

## 資料 1 - 1

## 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について

．平成 26 年度及び平成 27 年度に実施した文献情報に基づく影響評価(信頼性評価)について

平成 24 年度から平成 26 年度までに信頼性評価を実施する対象として選定した物質のうち、表 1 に記載された 14 物質について平成 26 年度及び平成 27 年度に信頼性評価を実施した。

表 1 平成 26 年度及び平成 27 年度に信頼性評価を実施した 14 物質

	物質名	選定年度	信頼性評価 の実施年度
1	エチルベンゼン**	平成 24 年度	平成 26 年度
2	3,4-ジクロロアニリン**	平成 24 年度	平成 26 年度
3	2,4-ジニトロトルエン**	平成 24 年度	平成 26 年度
4	トリクロサン**	平成 24 年度	平成 26 年度
5	フタル酸ジイソブチル**	平成 24 年度	平成 26 年度
6	ペノミル**	平成 24 年度	平成 26 年度
7	カルベンダジム(別名：メチル=ベンゾイミダゾール-2-イルカルバマート)	平成 25 年度	平成 26 年度
8	酢酸 2-エトキシエチル(別名：エチレングリコールモノエチルエーテルアセテート)	平成 25 年度	平成 26 年度
9	ジクロロ酢酸**	平成 25 年度	平成 26 年度
10	トリクロロ酢酸**	平成 25 年度	平成 26 年度
11	フィプロニル***	平成 25 年度	平成 26 年度
12	4-ノニルフェノール(分岐型)	平成 26 年度	平成 26 年度
13	4- <i>t</i> -オクチルフェノール	平成 26 年度	平成 26 年度
14	ビスフェノール A	平成 26 年度	平成 27 年度

\*\* 要調査項目等存在状況調査測定対象物質

\*\*\* 農薬残留対策総合調査対象物質

(参考)

付表1 平成24年度に信頼性評価の対象とした22物質

名称		主な用途		
1	クレゾール	<i>m</i> -クレゾール	原料(合成樹脂、医薬、農薬、消毒剤、ワニス溶剤) <sup>1)</sup>	報告済み
		<i>o</i> -クレゾール	原料(農薬、香料、エポキシ樹脂、半導体封止材料)、消毒剤 <sup>1)</sup>	
		<i>p</i> -クレゾール	原料(フェノール樹脂、医薬、農薬、香料) <sup>1)</sup>	
2	クロロベンゼン	染料中間体、溶剤(エチルセルロース、塗料) <sup>1)</sup>	報告済み	
3	2,4-ジニトロフェノール	染料中間体 <sup>1)</sup>		
4	チオベンカルブ*	農薬(除草剤) <sup>1)</sup>		
5	1,2,3-トリクロロプロパン	洗浄剤、可塑剤原料 <sup>1)</sup>		
6	4-ヒドロキシ安息香酸メチル	防カビ剤(化粧品、医薬用) <sup>1)</sup>		
7	ヒドロキノン	写真現像薬、ゴム薬品、染料中間体 <sup>1)</sup>		
8	フェノール*	原料(ビスフェノールA、アニリン、ベークライト等合成樹脂)、中間体原料(医薬、染料、可塑剤中)、消毒剤 <sup>1)</sup>		
9	フルタミド(別名:2-メチル-N[4-ニトロ-3-(トリフルオロメチル)フェニル]プロパンアミド)	医薬(抗アンドロゲン剤) <sup>1)</sup>		
10	アセトアルデヒド**	有機中間原料、防腐剤、溶剤、還元剤、医療用 <sup>1)</sup>		
11	二硫化炭素**	溶剤(ビスコースレーヨン、セロハン)、原料(殺虫剤、医薬)、ゴム加硫促進剤、浮遊選鉱剤、重金属捕捉剤 <sup>1)</sup>		
12	フェンバレート**	農薬(殺虫剤) <sup>1)</sup>		
13	過塩素酸**	分析用試薬、有機合成原料 <sup>1)</sup>		
14	グリホサート(製剤名:ラウンドアップ)**	農薬(除草剤) <sup>1)</sup>		
15	ニトロベンゼン**	アニリン原料、中間体(染料、香料) <sup>1)</sup>		
16	りん酸トリクレジル**	可塑剤、難燃剤、不燃性作動液、潤滑油添加剤 <sup>2)</sup>		
17	エチルベンゼン**	スチレンモノマー原料、有機合成原料、溶剤、ラッカーの希釈剤 <sup>1)</sup>		今回報告
18	3,4-ジクロロアニリン**	中間体(農薬、染料) <sup>1)</sup>		
19	2,4-ジニトロトルエン**	有機合成薬品、トルイジン原料、染料中間体 <sup>1)</sup>		
20	トリクロサン**	殺虫剤、樹脂添加剤、医薬部外品添加物(殺菌消毒剤) <sup>2)</sup>		
21	フタル酸ジイソブチル**	可塑剤 <sup>1)</sup>		
22	ベノミル** <sup>3)</sup>	農薬(殺菌剤) <sup>1)</sup>		

\* 公共用水域水質測定対象物質

\*\* 要調査項目等存在状況調査測定対象物質

- 1) 化学工業日報社、16112 の化学商品(2012)及びバックナンバー  
 2) 製品評価技術基盤機構、化学物質情報提供システム(CHRIP)(<http://www.safe.nite.go.jp/japan/db.html>)  
 3) ペノミルについては、カルペンダジムとして測定し、ペノミルに換算していた。

付表2 平成25年度に信頼性評価の対象とした22物質

	名称	主な用途	
1	カルペンダジム(別名:メチル=ベンゾイミダゾール-2-イルカルバマート)	殺菌剤(失効農薬)、防カビ剤(ポリウレタンシーラント、紙、塗料、木材) <sup>1)</sup>	今回報告
2	酢酸2-エトキシエチル(別名:エチレングリコールモノエチルエーテルアセテート)	溶剤(塗料、インキ) <sup>1)</sup>	
3	ジクロロ酢酸**	有機合成原料、医薬原料 <sup>1)</sup>	
4	トリクロロ酢酸**	医薬原料、農薬(除草剤)、除蛋白質剤 <sup>1)</sup>	
5	フィプロニル***	農薬(殺虫剤) <sup>1)</sup>	
6	アクリロニトリル**	原料(合成繊維、合成ゴム、プラスチック) <sup>2)</sup>	評価実施中
7	塩化メチル**	冷媒、有機合成原料(医薬、農薬) <sup>1)</sup>	
8	1,2-ジクロロエタン*	塩ビモノマー、有機溶剤、原料(エチレンジアミン、合成樹脂) <sup>1)</sup>	
9	ジブロモクロロメタン**	中間体(医薬、農薬、殺菌剤、水処理剤) <sup>2)</sup>	
10	スピノサド***	農薬(殺虫剤) <sup>1)</sup>	
11	テブコナゾール***	農薬(殺菌剤) <sup>1)</sup>	
12	テブフェノジド***	農薬(殺虫剤) <sup>1)</sup>	
13	ブタクロール***	農薬(除草剤) <sup>1)</sup>	
14	2-プトキシエタノール(別名:エチレングリコールモノブチルエーテル)**	溶剤(塗料、印刷インキ、染料、農薬) <sup>1)</sup>	
15	フルオランテン	発光素子原料 <sup>2)</sup>	
16	プロシミドン***	農薬(殺虫剤) <sup>1)</sup>	
17	2-プロモプロパン**	中間体(農薬、医薬) <sup>1)</sup>	
18	1-プロモプロパン**	原料(医薬、農薬) <sup>1)</sup>	
19	1,2,5,6,9,10-ヘキサプロモシクロドデカン類	樹脂難燃剤 <sup>1)</sup>	
20	ペルフルオロドデカン酸	フッ素系界面活性剤 <sup>2)</sup>	
21	メチル-t-ブチルエーテル**	ガソリンのオクタン価向上剤 <sup>1)</sup>	
22	メトラクロール***	農薬(除草剤) <sup>1)</sup>	

\* 公共用水域水質測定対象物質

\*\* 要調査項目等存在状況調査測定対象物質

\*\*\* 農薬残留対策総合調査対象物質

- 1) 化学工業日報社、16313 の化学商品(2013)及びバックナンバー  
 2) 製品評価技術基盤機構、化学物質情報提供システム(CHRIP)(<http://www.safe.nite.go.jp/japan/db.html>)

付表3 平成26年度に信頼性評価の対象とした7物質

	名称	主な用途	
1	4-ノニルフェノール(分岐型)	界面活性剤、ゴム加硫促進剤の原料 <sup>1)</sup>	今回報告
2	4- <i>t</i> -オクチルフェノール	油性フェノール樹脂、界面活性剤の原料 <sup>1)</sup>	
3	ビスフェノールA	エポキシ樹脂、ポリカーボネート、可塑性ポリエステル <sup>1)</sup> の原料	
4	スチレン	ポリスチレン樹脂、合成ゴムの原料 <sup>1)</sup>	評価実施中
5	4-ヒドロキシ安息香酸プロピル (別名：プロピルパラベン)	化粧品、医薬、食品等の保存料 <sup>1)</sup>	
6	エチレンジアミン四酢酸*	キレート化剤、繊維処理助剤、重金属の定量分析 <sup>1)</sup>	
7	オクタプロモジフェニルエーテル類	樹脂難燃剤 <sup>1)</sup> 、(ポリ臭素化ジフェニルエーテル類として)プラスチック製品等の難燃剤 <sup>2)</sup>	

\*要調査項目等存在状況調査測定対象物質

1) 化学工業日報社、16514の化学商品(2014)及びバックナンバー

2) 環境省環境保健部環境安全課、化学物質環境実態調査 - 化学物質と環境  
(<http://www.env.go.jp/chemi/kurohon/index.html>)

・平成 26 年度及び平成 27 年度に実施した文献情報に基づく影響評価(信頼性評価)の結果について

平成 26 年度及び平成 27 年度に信頼性評価を実施した 14 物質について、その評価結果及び信頼性の認められた文献情報から示唆された作用について物質ごとに表 2 に示した。

表 2 平成 26 年度及び平成 27 年度に信頼性評価を実施した 14 物質の評価結果

		示唆された作用						
		エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモン	抗甲状腺ホルモン	その他
1	エチルベンゼン							
2	3,4-ジクロロアニリン							
3	2,4-ジニトロトルエン							
4	トリクロサン							
5	フタル酸ジイソブチル							
6	ベノミル							
7	カルベンダジム							
8	酢酸 2-エトキシエチル	現時点では試験対象物質としない物質						
9	ジクロロ酢酸							
10	トリクロロ酢酸							
11	フィプロニル							
12	4-ノニルフェノール(分岐型)							
13	4- <i>t</i> -オクチルフェノール							
14	ビスフェノール A							

：既存知見から示唆された作用

1 . 平成 26 年度及び平成 27 年度に実施した 14 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(13 物質)

- \* エチルベンゼン：動物試験の報告において、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用を示すことが示唆されたため。
- \* 3,4-ジクロロアニリン：動物試験の報告において、カイアシ類の変態率を低下させる作用を示すことが示唆されたため。
- \* 2,4-ジニトロトルエン：動物試験の報告において、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用を示すことが示唆されたため。

- \* トリクロサン：動物試験の報告において、甲状腺ホルモン様作用、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用、エストロゲン作用、プロゲステロン様作用を示すこと、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を示すことが示唆されたため。
- \* フタル酸ジイソブチル：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、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用を示すことが示唆されたため。
- \* ベノミル：動物試験の報告において、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用を示すこと、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を示すことが示唆されたため。
- \* カルベンダジム：動物試験の報告において、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用、アンドロゲン様作用、視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告においてアンドロゲン作用を示すことが示唆されたため。
- \* ジクロロ酢酸：動物試験の報告において、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用を示すことが示唆されたため。
- \* トリクロロ酢酸：試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、または抗アンドロゲン作用を示すことが示唆されたため。
- \* フィプロニル：動物試験の報告において、甲状腺への作用、無脊椎動物の繁殖への影響を示すこと、試験管内試験の報告において抗アンドロゲン作用を示すこと、疫学的調査の報告において視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用を示すことが示唆されたため。
- \* 4-ノニルフェノール(分岐型)：動物試験の報告において、エストロゲン様作用、甲状腺ホルモン様作用を示すこと、試験管内試験の報告において、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、ステロイド産生系への作用を示すことが示唆されたため。
- \* 4-tert-オクチルフェノール：動物試験の報告において、エストロゲン様作用、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、ステロイド産生系への作用、抗プロゲステロン作用を示すことが示唆されたため。
- \* ビスフェノール A：動物試験の報告において、エストロゲン様作用、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用を示すこと、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、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、抗プロゲステロン作用、ステロイド産生への影響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(1物質)

