

## 化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告の 信頼性評価結果(信頼性評価第5回続き)(案)

平成 25 年度に開催した「化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告の信頼性評価作業班会議」において、信頼性評価第5回の 22 物質のうち 4 物質に関する信頼性評価の結果を取りまとめたので、以下に示す。なお、22 物質のうち 8 物質については信頼性評価の結果を既に報告済み(平成 25 年度第 1 回作用・影響評価検討部会平成 25 年 7 月 9 日開催)であり、残り 10 物質については信頼性評価を実施中である。(信頼性評価の結果の詳細については、別添参照)

### 1. 平成 25 年度に実施した 4 物質の信頼性評価のまとめ

#### (1)内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る物質(4 物質)

- \*フルタミド：動物試験の報告において、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、ホルモン産生への影響及び脱皮ホルモン様作用を示すことが示唆されたため。
- \*アセトアルデヒド：試験管内試験の報告において、抗アンドロゲン作用(テストステロン合成阻害)を示すことが示唆されたため。
- \*二硫化炭素：動物試験の報告において、抗アンドロゲン様作用を示すこと、疫学的調査の報告において、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用及び甲状腺への作用を示すことが示唆されたため。
- \*フェンバレレート：動物試験の報告において、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用及び性ホルモンの生合成と性ホルモン受容体生成に関する影響を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗プロゲステロン作用、ホルモン産生への影響及び視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用(プロゲステロン合成系)を示すことが示唆されたため。

#### (2)現時点では試験対象物質としない物質

今回は、該当する物質はなかった。

## I. フルタミド

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

フルタミドの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響(甲殻類、魚類、両生類)、生殖影響及び抗アンドロゲン様作用以外の影響(抗プロゲステロン様作用、血圧に及ぼす影響、神経及び行動影響)の有無に関する報告がある。なお、抗アンドロゲン様作用に係る健康影響、試験管内試験及び疫学的調査に関する報告については、記載していない。なお、本物質の主な用途は、医薬品(抗アンドロゲン剤、前立腺がん治療薬)である。

#### (1)生態影響(甲殻類)

##### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Andersen ら(2001)によって、フルタミド(設定濃度不詳)に5日間ばく露したカイアシ類アカルチア属の一種 *Acartia tonsa* の卵への影響が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub> 値 480µg/L の濃度でノープリウス幼生からコペポダイトへの変態率の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、試験を行った濃度範囲の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ノープリウス幼生からコペポダイトへの変態率の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：脱皮ホルモン様作用

##### ○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

- ②Haeba ら(2008)によって、フルタミド 10、100、1,000µg/L(設定濃度)に24時間未満齢から21日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響が検討されている。その結果として、1,000µg/L のばく露区で総産仔数の低値、7日目母動物体長の低値、初出産日の遅延が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、総産仔数、母動物体長の低値、初出産日の遅延が認められたが、急性毒性 EC<sub>50</sub> 値の約 1/3 の濃度

注：信頼性評価を実施した報告について作用の区分ごとに分類し、信頼性評価の結果として「試験対象物質として選定する根拠として認められる報告」、「内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告」及び「試験対象物質として選定する根拠として認められない報告」に区分した。報告ごとに、著者名、公表年、試験概要及び信頼性評価結果を記載し、作用の認められた濃度・用量の低い順に掲載した。なお、疫学的調査に関する報告については公表年の古い順に掲載した。

において影響が認められており、毒性影響と考えられた。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：毒性

## (2)生態影響(魚類)

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Katsiadaki ら(2006)によって、フルタミド 1、10、50、125、250、500 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 6 ヶ月齢以上から 3 週間ばく露(ジヒドロテストステロン 5  $\mu\text{g/L}$  を同時ばく露)した雌イトヨ(*Gasterosteus aculeatus*)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で体重当りのスピギン濃度の低値が認められた。

また、フルタミド 25、250 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 6 ヶ月齢以上から 3 週間ばく露(17 $\alpha$ -メチルテストステロン 0.5 $\mu\text{g/L}$  を同時ばく露)した雌イトヨ(*G. aculeatus*)への影響が検討されている。その結果として、25 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で体重当りのスピギン濃度の低値が認められた。

また、フルタミド 1、10、50、125、250、500 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 6 ヶ月齢以上から 3 週間ばく露(ジヒドロテストステロン 5 $\mu\text{g/L}$  を同時ばく露)した雄イトヨ(*G. aculeatus*)への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で体重当りのスピギン濃度の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、詳細な飼育条件の記載がないこと、用いた統計手法が簡略化されて記載されていることから、一部記載が不十分であると評価された。

「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、スピギン濃度の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

②Chakrabarty ら(2012)によって、フルタミド 33 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に孵化後 50 日齢から 50 日間ばく露した雌ウォーキングキャットフィッシュ(*Clarias batrachus*)への影響が検討されている。その結果として、未成熟卵母細胞存在率の低値、前卵黄形成期卵母細胞存在率、血漿中エストラジオール濃度、卵巣中アロマターゼ比活性、卵巣アロマターゼ cyp19a1a mRNA 卵巣中相対発現量、卵巣関連因子 FOXL2 mRNA 卵巣中相対発現量、オーファン核受容体 Ad4BP/SF-1 mRNA 卵巣中相対発現量、ステロイド産生急性調節タンパク質 StAR mRNA 卵巣中相対発現量、性腺刺激ホルモン放出ホルモン GnRH mRNA 脳相対発現量、トリプトファンヒドロキシラーゼ tph2 mRNA 脳相対発現量、脳アロマターゼ cyp19a1b mRNA 脳相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、詳細な飼育条件及び被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、未成熟卵母細胞存在率の低値、前卵黄形成期卵母細胞存在率、血漿中エストラ

ジオール濃度、卵巣中アロマトーゼ比活性、卵巣アロマトーゼ *cyp19a1a* mRNA 卵巣中相対発現量、卵巣関連因子 *FOXL2* mRNA 卵巣中相対発現量、ステロイド産生急性調節タンパク質 *StAR* mRNA 卵巣中相対発現量、性腺刺激ホルモン放出ホルモン *GnRH* mRNA 脳相対発現量、脳アロマトーゼ *cyp19a1b* mRNA 脳相対発現量の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

- ③Rajakumar ら(2012)によって、フルタミド 33µg/L(設定濃度)に孵化後 50 日齢から 50 日間ばく露した雄ウォーキングキャットフィッシュ(*Clarias batrachus*)への影響が検討されている。その結果として、精巣関連因子 *dmrt1* mRNA 精巣中相対発現量、精巣関連因子 *sax9a* mRNA 精巣中相対発現量、精巣関連因子 *wt1* mRNA 精巣中相対発現量、オーファン核受容体 *nr2c1* mRNA 精巣中相対発現量、オーファン核受容体 *Ad4BP/SF-1* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生急性調節タンパク質 *StAR* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生酵素 *11βhsd2* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生酵素 *17βhsd12* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生酵素 *p450c17* mRNA 精巣中相対発現量、ナマズ性腺刺激ホルモン放出ホルモン *cfGnRH* mRNA 脳相対発現量、トリプトファンヒドロキシラーゼ *thh2* mRNA 脳相対発現量、精巣体指数、精巣中生殖細胞に占める一次精原細胞存在率、精巣中生殖細胞に占める精母細胞存在率の低値、精巣中生殖細胞に占める分化精原細胞存在率、血漿中テストステロン濃度、血漿中 11-ケトテストステロン濃度の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、詳細な飼育条件及び被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精巣関連因子 *dmrt1* mRNA 精巣中相対発現量、精巣関連因子 *sax9a* mRNA 精巣中相対発現量、精巣関連因子 *wt1* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生急性調節タンパク質 *StAR* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生酵素 *11βhsd2* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生酵素 *17βhsd12* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生酵素 *p450c17* mRNA 精巣中相対発現量、ナマズ性腺刺激ホルモン放出ホルモン *cfGnRH* mRNA 脳相対発現量、精巣体指数、精巣中生殖細胞に占める一次精原細胞存在率、精巣中生殖細胞に占める精母細胞存在率の低値、精巣中生殖細胞に占める分化精原細胞存在率、血漿中テストステロン濃度、血漿中 11-ケトテストステロン濃度の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。

「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用、視床下部－下垂体－甲状腺軸への作用

- ④Garcia-Reyero ら(2009)によって、フルタミド 50、150、500µg/L に 48 時間ばく露した成熟雌フアットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、50µg/L 以上のばく露区で血漿中エストラジオール濃度の低値が認められた。

また、フルタミド 500 $\mu\text{g/L}$  に 48 時間ばく露した成熟雌ファットヘッドミノー(*P. promelas*)への影響が検討されている。その結果として黄体形成ホルモン mRNA 卵巣中相対発現量の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、詳細な飼育条件の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、血漿中エストラジオール濃度、黄体形成ホルモン mRNA 卵巣中相対発現量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

- ⑤Jolly ら(2009)によって、フルタミド 5、25、50、75、100、250 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 21 日間ばく露(ジヒドロテストステロン 5 $\mu\text{g/L}$  を同時ばく露)した成熟雌イトヨ(*Gasterosteus aculeatus*)への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で体重当りのスピギン濃度の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、詳細な飼育条件の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、スピギン濃度の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

- ⑥Sebire ら(2008)によって、フルタミド 100、500、1,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 21 間ばく露した成熟雌雄イトヨ(*Gasterosteus aculeatus*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で、雄巣作り行動(巣を完成させた、または作成途上の)個体率、ばく露 19 日後の雄求愛行動(雌への接近時間)、ばく露 19 日後の雄求愛行動(ジグザグ行動繰り返し回数)の低値、500 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で、雄巣作り行動(穴掘行動を示す)個体率、雄体重当りのスピギン濃度、ばく露 19 日後の雄求愛行動(背中突き刺し行動回数)の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄巣作り行動個体率、雄求愛行動、スピギン濃度の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

- ⑦Filby ら(2007)によって、フルタミド 320 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に孵化後 150 日齢から 21 日間ばく露した雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、

雄において、性発達及び生殖関連蛋白質 AMH mRNA 精巣中相対発現量、性発達及び生殖関連蛋白質 Vasa mRNA 精巣中相対発現量、性発達及び生殖関連蛋白質 DMRT1 mRNA 精巣中相対発現量、成長ホルモン受容体 mRNA 肝臓中相対発現量、インシュリン様成長因子 IGF-1 mRNA 肝臓中相対発現量、インシュリン様成長因子 IGF-1 受容体 mRNA 精巣中相対発現量、グルココルチコイド受容体 mRNA 精巣中相対発現量の低値、エストロゲン受容体  $\beta$  mRNA 精巣中相対発現量、エストロゲン受容体  $\gamma$  mRNA 精巣中相対発現量、性ステロイド産生酵素 CYP19A mRNA 精巣中相対発現量、性ステロイド産生酵素 CYP19B mRNA 精巣中相対発現量、性ステロイド産生酵素 11 $\beta$ HSD2 mRNA 精巣中相対発現量の高値が認められた。雌において、生殖腺体指数、アンドロゲン受容体 mRNA 肝臓中相対発現量、エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 卵巣中相対発現量、アンドロゲン受容体 mRNA 卵巣中相対発現量、性発達及び生殖関連蛋白質 SF-1 mRNA 卵巣中相対発現量、成長ホルモン受容体 mRNA 肝臓中相対発現量、インシュリン様成長因子 IGF-1 mRNA 肝臓中相対発現量、インシュリン様成長因子 IGF-1 受容体 mRNA 肝臓中相対発現量、甲状腺ホルモン受容体  $\alpha$  mRNA 肝臓中相対発現量、甲状腺ホルモン受容体  $\beta$  mRNA 肝臓中相対発現量の低値、血漿中ビテロゲニン濃度、性ステロイド産生酵素 CYP19B mRNA 卵巣中相対発現量、性ステロイド産生酵素 11 $\beta$ HSD2 mRNA 卵巣中相対発現量、成長ホルモン mRNA 卵巣中相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、詳細な飼育条件の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄において、性発達及び生殖関連蛋白質 AMH mRNA 精巣中相対発現量、性発達及び生殖関連蛋白質 Vasa mRNA 精巣中相対発現量、性発達及び生殖関連蛋白質 DMRT1 mRNA 精巣中相対発現量、成長ホルモン受容体 mRNA 肝臓中相対発現量の低値、エストロゲン受容体  $\beta$  mRNA 精巣中相対発現量、エストロゲン受容体  $\gamma$  mRNA 精巣中相対発現量、性ステロイド産生酵素 CYP19A mRNA 精巣中相対発現量、性ステロイド産生酵素 CYP19B mRNA 精巣中相対発現量、性ステロイド産生酵素 11 $\beta$ HSD2 mRNA 精巣中相対発現量の高値が認められ、雌において、生殖腺体指数、アンドロゲン受容体 mRNA 肝臓中相対発現量、エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 卵巣中相対発現量、アンドロゲン受容体 mRNA 卵巣中相対発現量、性発達及び生殖関連蛋白質 SF-1 mRNA 卵巣中相対発現量、成長ホルモン受容体 mRNA 肝臓中相対発現量、甲状腺ホルモン受容体  $\alpha$  mRNA 肝臓中相対発現量、甲状腺ホルモン受容体  $\beta$  mRNA 肝臓中相対発現量の低値、血漿中ビテロゲニン濃度、性ステロイド産生酵素 CYP19B mRNA 卵巣中相対発現量、性ステロイド産生酵素 11 $\beta$ HSD2 mRNA 卵巣中相対発現量、成長ホルモン mRNA 卵巣中相対発現量の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

