

Table : 1 -continued Clinical signs

Group No.	Dose mg/kg/day	Finding Part	No. of animals	Day of Treatment					
				Observation time*		28-----> 29----->		A 2 1 2	
01	control	Normal	0	7	7	7	7	7	7
02	MEHP 70	Normal	70	7	7	7	7	7	7
03	MEHP 200	Normal	200	7	7	7	7	7	7

*: 1 Before administration, 2 After administration, A Additional observation

-continued Clinical signs

Table : 1
Sex: Male

Group No. Dose mg/kg/day	Finding Part	Day of Treatment				
		28-----> 29---->		29-----> 30---->		
		1	A	2	1	2
04	No. of animals	6	1	5	5	
MEHP	700	5	0	5	5	
	Normal					
	Prone position		+	0	1	0
		Total	0	1	0	0
	Lateral position		+	0	0	0
		Total	0	0	0	0
	Decrease in locomotor activity		+	0	1	0
		Total	0	1	0	0
	Jumping		+	0	1	0
		Total	0	1	0	0
	Irregular respiration		+	1	1	0
		Total	1	1	0	0
	Soiled fur Abdomen		+	1	1	0
		Total	1	1	0	0
	Salivation		+	0	0	0
		Total	0	0	0	0
	Abdominal distention		+	1	1	0
		Total	1	1	0	0
	Mucous feces		+	0	0	0
		Total	0	0	0	0
05	No. of animals	7	7	7	7	
DEHP	200	7	7	7	7	
	Normal					

*: 1 Before administration, 2 After administration, A Additional observation

Table : 1 -continued Clinical signs
 Sex: Male

Group No. Dose mg/kg/day	Finding Part	Observation time*		Day of Treatment	
		1	2	28	29
06	No. of animals	7	7	7	7
DEHP 700	Normal	7	7	7	7
07	No. of animals	7	7	7	7
DEHP 2000	Normal	7	7	7	7
	Salivation			0	0
	+ Total	0	0	0	0

*: 1 Before administration, 2 After administration, A Additional observation

Group No.	Dose mg/kg/day	Day of treatment							Unit:g
		1	8	15	22	28	29		
01 control	N	7	7	7	7	7	7	7	
	Mean	166	226	281	332	369	346	346	
	S.D.	6	11	16	23	29	28	28	
02 MEHP 70	N	7	7	7	7	7	7	7	
	Mean	166	219	266	316	352	330	330	
	S.D.	6	13	18	19	31	27	27	
03 MEHP 200	N	7	7	7	7	7	7	7	
	Mean	166	223	272	319	358	333	333	
	S.D.	6	11	17	20	24	23	23	
04 MEHP 700	N	7	7	7	7	6	5	5	
	Mean	166	218	257	288*	318	316	316	
	S.D.	6	11	20	50	62	29	29	
05 DEHP 200	N	7	7	7	7	7	7	7	
	Mean	165	227	290	350	397	369	369	
	S.D.	6	12	23	34	43	40	40	
06 DEHP 700	N	7	7	7	7	7	7	7	
	Mean	166	228	291	346	385	359	359	
	S.D.	6	12	17	23	26	22	22	
07 DEHP 2000	N	7	7	7	7	7	7	7	
	Mean	166	210*	258	300	336	306	306	
	S.D.	5	10	15	19	21	19	19	

Significantly different from the control group * P ≤ 0.05 (Dunnett)

Table : 3 Food consumption

Sex: Male

Group No. Dose mg/kg/day	N Mean S.D.	Day of Treatment			N Mean S.D.	N Mean S.D.	Unit:g/day
		=> 8	=> 15	=> 22			
01 control 0	7 Mean S.D.	7	7	7	7 23 2	22 23 2	7 28
		22	22	23			
02 MEHP 70	7 Mean S.D.	7	7	7	7 22 2	22 22 2	7 22
		21	21	22			
03 MEHP 200	7 Mean S.D.	7	7	7	7 23 2	24 24 2	7 24
		22	22	23			
04 MEHP 700	7 Mean S.D.	7	7	7	7 21 6	20 20 9	6 20
		21	20	21			
05 DEHP 200	7 Mean S.D.	7	7	7	7 25 3	26 26 4	7 26
		22	24	25			
06 DEHP 700	7 Mean S.D.	7	7	7	7 25 3	25 25 3	7 25
		22	24	25			
07 DEHP 2000	7 Mean S.D.	7	7	7	7 24 2	21 24 2	7 26
		20	21	24			

Table 4. Hematology

Day: 29

Sex	Dose level (mg/kg/day)	No. of animals	HCT (%)	HGB (g/dL)	RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	MCV (μm^3)	MCH (pg)	MCHC (%)
Male	0	7	44.3 \pm 1.6	15.2 \pm 0.6	7.50 \pm 0.33	59.0 \pm 1.5	20.3 \pm 0.4	34.4 \pm 0.5
	MEHP 70	7	44.6 \pm 2.1	15.4 \pm 0.8	7.67 \pm 0.54	58.2 \pm 2.1	20.1 \pm 0.7	34.6 \pm 0.5
	MEHP 200	7	43.0 \pm 0.8	14.7 \pm 0.3	7.47 \pm 0.16	57.5 \pm 1.0	19.7 \pm 0.5	34.2 \pm 0.5
	MEHP 700	5	44.1 \pm 1.4	15.0 \pm 0.5	7.51 \pm 0.36	58.7 \pm 1.6	20.0 \pm 0.8	34.1 \pm 0.7
	DEHP 200	7	43.5 \pm 0.9	15.0 \pm 0.3	7.40 \pm 0.21	58.8 \pm 1.2	20.3 \pm 0.6	34.4 \pm 0.7
	DEHP 700	7	43.2 \pm 1.6	14.9 \pm 0.5	7.14 \pm 0.19	60.5 \pm 1.7	20.8 \pm 0.6	34.4 \pm 0.5
	DEHP 2,000	7	41.3 \pm 2.0**	14.2 \pm 0.7**	7.19 \pm 0.29	57.5 \pm 1.4	19.8 \pm 0.5	34.4 \pm 0.5