- \* 酢酸 2-エトキシエチル：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は得られなかったため、現時点では試験対象物質にしない。

## ．エチルベンゼン

### 1．内分泌かく乱作用に関連する報告

エチルベンゼンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響、発達影響の有無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、スチレンモノマー原料、有機合成原料、溶剤、ラッカーの希釈剤である。本物質は、平成14年度要調査項目等存在状況調査の底質調査において検出されている。

#### (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

Faberら(2006)によって、エチルベンゼン25、100、501ppm(チャンバー内空气中測定濃度、変動は設定濃度の11.2%以内)に交配前70日以上から交配、妊娠、出産を経て哺育期間終了まで(日毎6時間)吸入ばく露したSDラットF<sub>0</sub>への影響が検討されている。その結果として、生殖影響として、25ppm以上のばく露区で雌新生仔膈開口日の早期化、501ppmのばく露区で雄新生仔包皮分離日の遅延、雌発情周期所要日数の低値が認められた。なお、雄交尾率、雌交尾率、雄妊孕率、雌妊娠率、妊娠期間、同腹着床部位数、同腹新生仔数、同腹生存新生仔数、新生仔生存率(0、4、21日齢)、新生仔雄性比、新生仔増加体重(1～4日齢)、21日齢新生仔体重には影響が認められなかった。

F<sub>0</sub>父動物への影響として、100ppm以上のばく露区で甲状腺絶対及び相対重量、肝臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量の高値、501ppmのばく露区で肺絶対重量、前立腺絶対重量の低値(相対重量は有意差なし)、肝臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量の高値が認められた。なお、体重、脳絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、左精巣中精子数、左精巣上体尾部中性子数、運動精子率、前進運動精子率、形態異常精子率には影響が認められなかった。

F<sub>0</sub>母動物への影響として、501ppmのばく露区で肝臓相対重量の高値(絶対重量は有意差なし)が認められたが、体重、脳絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、肺絶対及び相対重量、甲状腺絶対及び相対重量には影響が認められなかった。

また更にF<sub>0</sub>が出産したF<sub>1</sub>に対し、エチルベンゼン25、101、500ppm(チャンバー内空气中測定濃度、変動は設定濃度の11.2%以内)に22日齢から交配、妊娠、出産を経て哺育期間終了まで(1日6時間)吸入ばく露した影響が検討されているが、雄交尾率、雌交尾率、雄妊孕率、雌妊娠率、妊娠期間、同腹着床部位数、同腹新生仔数、同腹生存新生仔数、新生仔生存率(0、4、21日齢)、新生

---

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。

仔雄性比、新生仔増加体重(1～4日齢)、21日齢新生仔体重には影響が認められなかった。

F<sub>1</sub> 父動物への影響として、500ppm のばく露区で肝臓相対重量、腎臓相対重量の高値(絶対重量は有意差なし)が認められたが、体重、脳絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、肺絶対及び相対重量、甲状腺絶対及び相対重量、前立腺絶対重量、左精巣中精子数、左精巣上体尾部中性子数、運動精子率、前進運動精子率、形態異常精子率には影響が認められなかった。

F<sub>1</sub> 母動物への影響として、500ppm のばく露区で肝臓相対重量の高値(絶対重量は有意差なし)が認められたが、体重、脳絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、肺絶対及び相対重量、甲状腺絶対及び相対重量には影響が認められなかった。

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、雌新生仔膈開口日の早期化、雄新生仔包皮分離日の遅延、雌発情周期所要日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：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)

Chanら(1998)によって、エチルベンゼン 75、250、750ppm(チャンバー内空气中設定濃度)に6週齢から2年間(日毎6時間、週5日)吸入ばく露した雌雄 F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、生殖影響として、750ppm のばく露区で雄及び雌の尿細管過形成発生率、雄及び雌の腎臓腺腫発生率、雄の精巣間質細胞過形成発生率、雄の精巣間質細胞腺腫発生率の高値が認められた。

Anderssonら(1981)によって、エチルベンゼン2,000ppm(チャンバー内空气中設定濃度)に3日間(日毎6時間)吸入ばく露した雄 SDラットへの影響が検討されている。その結果として(ばく露16～18時間後に試験)、血清中プロラクチン濃度、視床下部中カテコールアミン濃度の低値が認められた。

なお、前脑中ドーパミン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中成長ホルモン濃度、血清中コルチコステロン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度には影響が認められなかった。

参考

(2)発達影響(今回評価対象としなかった文献)

Faberら(2007)によって、エチルベンゼン 25、100、500ppm(チャンバー内空气中設定濃度)に交配前70日以上から交配、妊娠、出産を経て哺育期間終了まで(日毎6時間)F<sub>0</sub>及びF<sub>1</sub>の二世世代に渡って吸入ばく露した雌雄 SDラットのF<sub>2</sub>仔動物への影響が検討されている。その結果として25ppm以上のばく露区で雄及び雌の発毛日、雄の眼瞼開裂日の遅延が認められたが、体重(70日齢まで)、脳絶対及び相対重量(21、72日齢)、増加体重(1～4日齢)、耳介開展日、切歯萌出日、雄の包皮分離日、雌の膈開口日、前肢握力(22、45、60日齢)、後肢握力(22、45、60日齢)、歩行回数(13、17、21、61日齢)、聴覚性驚愕反応試験における最大応答(20、60日齢)、Biel水迷路学習試験における



所要時間及び誤試行回数(26、62日齢)には影響が認められなかった。

Saillenfaitら(2007)によって、エチルベンゼン 254±5、992±29ppm(チャンパー内空气中測定濃度)に妊娠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254ppmのばく露区で胎仔骨格変化発生率の高値値、992ppmのばく露区で胎仔体重、母動物増加体重、母動物増加体重(妊娠子宮重量を減じた補正值)の低値が認められたが、同腹着床部位数、同腹死亡着床率、同腹胚吸収率、同腹生存胎仔数、胎仔総奇形率、胎仔外表変化発生率、胎仔内臓変化発生率には影響が認められなかった。

Saillenfaitら(2003)によって、エチルベンゼン 99±2、500±13、1,001±28、1,998±45ppm(チャンパー内空气中測定濃度)に妊娠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1,001ppm以上のばく露区で雄胎仔体重、雌胎仔体重、母動物日毎平均摂餌量、母動物体重、母動物増加体重(妊娠子宮重量を減じた補正值)の低値、1,998ppmのばく露区で胎仔骨格変化発生率の高値が認められたが、同腹黄体数、同腹着床部位数、同腹死亡着床率、同腹死亡胎仔率、同腹胚吸収率、胎仔総奇形率、胎仔外表変化発生率、胎仔内臓変化発生率には影響が認められなかった。

### (3)疫学的調査

#### 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

Reutmanら(2002)によって、エチルベンゼンについて、米国空軍に所属し燃料(主にJP-8ジェット燃料)及び溶媒ばく露の可能性のある女性(63名、平均年齢31.1±5.6歳)の尿中内分泌パラメータへの影響が検討されている。その結果として、芳香族炭化水素高ばく露区(31名、呼気中芳香族炭化水素総濃度73.5±86.2ppb、このうちエチルベンゼンは3.0±6.9ppb)と芳香族炭化水素低ばく露区(32名、呼気中芳香族炭化水素総濃度3.8±3.8ppb、このうちエチルベンゼンは1.0±0.5ppb)との比較において、排卵前尿中黄体形成ホルモン濃度、黄体期尿中プレグナンジオール-3-グルクロナイド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、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、芳香族炭化水素高ばく露区と芳香族炭化水素低ばく露区との比較において、排卵前尿中黄体形成ホルモン濃度、黄体期尿中プレグナンジオール-3-グルクロナイド濃度の低値が認められたが、エチルベンゼン単独の影響が確認できないため、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。

## 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、視床下部 下垂体 生殖腺軸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1に示した。

表1 信頼性評価のまとめ

物質名：エチルベンゼン

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	視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用 Faber ら(2006)		P	
	Chan ら(1998) 評価未実施			
	Andersson ら(1981) 評価未実施			
(2) 発達影響	Faber ら(2007) 評価未実施			
	Saillenfait ら(2007) 評価未実施			
	Saillenfait ら(2003) 評価未実施			
(3) 疫学的調査	Reutman ら(2002)		?	
今後の対応案	動物試験の報告において、視床下部 下垂体 生殖腺軸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

- Faber WD, Roberts LS, Stump DG, Tardif R, Krishnan K, Tort M, Dimond S, Dutton D, Moran E and Lawrence W (2006) Two generation reproduction study of ethylbenzene by inhalation in Crl-CD rats. *Birth Defects Research: Part B, Developmental and Reproductive Toxicology*, 77 (1), 10-21.
- Chan PC, Hasemani JK, Mahleri J and Aranyi C (1998) Tumor induction in F344/N rats and B6C3F1 mice following inhalation exposure to ethylbenzene. *Toxicology Letters*, 99 (1), 23-32.
- Andersson K, Fuxe K, Nilsen OG, Tøftgard R, Eneroth P and Gustafsson JA (1981) Production of discrete changes in dopamine and noradrenaline levels and turnover in various parts of the rat brain following exposure to xylene, *ortho*-, *meta*-, and *para*-xylene, and ethylbenzene. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 60 (3), 535-548.
- Faber WD, Roberts LS, Stump DG, Beck M, Kirkpatrick D, Regan KS, Tort M, Moran E and Banton M (2007) Inhalation developmental neurotoxicity study of ethylbenzene in Crl-CD rats. *Birth Defects Research: Part B, Developmental and Reproductive Toxicology*, 80 (1), 34-48.
- Saillenfait AM, Gallissot F, Sabate JP, Bourges-Abella N and Muller S (2007) Developmental toxic effects of ethylbenzene or toluene alone and in combination with butyl acetate in rats after inhalation exposure. *Journal of Applied Toxicology*, 27 (1), 32-42.
- Saillenfait AM, Gallissot F, Morel G and Bonnet P (2003) Developmental toxicities of ethylbenzene, *ortho*-, *meta*-, *para*-xylene and technical xylene in rats following inhalation exposure. *Food and Chemical Toxicology*, 41 (3), 415-429.
- Reutman SR, LeMasters GK, Knecht EA, Shukla R, Lockey JE, Burroughs GE and Kesner JS (2002) Evidence of reproductive endocrine effects in women with occupational fuel and solvent exposures. *Environmental Health Perspectives*, 110 (8), 805-811.