- ⑧Jensenら(2004)によって、フルタミド  $62.7\pm 5.9$ 、 $651\pm 45.0\mu\text{g/L}$ (実測濃度)に21日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、 $651\mu\text{g/L}$ のばく露区で累積産卵数の低値、雌雄の血漿中ビテロゲニン濃度、雌の血漿中テストステ

ロン濃度の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、累積産卵数の低値、雌雄の血漿中ビテロゲニン濃度、雌の血漿中テストステロン濃度の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

- ⑨Panterら(2004)によって、フルタミド  $95.3 \pm 1.6$ 、 $320.4 \pm 7.7$ 、 $938.6 \pm 31.3 \mu\text{g/L}$  に 14 日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、 $95.3 \mu\text{g/L}$  以上のばく露区で雌の血漿中ビテロゲニン濃度の高値、 $938.6 \mu\text{g/L}$  のばく露区で雄の第二次性徴乳頭状小突起数の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雌の血漿中ビテロゲニン濃度の高値、雄の第二次性徴乳頭状小突起数の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

#### ○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告

- ⑩Ankleyら(2004)によって、フルタミド  $400 \mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 14 日間ばく露した成熟雌ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(ばく露から更に 14 日間の非ばく露期間後)が検討されている。その結果として、肝臓中ビテロゲニン mRNA 相対発現量の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、詳細な飼育条件の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、実験結果データの記載が少ないこと及び用いた統計処理方法が不十分であることから、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定される作用メカニズム：不明

- ⑪Nozakaら(2004)によって、フルタミド  $90.4 \pm 15.3$ 、 $183 \pm 27.9$ 、 $375 \pm 48.1$ 、 $737 \pm 68.3$ 、 $1,470 \pm 130 \mu\text{g/L}$  に 21 日間ばく露した成熟雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、 $1,470 \mu\text{g/L}$  のばく露区で肝臓中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

また、フルタミド  $90.4 \pm 15.3$ 、 $183 \pm 27.9$ 、 $375 \pm 48.1$ 、 $737 \pm 68.3$ 、 $1,470 \pm 130 \mu\text{g/L}$  に 21 日間ばく露した成熟雌メダカ(*O. latipes*)への影響が検討されている。その結果として、 $1,470 \mu\text{g/L}$  のばく露

区で肝臓体指数の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄の肝臓中ビテロゲン濃度の高値及び雌の肝臓体指数の高値について、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定される作用メカニズム：不明

#### ○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

⑫Jensen と Ankley(2006)によって、フルタミド 100、500、1,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 21 日間ばく露した成熟雌ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、500 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で血漿中ビテロゲン濃度の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の入手先及び純度の記載が無いことから、記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

### (3)生態影響(両生類)

#### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Massari ら(2010)によって、フルタミド 2.76 $\mu\text{g/L}$ に 4 週間ばく露した成熟雌雄アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、雌雄の脳下垂体中アロマターゼ mRNA 相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、脳下垂体中アロマターゼ mRNA 相対発現量の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：ホルモン産生への影響

②Cevasco ら(2008)によって、フルタミド 2.76 $\mu\text{g/L}$ に 4 週間ばく露した成熟雌雄アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、雄の精細管直径の低値、雄の精原細胞数の高値、雌の閉鎖卵胞存在率の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないこと



から、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄の精細管直径の低値、精原細胞巢数の高値、雌の閉鎖卵胞存在率の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

- ③van Wyk ら(2003)によって、フルタミド 100mg/kg/week を 4 週間腹腔内投与した成熟雄アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、繁殖腺(母指隆起)上皮厚の低値、繁殖腺(母指隆起)面積の低値、血漿中テストステロン濃度の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、繁殖腺上皮厚、繁殖腺面積の低値、血漿中テストステロン濃度の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

#### ○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

- ④Behrends ら(2010)によって、フルタミド 2.76、276µg/L(設定濃度)に 72 時間(ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン腹側リンパ嚢注射後 24 時間から)ばく露した成熟雄アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、2.76µg/L 以上のばく露区で mate calling 行動の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の入手先及び純度の記載が無いことから、記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

#### ※参考 生態影響(両生類)(今回評価対象としなかった文献)

- ⑤Knechtges ら(2007)によって、フルタミド 1±4、8±6、9±7、52±20、53±20、130±68、152±65、199±150、220±143µg/L に Nieuwkoop-Faber stage 46(孵化後 48 時間未満幼生)から 30 週間ばく露したニシツメガエル(*Xenopus tropicalis*)への影響が検討されている。その結果として、正常雄体重、正常雌体長、正常雌体重、正常雌卵巣絶対及び相対重量、正常雌血漿中ビテロゲニン濃度の濃度相関的低値傾向、異常(精巣欠損)雄、正常雄肝臓相対重量、正常雄及び異常(精巣欠損)雄の血漿中ビテロゲニン濃度の濃度相関の高値傾向が認められた(ばく露区間の有意差検定は行われていない)。

- ⑥Urbatzka ら(2007)によって、フルタミド 2.76 $\mu$ g/L に 4 週間ばく露した成熟雌雄アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されているが、血漿中テストステロン濃度、血漿中エストラジオール濃度、血漿中ビテロゲニン濃度、肝臓中ビテロゲニン mRNA 相対発現量、肝臓中レチノール結合蛋白質 mRNA 相対発現量、肝臓中トランスフェリン mRNA 相対発現量、肝臓中トランスサイレチン mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。
- ⑦Urbatzka ら(2006)によって、フルタミド 2.76 $\mu$ g/L に 4 週間ばく露した成熟雌雄アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されているが、脳下垂体中黄体形成ホルモン  $\beta$  サブユニット mRNA 相対発現量、脳下垂体中卵胞刺激ホルモン  $\beta$  サブユニット mRNA 相対発現量、脳下垂体中性腺刺激ホルモン放出ホルモン mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。
- ⑧Sassoon と Kelley(1986)によって、フルタミド 500mg/kg を Nieuwkoop-Faber stage 66(変態後 0 ヶ月齢)から 3 ヶ月間腹側リンパ嚢に埋設したへの影響が検討されているが、雄及び雌の喉頭筋肉繊維数には影響は認められなかった。

#### (4)生殖影響

##### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Omezzine ら(2003)によって、フルタミド 0.4、2、10mg/kg/day を妊娠 6 日目から出産前日(妊娠 21 又は 22 日目)まで経口投与した SD ラットが出産した 90 日齢雄仔動物への影響が検討されている。その結果として、0.4mg/kg/day 以上のばく露群で精細管中アポトーシス精子細胞数、精巣中カスパーゼ 3 mRNA 相対発現量、精巣中プロカスパーゼ 3 相対発現量、精巣中カスパーゼ 3 相対発現量、精巣中カスパーゼ 6 mRNA 相対発現量、精巣中プロカスパーゼ 6 相対発現量、精巣中カスパーゼ 6 相対発現量の高値が認められた。

また、フルタミド 10mg/kg/day を 3 日間経口投与した成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、精細管中アポトーシス生殖細胞数の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精細管中アポトーシス精子細胞数、精巣中カスパーゼ 3 mRNA 相対発現量、精巣中プロカスパーゼ 3 相対発現量、精巣中カスパーゼ 3 相対発現量、精巣中カスパーゼ 6 mRNA 相対発現量、精巣中プロカスパーゼ 6 相対発現量、精巣中カスパーゼ 6 相対発現量、精細管中アポトーシス生殖細胞数の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

- ②Svensson(2012)によって、フルタミド 50mg/kg/day を 7 日間皮下投与した雄 Wistar ラット(8～9 週齢)に空 silastic capsule 埋設処置を実施し 3 週間後から投与開始)への影響が検討されている。その結果として、電気ショック回避行動試験(modified Vogel's conflict model)におけるショック許容回数の高値が認められた。

また、フルタミド 50mg/kg/day を 7 日間皮下投与した雄 Wistar ラット(8~9 週齢にジヒドロテストステロン含有 silastic capsule 埋設処置を実施し 3 週間後から投与開始)への影響が検討されている。その結果として、電気ショック回避行動試験(modified Vogel's conflict model)におけるショック許容回数の高値が認められた。

また、フルタミド 50mg/kg/day を 8 日間皮下投与した雄 Wistar ラット(8~9 週齢に空 silastic capsule 埋設処置を実施し 3 週間後から投与開始)への影響が検討されている。その結果として、前立腺絶対重量の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、前立腺絶対重量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

#### (5)抗アンドロゲン様作用以外と思われる影響

##### ○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

①Gangula ら(2005)によって、フルタミド 10mg/kg/day を 9 ヶ月齢から 4 日間皮下投与した雌 SD ラット(母動物に妊娠 1 日目からカゼイン 6%低蛋白質餌を投与)への影響が検討されている。その結果として、収縮期血圧の低値(正常値への回復)、血清中 17 $\beta$ エストラジオール濃度の高値(正常値への回復)が認められた。

また、フルタミド 30mg/kg/day を 9 ヶ月齢から 20 日間皮下投与した雄 SD ラット(母動物に妊娠 1 日目からカゼイン 6%低蛋白質餌を投与)への影響が検討されているが、収縮期血圧には影響は認められなかった(高収縮期血圧のまま)。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、低蛋白質餌を投与中の収縮期血圧の低値(正常値への回復)、血清中 17 $\beta$ エストラジオール濃度の高値(正常値への回復)について、内分泌かく乱作用との関連性が認められないと評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：不明

##### ※参考 抗アンドロゲン様作用以外と思われる影響（今回評価対象としなかった文献）

②Ji ら(2006)によって、フルタミド 1、5、10mg/kg/day を 14 日齢から 3 日間皮下投与した雌 ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、1 mg/kg/day 以上のばく露群でカルシウム結合蛋白質 Calbindin-D9k mRNA 相対発現量、カルシウム結合蛋白質 Calbindin-D9k 相対発現量の

低値が認められた。

また、フルタミド 5、40、100、200mg/kg/day を 14 日齢から 3 日間皮下投与した雌 ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、5 mg/kg/day のばく露群でカルシウム結合蛋白質 Calbindin-D9k 相対発現量の低値が認められた。

③Ahmadiani ら(2003)によって、フルタミド 50、60、75、100mg/kg を単回腹腔内投与した雄 NMRI マウスへの影響が検討されている。その結果として、60mg/kg 以上のばく露群でけいれん発症率、死亡率の低値が認められた。

また、フルタミド 30、60、90mg/kg を単回腹腔内投与した雄 NMRI マウスへの影響が検討されている。その結果として、60mg/kg 以上のばく露群でビククリン誘導性(投与 30 分後にビククリン 0.05mg/L×0.3mL を尾静脈注射)けいれん発作閾値の高値が認められた。

また、90、120、140、160mg/kg を単回腹腔内投与した雄 NMRI マウスへの影響が検討されている。その結果として、140mg/kg 以上のばく露群でロータロッド試験における持久時間の低値が認められた。

## 2. 総合的判断(案)

得られた報告について信頼性評価を実施した結果として、内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告が得られた。

試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、動物試験の報告において、抗アンドロゲン様作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、ホルモン産生への影響及び脱皮ホルモン様作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 1 に示した。