Mean \pm S.D.Significant difference from control group; * : $P \leq 0.05$ ** : $P \leq 0.01$

Table 4. -continued Hematology

Sex	Dose level (mg/kg/day)	No. of animals	Reticulocyte (%)	PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)
Male	0	7	3.2 \pm 0.5	1184 \pm 113
	MEHP 70	7	3.1 \pm 0.9	1224 \pm 166
	MEHP 200	7	3.4 \pm 0.4	1282 \pm 115
	MEHP 700	5	2.7 \pm 0.5	1183 \pm 275
	DEHP 200	7	3.3 \pm 0.4	1272 \pm 99
	DEHP 700	7	3.4 \pm 0.3	1390 \pm 179
	DEHP 2,000	7	3.7 \pm 0.5	1319 \pm 130

Mean \pm S.D.Significant difference from control group; * : $P \leq 0.05$ ** : $P \leq 0.01$

Table 4. -continued Hematology

Exp. No. RD-07-007

Day: 29

Sex	Dose level (mg/kg/day)	No. of animals	WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Differential leukocyte counts (%)					EOSN	BASO	LUC
				NEUT	LYMPH	MONO	BASO	LUC			
Male	0	7	12.39 ± 2.66	16.3 ± 3.0	79.6 ± 3.4	2.1 ± 0.6	0.9 ± 0.2	0.1 ± 0.0N	1.0 ± 0.4		
	MEHP 70	7	10.85 ± 2.60	19.0 ± 3.0	76.5 ± 3.5	2.7 ± 0.5	0.9 ± 0.5	0.1 ± 0.1	0.8 ± 0.4		
	MEHP 200	7	12.94 ± 2.31	16.0 ± 5.8	79.9 ± 5.7	2.3 ± 0.6	0.8 ± 0.4	0.2 ± 0.1	0.9 ± 0.2		
	MEHP 700	5	11.11 ± 4.88	17.8 ± 3.9	78.2 ± 4.0	2.1 ± 0.7	0.6 ± 0.3	0.1 ± 0.0	1.1 ± 0.4		
	DEHP 200	7	13.45 ± 4.85	17.0 ± 3.9	78.7 ± 4.2	2.4 ± 0.6	0.8 ± 0.4	0.1 ± 0.1	0.9 ± 0.3		
	DEHP 700	7	12.70 ± 2.42	17.7 ± 2.3	77.5 ± 2.0	3.0 ± 0.8*	0.7 ± 0.3	0.1 ± 0.0	1.0 ± 0.4		
	DEHP 2,000	7	11.34 ± 2.08	21.5 ± 4.9	74.5 ± 4.5	2.3 ± 0.4	0.7 ± 0.2	0.1 ± 0.0	0.9 ± 0.2		

NEUT: Neutrophil LYMPH: Lymphocyte MONO: Monocyte EOSN: Eosinophil BASO: Basophil LUC: Large unstained cells

Mean ± S.D.

Significant difference from control group; *: $P \leq 0.05$ **: $P \leq 0.01$

N: Non parametric analysis

Table 4. -continued Hematology

Day: 29

Sex	Dose level (mg/kg/day)	No. of animals	NEUT ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	LYMPH ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	MONO ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	EOSN ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	BASO ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	LUC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)
Male	0	7	2.00 ± 0.48	9.88 ± 2.23	0.26 ± 0.09	0.11 ± 0.04	0.02 ± 0.01	0.12 ± 0.06
	MEHP 70	7	2.10 ± 0.67	8.26 ± 1.92	0.29 ± 0.09	0.10 ± 0.05	0.02 ± 0.01	0.08 ± 0.04
	MEHP 200	7	1.98 ± 0.41	10.42 ± 2.39	0.30 ± 0.09	0.11 ± 0.05	0.02 ± 0.01	0.11 ± 0.03
	MEHP 700	5	1.95 ± 0.89	8.74 ± 3.94	0.22 ± 0.05	0.06 ± 0.02	0.01 ± 0.01	0.13 ± 0.08
	DEHP 200	7	2.25 ± 0.88	10.65 ± 4.08	0.31 ± 0.12	0.09 ± 0.03	0.02 ± 0.02	0.13 ± 0.07
	DEHP 700	7	2.23 ± 0.44	9.84 ± 1.94	0.39 ± 0.13	0.08 ± 0.05	0.01 ± 0.01	0.13 ± 0.06
	DEHP 2,000	7	2.45 ± 0.74	8.43 ± 1.55	0.27 ± 0.06	0.07 ± 0.02	0.01 ± 0.01	0.11 ± 0.03

NEUT: Neutrophil LYMPH: Lymphocyte MONO: Monocyte EOSN: Eosinophil BASO: Basophil LUC: Large unstained cells
 Mean ± S.D.
 Significant difference from control group; * : $P \leq 0.05$ ** : $P \leq 0.01$