## 3,4-ジクロロアニリン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

3,4-ジクロロアニリンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態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、中間体(農薬、染料)である。

本物質は、平成18年度要調査項目等存在状況調査の水質調査において検出されている。

#### (1) 生態影響

##### 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

Andersen ら(2001)によって、3,4-ジクロロアニリン(試験濃度範囲の記載なし)に産卵 24 時間以内(冷凍保存)から 5 日間ばく露したカイアシ類アカルチア属の一種(*Acartia tonsa*)への影響が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub> 値 540µg/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、具体的な設定濃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、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：その他の作用(不明)

##### 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

Schäfers と Nagel ら(1991)によって、3,4-ジクロロアニリン 1.9±0.6、20.4±3.2、185±44µg/L(測定濃度)にF<sub>0</sub>からF<sub>2</sub>の三世代に渡ってばく露したグッピー(*Poecilia reticulata*)への影響が検討されている。その結果として、F<sub>1</sub>雌において、1.9µg/L以上のばく露区で5回目妊娠中体重、総産仔数の有意な低値、20.4µg/L以上のばく露区で5回目出産後体重の低値、出産間隔の遅延、185µg/Lのばく露区でコンディションファクターの低値が認められた。F<sub>2</sub>において、1.9及び185µg/Lのばく露区で42日齢雄及び雌体重の低値が認められた。F<sub>0</sub>雌において、185µg/Lのばく露区で5回目出産後体重、総産仔数の低値が認められた。F<sub>1</sub>において、185µg/Lのばく露区で42日齢雄及び雌体重の低値、卵及び幼生死亡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、比較対照群の試験結果が不明確なことから、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、妊娠中体重、総産仔数、出産後体重、コンディションファクター、雄雌体重の低値、出産間隔の遅延、卵及び幼生死亡率の高値について、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。

Rose ら(2002)によって、3,4-ジクロロアニリン 2.5、5、10、15 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 24 時間未満齢から最長 37 日間ばく露したニセネコゼミジンコ属の一種(*Ceriodaphnia cf. dubia*)への影響(貧餌条件下)が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で出産毎産仔数、総産仔数、日毎産仔数の低値が認められた。

また、3,4-ジクロロアニリン 2.5、5、10、15 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 24 時間未満齢から最長 37 日間ばく露したニセネコゼミジンコ属の一種(*Ceriodaphnia cf. dubia*)への影響(富餌条件下)が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で出産毎産仔数、総産仔数、日毎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、被験物質及び試験生物の入手先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。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、出産毎産仔数、総産仔数、日毎産仔数の低値について、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

Rose ら(2001)によって、3,4-ジクロロアニリン 2.5、5、10、15 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 24 時間未満齢から最長 34 日間ばく露したニセネコゼミジンコ属の一種(*Ceriodaphnia cf. dubia*)への影響(魚類カイロモンばく露下)が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で出産毎産仔数、総産仔数の低値、15 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で日毎産仔数の低値が認められた。

また、3,4-ジクロロアニリン 2.5、5、10、15 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 24 時間未満齢から最長 34 日間ばく露したニセネコゼミジンコ属の一種(*Ceriodaphnia cf. dubia*)への影響(魚類カイロモン非ばく露下)が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で出産毎産仔数、総産仔数、日毎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、被験物質及び試験生物の入手先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。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、出産毎産仔数、総産仔数、日毎産仔数の低値について、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。

#### 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

Oda ら(2007)によって、3,4-ジクロロアニリン 10.3 $\pm$ 0.63、18.2 $\pm$ 1.0、35.9 $\pm$ 2.1、75.3 $\pm$ 3.0 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)に 24 時間齢から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*, 入手先 AstraZeneca UK Limited)への影響が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub> 値 5.9 $\mu\text{g/L}$  の濃度で総産仔数の低値が認められた。

また、3,4-ジクロロアニリン 10.3 $\pm$ 0.48、18.0 $\pm$ 0.81、36.7 $\pm$ 1.4、76.2 $\pm$ 2.3 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)に 24 時

間齢から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*, 入手先 Technical University of Denmark)への影響が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub>値 11µg/L の濃度で総産仔数の低値が認められた。

また、3,4-ジクロロアニリン 9.07±0.92、16.9±1.3、33.6±2.4、71.0±4.1µg/L(測定濃度)に 24 時間齢から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*, 入手先 UK Environmental Agency)への影響が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub>値 19µg/L の濃度で総産仔数の低値が認められた。

また、3,4-ジクロロアニリン 10.5±0.46、18.4±0.80、37.0±1.3、74.4±2.7µg/L(測定濃度)に 24 時間齢から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*, 入手先 Bayer CropScience AG)への影響が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub>値 23µg/L の濃度で総産仔数の低値が認められた。

また、3,4-ジクロロアニリン 9.66±0.74、16.8±1.2、36.3±2.8µg/L(測定濃度)に 24 時間齢から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*, 入手先 US EPA)への影響が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub>値 28µg/L の濃度で総産仔数の低値が認められた。

また、3,4-ジクロロアニリン 10.0±0.78、17.6±1.2、36.2±1.6µg/L(測定濃度)に 24 時間齢から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*, 入手先国立環境研究所)への影響が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub>値 32µg/L の濃度で総産仔数の低値が認められた。

また、3,4-ジクロロアニリン 10.5±0.48、18.3±0.89、36.8±1.5、74.6±2.6µg/L(測定濃度)に 24 時間齢から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*, 入手先 Finnish Environment Institute)への影響が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub>値 38µg/L の濃度で総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、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、総産仔数の低値について、内分泌かく乱作用との関連性は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。

#### 参考 生態影響(今回評価対象としなかった文献)

Guilhermino ら(1999)によって、3,4-ジクロロアニリン 2.5、5、10、20、40µg/L(設定濃度)に 24 時間齢から 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、EC<sub>50</sub>値 15.6±0.5µg/L の濃度で総産仔数の低値が認められた。

また、3,4-ジクロロアニリン 2.5、5、10、20、40µg/L(設定濃度)に 24 時間齢から 7 ~ 10 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、EC<sub>50</sub>値 14.4±2.3µg/L の濃度で総産仔数の低値が認められた。

想定される作用メカニズム：

Scheil ら(2009)によって、3,4-ジクロロアニリン 50、100、150、200、250µg/L(設定濃度)に受精後 168時間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、

250µg/L のばく露区でヒートショック蛋白質 Hsp70 相対発現量の低値が認められた。

また、3,4-ジクロロアニリン 5、10、100、500、1,000µg/L(設定濃度)に受精後 5 及び 8 日齢までばく露したゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) への影響が検討されている。その結果として、500µg/L 以上のばく露区で自発運動活性の低値が認められた。

また、3,4-ジクロロアニリン 5、10、100、250、500、1,000µg/L(設定濃度)に受精後最長 11 日齢までばく露したゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) への影響が検討されている。その結果として、500µg/L 以上のばく露区で 7 日齢以降における死亡率の高値が認められた。また、3,4-ジクロロアニリン 500、700、1,000、1,500、2,000µg/L(設定濃度)に受精後 96 時間ばく露したゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) への影響が検討されている。その結果として、1,000µg/L 以上のばく露区で生存個体における浮腫発生率の高値が認められた。

## 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、カイアシ類の変態率を低下させる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 2 に示した。

表 2 信頼性評価のまとめ

物質名：3,4-ジクロロアニリン

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	Schäfers と Nagel ら (1991)		?		
	Oda ら (2007)		×	×	
	毒性	Rose ら (2002)		?	
		Rose ら (2001)		?	
		Guilhermino ら (1999) 評価未実施			
		Scheil ら (2009) 評価未実施			
	その他の作用(不明)	Andersen ら (2001)		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>
今後の対応案	動物試験の報告において、カイヤン類の変態率を低下させる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

- Schäfers C and Nagel R (1991) Effects of 3,4-dichloroaniline on fish populations, comparison between r-strategists and K-strategists: A complete life cycle test with the guppy (*Poecilia reticulata*). Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 21 (2), 297-302.
- Oda S, Tatarazako N, Dorgerloh M, Johnson RD, Ole Kusk K, Leverett D, Marchini S, Nakari T, Williams T and Iguchi T (2007) Strain difference in sensitivity to 3,4-dichloroaniline and insect growth regulator, fenoxycarb, in *Daphnia magna*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 67 (3), 399-405.
- Rose RM, Warne MS and Lim RP (2002) Food concentration affects the life history response of *Ceriodaphnia cf. dubia* to chemicals with different mechanisms of action. Ecotoxicology and Environmental Safety, 51 (2), 106-114.
- Rose RM, Warne MS and Lim RP (2001) The presence of chemicals exuded by fish affects the life-history response of *Ceriodaphnia cf. dubia* to chemicals with different mechanisms of action. Environmental Toxicology and Chemistry, 20 (12), 2892-2898.
- Guilhermino L, Sobral O, Chastinet C, Ribeiro R, Goncalves F, Silva MC and Soares AM (1999) A *Daphnia magna* first-brood chronic test: An alternative to the conventional 21-Day chronic bioassay? Ecotoxicology and Environmental Safety, 42 (1), 67-74.



Scheil V, Kienle C, Osterauer R, Gerhardt A and Kohler HR (2009) Effects of 3,4-dichloroaniline and diazinon on different biological organisation levels of zebrafish (*Danio rerio*) embryos and larvae. *Ecotoxicology*, 18 (3), 355-363.

Andersen HR, Wollenberger L, Halling-Sorensen B and Kusk KO (2001) Development of copepod nauplii to copepodites - a parameter for chronic toxicity including endocrine disruption. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20 (12), 2821-2829.

## ・2,4-ジニトロトルエン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

2,4-ジニトロトルエンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、生殖影響の有無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、有機合成薬品、トルイジン原料、染料中間体である。

本物質は、平成14年度要調査項目等存在状況調査の底質調査において検出されている。

#### (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

Johnsonら(2005)によって、2,4-ジニトロトルエン1、5、15、25mg/kg/dayに60日間経口投与した成熟雌雄コリンウズラ(*Colinus virginianus*)への影響が検討されている。その結果として5mg/kg/day以上のばく露群で雌腎臓相対重量の高値、15mg/kg/day以上のばく露群で雄及び雌増加体重の低値、脳相対重量、雄腎臓相対重量、雄肝臓相対重量、雄及び雌死亡率の高値、25mg/kg/dayのばく露群で卵巣相対重量、日毎産卵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、雌雄腎臓相対重量、脳相対重量、雄肝臓相対重量、雄雌死亡率の高値、雄雌増加体重、卵巣相対重量、日毎産卵の低値について、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

#### (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

Blochら(1988)によって、2,4-ジニトロトルエン1,000、2,000ppm(餌中設定濃度)を3週間混餌投与した成熟SDラットへの影響が検討されている。その結果として、1,000ppm以上のばく露群で体重の低値、2,000ppmのばく露群で精巣上体絶対重量、精巣上体尾中精子数の低値、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、精巣上体絶対重量、精巣上体尾中精子数の低値、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

(3)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ない報告

Hamillら(1982)によって、2,4-ジニトロトルエンについて、米国 Olin Corporation 社工場にて 1981 年 1 月から 1981 年 6 月にかけて職業ばく露した作業従事者への影響が検討されている。その結果として、非ばく露又は最低ばく露集団(過去にばく露頻度 0 ~ 1 回、男性 119 名)、低 ~ 高ばく露集団(調査開始 6 ヶ月以前に数回、男性 38 名)、低 ~ 高ばく露集団(調査開始 6 ヶ月以後に数回、男性 46 名)との比較において、精液容量、総精子数、精子濃度、正常形態精子率、異常形態精子率(不定形、頭部欠損、角張った尾部、先細り、小さな頭部、大きな頭部、尾部が二つ、頭部が二つ)、卵胞刺激ホルモン濃度の観察事象に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、2,4-ジニトロトルエンと他物質とばく露が区別できないため、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。

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、視床下部 下垂体 生殖腺軸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：2,4-ジニトロトルエン

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>
(I) 生態影響	Johnsonら(2005)		?	

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>	
(2) 生殖影響	視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用	Blochら(1988)		P	
(3) 疫学的調査		Hamillら(1982)	×		×
今後の対心案	動物試験の報告において、視床下部 下垂体 生殖腺軸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

Johnson MS, Michie MW, Bazar MA and Gogal RM, Jr. (2005) Influence of oral 2,4-dinitrotoluene exposure to the northern bobwhite (*Colinus virginianus*). International Journal of Toxicology, 24 (4), 265-274.

Bloch E, Gondos B, Gatz M, Varma SK and Thyssen B (1988) Reproductive toxicity of 2,4-dinitrotoluene in the rat. Toxicology and Applied Pharmacology, 94 (3), 466-472.