表1 信頼性評価のまとめ

物質名：フルタミド

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果 (Results)を証する ために必要である『材料と方法 (Materials and Methods)』 に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連 の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する 試験対象物質として選定する 根拠としての評価 <sup>3)</sup>	
(1) 生態影響 (甲殻類)	脱皮ホルモン様作用	①Andersen ら (2001)	△	○P	○
	毒性	②Haeba ら(2008)	△	×	×
(2) 生態影響 (魚類)	抗アンドロゲン様作用	①Katsiadaki ら (2006)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用、視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用	②Chakrabarty ら (2012)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用、視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用、視床下部-下垂体-甲状腺軸への作用	③Rajakumar ら (2012)	△	○P	○
	視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用	④Garcia-Reyero ら (2009)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	⑤Jolly ら(2009)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	⑥Sebire ら(2008)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用、視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用	⑦Filby ら(2007)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用、視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用	⑧Jensen ら(2004)	○	○P	○
	抗アンドロゲン様作用、視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用	⑨Panter ら(2004)	○	○P	○
	不明	⑩Ankley ら(2004)	△	?	—
不明	⑪Nozaka ら(2004)	○	?	—	

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果 (Results)を証す るために必要で ある『材料と方 法(Materials and Methods)』 に関する記載の 有無及びその評 価 <sup>1)</sup>	内分泌か く乱作用 との関連 の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱 作用に関する 試験対象物質 として選定す る根拠として の評価 <sup>3)</sup>	
	抗アンドロゲン様作用、視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用	⑫Jensen と Ankley(2006)	×	—	×
(3) 生態影響 (両生類)	ホルモン産生への影響	①Massari ら(2010)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	②Cevasco ら(2008)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	③van Wyk ら(2003)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	④Behrends ら(2010)	×	—	×
		⑤Knechtges ら(2007)評価未実施			
		⑥Urbatzka ら(2007)評価未実施			
		⑦Urbatzka ら(2006)評価未実施			
		⑧Sassoon と Kelley(1986)評価未実施			
(4) 生殖影響	抗アンドロゲン様作用	①Omezzine ら(2003)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	③Svensson(2012)	△	○P	○
(5) 抗アンドロゲン様作用以外と思われる影響	その他の作用(メカニズムは不明)	①Gangula ら(2005)	△	×	×
		②Ji ら(2006)評価未実施			
		③Ahmadiani ら(2003)評価未実施			

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果 (Results)を証す ために必要で ある『材料と方 法(Materials and Methods)』 に関する記載の 有無及びその評 価 <sup>1)</sup>	内分泌か く乱作用 との関連 の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱 作用に関する 試験対象物質 として選定す る根拠として の評価 <sup>3)</sup>
今後の対応案	動物試験の報告において、抗アンドロゲン様作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、ホルモン産生への影響及び脱皮ホルモン様作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない

2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない

3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

#### 参考文献

Andersen HR, Wollenberger L, Halling-Sørensen B and Kusk KO (2001) Development of copepod nauplii to copepodites - A parameter for chronic toxicity including endocrine disruption. *Environmental Toxicological Chemistry*, 20 (12), 2821-2829.((1)本文中の作用の区分①報告の番号を示す。以下同じ。)

Haeba MH, Hilscherova K, Mazurova E and Blaha L (2008) Selected endocrine disrupting compounds (vinclozolin, flutamide, ketoconazole and dicofol): Effects on survival, occurrence of males, growth, molting and reproduction of *Daphnia magna*. *Environmental Science and Pollution Research International*, 15 (3), 222-227.((1)②)

Katsiadaki I, Morris S, Squires C, Hurst MR, James JD and Scott AP (2006) Use of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) as a sensitive *in vivo* test for detection of environmental antiandrogens. *Environmental Health Perspectives*, 114 Suppl 1, 115-121.((2)①)

Chakrabarty S, Rajakumar A, Raghuveer K, Sridevi P, Mohanachary A, Prathibha Y, Bashyam L, Dutta-Gupta A and Senthilkumaran B (2012) Endosulfan and flutamide, alone and in combination, target ovarian growth in juvenile catfish, *Clarias batrachus*. *Comparative*

Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 155 (3), 491-497.((2)②)

Rajakumar A, Singh R, Chakrabarty S, Muruganankumar R, Laldinsangi C, Prathibha Y, Sudhakumari CC, Dutta-Gupta A and Senthilkumaran B (2012) Endosulfan and flutamide impair testicular development in the juvenile Asian catfish, *Clarias batrachus*. Aquatic Toxicology, 110-111, 123-132.((2)③)

Garcia-Reyero N, Villeneuve DL, Kroll KJ, Liu L, Orlando EF, Watanabe KH, Sepulveda MS, Ankley GT and Denslow ND (2009) Expression signatures for a model androgen and antiandrogen in the fathead minnow (*Pimephales promelas*) ovary. Environmental Science and Technology, 43 (7), 2614-2619.((2)④)

Jolly C, Katsiadaki I, Morris S, Le Belle N, Dufour S, Mayer I, Pottinger TG and Scott AP (2009) Detection of the anti-androgenic effect of endocrine disrupting environmental contaminants using *in vivo* and *in vitro* assays in the three-spined stickleback. Aquatic Toxicology, 92 (4), 228-239. ((2)⑤)

Sebire M, Allen Y, Bersuder P and Katsiadaki I (2008) The model anti-androgen flutamide suppresses the expression of typical male stickleback reproductive behaviour. Aquatic Toxicology, 90 (1), 37-47.((2)⑥)

Filby AL, Thorpe KL, Maack G and Tyler CR (2007) Gene expression profiles revealing the mechanisms of anti-androgen- and estrogen-induced feminization in fish. Aquatic Toxicology, 81 (2), 219-231.((2)⑦)

Jensen KM, Kahl MD, Makynen EA, Korte JJ, Leino RL, Butterworth BC and Ankley GT (2004) Characterization of responses to the antiandrogen flutamide in a short-term reproduction assay with the fathead minnow. Aquatic Toxicology, 70 (2), 99-110.((2)⑧)

Panter GH, Hutchinson TH, Hurd KS, Sherren A, Stanley RD and Tyler CR (2004) Successful detection of (anti-)androgenic and aromatase inhibitors in pre-spawning adult fathead minnows (*Pimephales promelas*) using easily measured endpoints of sexual development. Aquatic Toxicology, 70 (1), 11-21.((2)⑨)

Ankley GT, Defoe DL, Kahl MD, Jensen KM, Makynen EA, Miracle A, Hartig P, Gray LE, Cardon M and Wilson V (2004) Evaluation of the model anti-androgen flutamide for assessing the mechanistic basis of responses to an androgen in the fathead minnow (*Pimephales promelas*).



Environmental Science and Technology, 38 (23), 6322-6327.((2)⑩)

Nozaka T, Abe T, Matsuura T, Sakamoto T, Nakano N, Maeda M and Kobayashi K (2004) Development of vitellogenin assay for endocrine disrupters using medaka (*Oryzias latipes*). Environmental Sciences, 11 (2), 99-121.((2)⑪)

Jensen KM and Ankley GT (2006) Evaluation of a commercial kit for measuring vitellogenin in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). Ecotoxicology and Environmental Safety, 64 (2), 101-105.((2)⑫)

Massari A, Urbatzka R, Cevasco A, Canesi L, Lanza C, Scarabelli L, Kloas W and Mandich A (2010) Aromatase mRNA expression in the brain of adult *Xenopus laevis* exposed to Lambro River water and endocrine disrupting compounds. General and Comparative Endocrinology, 168 (2), 262-268.((3)①)

Cevasco A, Urbatzka R, Bottero S, Massari A, Pedemonte F, Kloas W and Mandich A (2008) Endocrine disrupting chemicals (EDC) with (anti)estrogenic and (anti)androgenic modes of action affecting reproductive biology of *Xenopus laevis*: II. Effects on gonad histomorphology. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 147 (2), 241-251. ((3)②)

van Wyk JH, Pool EJ and Leslie AJ (2003) The effects of anti-androgenic and estrogenic disrupting contaminants on breeding gland (nuptial pad) morphology, plasma testosterone levels, and plasma vitellogenin levels in male *Xenopus laevis* (African clawed frog). Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 44 (2), 247-256.((3)③)

Behrends T, Urbatzka R, Krackow S, Elepfandt A and Kloas W (2010) Mate calling behavior of male South African clawed frogs (*Xenopus laevis*) is suppressed by the antiandrogenic endocrine disrupting compound flutamide. General and Comparative Endocrinology, 168 (2), 269-274.((3)④)

Knechtges PL, Sprando RL, Porter KL, Brennan LM, Miller MF, Kumsher DM, Dennis WE, Brown CC and Clegg ED (2007) A novel amphibian tier 2 testing protocol: a 30-week exposure of *Xenopus tropicalis* to the antiandrogen flutamide. Environmental Toxicology and Chemistry, 26 (3), 555-564.((3)⑤)

Urbatzka R, Bottero S, Mandich A, Lutz I and Kloas W (2007) Endocrine disrupters with

- (anti)estrogenic and (anti)androgenic modes of action affecting reproductive biology of *Xenopus laevis*: I. Effects on sex steroid levels and biomarker expression. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 144 (4), 310-318.((3)⑥)
- Urbatzka R, Lutz I, Opitz R and Kloas W (2006) Luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, and gonadotropin releasing hormone mRNA expression of *Xenopus laevis* in response to endocrine disrupting compounds affecting reproductive biology. *General and Comparative Endocrinology*, 146 (2), 119-125.((3)⑦)
- Sassoon D and Kelley DB (1986) The sexually dimorphic larynx of *Xenopus laevis*: development and androgen regulation. *American Journal of Anatomy*, 177 (4), 457-472.((3)⑧)
- Omezzine A, Chater S, Mauduit C, Florin A, Tabone E, Chuzel F, Bars R and Benahmed M (2003) Long-term apoptotic cell death process with increased expression and activation of caspase-3 and -6 in adult rat germ cells exposed *in utero* to flutamide. *Endocrinology*, 144 (2), 648-661.((4)①)
- Svensson AI (2012) Flutamide treatment induces anxiolytic-like behavior in adult castrated rats. *Pharmacological Reports*, 64 (2), 275-281.((4)②)
- Gangula PR, Reed L and Yallampalli C (2005) Antihypertensive effects of flutamide in rats that are exposed to a low-protein diet *in utero*. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 192 (3), 952-960.((5)①)
- Ji YK, Lee GS, Choi KC and Jeung EB (2006) Anti-progestogenic effect of flutamide on uterine expression of calbindin-D9k mRNA and protein in immature mice. *Reproductive Toxicology*, 22 (4), 694-701.((5)②)
- Ahmadiani A, Mandgary A and Sayyah M (2003) Anticonvulsant effect of flutamide on seizures induced by pentylenetetrazole: involvement of benzodiazepine receptors. *Epilepsia*, 44 (5), 629-635.((5)③)

## II. アセトアルデヒド

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

アセトアルデヒドの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響及びライディッチ細胞への影響の有無に関する報告がある。なお、本物質の主な用途は、酢酸、過酢酸、無水酢酸、酢酸エチル、ラクトニトリル、ポリアセトアルデヒド、ペンタエリスリトール、エチルアルコール、アクロレイン、パラアルデヒド、グリオキザール、ピリジン等の製造原料、魚の防腐剤、防カビ剤、防虫剤、写真現像用、燃料配合剤、溶剤、還元剤、医療用、香料、接着剤等である。

#### (1)生殖影響

○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告

①Lähdetie ら(1988)によって、アセトアルデヒド 62.5、125、250mg/kg/day を5日間腹腔内投与した雄マウス(C57B1/6J×C3H/He 交配種)への影響が検討されている。その結果として、250mg/kg/day のばく露群で投与開始から5週間後の精巣上体中精子数の高値が認められた。

なお、精巣相対重量、精嚢相対重量には影響は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、試験動物の週齢及び被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精巣上体中精子数の高値について、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定される作用メカニズム：不明

#### (2)ライディッチ細胞への影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Santucci ら(1983)によって、アセトアルデヒド5、10 $\mu$ M(=225、441 $\mu$ g/L)に1時間ばく露した雄ラット由来ライディッチ細胞(60日齢成熟雄 Wistar ラット由来一次培養細胞)への影響が検討されている。その結果として、225 $\mu$ g/L以上のばく露区でヒト絨毛ゴナドトロピン刺激性テストステロン産生量の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ヒト絨毛ゴナドトロピン刺激性テストステロン産生量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン作用(テストステロン合成阻害)

## ※参考

### (3)発達影響（今回評価対象としなかった文献）

①Caoら(2007)によって、アセトアルデヒド 0.032mg/kg を単回静脈内投与(1分間隔で二回に分けて注射。ニコチン 0.03mg/kg を同時投与)した 27 日齢雄 SD ラットへの影響(投与直後から 30 分間の行動試験を実施した後に断頭及び採血)が検討されている。その結果として、オープンフィールド試験における探索行動回数の高値が認められた。なお、視床下部傍室核中 c-fos mRNA 相対発現量、視床傍室核中 c-fos mRNA 相対発現量、血清中コルチコステロン濃度には影響は認められなかった。

また、アセトアルデヒド 0.032mg/kg を単回静脈内投与(1分間隔で二回に分けて注射。ニコチン 0.03mg/kg を同時投与)した 90 日齢雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、オープンフィールド試験における探索行動回数の低値、視床下部傍室核中 c-fos mRNA 相対発現量、血清中コルチコステロン濃度の高値が認められた。

また、アセトアルデヒド 0.032mg/kg を単回静脈内投与(1分間隔で二回に分けて注射。ニコチン 0.03mg/kg を同時投与)した 27 日齢及び 90 日齢雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として(27 日齢及び 90 日齢を合わせて有意差検定)、扁桃体中心核中 c-fos mRNA 相対発現量の高値が認められた。なおオープンフィールド試験における中央滞在時間、分界条上丘中 c-fos mRNA 相対発現量、分界条床核中 c-fos mRNA 相対発現量、側坐核中 c-fos mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

なお、ニコチン 0.03mg/kg を同時投与しない場合は、いずれの日齢においてもこれらの影響は認められなかった。

## 2. 総合的判断(案)

得られた報告について信頼性評価を実施した結果として、内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告が得られた。

試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、試験管内試験の報告において、抗アンドロゲン作用(テストステロン合成阻害)を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 2 に示した。

表2 信頼性評価のまとめ

物質名：アセトアルデヒド

区分		著者	作業班会議における信頼性評価結果		
			報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(1) 生殖影響	不明	①Lähdetie ら (1988)	△	?	—
(2) ライデール細胞への影響	抗アンドロゲン作用 (テストステロン合成阻害)	①Santucci ら (1983)	△	○P	○
(3) 発達影響		①Cao ら(2007) 評価未実施			
今後の対応案		試験管内試験の報告において、抗アンドロゲン作用(テストステロン合成阻害)を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない

2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない

3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

参考文献

Lähdetie J (1988) Effects of vinyl acetate and acetaldehyde on sperm morphology and meiotic micronuclei in mice. Mutation Research, 202 (1), 171-178.((1)本文中の作用の区分①報告の番号を示す。以下同じ。)

Santucci L, Graham TJ and Van Thiel DH (1983) Inhibition of testosterone production by rat Leydig cells with ethanol and acetaldehyde: prevention of ethanol toxicity with 4-methylpyrazole. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 7 (2), 135-139.((2)①)

Cao J, Belluzzi JD, Loughlin SE, Keyler DE, Pentel PR and Leslie FM (2007) Acetaldehyde, a major constituent of tobacco smoke, enhances behavioral, endocrine, and neuronal responses to nicotine in adolescent and adult rats. *Neuropsychopharmacology*, 32 (9), 2025-2035.((3)①)

### Ⅲ. 二硫化炭素

#### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

二硫化炭素の内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響の有無に関する報告及び疫学的調査に関する報告がある。なお、本物質の主な用途は、溶剤（セロハン、レーヨン製造時）、殺虫剤・医薬品原料、ゴム加硫促進剤、浮遊選鉱剤、重金属捕捉剤等である。

#### (1) 生殖影響

##### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Zenick ら(1984)によって、二硫化炭素 607±47ppm(チャンバー内空气中測定濃度)を 80～90 日齢から 10 週間(週 5 日、日毎 6 時間)吸入ばく露した雄 LE ラットへの影響が検討されている。その結果として、体重、射精精液中精子数、交配試験におけるマウント潜時、交配試験における射精潜時の低値が認められた。なお、交配試験におけるマウント回数、交配試験における挿入回数、運動精子率、交配試験における精子プラグ重量、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、輸精管絶対重量、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、精巣上体中精子数、血清中テストステロン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度には影響は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、射精精液中精子数、交配試験におけるマウント潜時、交配試験における射精潜時の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

②Tepe と Zenick ら(1984)によって、607±47ppm(チャンバー内空气中測定濃度)を 80～90 日齢から 10 週間(週 5 日、日毎 5 時間)吸入ばく露した雄 LE ラットへの影響が検討されている。その結果として、交配試験におけるマウント潜時、交配試験における射精潜時、射精精液中精子数、精巣上体中精子数の低値が認められた。なお、体重、精巣絶対重量、精巣上体尾絶対重量、精巣上体絶対重量、精囊絶対重量、輸精管絶対重量、前立腺絶対重量、正常形態精子率、血清中テストステロン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度には影響は認められなかった。

また、二硫化炭素 348±27、607±47ppm(チャンバー内空气中測定濃度)を 80～90 日齢から 10 週間(週 5 日、日毎 5 時間)吸入ばく露した雄 LE ラットへの影響が検討されている。その結果として、607ppm のばく露区で体重の低値が認められたが、精巣上体中精子数、正常形態精子率には影響は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、交配試験におけるマウント潜時、交配試験における射精潜時、射精精液中精子数、精巣上体中精子数の低値が認められ、内分泌かく乱作用と

の関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。  
想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

#### ※参考 生殖影響（今回評価対象としなかった文献）

- ③Saillenfait ら(1989)によって、二硫化炭素 104.5±8.5、197.5±15.9、396.9±36.9、817.2±70.3ppm(チャンバー内空气中測定濃度)を妊娠6日目から15日間(日毎6時間)吸入ばく露したSDラットへの影響が検討されている。その結果として、396.9ppm以上のばく露区で母動物増加体重、母動物補正増加体重(増加体重－妊娠子宮重量)、雄胎仔体重、雌胎仔体重の低値、胎仔胸骨分節欠損発生率の高値が認められた。なお、同腹着床数、同腹吸収胚数、同腹生存胎仔数、同腹死亡胎仔数、胎仔性比、胎仔外表変化発生率、胎仔柔組織変化発生率には影響は認められなかった。
- ④Tsai ら(2000)によって、二硫化炭素 300、600、1,200mg/kg/day を妊娠6日目から10日間経口投与したWistarラットへの影響(妊娠21日目)が検討されているが、母動物体重、母動物増加体重、同腹着床数、胎仔生存率、胎仔外表奇形発生率には影響は認められなかった。

## (2)疫学的調査

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Zhou ら(1988)によって、二硫化炭素について、中国上海市の5ビスコースレーヨン工場において1964年から1985年にかけて、女性の職業ばく露と月経及び出産影響との関連性について検討されている。その結果として、ばく露群(二硫化炭素ばく露業務に従事する女性265名、平均ばく露濃度1.7～14.8mg/m<sup>3</sup>、月経異常発生率35.9%)と非ばく露群(製糸工場にて二硫化炭素ばく露がない業務に従事するage-matched女性291名、月経異常発生率18.2%)との比較において、月経異常総発生率(特に不規則周期、異常出血)の高値が認められた。なお、妊娠中毒症、つわり、自然流産、死産、早産、遅産、奇形発生率には影響は認められなかった。

また、ばく露濃度と月経異常発生率(特に不規則周期、異常出血)とについて正の相関性が認められた。

また、ばく露濃度と月経異常発生率とについて(COXモデル分析)正の相関性が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ばく露群と非ばく露群との比較において、月経異常総発生率の高値の低値、ばく露濃度と月経異常発生率とについて正の相関性が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

- ②Takebayashi ら(2003)によって、二硫化炭素について、日本のビスコースレーヨン11工場において1992年から1999年にかけて(ベースライン調査1992年～1993年、フォローアップ調査1998



年～1999年、フォローアップ率 89.9%)、男性の職業ばく露と内分泌系失調との関連性について検討されている。その結果として、ばく露群(二硫化炭素ばく露業務に従事する男性 259名、平均年齢 35.6±7.7歳、平均ばく露歴 19.3±8.1年、二硫化炭素ばく露濃度中央値 4.44±2.04ppm、尿中2-チオチアゾリジン-4-カルボン酸濃度中央値 1.11±2.31mg/g creatinine)と非ばく露群(有害化学物質ばく露がない業務に従事する男性 352名、平均年齢 35.9±9.1歳)との比較(フォローアップ調査の多重直線回帰分析)において、血清中サイロキシン濃度の低値、グリコヘモグロビン HbA<sub>1c</sub>率の高値が認められた。

なお、空腹時血中グルコース濃度、血清中インシュリン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中副腎皮質刺激ホルモン濃度、血清中テストステロン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度、血清中サイロキシン結合グロブリン濃度、性欲減退(問診による)影響は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ばく露群と非ばく露群との比較において、血清中サイロキシン濃度の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：甲状腺への作用

③Wägarら(1983)によって、二硫化炭素について、フィンランドのビスコースレーヨン工場において1940年代から1980年代にかけての男性の職業ばく露と血清中ホルモン濃度との関連性について検討されている。その結果として、ばく露群(二硫化炭素ばく露業務に従事する男性 69名、平均年齢 40.5歳、平均ばく露期間 12.5年)と非ばく露群(二硫化炭素ばく露がない業務に従事する男性 24名、平均年齢 38.7歳)との比較において、年齢 39歳以下かつばく露歴 1年～9年の群において、性ホルモン結合グロブリン濃度の低値、遊離テストステロン係数、卵胞刺激ホルモン濃度、黄体形成ホルモン濃度の高値、年齢 39歳以下かつばく露歴 10年～36年の群において、卵胞刺激ホルモン濃度の高値、年齢 40歳以上かつばく露歴 10年～36年の群において、卵胞刺激ホルモン濃度、黄体形成ホルモン濃度の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ばく露群と非ばく露群との比較において、性ホルモン結合グロブリン濃度の低値、遊離テストステロン係数の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

④Wägar ら(1981)によって、二硫化炭素について、フィンランドのビスコースレーヨン工場において 1940年代から 1980年代にかけての男性の職業ばく露と血清中ホルモン濃度との関連性について検討されている。その結果として、ばく露群(二硫化炭素ばく露業務に従事する男性 15 名、平均年齢 50.2 歳、平均ばく露期間 23 年)と非ばく露群(二硫化炭素ばく露がない業務に従事する age-matched 男性 16 名)との比較において、血清中黄体形成ホルモン、卵胞刺激ホルモン濃度の高値が認められた。

なお、サイロキシシン、トリヨードサイロニン、甲状腺刺激ホルモン、コルチゾール、テストステロン、プロラクチン濃度、遊離サイロキシシン係数、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン投与後の甲状腺刺激ホルモン濃度及びプロラクチン濃度には影響は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、サイロキシシン、トリヨードサイロニン、甲状腺刺激ホルモン、コルチゾール、テストステロン、プロラクチン濃度、遊離サイロキシシン係数、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン投与後の甲状腺刺激ホルモン濃度及びプロラクチン濃度には影響は認められなかった。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：血清中ホルモン濃度への作用

#### ※参考 疫学的調査（今回評価対象としなかった文献）

⑤Vanhoorne ら(1994)によって、二硫化炭素について、ベルギーのビスコースレーヨン工場において（調査期間の記載なし、1993 年以前と思われる）、男性の職業ばく露と生殖影響との関連性について検討されている。その結果として、ばく露群(二硫化炭素ばく露業務に従事する男性 43 名、平均年齢 33.3 歳、累積ばく露係数(ばく露濃度[mg/m<sup>3</sup>]×ばく露期間[year])中央値 224)と非ばく露群(有害化学物質ばく露がない業務に従事する男性 35 名、平均年齢 33.2 歳)との比較(多重ロジスティック回帰分析)において、累積ばく露係数の不能発生率、性欲減退発生率とに正の相関が認められた。

なお、もうけた子供数、精液質(運動精子率、濃度、正常形態精子率等)には影響は認められなかった。

⑥Vanhoorne ら(1993)によって、二硫化炭素について、ベルギーのビスコースレーヨン工場において（調査期間の記載なし、1993 年以前と思われる）、男性の職業ばく露と血清中ホルモン濃度との関連性について検討されている。その結果として、ばく露群(二硫化炭素ばく露業務に従事する男性 117 名、平均年齢 32.0 歳、累積ばく露係数(ばく露濃度[mg/m<sup>3</sup>]×ばく露期間[year])平均値 382.6 及び中央値 180.0)と非ばく露群(有害化学物質ばく露がない業務に従事する男性 66 名、平均年齢 34.8 歳)との比較において、血清中プロラクチン濃度の低値が認められた。

なお、累積ばく露係数と遊離サイロキシシン、黄体形成ホルモン、卵胞刺激ホルモン、プロラクチン、テストステロン濃度とには関連性は認められなかった。

⑦Lindbohm ら(1991)によって、二硫化炭素について、フィンランドにおいて 1973 年から 1982 年代にかけての妊娠(99,186 件、自然流産発生率 8.8%。このうち、父親に高度の二硫化炭素ばく露歴が