Hamill PVV, Steinberger E, Levine RJ, Rodriguez-Rigan LJ, Lemeshow S and Avrunin JS (1982) The epidemiologic assessment of male reproductive hazard from occupational exposure to TDA and DNT. Journal of Occupational Medicine, 24 (12), 985-993.

## ・トリクロサン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

トリクロサン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、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗プロゲステロン作用、芳香族炭化水素受容体に対する作用、エストロゲン代謝酵素への影響、甲状腺受容体発現への影響、ライディッヒ細胞への影響及び絨毛がん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、殺虫剤、樹脂添加剤、医薬部外品添加物(殺菌消毒剤)である。

本物質は、平成15年度要調査項目等存在状況調査の水質調査及び底質調査において検出されている。

### (1)生態影響

#### 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

Veldhoenら(2006)によって、トリクロサン  $0.116\pm 0.016$ 、 $0.897\pm 0.128$ 、 $11.243\pm 2.181\mu\text{g/L}$ (測定濃度)に Gosner stage 33 から最長 18 日間ばく露したウシガエル(*Rana catesbeiana*)への影響(トリヨードサイロニンの投与なし)が検討されている。その結果として、 $0.116\mu\text{g/L}$ のばく露区でばく露 6 日目の脳中の甲状腺受容体  $\alpha$ mRNA 相対発現量の高値が認められた。

なお、体重増加率、到達 Gosner Stage、ばく露 6 及び 18 日目の脳中の増殖細胞核抗原 mRNA 相対発現量、ばく露 6 及び 18 日目の脳中の甲状腺受容体  $\beta$  mRNA 相対発現量、ばく露 6 及び 11 日目の腹側尾びれ中の甲状腺受容体  $\alpha$ mRNA 相対発現量、ばく露 6 及び 11 日目の腹側尾びれ中の甲状腺受容体  $\beta$ mRNA 相対発現量、ばく露 6 及び 11 日目の腹側尾びれ中の増殖細胞核抗原 mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、トリクロサン  $0.116\pm 0.016$ 、 $0.897\pm 0.128$ 、 $11.243\pm 2.181\mu\text{g/L}$ (測定濃度)に Gosner stage 33 から最長 18 日間ばく露したウシガエル(*Rana catesbeiana*)への影響(ばく露 4 日後にトリヨードサイロニン  $1\times 10^{11}\text{mol/g}$  を尾筋肉注射)が検討されている。その結果として、 $0.116\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で到達 Gosner Stage の高値、 $0.116\mu\text{g/L}$  のばく露区で体重増加率、ばく露 18 日目の脳中の甲状腺受容体  $\alpha$ mRNA 相対発現量の低値、 $0.897\mu\text{g/L}$  以上のばく露区でばく露 6 日目の脳中の増殖細胞核抗原 mRNA 相対発現量の高値が認められた。

なお、ばく露 6 及び 18 日目の脳中の甲状腺受容体  $\beta$  mRNA 相対発現量、ばく露 6 及び 11 日目の腹側尾びれ中の甲状腺受容体  $\alpha$ mRNA 相対発現量、ばく露 6 及び 11 日目の腹側尾びれ中の甲状腺受容体  $\beta$  mRNA 相対発現量、ばく露 6 及び 11 日目の腹側尾びれ中の増殖細胞核抗原 mRNA 相対発現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、脳中の甲状腺受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、到達 Gosner Stage の高値、脳中の甲状腺受容体  $\alpha$  mRNA 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：甲状腺ホルモン様作用、抗甲状腺ホルモン様作用

Ishibashi ら(2004)によって、トリクロサン 12.8、60.8、136.9 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)に 21 日間ばく露した成熟雌雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、12.8及び60.8 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄肝臓ビテロゲン濃度の高値、12.8及び136.9 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌生殖腺体指数の高値、12.8 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で  $F_1$  孵化率の低値、雌肝臓体指数の高値、60.8 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で雄生殖腺体指数の高値、136.9 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で雌体長の低値、雄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、雄肝臓ビテロゲン濃度、雌雄生殖腺体指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：エストロゲン作用

Raut ら(2010)によって、トリクロサン 29.0、57.9、101.3 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 35 日間ばく露した成熟雄カダヤシ属の一種(*Gambusia affinis*)への影響が検討されている。その結果として、101.3 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で精包中運動精子数の低値、肝臓中ビテロゲン mRNA 相対発現量、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、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、精包中運動精子数の低値、肝臓中ビテロゲン mRNA 相対発現量、肝臓体指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：エストロゲン作用

#### 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

Orvos ら(2002)によって、トリクロサン 10、40、200、1,000 $\mu\text{g/L}$ (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、200 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で総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、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、総産仔数の低値について、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。

#### 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

Fort ら (2011)によって、トリクロサン  $0.3\pm 0.08$ 、 $1.3\pm 0.22$ 、 $5.9\pm 0.95$ 、 $29.6\pm 3.93\mu\text{g/L}$ (測定濃度)に Nieuwkoop & Faber Stage 47 幼生(産卵後 5 ~ 7 日齢に相当)から 32 日間ばく露した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、0.3、5.9 及び  $29.6\mu\text{g/L}$  のばく露区で体長、体重、甲状腺面積の高値、0.3 及び  $1.3\mu\text{g/L}$  のばく露区で血漿中サイロキシン濃度の低値、 $1.3\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で濾胞細胞厚の低値、1.3 及び  $5.9\mu\text{g/L}$  のばく露区で吻端 - 総排泄腔長(Snout-vent length)の高値が認められた。

なお、死亡率、到達 Nieuwkoop & Faber Stage、後肢長、甲状腺中サイロキシン濃度、甲状腺中トリヨードサイロニン濃度、血漿中トリヨードサイロニン濃度、尾中甲状腺受容体  $\beta$  mRNA 相対発現量、尾中デオナーゼ II mRNA 相対発現量、尾中デオナーゼ III mRNA 相対発現量、甲状腺濾胞数、甲状腺濾胞面積、甲状腺コロイド面積(個体毎)、甲状腺コロイド面積(濾胞毎)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、体長、体重、甲状腺面積値、吻端 - 総排泄腔長(Snout-vent length)の高値、血漿中サイロキシン濃度、濾胞細胞厚の低値について、内分泌かく乱作用との関連性は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。

Fort ら (2010)によって、トリクロサン  $0.6\pm 0.49$ 、 $1.5\pm 0.58$ 、 $7.2\pm 1.96$ 、 $32.3\pm 9.43\mu\text{g/L}$ (測定濃度)に Nieuwkoop & Faber Stage 51 幼生(産卵後 14 ~ 17 日齢に相当)から 21 日間ばく露した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、1.5 及び  $7.2\mu\text{g/L}$  のばく露区で尾中甲状腺受容体  $\beta$  mRNA 相対発現量の高値、 $1.5\mu\text{g/L}$  のばく露区で体長、体重、吻端 - 総排泄腔長(Snout-vent length)の低値が認められた。

なお、死亡率、到達 Nieuwkoop & Faber Stage、後肢長、甲状腺中サイロキシン濃度、血漿中サイロキシ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、尾中甲状腺受容体  $\beta$  mRNA 相対発現量の高値、体長、体重、吻端 - 総排泄腔長(Snout-vent length)の低値について、内分泌かく乱作用との関連性は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。

#### 参考 生態影響(今回評価対象としなかった文献)

Schultz ら (2012)によって、トリクロサン  $0.17\pm 0.04$ 、 $0.45\pm 0.09\mu\text{g/L}$ (測定濃度)に 6 ヶ月齢から 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が、雄

及び雌の生存率、雄及び雌の生殖腺体指数、雄及び雌の肝臓体指数、雄及び雌の血漿中ビテロゲニン濃度、雄の第二性徴スコア、雄の攻撃行動指数には影響は認められなかった。

また、トリクロサン  $0.17 \pm 0.04$ 、 $0.45 \pm 0.09 \mu\text{g/L}$ (測定濃度)に孵化 24 時間未満齢から 12 日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が、体長、捕食者逃避行動試験における応答潜時、捕食者逃避行動試験における逃避遊泳速度、捕食者逃避行動試験における総応答には影響は認められなかった。

Matsumura ら(2012)によって、トリクロサン 20、100、200 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 14 日間ばく露した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、血漿中ビテロゲニン濃度には影響は認められなかった。

また、トリクロサン 4、40、400mg/kg を単回腹腔内投与した雄アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響(投与 7 日後)が検討されているが、血漿中ビテロゲニン濃度、血漿中テストステロン濃度には影響は認められなかった。

## (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

Rodríguez と Sanchez(2010)によって、トリクロサン 1、10、50mg/kg/day を交配 8 日前から出産後 21 日まで飲水投与した Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、1 mg/kg/day 以上のばく露群で妊娠 15 日目から哺育 10 日目までの母動物血清中トリヨードサイロニン濃度(有意差の図示不明確)、新生仔雄性比、20 日齢仔動物体重の低値、雌仔動物腔開口日の遅延、10mg/kg/day 以上のばく露群で妊娠 5 日目から哺育 20 日目までの母動物血清中サイロキシン濃度の低値(有意差の図示不明確)、50mg/kg/day 以上のばく露群で新生仔生存率、6 日齢仔動物生存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、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、雌仔動物腔開口日の遅延、母動物血清中トリヨードサイロニン濃度、母動物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：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

Jung ら(2012)によって、トリクロサン 7.5、37.5、187.5mg/kg/day を 19 日齢から 3 日間経口投与した未成熟雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、7.5mg/kg/day 以上のばく露群で子宮相対重量の高値、37.5mg/kg/day 以上のばく露群で子宮中コンポーネント C3 mRNA 相対発現量、子宮中カルシウム結合蛋白質 CaBP-D9k mRNA 相対発現量の高値が認められた。

なお、37.5mg/kg/day のばく露群において、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182,780 10mg/kg/day を並行投与すると、これらの影響に対する阻害が認められた。

また、37.5mg/kg/day のばく露群において、プロゲステロン受容体アンタゴニスト RU



10mg/kg/day を並行投与すると、これらの影響に対する阻害が認められた。

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、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182,780 10mg/kg/day を並行投与すると、これらの影響に対する阻害が認められ、プロゲステロン受容体アンタゴニスト RU 10mg/kg/day を並行投与すると、これらの影響に対する阻害が認められたことから、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：エストロゲン様作用、プロゲステロン様作用

Stoker ら(2009)によって、トリクロサン 9.375、37.5、75、150mg/kg/day を 22 日齢から 42 日齢まで経口投与した離乳後雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、37.5mg/kg/day 以上のばく露群で血清中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度、血清中総サイロキシン濃度の低値、75mg/kg/day 以上のばく露群で血清中遊離サイロキシン濃度の低値、150mg/kg/day のばく露群で子宮絶対及び相対重量、乾燥子宮絶対及び相対重量の高値、腔開口日の早期化が認められた。

なお、体重、下垂体絶対及び相対重量、卵巢絶対及び相対重量、肝臓絶対及び相対重量、初発情周期開始日、血清中甲状腺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、血清中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度、血清中総サイロキシン濃度、血清中遊離サイロキシン濃度の低値、子宮絶対及び相対重量、乾燥子宮絶対及び相対重量の高値、腔開口日の早期化が認められ、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：エストロゲン様作用、視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用

### (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

Zorrilla ら(2009)によって、トリクロサン 3、30、100、200、300mg/kg/day を 23 日齢から 31 日間経口投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、3 mg/kg/day のばく露群で下垂体絶対重量の高値、血清中トリヨードサイロニン濃度の高値(200mg/kg/day 群では低値)、30mg/kg/day 以上のばく露群で血清中サイロキシン濃度の低値、100mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓絶対重量の高値、200mg/kg/day のばく露群で血清中テストステロン濃度の低値が認められた。

なお、体重、左精巣絶対重量、左精巣上体絶対重量、腹側前立腺絶対重量、精囊絶対重量、肛門拳筋及び球海綿体筋(LABC)絶対重量、左腎臓絶対重量、左副腎絶対重量、包皮分離日、血清中ア