ある妊娠 30 件については流産発生 2 件)について父親の二硫化炭素ばく露と自然流産発生率との関連性について検討されているが、ばく露群と非ばく露群との比較における自然流産発生率の補正オッズ比は 0.8(95%信頼区間 0.2~3.3)であり、関連性は認められなかった。

## ※参考

### (3)副腎影響(今回評価対象としなかった文献)

①Caroldi ら(1984a)によって、二硫化炭素 2 mg/L(チャンバー内空气中設定濃度)を 4 時間吸入ばく露した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、副腎中ドーパミン濃度、副腎中 3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸濃度の低値が認められた。

なお、副腎中アドレナリン濃度、副腎中ノルアドレナリン濃度、副腎中 3,4-ジヒドロキシフェニルグリコール濃度には影響は認められなかった。

②Caroldi ら(1984b)によって、二硫化炭素 2 mg/L(チャンバー内空气中設定濃度)を 4 時間吸入ばく露した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、副腎中ノルアドレナリン濃度、副腎中アドレナリン濃度の低値、副腎中ドーパミン濃度、副腎中 3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸濃度の高値が認められた。なお、副腎中 3,4-ジヒドロキシフェニルグリコール濃度には影響は認められなかった。

## 2. 総合的判断(案)

試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、動物試験の報告において、抗アンドロゲン様作用を示すこと、疫学的調査の報告において、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用及び甲状腺への作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 3 に示した。

表3 信頼性評価のまとめ

物質名：二硫化炭素

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>	
(1) 生殖影響	抗アンドロゲン様作用	①Zenick ら(1984)	○	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	②Tepe と Zenick(1984)	○	○P	○
		③Saillenfait ら(1989)評価未実施			
		④Tsai ら(2000)評価未実施			
(2) 疫学的調査	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	①Zhou ら(1988)	○	○P	○
	甲状腺への作用	②Takebayashi ら(2003)	○	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	③Wägar ら(1983)	○	○P	○
	血清中ホルモン濃度への作用	④Wägar ら(1981)	○	○N	×
		⑤Vanhoorne ら(1994)評価未実施			
		⑥Vanhoorne ら(1993)評価未実施			
		⑦Lindbohm ら(1991)評価未実施			
(3) 副腎影響		①Caroldi ら(1984a) 評価未実施			
		②Caroldi ら(1984b) 評価未実施			
今後の対応案	動物試験の報告において、抗アンドロゲン様作用を示すこと、疫学的調査の報告において、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用及び甲状腺への作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。				

1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない

2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない

3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、  
—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

#### 参考文献

Zenick H, Blackburn K, Hope E and Baldwin D (1984) An evaluation of the copulatory, endocrinologic, and spermatotoxic effects of carbon disulfide in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 73 (2), 275-283.((1)本文中の作用の区分①報告の番号を示す。以下同じ。)

Tepe SJ and Zenick H (1984) The effects of carbon disulfide on the reproductive system of the male rat. *Toxicology*, 32 (1), 47-56.((1)②)

Saillenfait AM, Bonnet P and de Ceaurriz J (1989) Effects of inhalation exposure to carbon disulfide and its combination with hydrogen sulfide on embryonal and fetal development in rats. *Toxicology Letters*, 48 (1), 57-66.((1)③)

Tsai ML, Chang JH, Huang BM and Liu MY (2000) *In vivo* exposure to carbon disulfide increases the contraction frequency of pregnant rat uteri through an indirect pathway. *Life Sciences*, 66 (3), 201-208.((1)④)

Zhou SY, Liang YX, Chen ZQ and Wang YL (1988) Effects of occupational exposure to low-level carbon disulfide (CS<sub>2</sub>) on menstruation and pregnancy. *Industrial Health*, 26 (4), 203-214.((2)①)

Takebayashi T, Nishiwaki Y, Nomiyama T, Uemura T, Yamauchi T, Tanaka S, Sakurai H and Omae K (2003) Lack of relationship between occupational exposure to carbon disulfide and endocrine dysfunction: a six-year cohort study of the Japanese rayon workers. *Journal of Occupational Health*, 45 (2), 111-118.((2)②)

Wägar G, Tolonen M, Tanner P and Helpio E (1983) Serum gonadotropins and testosterone in men occupationally exposed to carbon disulfide. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 11 (4-6), 691-701.((2)③)

Wägar G, Tolonen M, Stenman UH and Helpio E (1981) Endocrinologic studies in men exposed occupationally to carbon disulfide. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 7 (3-4), 363-371.((2)④)

Vanhoorne M, Comhaire F and De Bacquer D (1994) Epidemiological study of the effects of carbon disulfide on male sexuality and reproduction. *Archives of Environmental Health*, 49 (4), 273-278.((2)⑤)

Vanhoorne M, Vermeulen A and De Bacquer D (1993) Epidemiological study of endocrinological effects of carbon disulfide. *Archives of Environmental Health*, 48 (5), 370-375.((2)⑥)

Lindbohm ML, Hemminki K, Bonhomme MG, Anttila A, Rantala K, Heikkila P and Rosenberg MJ (1991) Effects of paternal occupational exposure on spontaneous abortions. *American Journal of Public Health*, 81 (8), 1029-1033.((2)⑦)

Caroldi S, Jarvis JA and Magos L (1984a) *In vivo* inhibition of dopamine- $\beta$ -hydroxylase in rat adrenals during exposure to carbon disulphide. *Archives of Toxicology*, 55 (4), 265-267.((3)①)

Caroldi S, Jarvis J and Magos L (1984b) Stimulation of dopamine- $\beta$ -hydroxylase in rat adrenals by repeated exposures to carbon disulphide. *Biochemical Pharmacology*, 33 (12), 1933-1936.((3)②)

#### IV. フェンバレレート

##### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

フェンバレレート及びその構成物質であるエスフェンバレレートの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、生殖影響、甲状腺影響、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、アンドロゲン、抗アンドロゲン作用、プロゲステロン作用、抗プロゲステロン作用、卵胞及び顆粒膜細胞への影響、ライディッヒ腫瘍細胞への影響及び精子への影響の有無に関する報告がある。なお、本物質の主な用途は、農薬(殺虫剤)である。

##### (1)生態影響

###### ○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告

①Day と Kaushik (1987)によって、フェンバレレート 0.005、0.01、0.05、0.10 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 48 時間齢以後から死亡までばく露したミジンコ属の一種(*Daphnia galeata mendotae*)への影響が検討されている。その結果として、0.005 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で出産当出産仔数の低値、0.01 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で総出産仔数の低値、0.01 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で生存日数、出産回数の低値(ただし 0.005 $\mu\text{g/L}$  のばく露区では高値)が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、出産当出産仔数、総出産仔数、生存日数、出産回数の低値について、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定される作用メカニズム：毒性

②Pieters と Liess (2006)によって、フェンバレレート 0.03、0.1、0.3、0.6、1.0 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 24 時間齢未満から 24 時間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響(ばく露終了から 21 日間試験)が検討されている。その結果として、0.3 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で増殖速度の低値、初出産までの所要日数の遅延、0.6 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で生存率、累積総産仔数の低値が認められた。

また、フェンバレレート 0.03、0.06、0.13、0.25、0.50 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に貧栄養条件にて 24 時間齢未満から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*)への影響(ばく露終了から 21 日間試験)が検討されている。その結果として、0.3 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で増殖速度の低値、0.6 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で初出産までの所要日数の遅延、1.0 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で体長の低値、累積総産仔数の低値(0.1 及び 0.3 $\mu\text{g/L}$  のばく露区では高値)が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、増殖速度、生存率、累積総産仔数、体長の低値、初出産までの所要日数の遅延について、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。

「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、内分泌

かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定される作用メカニズム：毒性

#### ○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

- ③McKee と Knowles (1986)によって、フェンバレレート 0.03、0.06、0.13、0.25、0.50 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に富栄養条件にて 24 時間齢未満から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響が検討されている。その結果として、0.25 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で累積出産仔数の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の入手先及び純度の記載が無いことから、記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：毒性

#### ※参考 生態影響（今回評価対象としなかった文献）

- ④Floyd ら(2008)によって、フェンバレレート 0.072 $\pm$ 0.01、0.455 $\pm$ 0.03、1.142 $\pm$ 0.19 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)に 8 日齢から 4 時間ばく露したファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)幼生への影響が検討されている。その結果として、0.455 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で視運動試験における遊泳時間（ばく露終了直後 10 分間）の低値、摂餌量低下個体率（ばく露終了 1 日後）、遊泳異常個体率（ばく露終了 1 日後）、対幼若イトヨ被捕食試験（ばく露終了直後 45 分間）における被捕食率の高値が認められた。

## (2)生殖影響

#### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Pine ら(2008)によって、エスフェンバレレート 0.5、1、5 mg/kg/day を 22 日齢から膣開口日まで経口投与した幼若雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、1 mg/kg/day 以上のばく露群で膣開口日の遅延、血清中エストラジオール濃度(29 日齢朝 10:00)、血清中黄体形成ホルモン濃度(29 日齢朝 15:00)の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、膣開口日の遅延、血清中エストラジオール濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

- ②Liu ら(2011)によって、フェンバレレート 7.5、30mg/kg/day を 28 日齢から 56 日齢まで経口投与した雌雄 ICR マウスへの影響(大脳皮質中濃度及び相対発現量を測定)が検討されている。その結果



として、雄において、7.5mg/kg/day 以上のばく露群で 17 $\beta$ -HSD 相対発現量の低値、アンドロゲン受容体相対発現量の高値、30mg/kg/day のばく露群でテストステロン濃度の低値、エストロゲン受容体  $\beta$  相対発現量の高値が認められた。雌において、7.5mg/kg/day 以上のばく露群でテストステロン濃度、アンドロゲン受容体相対発現量の高値、30mg/kg/day のばく露群で 17 $\beta$ -エストラジオール濃度、CYP450sc 相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄において、テストステロン濃度の低値、アンドロゲン受容体相対発現量、エストロゲン受容体  $\beta$  相対発現量の高値が認められ、雌において、テストステロン濃度、アンドロゲン受容体相対発現量、17 $\beta$ -エストラジオール濃度の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：性ホルモンの生合成と性ホルモン受容体生成に関する影響

③Arena ら(2008)によって、フェンバレレート 20、40mg/kg/day を 30 日間経口投与した成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、20mg/kg/day 以上のばく露群で精巣絶対重量の低値、40mg/kg/day のばく露群で精巣上体絶対重量、日毎精巣中精子産生量、日毎精巣重量当精子産生量、精巣中精子数、精巣重量当精子数、精巣上体中精子数、精巣上体重量当精子数の低値が認められた。

また、フェンバレレート 0.4、1、4、8、40mg/kg/day を 20~22 日齢から 3 日間経口投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されているが、子宮相対重量には影響は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、日毎精巣中精子産生量、日毎精巣重量当精子産生量、精巣中精子数、精巣重量当精子数、精巣上体中精子数、精巣上体重量当精子数の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用

#### ※参考 生殖影響（今回評価対象としなかった文献）

④Zhao ら(2011)によって、フェンバレレート 15、60mg/kg/day を 28 日間経口投与した成熟雄 CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、15mg/kg/day 以上のばく露群で精巣絶対及び相対重量の低値、精細管中アポトーシス細胞数、精細管中アポトーシス細胞率、精巣中精細管 Stage VII-VIII 存在率、精巣中活性カスパーゼ-3 相対発現量、精巣中活性カスパーゼ-3/プロカスパーゼ-3 比、精巣中 Fas 相対発現量、精巣中 FasL 相対発現量の高値、60mg/kg/day のばく露群で精巣中精細管 Stage IX-XII 存在率、精巣中プロカスパーゼ-3 相対発現量の高値が認められた。

- ⑤Zhang ら(2010)によって、フェンバレレート 30mg/kg/day を妊娠 13 日目から妊娠 18 日目まで経口投与した CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、雄胎仔において、肛門生殖突起間距離、精巢中 P45017a mRNA 相対発現量、精巢中 P45017a 相対発現量、精巢中 StAR 相対発現量、精巢中ライディッヒ細胞の小型クラスター存在率の低値が認められた。また、80 日齢雄胎仔において、精巢中精細管 Stage VII-VIII 存在率、精巢中 P45017a mRNA 相対発現量、精巢中 P45017a 相対発現量、精巢中 17β-HSD mRNA 相対発現量、精巢絶対重量、精巢上体絶対重量、精巢上体中精子数の低値が認められた。
- ⑥Guerra ら(2011)によって、フェンバレレート 40mg/kg/day を妊娠 12 日目から哺育 21 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、雌仔動物において、1 日齢体重、75 日齢体重、75 日齢卵巣絶対及び相対重量、75 日齢前胎状卵胞数、75 日齢黄体数の低値が認められた。また、80 日齢雌仔動物の交配試験(妊娠 20 日目に開腹)において、母動物体重、生存胎仔数の低値、初期吸収胚数、着床後胚消失率の高値が認められた。
- ⑦Nassr ら(2010)によって、フェンバレレート 40mg/kg/day を妊娠 12 日目から哺育 21 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、雄及び雌新生仔において、体重の低値が認められた。また、60 日齢雄仔動物において、精巢絶対重量、精巢上体絶対重量、日毎精巢中精子産生量、精巢中精子数、精巢上体頭部及び胴部中精子数、精巢上体頭部及び胴部中精子数重量当精子数、交配試験における射精後の初挿入行動潜時の低値、交配試験における射精回数の高値が認められた。
- ⑧Zhang ら(2009)によって、フェンバレレート 60mg/kg/day を妊娠 0 日目から哺育 21 日目まで経口投与した ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、21 日齢雄離乳仔において、精巢絶対及び相対重量、精巢中ライディッヒ細胞数、精巢中 P450scc mRNA 相対発現量、精巢中 P450scc 相対発現量、精巢中 P45017a 相対発現量の低値、精巢中精細管アポトーシス発生率、精細管中生殖細胞アポトーシス発生率、精巢中アポトーシス係数の高値が認められた。また、80 日齢雄仔動物において、精巢絶対及び相対重量、前立腺(精嚢も含む)絶対及び相対重量、精巢上体中精子数、精巢中精細管 Stage VII-VIII 存在率の低値が認められた。
- ⑨Zhang ら(2010)によって、フェンバレレート 60mg/kg/day を 35 日齢から 63 日齢まで経口投与した CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、精巢上体中精子数、血清中テストステロン濃度、精巢中テストステロン濃度、精巢中 StAR mRNA 相対発現量、精巢中 P45017a 相対発現量、精巢中 P45017a mRNA 相対発現量、精巢中 P450scc 相対発現量、精巢中 P450scc mRNA 相対発現量の低値、精巢中アポトーシス細胞密度、精細管アポトーシス発生頻度の高値が認められた。

### (3)甲状腺影響

#### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Giray ら(2010)によって、フェンバレレート 100mg/kg/day を 1 週間腹腔内投与(3 週齢から 7 週間の各種餌投与における最後週に相当)した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、普通餌投与条件において、血清中総トリヨードサイロニン濃度の高値が認められた。また、

ヨウ素欠乏餌投与条件において、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値、甲状腺相対重量、血清中総サイロキシン濃度、血清中総トリヨードサイロニン濃度の高値が認められた。セレン欠乏餌投与条件において、血清中総サイロキシン濃度の低値、甲状腺相対重量、血清中総トリヨードサイロニン濃度の高値、ヨウ素及びセレン欠乏餌投与条件において、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値、血清中総サイロキシン濃度、血清中総トリヨードサイロニン濃度の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、投与期間の記載が不明確であること、用いた統計解析手法が最適ではないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、血清中総トリヨードサイロニン濃度の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：視床下部－下垂体－甲状腺軸への作用

#### (4)エストロゲン作用

##### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Chenら(2002)によって、フェンバレレート 0.00001～1  $\mu\text{M}$ (=0.0042～420 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に144時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による E-Screen Assay(細胞増殖試験)が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、0.0001 $\mu\text{M}$ (=0.042 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度で細胞増殖を誘導した(エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182.780 による誘導阻害も確認)。

また、フェンバレレート 0.0001～1  $\mu\text{M}$ (=0.042～420 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に6時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 によるエストロゲン応答遺伝子 PS2 mRNA 相対発現量への影響が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、1  $\mu\text{M}$ (=420 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度で PS2 mRNA の発現を誘導した。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、細胞増殖及び PS2 mRNA 発現の誘導が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

②Goら(1999)によって、フェンバレレート 0.001～100 $\mu\text{M}$ (=0.42～42,000 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に6時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による E-Screen Assay(細胞増殖試験)が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、10 $\mu\text{M}$ (=4,200 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度で細胞増殖を誘導した。

また、フェンバレレート 30 $\mu\text{M}$ (=12,600 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に48時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 によるエストロゲン応答遺伝子 PS2 mRNA 相対発現量への影響が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、PS2 mRNA の発現を誘導した(ただし、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182.780 による誘導阻害なし)。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、細胞増殖及び PS2 mRNA 発現の誘導が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

- ③Garey と Wolff (1998)によって、フェンバレレート 0.1~10 $\mu$ M(=42.0~4,200 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト子宮内膜腺がん細胞 Ishikawa Var-I によるアルカリ性フォスファターゼ活性相対発現量への影響が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、EC<sub>50</sub> 値 1.1 $\mu$ M(=462 $\mu$ g/L)の濃度でアルカリ性フォスファターゼ活性発現を誘導した。

また、フェンバレレート 30 $\mu$ M(=12,600 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト子宮内膜腺がん細胞 Ishikawa Var-I によるアルカリ性フォスファターゼ活性相対発現量への影響が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、アルカリ性フォスファターゼ活性発現を誘導した。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、用いた細胞の入手先が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、アルカリ性フォスファターゼ活性発現の誘導が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

#### ○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

- ④Kunimatsu ら(2002)によって、エスフェンバレレート 5、10、20mg/kg/day を 3 日間経口投与した卵巣摘出雌 SD ラットへの影響(OECD 準拠子宮肥大試験)が検討されているが、体重、肝臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、子宮絶対及び相対重量には影響は認められなかった。

また、フェンバレレート 20、40、80mg/kg/day を 3 日間経口投与した卵巣摘出雌 SD ラットへの影響(OECD 準拠子宮肥大試験)が検討されているが、体重、肝臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、子宮絶対及び相対重量には影響は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、子宮絶対及び相対重量には影響は認められなかった。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

#### ※参考 エストロゲン作用（今回評価対象としなかった文献）

- ⑤Gao ら(2010)によって、フェンバレレート 0.1、1、10 $\mu$ M(=42、420、4,200 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した子宮平滑筋腫細胞 UtLM(ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ活性発

現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ活性発現誘導は認められなかった。

また、フェンバレレート 0.1、1、10 $\mu$ M(=42、420、4,200 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露した子宮平滑筋腫細胞 UtLM(ヒトエストロゲン受容体 $\beta$ を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ活性発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ活性発現誘導は認められなかった。

フェンバレレート 0.1、1、10 $\mu$ M(=42、420、4,200 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露した子宮平滑筋細胞 UtSMC(ヒトエストロゲン受容体 $\alpha$ を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ活性発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ活性発現誘導は認められなかった。

また、フェンバレレート 0.1、1、10 $\mu$ M(=42、420、4,200 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露した子宮平滑筋細胞 UtSMC(ヒトエストロゲン受容体 $\beta$ を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ活性発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ活性発現誘導は認められなかった。

⑥Saitoら(2000)によって、フェンバレレート 10 $\mu$ M(=4,200 $\mu$ g/L)の濃度に40時間ばく露したヒト子宮頸がん細胞 Hela(ヒトエストロゲン受容体 $\alpha$ を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、細胞増殖誘導は認められなかった。

また、フェンバレレート 10 $\mu$ M(=4,200 $\mu$ g/L)に4時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体 $\alpha$ を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた $\beta$ ガラクトシダーゼ活性発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ ガラクトシダーゼ活性発現誘導は認められなかった。

## (5)抗エストロゲン作用

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Kimら(2004)によって、フェンバレレート 1 $\mu$ M(=420 $\mu$ g/L)の濃度に6時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7による E-Screen Assay(細胞増殖試験)が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、17 $\beta$ -エストラジオール 0.1nMによる細胞増殖誘導を阻害した。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、17 $\beta$ -エストラジオールによる細胞増殖誘導の阻害が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

②Chenら(2002)によって、SDラット子宮サイトゾル由来エストロゲン受容体を用いた結合阻害試験が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、IC<sub>50</sub>値 479 $\mu$ M(=201,000 $\mu$ g/L)の濃度で標識 17 $\beta$ -エストラジオール 1nMによる結合を阻害した。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials

and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、標識 17 $\beta$ -エストラジオールの結合の阻害が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

#### ※参考 抗エストロゲン作用（今回評価対象としなかった文献）

③Gao ら(2010)によって、フェンバレレート 1  $\mu$ M(=420 $\mu$ g/L)までの濃度範囲で、ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  を用いた結合阻害試験が検討されているが、17 $\beta$ -エストラジオール 5.9nM による結合に対する阻害は認められなかった。結合阻害は認められなかった。

また、フェンバレレート 1  $\mu$ M(=420 $\mu$ g/L)までの濃度範囲で、ヒトエストロゲン受容体  $\beta$  を用いた結合阻害試験が検討されているが、17 $\beta$ -エストラジオール 20.8nM の結合に対する阻害は認められなかった。

④Saito ら(2000)によって、フェンバレレート 10 $\mu$ M(=4,200 $\mu$ g/L)の濃度に 40 時間ばく露したヒト子宮頸がん細胞 Hela (ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、17 $\beta$ -エストラジオール 0.1nM による細胞増殖誘導の阻害は認められなかった。

また、フェンバレレート 10 $\mu$ M(=4,200 $\mu$ g/L)の濃度に 4 時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$  ガラクトシダーゼ活性発現誘導)が検討されているが、17 $\beta$ -エストラジオール 0.1nM による  $\beta$  ガラクトシダーゼ活性発現誘導の阻害は認められなかった。

また、フェンバレレート 0.01~10 $\mu$ M(=4.2~4,200 $\mu$ g/L)の濃度範囲で、ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  を用いた結合阻害試験(蛍光ポーラリゼーション法)が検討されているが、結合阻害は認められなかった。

## (6)アンドロゲン作用

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

①Kunimatsu ら(2002)によって、エスフェンバレレート 5、10、20mg/kg/day を 5 日間経口投与した精巣摘出雄 SD ラットへの影響(OECD 準拠 Hershberger 試験)が検討されているが、体重、肝臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、肛門挙筋(球海綿体筋を含む)絶対重量には影響は認められなかった。

また、フェンバレレート 20、40、80mg/kg/day を 5 日間経口投与した精巣摘出雄 SD ラットへの影響(OECD 準拠 Hershberger 試験)が検討されているが、体重、肝臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、肛門挙筋(球海綿体筋を含む)絶対重量には影響は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価され

た。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、肛門挙筋絶対重量には影響は認められなかった。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

## (7)抗アンドロゲン作用

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Xu ら(2006)によって、フェンバレレート 0.1、1、10 $\mu$ M(=42、420、4,200 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたクロラムフェニコールトランスフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、10 $\mu$ M(=4,200 $\mu$ g/L)の濃度で 5 $\alpha$ -ジヒドロテストテロン 0.5nM によるクロラムフェニコールトランスフェラーゼ発現誘導を阻害した。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、試験結果に推定値が記載されていることから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、5 $\alpha$ -ジヒドロテストテロンによるクロラムフェニコールトランスフェラーゼ発現誘導の阻害が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

②Sun ら(2007)によって、フェンバレレート 1、10、100 $\mu$ M(=4420、4,200、42,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、100 $\mu$ M(=42,000 $\mu$ g/L)の濃度で 5 $\alpha$ -ジヒドロテストテロン 1nM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害した。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、被験物質の入手先及び純度の記載が無いことから、記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

③Kunimatsu ら(2002)によって、エスフェンバレレート 5、10、20mg/kg/day を 5 日間経口投与(及びテストステロンプロピオネート 0.25mg/kg/day を 5 日間連続皮下注射)した精巣摘出雄 SD ラットへの影響(OECD 準拠 Hershberger 試験)が検討されている。その結果として、20mg/kg/day の投与群で、体重、腎臓絶対重量(相対重量は有意差なし)の低値が認められたが、肝臓絶対及び相対重量、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、肛門挙筋(球海綿体筋を含む)絶対重量には影響は認められな

かった。

また、フェンバレレート 20、40、80mg/kg/day を5日間経口投与(及びテストステロンプロピオネート 0.25mg/kg/day を5日間連続皮下注射)した精巣摘出雄 SD ラットへの影響(OECD 準拠 Hershberger 試験)が検討されている。その結果として、80mg/kg/day の投与群で、体重、腎臓絶対重量の低値(相対重量は有意差なし)が認められたが、肝臓絶対及び相対重量、精嚢絶対重量、前立腺絶対重量、肛門挙筋(球海綿体筋を含む)絶対重量には影響は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精嚢絶対重量、前立腺絶対重量、肛門挙筋絶対重量には影響は認められなかった。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