ンドロステンジオン濃度、血清中甲状腺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、血清中トリヨードサイロニン濃度の高値(200mg/kg/day 群では低値)、血清中サイロキシン濃度、血清中テストステロ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、視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用

Stoker ら(2009)によって、トリクロサン 1.18、2.35、4.69、9.375、18.75、37.5、75mg/kg/day を19日齢から21日齢まで経口投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、18.75mg/kg/day 以上のばく露群で血清中総サイロキシン濃度、血清中遊離サイロキシン濃度の低値が認められた。

なお、子宮絶対重量、乾燥子宮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、血清中総サイロキシン濃度、血清中遊離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：視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用

Paul ら(2010a)によって、トリクロサン 10、30、100、300、1,000mg/kg/day を27~29日齢から4日間経口投与した雄 LE ラットへの影響が検討されている。その結果として、30mg/kg/day のばく露群で肝臓ミクロソーム EROD 活性の低値、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中総サイロキシン濃度の低値、300mg/kg/day 以上のばく露群で血清中総トリヨードサイロニン濃度の低値、肝臓ミクロソーム PROD 活性の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で肝臓絶対及び相対重量、肝臓ミクロソーム UGT 活性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、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：抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用

Paul ら(2012)によって、トリクロサン 10、30、100、300mg/kg/day を妊娠6日目から出産後21日目まで(ただし妊娠21日目を除く)経口投与した LE ラットへの影響が検討されている。その結果

として、母動物において、30mg/kg/day のばく露群で肝臓ミクロソーム EROD 活性の低値、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中サイロキシン濃度の低値、300mg/kg/day のばく露群で肝臓ミクロソーム PROD 活性、肝臓ミクロソーム UGT 活性、肝臓中 Cyp2b2 mRNA 相対発現量、肝臓中 Cyp3a1/23 mRNA 相対発現量の高値が認められた。仔動物において、300mg/kg/day のばく露群で肝臓中 Sult1c3 mRNA 相対発現量の高値が認められたが、血清中サイロキシン濃度、肝臓ミクロソーム EROD 活性、肝臓ミクロソーム PROD 活性、肝臓中 Cyp1a1 mRNA 相対発現量、肝臓中 Cyp2b2 mRNA 相対発現量、肝臓中 Cyp3a1/23 mRNA 相対発現量、肝臓中 Cyp3a9 mRNA 相対発現量、肝臓中 Cyp4a2 mRNA 相対発現量、肝臓中 Ugt1a1 mRNA 相対発現量、肝臓中 Ugt1a6 mRNA 相対発現量、肝臓中 Sult1b1 mRNA 相対発現量、肝臓中 Me1 mRNA 相対発現量、肝臓中 Thrsp mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、トリクロサン 10、30、100、300mg/kg/day を妊娠 6 日目から妊娠 20 日目まで 15 日間経口投与した LE ラットへの影響(妊娠 20 日目に試験)が検討されている。その結果として、母動物において、100mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓ミクロソーム EROD 活性の低値、300mg/kg/day のばく露群で血清中サイロキシン濃度の低値、肝臓中 Cyp2b2 mRNA 相対発現量、肝臓中 Cyp3a9 mRNA 相対発現量の高値が認められた。胎仔において、300mg/kg/day のばく露群で血清中サイロキシン濃度の低値、肝臓中 Cyp4a2 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、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、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：抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用  
Croftonら(2007)によって、トリクロサン 10、30、100、300、1,000mg/kg/day を 27 日齢から 4 日間経口投与した離乳後雌 LE ラットへの影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中総サイロキシン濃度の低値、1,000mg/kg/day のばく露群で肝臓絶対及び相対重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、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：抗甲状腺ホルモン様作用

Paulら(2010b)によって、トリクロサン 30、100、300mg/kg/day を妊娠 6 日目から出産後 21 日目まで 36 日間(ただし妊娠 21 日目及び最終日を除く)経口投与した LE ラットへの影響が検討されている。その結果として、300mg/kg/day のばく露群で母動物体重、母動物血清中総サイロキシン濃

度、4日齢仔動物血清中総サイロキシ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、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、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：抗甲状腺ホルモン様作用

#### (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

Jungら(2012)によって、トリクロサン 0.001、0.1、10 $\mu$ M(=0.29、29、2,900 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 GH3(エストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン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、0.001 $\mu$ M(=0.29 $\mu$ g/L)以上の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

また、トリクロサン 10 $\mu$ M(=2,900 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 GH3(エストロゲン受容体を発現)への影響が検討されている。その結果として、カルシウム結合蛋白質 CaBP-D9k 及びその mRNA 発現誘導が認められた。なお、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182,780 0.1 $\mu$ M 共存下では、これらの影響に対する阻害が認められた。

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、ルシフェラーゼ発現誘導が認められ、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

Ahnら(2008)によって、トリクロサン 0.01、1、100 $\mu$ M(=2.9、290、29,000 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト乳がん細胞 BG1Luc4E2(エストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン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、ルシフェラ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、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、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

Geeら(2008)によって、トリクロサン 0.001、0.01、0.1、1、10、100 $\mu$ M(=0.29、2.9、29、290、2,900、29,000 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF7(エストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン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アセチルトランスフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

また、また、トリクロサン 0.001、0.01、0.1、1、10、100 $\mu$ M(=0.29、2.9、29、290、2,900、29,000 $\mu$ g/L)の濃度に8日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF7(エストロゲン受容体を発現)による細胞増殖試験が検討されているが、細胞増殖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、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、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

Ishibashiら(2004)によって、トリクロサン 500、900、180、360、720、14,500、29,000 $\mu$ g/Lの濃度に4時間ばく露した酵母(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、結果の解析に使用された統計学的手法の記載がないことから、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。

## (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

Geeら(2008)によって、トリクロサン 0.001、0.01、0.1、1、10、100 $\mu$ M(=0.29、2.9、29、290、2,900、29,000 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF7(エストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン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アセチ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、10 $\mu$ M(=2,900 $\mu$ g/L)以上の濃度で17 $\beta$ -エストラジオール 0.1nMによるクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた(ただし有意差検定の記載なし)。

また、トリクロサン 0.001、0.01、0.1、1、10、100 $\mu$ M(=0.29、2.9、29、290、2,900、29,000 $\mu$ g/L)の濃度に8日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF7(エストロゲン受容体を発現)による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,900 $\mu$ g/L)以上の濃度で17 $\beta$ -エストラジオール 0.1nM

による細胞増殖誘導に対する阻害が認められた(ただし有意差検定の記載なし)。

また、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。その結果として、 $IC_{63}$  値  $80\mu M (=11,600\mu g/L)$  の濃度で標識  $17\beta$ -エストラジオール  $0.8nM$  の結合を阻害した。

また、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。その結果として、 $IC_{63}$  値  $80\mu M (=11,600\mu g/L)$  の濃度で標識  $17\beta$ -エストラジオール  $0.8nM$  の結合を阻害した。

また、ヒト乳がん細胞 MCF7 由来ヒトエストロゲン受容体(サイトゾル)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、 $IC_{48.8}$  値  $400\mu M (=116,000\mu g/L)$  の濃度で標識  $17\beta$ -エストラジオール  $0.4nM$  の結合を阻害した。

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、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、標識  $17\beta$ -エストラジオールの結合を阻害したことから、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。

#### 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

Ahn ら(2008)によって、トリクロサン  $0.01$ 、 $1$ 、 $100\mu M (=2.9$ 、 $290$ 、 $29,000\mu g/L)$  の濃度に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 BG1Luc4E2(エストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン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、 $1\mu M (=290\mu g/L)$  以上の濃度で  $17\beta$ -エストラジオール  $1nM$  によるルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

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、 $17\beta$ -エストラジオールによるルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害について、細胞毒性の可能性があり、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。

#### 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

Stoker ら(2009)によって、トリクロサン  $1.18$ 、 $2.35$ 、 $4.69$ 、 $9.375$ 、 $18.75$ 、 $37.5mg/kg/day$  を 19 日齢から 21 日齢まで経口投与した離乳後雌 Wistar ラットへの影響( $17\alpha$ -エチニルエストラジオール  $3\mu g/kg/day$  を同時投与)が検討されている。その結果として、 $4.69mg/kg/day$  以上のばく露群で子宮絶対及び相対重量、乾燥子宮絶対及び相対重量の高値、 $18.75mg/kg/day$  以上のばく露群で子宮内上皮細胞厚の高値、 $37.5mg/kg/day$  のばく露群で子宮内腔上皮細胞の円柱状分化スコアの高値が認められ、抗エストロゲン作用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、乾燥子宮絶対及び相対重量、子宮内上皮細胞厚、子宮内腔上皮細胞の円柱状分化スコアの高値が認められたが、抗エストロゲン作用は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

## (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

Gee ら(2008)によって、トリクロサン 0.001、0.01、0.1、1、10、100 $\mu$ M(=0.29、2.9、29、290、2,900、29,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したマウス乳腺腫瘍細胞 S115 + A(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アセチルトランスフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

また、トリクロサン 0.001、0.01、0.1、1、10、100 $\mu$ M(=0.29、2.9、29、290、2,900、29,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D(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アセチルトランスフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラ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、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、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

Chen ら(2007)によって、トリクロサン 0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=0.029、0.29、2.9、29、290、2,900 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト胎児肝臓細胞 HEK293(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、ルシフェラ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、試験の反復回数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、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

Ahn ら(2008)によって、トリクロサン 1、10 $\mu$ M(=290、2,900 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 BG1Luc4E2(アンドロゲン受容体を発現と思われる)によるレポーターアッセイ(アン

ドロゲン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、ルシフェラ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、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、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

## (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

Geeら(2008)によって、トリクロサン 0.001、0.01、0.1、1、10、100 $\mu$ M(=0.29、2.9、29、290、2,900、29,000 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したマウス乳腺腫瘍細胞 S115+A(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アセチ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、0.1 $\mu$ M(=29 $\mu$ g/L)以上の濃度で17 $\beta$ -テストステロン 10nMによるクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

また、トリクロサン 0.001、0.01、0.1、1、10、100 $\mu$ M(=0.29、2.9、29、290、2,900、29,000 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D(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アセチ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、1 $\mu$ M(=290 $\mu$ g/L)以上の濃度で17 $\beta$ -テストステロン 10nMによるクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

また、ラットアンドロゲン受容体結合ドメイン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、IC<sub>49</sub>値 0.9 $\mu$ M(=262 $\mu$ g/L)の濃度で標識17 $\beta$ -テストステロン 4 nMの結合を阻害した。

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、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、17 $\beta$ -テストステロンによるクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められたこと、標識17 $\beta$ -テストステロンの結合を阻害したことから、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。Chenら(2007)によって、トリクロサン 0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=0.029、0.29、2.9、29、290、2,900 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト胎児肝臓細胞 HEK293(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、1 $\mu$ M(=290 $\mu$ g/L)以上の濃度で17 $\beta$ -テストステロン 0.125nMによるルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。



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、試験の反復回数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、17 $\beta$ -テストステロンによるルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められたことから、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。

Ahnら(2008)によって、トリクロサン1、10 $\mu$ M(=290、2,900 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト乳がん細胞BG1Luc4E2(アンドロゲン受容体を発現と思われる)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン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、10 $\mu$ M(=2,900 $\mu$ g/L)の濃度で17 $\beta$ -テストステロン10nMによるルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

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、17 $\beta$ -テストステロンによるルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害について、細胞毒性の可能性があり、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。

#### (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

Jungら(2012)によって、トリクロサン0.001、0.1、10 $\mu$ M(=0.29、29、2,900 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞GH3(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、ルシフェラーゼ発現誘導は認めらなかった。

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、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、ルシフェラーゼ発現誘導は認めらなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