## (8)プロゲステロン作用

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

①Garey と Wolff (1998)によって、フェンバレレート 30 $\mu$ M(=12,600 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D によるアルカリ性フォスファターゼ活性相対発現量への影響が検討されているが、アルカリ性フォスファターゼ発現誘導は認められなかった。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、用いた細胞の入手先が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、アルカリ性フォスファターゼ発現誘導は認められなかった。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

※参考 プロゲステロン作用 (今回評価対象としなかった文献)

②Kim ら(2005)によって、フェンバレレート 1 $\mu$ M(=420 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D によるアルカリ性フォスファターゼ活性相対発現量への影響が検討されているが、アルカリ性フォスファターゼ発現誘導は認められなかった。

③Sumida ら(2001)によって、フェンバレレート 0.001、0.01、0.1、10 $\mu$ M(=0.42、4.2、42、420、4,200 $\mu$ g/L)の濃度に 28 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D (ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(プロゲステロン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ活性発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ活性発現誘導は認められなかった。

また、フェンバレレート 10 $\mu$ M(=4,200 $\mu$ g/L)の濃度に 4 時間ばく露した酵母(ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(プロゲステロン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ ガラクトシダーゼ活性発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ ガラクトシダーゼ活性



発現誘導は認められなかった。

## (9)抗プロゲステロン作用

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Garey と Wolff (1998)によって、フェンバレレート 30 $\mu$ M(=12,600 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D によるアルカリ性フォスファターゼ活性相対発現量への影響が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、プロゲステロン 1 ppm によるアルカリ性フォスファターゼ活性誘導を阻害した。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、用いた細胞の入手先が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、プロゲステロンによるアルカリ性フォスファターゼ活性誘導の阻害が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

### ※参考 抗プロゲステロン作用（今回評価対象としなかった文献）

- ②Kim ら(2005)によって、フェンバレレート 1  $\mu$ M(=420 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D によるアルカリ性フォスファターゼ活性相対発現量への影響が検討されているが、プロゲステロン 10nM によるアルカリ性フォスファターゼ発現誘導の阻害は認められなかった。

- ③Sumida ら(2001)によって、フェンバレレート 10 $\mu$ M(=4,200 $\mu$ g/L)に 28 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D (ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(プロゲステロン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ活性発現誘導)が検討されているが、プロゲステロン 10nM によるルシフェラーゼの阻害は認められなかった。

また、フェンバレレート 10 $\mu$ M(=4,200 $\mu$ g/L)に 4 時間ばく露した酵母(ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(プロゲステロン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ ガラクトシダーゼ活性発現誘導)が検討されているが、プロゲステロン 10nM による  $\beta$ ガラクトシダーゼ活性発現誘導の阻害は認められなかった。

また、フェンバレレート 0.001~10 $\mu$ M(=0.42~4,200 $\mu$ g/L)の濃度範囲で、ヒトプロゲステロン受容体(無傷ヒト乳がん細胞 T47D)を用いた結合阻害試験が検討されているが、標識プロゲステロン 300nM による結合の阻害は認められなかった。

## (10)卵胞及び顆粒膜細胞への影響

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Fei ら(2010)によって、フェンバレレート 1、5、25 $\mu$ M(=420、2,100、10,500 $\mu$ g/L)に 72 時間ばく露したラット由来前胞状卵胞への影響が検討されている。その結果として、1  $\mu$ M(=420 $\mu$ g/L)以上のばく露区で細胞直径、プロゲステロン産生量、StAR mRNA 相対発現量の低値、5

$\mu\text{M}(=2,100\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でテストステロン産生量、 $17\beta$ -エストラジオール産生量、P450scc mRNA 相対発現量の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、プロゲステロン産生量、StAR mRNA 相対発現量、テストステロン産生量、 $17\beta$ -エストラジオール産生量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：ホルモン産生への影響、卵胞生育阻害

②Chen ら(2005)によって、フェンバレレート 1、5、25、125、625 $\mu\text{M}(=420、2,100、10,500、52,500、262,500\mu\text{g/L})$ に 24 時間ばく露したラット由来顆粒膜細胞(一次培養)への影響が検討されている。その結果として、5  $\mu\text{M}(=2,100\mu\text{g/L})$  以上のばく露区でプロゲステロン産生量の低値、25 $\mu\text{M}(=10,500\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区で P450sec 相対発現量の低値、StAR 相対発現量の高値が認められた。

また、フェンバレレート 25、125 $\mu\text{M}(=10,500、52,500\mu\text{g/L})$ に 24 時間ばく露したラット由来顆粒膜細胞(一次培養)への影響が検討されている。その結果として、25 $\mu\text{M}(=10,500\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でプロゲステロン産生量(基底状態)、プロゲステロン産生量(2 mg/L 卵胞刺激ホルモン刺激性)、プロゲステロン産生量(1 mM 8-Br-cAMP 刺激性)の低値が認められた。

また、フェンバレレート 1、5、25、125、625 $\mu\text{M}(=420、2,100、10,500、52,500、262,500\mu\text{g/L})$ に 24 時間ばく露したラット由来顆粒膜細胞(一次培養、卵胞刺激ホルモン 2 mg/L 共存下)への影響が検討されている。その結果として、5  $\mu\text{M}(=2,100\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区で P450sec 相対発現量の低値、25 $\mu\text{M}(=10,500\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区で cAMP 相対発現量の低値が認められた。(8783)(〇〇P、p.33~34)

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、プロゲステロン産生量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン産生の阻害

③He ら(2004)によって、フェンバレレート 1、5、25、125 $\mu\text{M}(=420、2,100、10,500、52,500\mu\text{g/L})$ に 24 時間ばく露したヒト由来黄体形成顆粒細胞(一次培養、アカゲザル卵胞刺激ホルモン 200ng/mL 共存下)への影響が検討されている。その結果として、5  $\mu\text{M}(=2,100\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でプロゲステロン産生量の低値、125 $\mu\text{M}(=52,500\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区で cAMP 産生量の低値が認められた。

また、フェンバレレート 5、25、125 $\mu\text{M}(=2,100、10,500、52,500\mu\text{g/L})$ に 24 時間ばく露したヒ

ト由来黄体形成顆粒細胞(一次培養)への影響が検討されている。その結果として、 $5\mu\text{M}(=2,100\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でカルモジュリン産生量の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、プロゲステロン産生量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン産生の阻害

## (11)ライディッヒ腫瘍細胞への影響

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Quら(2012)によって、フェンバレレート1、5、25、 $125\mu\text{M}(=420、2,100、10,500、52,500\mu\text{g/L})$ に24時間(ヒト絨毛性ゴナドトロピン $0.1\text{U/mL}$ に4時間処理後)ばく露したマウス由来ライディッヒ腫瘍細胞 MLTC-1 への影響が検討されている。その結果として、 $1\mu\text{M}(=420\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でインシュリン様成長因子 IGF-1 mRNA 相対発現量の低値、 $25\mu\text{M}(=10,500\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でインシュリン様成長因子 IGF-1 産生量、プロゲステロン産生量の低値が認められた。

また、フェンバレレート  $25\mu\text{M}(=10,500\mu\text{g/L})$ に24時間(ヒト絨毛性ゴナドトロピン $0.1\text{U/mL}$ に4時間処理後)ばく露したマウス由来ライディッヒ腫瘍細胞 MLTC-1 への影響が検討されている。その結果として、 $25\mu\text{M}(=10,500\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区で細胞外シグナル調節キナーゼ 1/2 相対活性の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、プロゲステロン産生量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン産生の阻害

②Quら(2008)によって、フェンバレレート1、5、25、 $125\mu\text{M}(=420、2,100、10,500、52,500\mu\text{g/L})$ に24時間(コレラトキシン $30\text{ng/mL}$ に4時間処理後)ばく露したマウス由来ライディッヒ腫瘍細胞 MLTC-1 への影響が検討されている。その結果として、 $1\mu\text{M}(=420\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でプロゲステロン産生量の低値が認められた。

また、フェンバレレート1、5、25、 $125\mu\text{M}(=420、2,100、10,500、52,500\mu\text{g/L})$ に24時間(フォルスコリン $10\mu\text{M}$ に4時間処理後)ばく露したマウス由来ライディッヒ腫瘍細胞 MLTC-1 への影響が検討されている。その結果として、 $5\mu\text{M}(=2,100\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でプロゲステロン産生量の低値が認められた。

また、フェンバレレート1、5、25、 $125\mu\text{M}(=420、2,100、10,500、52,500\mu\text{g/L})$ に24時間(8-

プロモ-cAMP 500 $\mu$ M に4時間処理後)ばく露したマウス由来ライディッシュ腫瘍細胞 MLTC-1 への影響が検討されている。その結果として、5 $\mu$ M(=2,100 $\mu$ g/L)以上のばく露区でプロゲステロン産生量の低値が認められた。

また、フェンバレレート 1、5、25、125 $\mu$ M(=420、2,100、10,500、52,500 $\mu$ g/L)に24時間(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 0.1U/mL に4時間処理後)ばく露したマウス由来ライディッシュ腫瘍細胞 MLTC-1 への影響が検討されている。その結果として、5 $\mu$ M(=2,100 $\mu$ g/L)以上のばく露区でプロゲステロン産生量、P450sec mRNA 相対発現量、P450sec 相対発現量、StAR mRNA 相対発現量、StAR 相対発現量の低値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、プロゲステロン産生量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された。

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン産生の阻害

## (12)精子への影響

○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告

①Song ら(2008)によって、フェンバレレート 1、4、16、64 $\mu$ M(=420、1,680、6,720、26,880 $\mu$ g/L)に1時間ばく露したラット由来精子への影響が検討されている。その結果として、16 $\mu$ M(=6,720 $\mu$ g/L)以上のばく露区で Beat Frequency (BCF:頭部振動数)、Linearity (LIN:直線性)の低値、64 $\mu$ M(=26,880 $\mu$ g/L)のばく露区で前進運動性精子率、Progressive Velocity (VSL:直線地点移動速度)の低値、Path Velocity (VAP:進行方向性速度)の高値が認められた。

この報告については、「報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、Beat Frequency、Linearity、前進運動性精子率、Progressive Velocity の低値、Path Velocity の高値について、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定される作用メカニズム：不明

## ※参考

### (13)発達影響（今回評価対象としなかった文献）

①Meng ら(2011)によって、フェンバレレート 7.5、30mg/kg/day を28日齢から56日齢まで経口投与した雌雄 ICR マウスへの影響(67~73日齢にかけて行動試験を実施)が検討されている。その結果として、雄において、7.5mg/kg/day のばく露群でオープンフィールド探索及び不安行動試験における peripheral time の低値、30mg/kg/day のばく露群で Morris 水迷路試験における遊泳速度、

オープンフィールド探索及び不安行動試験における white alley 侵入潜時の低値が認められた。また雌において、7.5mg/kg/day 以上のばく露群で Morris 水迷路試験における Time Proportion of objective quadrant、逃避行動潜時、遊泳距離の低値、7.5mg/kg/day 以上のばく露群で Morris 水迷路試験における objective quadrant 横断回数の低値、30mg/kg/day のばく露群でオープンフィールド探索及び不安行動試験における peripheral time の高値が認められた。

## ※参考

### (14) 子宮平滑筋細胞への影響（今回評価対象としなかった文献）

①Gao ら(2010)によって、フェンバレレート 0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=4.2、42、420、4,200 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した子宮平滑筋腫細胞 UtLM への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=42 $\mu$ g/L)以上のばく露区で細胞増殖試験における BrdU 取り込み率の高値、10 $\mu$ M(=4,200 $\mu$ g/L)以上のばく露区で細胞増殖試験における細胞数の高値が認められた。

フェンバレレート 10 $\mu$ M(=4,200 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した子宮平滑筋腫細胞 UtLM への影響が検討されている。その結果として、アポトーシス細胞率の低値、コラーゲン I mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、フェンバレレート 0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=4.2、42、420、4,200 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した子宮平滑筋細胞 UtSMC への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=42 $\mu$ g/L)以上のばく露区で細胞増殖試験における細胞数の高値、1  $\mu$ M(=420 $\mu$ g/L)以上のばく露区で細胞増殖試験における BrdU 取り込み率の高値が認められた。

フェンバレレート 10 $\mu$ M(=4,200 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した子宮平滑筋細胞 UtSMC への影響が検討されている。その結果として、アポトーシス細胞率の低値、コラーゲン I mRNA 相対発現量の高値が認められた。

## 2. 総合的判断(案)

試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、動物試験の報告において、抗アンドロゲン様作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用及び性ホルモンの生合成と性ホルモン受容体生成に関する影響を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗プロゲステロン作用、ホルモン産生への影響及び視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用(プロゲステロン合成系)を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 4 に示した。

表4 信頼性評価のまとめ

物質名：フェンバレレート

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>	
(1) 生態影響	毒性	①Day と Kaushik (1987)	○	?	—
	毒性	②Pieters と Liess (2006)	○	?	—
	毒性	③McKee と Knowles (1986)	×	—	×
	評価未実施	④Floyd ら(2008)			
(2) 生殖影響	視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用	①Pine ら(2008)	○	○P	○
	性ホルモンの合成と性ホルモン受容体生成に関する影響	②Liu ら(2011)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用	③Arena ら(2008)	○	○P	○
		④Zhao ら(2011)評価未実施			
		⑤Zhang ら(2010)評価未実施			
		⑥Guerra ら(2011)評価未実施			
		⑦Nassr ら(2010)評価未実施			
		⑧Zhang ら(2009)評価未実施			
	⑨Zhang ら(2010)評価未実施				
(3) 甲状腺影響	視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	①Giray ら(2010)	△	○P	○

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>	
(4)エストロゲン作用	①Chen ら(2002)	○	○P	○	
	②Go ら(1999)	○	○P	○	
	③Garey と Wolff (1998)	△	○P	○	
	④Kunimatsu ら(2002)	○	○N	×	
	⑤Gao ら(2010)評価未実施				
	⑥Saito ら(2000)評価未実施				
(5)抗エストロゲン作用	①Kim ら(2004)	○	○P	○	
	②Chen ら(2002)	○	○P	○	
	③Gao ら(2010)評価未実施				
	④Saito ら(2000)評価未実施				
(6)アンドロゲン作用	①Kunimatsu ら(2002)	○	○N	×	
(7)抗アンドロゲン作用	①Xu ら(2006)	○	○P	○	
	②Sun ら(2006)	×	—	×	
	③Kunimatsu ら(2002)	○	○N	×	
(8)プロゲステロン作用	①Garey と Wolff (1998)	△	○N	×	
	②Kim ら(2005)評価未実施				
	③Sumida ら(2001)評価未実施				
(9)抗プロゲステロン作用	①Garey と Wolff (1998)	△	○P	○	
	②Kim ら(2005)評価未実施				
	③Sumida ら(2001)評価未実施				
(10) 卵胞	ホルモン産生への影響、卵胞生育障害	①Fei ら(2010)	○	○P	○

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>	
及び顆粒膜細胞への影響	ステロイドホルモン産生の阻害	②Chen ら(2005)	○	○P	○
	ステロイドホルモン産生の阻害	③He ら(2004)	○	○P	○
(11) ライディック腫瘍細胞への影響	ステロイドホルモン産生の阻害	①Qu ら(2012)	○	○P	○
	ステロイドホルモン産生の阻害	②Qu ら(2008)	○	○P	○
(12) 精子への影響	不明	①Song ら(2008)	○	?	—
(13) 発達影響		①Meng ら(2011)評価未実施			



区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(14) 子宮平滑筋細胞への影響	①Gaoら(2010)評価未実施			
今後の対応案	動物試験の報告において、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用及び性ホルモンの生合成と性ホルモン受容体生成に関する影響を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗プロゲステロン作用、ホルモン産生への影響及び視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用(プロゲステロン合成系)を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない

2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない

3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

#### 参考文献

Day K and Kaushik NK (1987) An assessment of the chronic toxicity of the synthetic pyrethroid, fenvalerate, to *Daphnia galeata mendotae*, using life tables. Environmental Pollution, 44 (1), 13-26.((1)本文中の作用の区分①報告の番号を示す。以下同じ。)

Pieters BJ and Liess M (2006) Maternal nutritional state determines the sensitivity of *Daphnia magna* offspring to short-term Fenvalerate exposure. Aquatic Toxicology, 76 (3-4), 268-277.((1)②)

- McKee MJ and Knowles CO (1986) Effects of fenvalerate on biochemical parameters, survival, and reproduction of *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 12 (1), 70-84.((1)③)
- Floyd EY, Geist JP and Werner I (2008) Acute, sublethal exposure to a pyrethroid insecticide alters behavior, growth, and predation risk in larvae of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27 (8), 1780-1787.((1)③)
- Pine MD, Hiney JK, Lee B and Dees WL (2008) The pyrethroid pesticide esfenvalerate suppresses the afternoon rise of luteinizing hormone and delays puberty in female rats. *Environmental Health Perspectives*, 116 (9), 1243-1247.((2)①)
- Liu P, Meng XH, Wang H, Ji YL, Zhao M, Zhao XF, Xu ZM, Chen YH, Zhang C and Xu DX (2011) Effects of pubertal fenvalerate exposure on testosterone and estradiol synthesis and the expression of androgen and estrogen receptors in the developing brain. *Toxicology Letters*, 201 (2), 181-189.((2)①)
- Arena AC, Fernandez CD, Porto EM, Bissacot DZ, Pereira OC and Kempinas WG (2008) Fenvalerate, a pyrethroid insecticide, adversely affects sperm production and storage in male rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 71 (23), 1550-1558.((2)③)
- Zhao XF, Wang Q, Ji YL, Wang H, Liu P, Zhang C, Zhang Y and Xu DX (2011) Fenvalerate induces germ cell apoptosis in mouse testes through the Fas/FasL signaling pathway. *Archives of Toxicology*, 85 (9), 1101-1108.((2)④)
- Zhang H, Wang H, Ji YL, Zhang Y, Yu T, Ning H, Zhang C, Zhao XF, Wang Q, Liu P and Xu DX (2010) Maternal fenvalerate exposure during pregnancy persistently impairs testicular development and spermatogenesis in male offspring. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (5), 1160-1169.((2)⑤)
- Guerra MT, de Toledo FC and Kempinas Wde G (2011) *In utero* and lactational exposure to fenvalerate disrupts reproductive function in female rats. *Reproductive Toxicology*, 32 (3), 298-303. ((2)⑥)
- Nassr AC, Arena AC, Toledo FC, Bissacot DZ, Fernandez CD, Spinardi-Barbisan AL, Pires PW and Kempinas WG (2010) Effects of gestational and lactational fenvalerate exposure on immune and reproductive systems of male rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 73 (13-14), 952-964.((2)⑦)

Zhang H, Wang H, Ji YL, Ning H, Yu T, Zhang C, Zhang Y, Zhao XF, Wang Q, Liu P, Meng XH and Xu DX (2009) Lactational fenvalerate exposure permanently impairs testicular development and spermatogenesis in mice. *Toxicology Letters*, 191 (1), 47-56.((2)⑧)

Zhang H, Wang H, Wang Q, Zhao XF, Liu P, Ji YL, Ning H, Yu T, Zhang C, Zhang Y, Meng XH and Xu DX (2010) Pubertal and early adult exposure to fenvalerate disrupts steroidogenesis and spermatogenesis in mice at adulthood. *Journal of Applied Toxicology*, 30 (4), 369-377.((2)⑨)

Giray B, Caglayan A, Erkekoglu P and Hincal F (2010) Fenvalerate exposure alters thyroid hormone status in selenium- and/or iodine-deficient rats. *Biological Trace Element Research*, 135 (1-3), 233-241.((3)①)

Chen H, Xiao J, Hu G, Zhou J, Xiao H and Wang X (2002) Estrogenicity of organophosphorus and pyrethroid pesticides. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 65 (19), 1419-1435.((4)①、(5)②)

Go V, Garey J, Wolff MS and Pogo BG (1999) Estrogenic potential of certain pyrethroid compounds in the MCF-7 human breast carcinoma cell line. *Environmental Health Perspectives*, 107 (3), 173-177.((4)②)

Garey J and Wolff MS (1998) Estrogenic and antiprogestagenic activities of pyrethroid insecticides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 251 (3), 855-859.((4)③、(8)①、(9)①)

Kunimatsu T, Yamada T, Ose K, Sunami O, Kamita Y, Okuno Y, Seki T and Nakatsuka I (2002) Lack of (anti-) androgenic or estrogenic effects of three pyrethroids (esfenvalerate, fenvalerate, and permethrin) in the Hershberger and uterotrophic assays. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 35 (2 Pt 1), 227-237.((4)④、(6)①、(7)③)

Gao X, Yu L, Castro L, Moore AB, Hermon T, Bortner C, Sifre M and Dixon D (2010) An endocrine-disrupting chemical, fenvalerate, induces cell cycle progression and collagen type I expression in human uterine leiomyoma and myometrial cells. *Toxicology Letters*, 196 (3), 133-141.((4)⑤、(5)③、(14)①)

Saito K, Tomigahara Y, Ohe N, Isobe N, Nakatsuka I and Kaneko H (2000) Lack of significant estrogenic or antiestrogenic activity of pyrethroid insecticides in three *in vitro* assays based on classic estrogen receptor alpha-mediated mechanisms. *Toxicological Sciences*, 57 (1), 54-60.((4)⑥、

(5)④)

Kim IY, Shin JH, Kim HS, Lee SJ, Kang IH, Kim TS, Moon HJ, Choi KS, Moon A and Han SY (2004) Assessing estrogenic activity of pyrethroid insecticides using *in vitro* combination assays. *Journal of Reproduction and Development*, 50 (2), 245-255.((5)①)

Xu LC, Sun H, Chen JF, Bian Q, Song L and Wang XR (2006) Androgen receptor activities of *p,p'*DDE, fenvalerate and phoxim detected by androgen receptor reporter gene assay. *Toxicology Letters*, 160 (2), 151-157.((7)①)

Sun H, Xu XL, Xu LC, Song L, Hong X, Chen JF, Cui LB and Wang XR (2007) Antiandrogenic activity of pyrethroid pesticides and their metabolite in reporter gene assay. *Chemosphere*, 66 (3), 474-479. ((7)②)

Kim IY, Han SY, Kang TS, Lee BM, Choi KS, Moon HJ, Kim TS, Kang IH, Kwack SJ, Moon A, Ahn MY and Kim HS (2005) Pyrethroid insecticides, fenvalerate and permethrin, inhibit progesterone-induced alkaline phosphatase activity in T47D human breast cancer cells. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 68 (23-24), 2175-2186.((8)②、(9)②)

Sumida K, Saito K, Ooe N, Isobe N, Kaneko H and Nakatsuka I (2001) Evaluation of *in vitro* methods for detecting the effects of various chemicals on the human progesterone receptor, with a focus on pyrethroid insecticides. *Toxicology Letters*, 118 (3), 147-155.((8)③、(9)③)

Fei J, Qu JH, Ding XL, Xue K, Lu CC, Chen JF, Song L, Xia YK, Wang SL and Wang XR (2010) Fenvalerate inhibits the growth of primary cultured rat preantral ovarian follicles. *Toxicology*, 267 (1-3), 1-6.((10)①)

Chen J, Chen H, Liu R, He J, Song L, Bian Q, Xu L, Zhou J, Xiao H, Dai G, Chang HC and Wang X (2005) Effects of fenvalerate on progesterone production in cultured rat granulosa cells. *Reproductive Toxicology*, 20 (2), 195-202.((10)②)

He J, Chen J, Liu R, Wang S, Song L, Chang HC and Wang X (2004) Alterations of FSH-stimulated progesterone production and calcium homeostasis in primarily cultured human luteinizing-granulosa cells induced by fenvalerate. *Toxicology*, 203 (1-3), 61-68.((10)③)

Qu JH, Fei J, Hong X, Chen JF, Gu AH, Sun H, Xu XL, Song L, Wang SL and Wang XR (2012) Involvement of IGF-I signaling pathway in the regulation of steroidogenesis in mouse Leydig cells

treated with fenvalerate. *Toxicology*, 292 (2-3), 151-155.((11)①)

Qu JH, Hong X, Chen JF, Wang YB, Sun H, Xu XL, Song L, Wang SL and Wang XR (2008) Fenvalerate inhibits progesterone production through cAMP-dependent signal pathway. *Toxicology Letters*, 176 (1), 31-39.((11)②)

Song L, Wang YB, Sun H, Yuan C, Hong X, Qu JH, Zhou JW and Wang XR (2008) Effects of fenvalerate and cypermethrin on rat sperm motility patterns *in vitro* as measured by computer-assisted sperm analysis. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 71 (5), 325-332.((12)①)

Meng XH, Liu P, Wang H, Zhao XF, Xu ZM, Chen GH and Xu DX (2011) Gender-specific impairments on cognitive and behavioral development in mice exposed to fenvalerate during puberty. *Toxicology Letters*, 203 (3), 245-251.((13)①)