#### (9) 芳香族炭化水素受容体に対する作用

##### 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

Ahnら(2008)によって、トリクロサン1、10 $\mu$ M(=290、2,900 $\mu$ g/L)の濃度に4時間ばく露したラット肝臓がん細胞H4L1.1c4(芳香族炭化水素受容体受容体を発現)によるレポーターアッセイ(芳香族炭化水素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、 $10\mu\text{M}(=2,900\mu\text{g/L})$ の濃度でルシフェラーゼの発現誘導が認められた。

また、トリクロサン 1、 $10\mu\text{M}(=290, 2,900\mu\text{g/L})$ の濃度に4時間ばく露したヒラット肝臓がん細胞 H4L1.1c4(芳香族炭化水素受容体受容体を発現)によるレポーターアッセイ(芳香族炭化水素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、 $10\mu\text{M}(=2,900\mu\text{g/L})$ の濃度で2,3,7,8-テトラクロロジベンゾジオキシン  $1\text{nM}$ によるルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

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、ルシフェラーゼの発現誘導及び2,3,7,8-テトラクロロジベンゾジオキシンによるルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められたことについて、細胞毒性の可能性があり、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。

#### (10) エストロゲン代謝酵素への影響

##### 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

James ら(2010)によって、ヒツジ胎盤組織由来エストロゲンスルホトランスフェラーゼ(エストロン  $2\text{nM}$  を基質とする)を用いた酵素阻害試験が検討されている。その結果として、 $\text{IC}_{50}$  値  $0.0006\mu\text{M}(=0.17\mu\text{g/L})$ の濃度で酵素活性阻害が認められた。

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、試験生物の由来に関する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、酵素活性阻害が認められたことから、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：その他の作用(エストロゲンのスルホトランスフェラーゼ活阻害)

#### (11) 甲状腺受容体発現への影響

##### 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

Veldhoen ら(2006)によって、トリクロサン  $0.03, 0.3, 3, 30\mu\text{g/L}$ に24時間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)細胞 XTC-C への影響(トリヨードサイロニン  $10\text{nM}$  共存下)が検討されている。その結果として、 $0.03\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で甲状腺受容体  $\beta$  mRNA 相対発現量の高値、 $0.03, 0.3, 3\mu\text{g/L}$ のばく露区で甲状腺受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量の高値、 $0.3\mu\text{g/L}$ のばく露区で Basic Transcription Element-binding Protein(BTEB)mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、増殖細胞核抗原 mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、トリクロサン  $0.03, 0.3, 3, 30\mu\text{g/L}$ に24時間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)細胞 XTC-C への影響(トリヨードサイロニン共存なし)が検討されているが、甲状腺受容体  $\alpha$

mRNA 相対発現量、甲状腺受容体  $\beta$  mRNA 相対発現量、Basic Transcription Element-binding Protein(BTEB)mRNA 相対発現量、増殖細胞核抗原 mRNA 相対発現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、甲状腺受容体  $\beta$  mRNA 相対発現量、甲状腺受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、Basic Transcription Element-binding Protein(BTEB)mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、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：その他の影響（不明）

参考 甲状腺受容体発現への影響(今回評価対象としなかった文献)

Hinther ら(2006)によって、トリクロサン 0.001、0.01、0.1 $\mu$ M(=0.29、2.9、29 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したウシガエル(*Rana catesbeiana*)尾びれ組織培養細胞への影響(トリヨードサイロニンなし)が検討されている。その結果として、0.001、0.01 $\mu$ M(=0.29、2.9 $\mu$ g/L)のばく露区でヒートショック蛋白質 30 mRNA 発現量の高値、0.01 $\mu$ M(2.9 $\mu$ g/L)のばく露区でカタラーゼ mRNA 発現量の高値が認められた。なお、甲状腺受容体  $\beta$  mRNA 発現量、幼生ケラチン I mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、トリクロサン 0.001、0.01、0.1 $\mu$ M(=0.29、2.9、29 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したウシガエル(*Rana catesbeiana*)尾びれ組織培養細胞への影響(トリヨードサイロニン共存 10nM 共存下)が検討されているが、甲状腺受容体  $\beta$  mRNA 発現量、幼生ケラチン I(RLKI)mRNA 相対発現量、ヒートショック蛋白質 30 mRNA 発現量、カタラーゼ mRNA 発現量、には影響は認められなかった。

## (12) ライディッヒ細胞への影響

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

Kumar ら(2008)によって、トリクロサン 0.001、0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=0.29、2.9、29、290、2,900 $\mu$ g/L)の濃度に 2 時間ばく露した Wistar ラット精巣由来ライディッヒ細胞への影響(黄体形成ホルモン 100ng/mL 共存下)が検討されている。その結果として、0.01 $\mu$ M(=2.9 $\mu$ g/L)のばく露区でテストステロン産生量、P450scc mRNA 相対発現量、 $3\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ mRNA 相対発現量、 $17\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ mRNA 相対発現量、StAR mRNA 相対発現量、P450scc 活性相対発現量、 $3\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性相対発現量、 $17\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性相対発現量、アデニルサイクラーゼ活性相対発現量、cAMP 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、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、テストステロン産生量、P450scc mRNA 相対発現量、3 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ mRNA 相対発現量、17 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ mRNA 相対発現量、StAR mRNA 相対発現量、P450scc 活性相対発現量、3 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性相対発現量、17 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性相対発現量、アデニルサイクラーゼ活性相対発現量、cAMP 産生量の低値が認められたことから、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：その他の作用（テストステロン生合成阻害）

### (13) 絨毛がん細胞への影響

#### 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

Honkisz ら (2012) によって、トリクロサン 0.001、0.01、0.1、1、10 $\mu$ M (=0.29、2.9、29、290、2,900 $\mu$ g/L) の濃度に 24 時間ばく露したヒト胎盤絨毛がん細胞 JEG-3 への影響が検討されている。その結果として、0.001 $\mu$ M (=0.29 $\mu$ g/L) のばく露区でプロゲステロン分泌量、カスパーゼ 3 活性の高値、0.01 $\mu$ M (=2.9 $\mu$ g/L) のばく露区でヒト絨毛性ゴナドトロピン分泌量の有意な低値(ただし 10 $\mu$ M 区では有意な高値)、0.1 $\mu$ M (=29 $\mu$ g/L) のばく露区で細胞増殖率の低値、1 $\mu$ M (=290 $\mu$ g/L) のばく露区で 17 $\beta$ -エストラジオール分泌量の高値が認められた。(8791)( P、p . 66 ~ 67)

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、プロゲステロン分泌量、カスパーゼ 3 活性の高値、ヒト絨毛性ゴナドトロピン分泌量の有意な低値(ただし 10 $\mu$ M 区では有意な高値)、細胞増殖率の低値、17 $\beta$ -エストラジオール分泌量の高値が認められたことから、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：その他の作用（エストロゲン生合成・分泌系の阻害）

## 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、甲状腺ホルモン様作用、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用、エストロゲン作用、プロゲステロン様作用を示すこと、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：トリクロサン

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	甲状腺ホルモン様作用、抗甲状腺ホルモン様作用	Veldhoen ら (2006)		P	
		Fort ら (2011)		N	×
		Fort ら (2010)		N	×
	エストロゲン作用	Ishibashi ら (2004)		P	
	エストロゲン作用	Raut ら (2010)		P	
		Orvos ら (2002)		?	
		Schultz ら (2012) 評価未実施			
		Matsumura ら (2012) 評価未実施			
(2) 生殖影響	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	Rodríguez と Sanchez (2010)		P	
	エストロゲン様作用、プロゲステロン様作用	Jung ら (2012)		P	
	エストロゲン様作用、視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用	Stoker ら (2009)		P	
(3) 甲状腺影響	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	Zorrilla ら (2009)		P	
	視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用	Stoker ら (2009)		P	
	抗甲状腺ホルモン様作用	Paul ら (2010a)		P	
	抗甲状腺ホルモン様作用	Paul ら (2012)		P	
	抗甲状腺ホルモン様作用	Crofton ら (2007)		P	
	抗甲状腺ホルモン様作用	Paul ら (2010b)		P	
(4) エストロゲン作用	Jung ら (2012)		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>
	Ahn ら(2008)		N	×
	Gee ら(2008)		N	×
	Ishibashi ら(2004)	×		×
(5)抗エストロゲン作用	Ahn ら(2008)		?	
	Gee ら(2008)		P	
	Stoker ら(2009)		N	×
(6)アンドロゲン作用	Gee ら(2008)		N	×
	Chen ら(2007)		N	×
	Ahn ら(2008)		N	×
(7)抗アンドロゲン作用	Gee ら(2008)		P	
	Chen ら(2007)		P	
	Ahn ら(2008)		?	
(8)プロゲステロン作用	Jung ら(2012)		N	×
(9)芳香族炭化水素受容体に対する作用	Ahn ら(2008)		?	
(10) エストロゲン代謝酵素への影響 その他の作用(エストロゲンのスルホトランスフェラーゼ活阻害)	James ら(2010)		P	
(11) 甲 その他の影響(不明)	Veldhoen ら(2006)		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>
甲状腺受容体発現への影響	Hinther ら (2006) 評価未実施			
(12) ライディッヒ細胞への影響	その他の作用(テストステロン生合成阻害)	Kumar ら (2008)		P
(13) 絨毛がん細胞への影響	その他の作用(エストロゲン生合成・分泌系の阻害)	Honkisz ら (2012)		P
今後の対応案	動物試験の報告において、甲状腺ホルモン様作用、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用、エストロゲン作用、プロゲステロン様作用を示すこと、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

Veldhoen N, Skirrow RC, Osachoff H, Wigmore H, Clapson DJ, Gunderson MP, van Aggelen G and Helbing CC (2006) The bactericidal agent triclosan modulates thyroid hormone-associated gene expression and disrupts postembryonic anuran development. *Aquatic Toxicology*, 80 (3), 217-227.

Fort DJ, Mathis MB, Hanson W, Fort CE, Navarro LT, Peter R, Büche C, Unger S, Pawlowski S and Plautz JR (2011) Triclosan and thyroid-mediated metamorphosis in anurans: differentiating growth effects from thyroid-driven metamorphosis in *Xenopus laevis*. *Toxicological Sciences*, 121 (2), 292-302.

Fort DJ, Rogers RL, Gorsuch JW, Navarro LT, Peter R and Plautz JR (2010) Triclosan and anuran metamorphosis: no effect on thyroid-mediated metamorphosis in *Xenopus laevis*. *Toxicological Sciences*, 113 (2), 392-400.

Ishibashi H, Matsumura N, Hirano M, Matsuoka M, Shiratsuchi H, Ishibashi Y, Takao Y and Arizono K (2004) Effects of triclosan on the early life stages and reproduction of medaka *Oryzias latipes* and induction of hepatic vitellogenin. *Aquatic Toxicology*, 67 (2), 167-179.

Raut SA and Angus RA (2010) Triclosan has endocrine-disrupting effects in male western mosquitofish, *Gambusia affinis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29 (6), 1287-1291.

Orvos DR, Versteeg DJ, Inauen J, Capdevielle M, Rothenstein A and Cunningham V (2002) Aquatic toxicity of triclosan. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21 (7), 1338-1349.

Schultz MM, Bartell SE and Schoenfuss HL (2012) Effects of triclosan and triclocarban, two ubiquitous environmental contaminants, on anatomy, physiology, and behavior of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 63 (1), 114-124.

Matsumura N, Ishibashi H, Hirano M, Nagao Y, Watanabe N, Shiratsuchi H, Kai T, Nishimura T,



Kashiwagi A and Arizono K (2005) Effects of nonylphenol and triclosan on production of plasma vitellogenin and testosterone in male South African clawed frogs (*Xenopus laevis*). *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28 (9), 1748-1751.

Rodríguez PE and Sanchez MS (2010) Maternal exposure to triclosan impairs thyroid homeostasis and female pubertal development in Wistar rat offspring. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 73 (24), 1678-1688.

Jung EM, An BS, Choi KC and Jeung EB (2012) Potential estrogenic activity of triclosan in the uterus of immature rats and rat pituitary GH3 cells. *Toxicology Letters*, 208 (2), 142-148.

Stoker TE, Gibson EK and Zorrilla LM (2010) Triclosan exposure modulates estrogen-dependent responses in the female Wistar rat. *Toxicological Sciences*, 117 (1), 45-53.

Zorrilla LM, Gibson EK, Jeffay SC, Crofton KM, Setzer WR, Cooper RL and Stoker TE (2009) The effects of triclosan on puberty and thyroid hormones in male Wistar rats. *Toxicological Sciences*, 107 (1), 56-64.

Paul KB, Hedge JM, DeVito MJ and Crofton KM (2010a) Short-term exposure to triclosan decreases thyroxine *in vivo* via upregulation of hepatic catabolism in Young Long-Evans rats. *Toxicological Sciences*, 113 (2), 367-379.

Paul KB, Hedge JM, Bansal R, Zoeller RT, Peter R, DeVito MJ and Crofton KM (2012) Developmental triclosan exposure decreases maternal, fetal, and early neonatal thyroxine: a dynamic and kinetic evaluation of a putative mode-of-action. *Toxicology*, 300 (1-2), 31-45.

Crofton KM, Paul KB, DeVito MJ and Hedge JM (2007) Short-term *in vivo* exposure to the water contaminant triclosan: Evidence for disruption of thyroxine. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 24 (2), 194-197.

Paul KB, Hedge JM, DeVito MJ and Crofton KM (2010b) Developmental triclosan exposure decreases maternal and neonatal thyroxine in rats. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29 (12), 2840-2844.

Ahn KC, Zhao B, Chen J, Cherednichenko G, Sanmarti E, Denison MS, Lasley B, Pessah IN, Kültz D, Chang DP, Gee SJ and Hammock BD (2008) *In vitro* biologic activities of the antimicrobials triclocarban, its analogs, and triclosan in bioassay screens: receptor-based bioassay screens.

- Environmental Health Perspectives, 116 (9), 1203-1210.
- Gee RH, Charles A, Taylor N and Darbre PD (2008) Oestrogenic and androgenic activity of triclosan in breast cancer cells. *Journal of Applied Toxicology*, 28 (1), 78-91.
- Chen J, Ahn KC, Gee NA, Gee SJ, Hammock BD and Lasley BL (2007) Antiandrogenic properties of parabens and other phenolic containing small molecules in personal care products. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 221 (3), 278-284.
- James MO, Li W, Summerlot DP, Rowland-Faux L and Wood CE (2010) Triclosan is a potent inhibitor of estradiol and estrone sulfonation in sheep placenta. *Environment International*, 36 (8), 942-949.
- Hinther A, Bromba CM, Wulff JE and Helbing CC (2011) Effects of triclocarban, triclosan, and methyl triclosan on thyroid hormone action and stress in frog and mammalian culture systems. *Environmental Science and Technology*, 45 (12), 5395-5402.
- Kumar V, Babmajumder C and Roy P (2008) Disruption of LH-induced testosterone biosynthesis in testicular Leydig cells by triclosan: probable mechanism of action. *Toxicology*, 250 (2-3), 124-131.
- Honkisz E, Zieba-Przybylska D and Wojtowicz AK (2012) The effect of triclosan on hormone secretion and viability of human choriocarcinoma JEG-3 cells. *Reproductive Toxicology*, 34 (3), 385-392.

## ・フタル酸ジイソブチル

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

フタル酸ジイソブチルの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、発達影響、及びエストロゲン作用の有無に関する報告がある。

なお、本物質の主な用途は、可塑剤である。

本物質は、平成14年度要調査項目等存在状況調査の水質調査及び底質調査において検出されている。

### (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

Saillenfait ら(2008)によって、フタル酸ジイソブチル 125、250、500、625mg/kg/day を妊娠12日目から妊娠21日目まで10日間経口投与したSDラットが出産した仔動物への影響が検討されている。その結果として、250mg/kg/day 以上のばく露群で1日齢雄 AGD(肛門生殖突起間距離)、11~12日齢雄前立腺絶対重量の低値、500mg/kg/day 以上のばく露群で11~12日齢雄体重、11~12日齢雄左及び右精巣上体絶対重量の低値、雄包皮分離日の遅延、625mg/kg/day のばく露群で1日齢雄及び雌体重、11~12日齢雄左及び右精巣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、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 AGD(肛門生殖突起間距離)、雄前立腺絶対重量の低値が認められたことから、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

Zhu ら(2010)によって、フタル酸ジイソブチル 100、300、500、800、1,000mg/kg/day を21日齢から7日間経口投与した雄 SDラットへの影響が検討されている。その結果として、500mg/kg/day 以上のばく露群で精巣絶対重量の低値、精細管中精原細胞アポトーシス発生率の高値が認められた。

また、フタル酸ジイソブチル 100、300、500、800、1,000mg/kg/day を21日齢から7日間経口投与した雄 C57B1/6N マウスへの影響が検討されている。その結果として、1,000mg/kg/day のばく露群で精巣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、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、精巣絶対重量の低値、精細管中精原細胞アポトーシス発生率の高値が認められたことから、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：その他の作用(精巣重量低下とアポトーシス細胞増加)

### 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

Hannasら(2011)によって、フタル酸ジイソブチル 100、300、600、900mg/kg/day を妊娠 14 日目から妊娠 18 日目まで 5 日間経口投与した SD ラットの雄胎仔への影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中 CYP11a mRNA 相対発現量の低値、300mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中 StAR mRNA 相対発現量、精巣中テストステロ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、被験物質の入手先及び純度の記載がないことから、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 生殖影響(今回評価対象としなかった文献)

Bobergら(2008)によって、フタル酸ジイソブチル 600mg/kg/day を妊娠 7 日目から妊娠 21 日目まで 15 日間経口投与した Wistar ラットの胎仔への影響が検討されている。その結果として、血清中インシュリン濃度(雌雄混合)、血清中レプチン濃度(雌雄混合)、雄精巣中 mRNA (SR-B1、P450sac、StAR、CYP17、ins13)相対発現量の低値、雌卵巣中アロマターゼ mRNA 発現量の高値が認められた。

また、フタル酸ジイソブチル 600mg/kg/day を妊娠 7 日目から 13 日間経口投与した Wistar ラットの胎仔への影響が検討されている。その結果として、雄精巣中 mRNA (SR-B1、P450sac、StAR、CYP17、SF1、ins13、PPARα)相対発現量、雄肝臓中 PPAR(ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体)α mRNA 発現量の低値が認められた。

Borchら(2006)によって、フタル酸ジイソブチル 600mg/kg/day を妊娠 7 日目から妊娠 20~21 日目まで 14~15 日間経口投与した Wistar ラットの胎仔への影響が検討されている。その結果として、雄精巣中テストステロン濃度、雄精巣テストステロン産生能、雄 AGD(生殖突起間距離)絶対値及び体重補正值の低値、雌 AGD(生殖突起間距離)絶対値及び体重補正值、雄精巣中小ライディッチ細胞集積化発生率、雄精巣中セルトリ細胞液胞化発生率、雄精巣中原生殖細胞局在化発生率、雄精巣中多核原生殖細胞発生率、雄精巣中 StAR 低発現ライディッチ細胞発生率、雄精巣中 P450acc 低発現ライディッチ細胞発生率の高値が認められた。

また、フタル酸ジイソブチル 600mg/kg/day を妊娠 7 日目から妊娠 19 日目まで 13 日間経口投与した Wistar ラットの胎仔への影響が検討されている。その結果として、雄及び雌体重、雄 AGD(生殖突起間距離)絶対値の低値、雌 AGD(生殖突起間距離)相対値、雄精巣中小ライディッチ細胞集積化発生率、雄精巣中 StAR 低発現ライディッチ細胞発生率の高値が認められた。

Oishi と Hiraga (1980)によって、フタル酸ジイソブチル 20,000ppm(餌中濃度)を 1 週間混餌投与した幼若雄 JCL:ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、体重、精巣中亜鉛濃度、肝臓中亜鉛濃度の低値、精巣相対重量、肝臓相対重量、腎臓相対重量の高値が認められた。なお、

精巢中テストステロン濃度には影響は認められなかった。

## 参考

### (2) 発達影響(今回評価対象としなかった文献)

Saillenfaitら(2006)によって、フタル酸ジイソブチル 250、500、750、1,000mg/kg/day を妊娠6日目から妊娠20日目まで15日間経口投与したSDラットへの影響が検討されている。その結果として、500mg/kg/day以上のばく露群で母動物妊娠子宮重量、雄及び雌胎仔体重の低値、750mg/kg/day以上のばく露群で同腹生存新生仔数の低値、着床後同腹胚消失率、同腹胚消失率、外表奇形胎仔発生率、内臓奇形胎仔発生率、骨格奇形胎仔発生率の高値が認められた。

### (3) 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

Harrisら(1997)によって、フタル酸ジイソブチル 0.1、1、10 $\mu$ M(=27.8、278、2,780 $\mu$ g/L)の濃度にばく露した(ばく露期間の記載なし)ヒト乳がん細胞ZR-75による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,780 $\mu$ g/L)以上の濃度で細胞増殖誘導が認められた。

また、フタル酸ジイソブチル 10 $\mu$ M(=2,780 $\mu$ g/L)の濃度に6日間ばく露したヒト乳がん細胞MCF-7による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、細胞増殖誘導が認められた。

また、フタル酸ジイソブチル 0.5~1,000 $\mu$ M(=139~278,000 $\mu$ g/L)の濃度に6日間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン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。その結果として、EC<sub>50</sub>値約100 $\mu$ M(=27,800 $\mu$ g/L、原著Figure 2Aより読み取り)の濃度で $\beta$ ガラクトシダーゼ活性発現誘導が認められた。

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、試験に使用した細胞の由来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、細胞増殖誘導及び $\beta$ ガラクトシダーゼ活性発現誘導が認められたが認められたことから、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。

## 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5に示した。

表 5 信頼性評価のまとめ

物質名：フタル酸ジイソブチル

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	Hannasら(2011)	x	
	抗アンドロゲン様作用	Saillenfaitら(2008)		P
	その他の作用(精巣重量低下とアポトーシス細胞増加)	Zhuら(2010)		P
		Bobergら(2008) 評価未実施		
		Borchら(2006) 評価未実施		
		OishiとHiraga(1980) 評価未実施		
(2) 発達影響		Saillenfaitら(2006) 評価未実施		
(3) エストロゲン作用		Harrisら(1997)		P
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、試験管内試験の報告において、エストロゲン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、 x :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、x: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、x: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

Hannas BR, Lambright CS, Furr J, Howdeshell KL, Wilson VS and Gray LE, Jr. (2011)

Dose-response assessment of fetal testosterone production and gene expression levels in rat testes following *in utero* exposure to diethylhexyl phthalate, diisobutyl phthalate, diisoheptyl phthalate, and diisononyl phthalate. *Toxicological Sciences*, 123 (1), 206-216.

Saillenfait AM, Sabate JP and Gallissot F (2008) Diisobutyl phthalate impairs the androgen-dependent reproductive development of the male rat. *Reproductive Toxicology*, 26 (2), 107-115.

Zhu XB, Tay TW, Andriana BB, Alam MS, Choi EK, Tsunekawa N, Kanai Y and Kurohmaru M (2010) Effects of di-iso-butyl phthalate on testes of prepubertal rats and mice. *Okajimas Folia Anatomica Japonica*, 86 (4), 129-136.

Boberg J, Metzdorff S, Wortziger R, Axelstad M, Brokken L, Vinggaard AM, Dalgaard M and Nellemann C (2008) Impact of diisobutyl phthalate and other PPAR agonists on steroidogenesis and plasma insulin and leptin levels in fetal rats. *Toxicology*, 250 (2-3), 75-81.

Borch J, Axelstad M, Vinggaard AM and Dalgaard M (2006) Diisobutyl phthalate has comparable anti-androgenic effects to di-*n*-butyl phthalate in fetal rat testis. *Toxicology Letters*, 163 (3), 183-190.

Oishi S and Hiraga K (1980) Effect of phthalic acid esters on mouse testes. *Toxicology Letters*, 5 (6), 413-416.

Saillenfait AM, Sabate JP and Gallissot F (2006) Developmental toxic effects of diisobutyl phthalate, the methyl-branched analogue of di-*n*-butyl phthalate, administered by gavage to rats. *Toxicology Letters*, 165 (1), 39-46.

Harris CA, Henttu P, Parker MG and Sumpter JP (1997) The estrogenic activity of phthalate esters *in vitro*. *Environmental Health Perspectives*, 105 (8), 802-811.

## ・ベノミル

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ベノミルの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、発達影響、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗プロゲステロン作用及び卵巣顆粒膜様腫瘍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、農薬(殺菌剤)である。本物質は、環境中ではカルベンダジムとして測定されている。

本物質は、平成20年度要調査項目等存在状況調査の水質調査において検出されている。

#### (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

Spencer ら(1996)によって、ベノミル 500、1,000mg/kg/day を疑妊娠5日目(1日目に子宮頸部刺激処置、4日目に内膜脱離誘導処置)から5日間経口投与した雌SDラットへの影響が検討されている。その結果として、500mg/kg/day 以上のばく露群で子宮相対湿重量、子宮内膜蛋白質含有量の低値が認められた。なお、血清中17 $\beta$ -エストラジオール濃度、血清中プロゲステロン濃度、子宮内膜中エストロゲン受容体濃度、子宮内膜中プロゲステロン受容体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、子宮相対湿重量の低値が認められたことから、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：抗エストロゲン様作用

Carter ら(1984)によって、ベノミル 125、250、500、1,000mg/kg/day を75日齢から5日間経口投与した雄SDラットへの影響(最終投与29日後に採血、31日後に剖検)が検討されている。その結果として、精巣上体頭中精子数に用量相関的な低値傾向、血清卵胞刺激ホルモン濃度に用量相関的な高値傾向が認められた。なお、精巣絶対重量、精囊絶対重量、精巣上体頭絶対重量、精巣上体尾絶対重量、精巣上体尾中精子数、輸精管中精子数、体重、増加体重には影響は認められなかった。

また、ベノミル 125、250、500、1,000mg/kg/day を54日齢から5日間経口投与した雄SDラットへの影響(最終投与29日後に採血、31日後に剖検)が検討されている。その結果として、精巣絶対重量、精巣上体尾絶対重量、精巣上体尾中精子数に用量相関的な低値傾向が認められた。なお、精囊絶対重量、精巣上体頭絶対重量、血清卵胞刺激ホルモン濃度、精巣上体頭中精子数、輸精管中精子数、体重、増加体重には影響は認められなかった。

また、ベノミル 125、250、500、1,000mg/kg/day を33日齢から5日間経口投与した雄SDラットへの影響(最終投与29日後に採血、31日後に剖検)が検討されているが、精巣絶対重量、精囊絶対重量、精巣上体頭絶対重量、精巣上体尾絶対重量、血清卵胞刺激ホルモン濃度、精巣上体頭中精子数、精巣上体尾中精子数、輸精管中精子数、体重、増加体重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、精巣上体頭中精子数に用量相関的な低値傾向、血清卵胞刺激ホルモン濃度に用量相関的な高値傾向が認められたことから、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

#### 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

Linderら(1988)によって、ベノミル1、5、15、45mg/kg/dayを102日齢から76~79日間経口投与した雄Wistarラットへの影響が検討されている。その結果として、15mg/kg/dayのばく露群で精細管萎縮発生率の高値、45mg/kg/dayのばく露群で精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、正常形態精子率、精巣上体尾部中総精子数の低値、精細管多核巨大細胞発生率、精細管総異常発生率、精巣上体多核巨大細胞発生率の高値が認められた。なお、体重、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、精子運動性、精巣上体尾部液中精子濃度、精巣中総精子頭部数、精巣重量当精子頭部数、精細管部分的萎縮発生率、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、血清中プロラクチン濃度、血清中アンドロゲン結合蛋白質濃度、交配(投与開始62日から5日間)試験における妊孕率、同腹胎仔数、雄及び雌胎仔体重、着床数、胚吸収数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、精細管萎縮発生率の高値、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、正常形態精子率、精巣上体尾部中総精子数の低値、精細管多核巨大細胞発生率、精細管総異常発生率、精巣上体多核巨大細胞発生率の高値について、既に知られている精細管への毒性と考えられたことから、内分泌かく乱作用との関連性は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：精細管への毒性

Kavlockら(1982)によって、ベノミル15.6、31.2mg/kg/dayを妊娠7日目から哺育15日目まで31日間経口投与したWistarラットへの影響が検討されている。その結果として、31.2mg/kg/dayのばく露群で100日齢雄仔動物の精巣絶対重量、精囊(前立腺を含む)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、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、精囊(前立腺を含む)絶対重量の低値について、既に知られている精細管への毒性と考えられたことから、内分泌かく乱作用との関連性は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：精細管への毒性

Hessら(1991)によって、ベノミル 25、50、100、200、400、800mg/kg を 97～110 日齢に単回経口投与した雄 SD ラットへの影響(投与 2 日後)が検討されている。その結果として、50mg/kg 以上のばく露群で輸出小管の閉塞発生率の高値、100mg/kg 以上のばく露群で精細管上皮厚の低値、100mg/kg 以上のばく露群で精細管直径、精細管の上皮崩壊発生率の高値、200mg/kg 以上のばく露群で精巣絶対重量の高値が認められた。

ベノミル 25、50、100、200、400mg/kg を 97～110 日齢に単回経口投与した雄 SD ラットへの影響(投与 70 日後)が検討されている。その結果として、100mg/kg 以上のばく露群で輸出小管の閉塞発生率、精巣萎縮発生率の高値、400mg/kg 以上のばく露群で精細管直径、精巣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、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、輸出小管の閉塞発生率、精巣萎縮発生率の高値、精細管上皮厚の低値、精細管直径、精細管の上皮崩壊発生率、精巣絶対重量の低値について、既に知られている精細管への毒性と考えられたことから、内分泌かく乱作用との関連性は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：精細管への毒性

Barnesら(1983)によって、ベノミル 1.0、6.3、203ppm(餌中濃度)を 70 日間混餌投与した雄 Wistar ラットへの影響(投与開始 45 日目から 5 日間交配試験、投与開始 60 日目に精子検査)が検討されている。その結果として、1.0ppm 以上のばく露群で右精巣絶対及び相対重量、左精巣絶対及び相対重量、交配試験における妊孕率の低値、203ppm のばく露群で射精液中精子数の低値が認められた。なお、交配試験における雌右黄体数、雌左黄体数、同腹仔数、胎仔体重、胎仔生存率、着床前胚消失数、胚吸収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、被験物質の純度が 50%と低く、ベノミルと他の添加物と影響の差が区別できないため、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。

参考 生殖影響(今回評価対象としなかった文献)

Piersmaら(1995)によって、ベノミル 10、30、90mg/kg/day を交配 14 日前から出産後 6 日まで 28 日間経口投与した雌雄 Wistar ラットへの影響が検討されている(OECD TG421 準拠)。その結果として、90mg/kg/day のばく露群で 1 及び 6 日齢仔動物体重の低値、父動物性腺退縮重篤度(組織病理学的検査)の高値、母動物増加体重、母動物摂餌量が認められた。なお、黄体数、着床数、着床前胚消失率、着床後胚消失率、生存仔動物数、仔動物死亡率、仔動物性比、仔動物異常発生率には影響は認められなかった。

Linderら(3534)によって、ベノミル 400mg/kg を 102~103 日齢に単回経口投与した雄 SD ラットへの影響(投与 2 日後)が検討されている。その結果として、精巣中精子頭部中濃度(重量当)の低値、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、形態異常精子率の高値が認められた。

また、ベノミル 400mg/kg を 102~103 日齢に単回経口投与した雄 SD ラットへの影響(投与 14 日後)が検討されている。その結果として、精巣上体絶対重量、精巣中精子頭部数及び濃度、精巣上体頭中精子数、精巣上体尾中精子数、運動精子率の低値、形態異常精子率の高値が認められた。

Carter と Laskey (1982)によって、ベノミル 200、400mg/kg/day を 65 日齢から 10 日間(週 5 回×2 週間)経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、400mg/kg/day のばく露群で精巣絶対重量、精巣上体頭中精子数の低値が認められた。なお、精巣上体尾中精子数、輸精管中精子数、精巣上体尾絶対重量に用量相関的な低値傾向が認められた。

Spencerら(1998)によって、ベノミル 500mg/kg/day を疑妊娠 5 日目から 5 日間経口投与した雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、子宮内膜湿重量、子宮内膜中蛋白質含量、子宮内膜中 DNA 含量、子宮内膜中イソコハク酸脱水素酵素活性、子宮内膜中メタロプロテイナーゼ (92kDa)活性の低値が認められた。なお、血清中プロゲステロン濃度には影響は認められなかった。

## (2) 発達影響

### 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

Kavlockら(1982)によって、ベノミル 15.6、31.2、62.5、125mg/kg/day を妊娠 7 日目から 16 日目まで 10 日間経口投与した Wistar ラットの妊娠 21 日目胎仔への影響が検討されている。その結果として、62.5mg/kg/day 以上のばく露群で胎仔体重、胎仔胸骨分節数の低値、異常胎仔数、胎仔上後頭骨度数の高値、62.5mg/kg/day のばく露群で胎仔椎体不均衡発生率の高値、125mg/kg/day のばく露群で異常胎仔妊娠発生数、胎仔死亡率、胎仔片側心室肥大発生率の高値が認められた。

また、ベノミル 50、100、200mg/kg/day を妊娠 7 日目から 17 日目まで 11 日間経口投与した CD-1 マウスの妊娠 18 日目胎仔への影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で胎仔体重の低値、胎仔過剰肋骨発生率、胎仔上後頭骨度数、胎仔椎体不均衡発生率の高値、200mg/kg/day のばく露群で胎仔胸骨分節数、胎仔尾部脊椎数の低値、胎仔死亡率、胎仔片側心室肥大発生率、胎仔腎盂肥大発生率の高値が認められた。

また、ベノミル 169、298、505mg/kg/day(餌中濃度 1,690、3,380、6,760ppm に相当)を妊娠 7 日目から 16 日目まで 10 日間混餌投与した Wistar ラットの妊娠 21 日目胎仔への影響が検討されている。その結果として、298mg/kg/day 以上のばく露群で胎仔体重、母動物増加体重の低値、298mg/kg/day のばく露群で胎仔腎盂肥大発生率の高値、505mg/kg/day のばく露群で胎仔上後頭骨度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、胎仔体重、胎仔胸骨分節数の低値、異常胎仔数、胎仔上後頭骨度数、胎仔椎体不均衡発生率、異常胎仔妊娠発生数、胎仔死亡率、胎仔片側心室肥大発生率の高値等について、内分泌かく乱作用との関連性は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。

#### 参考 発達影響(今回評価対象としなかった文献)

Vergievaら(1998)によって、ベノミル 15.6、62.5、125、500mg/kg を妊娠9日目に単回経口投与した Wistar ラットの妊娠21日目胎仔への影響が検討されている。その結果として、15.6mg/kg 以上のばく露群で胎仔内臓奇形率の高値、62.5mg/kg 以上のばく露群で胎仔外表奇形率、外表奇形仔妊娠率の高値、125mg/kg 以上のばく露群で生存胎仔数の低値、吸収胚数、自己分解胚数の高値が認められた。

また、ベノミル 15.6、62.5、125、500mg/kg を妊娠11日目に単回経口投与した Wistar ラットの妊娠21日目胎仔への影響が検討されている。その結果として、62.5mg/kg 以上のばく露群で胎仔内臓奇形率の高値、125mg/kg 以上のばく露群で生存胎仔数の低値、胎仔外表奇形率、外表奇形仔妊娠率、吸収胚数の高値が認められた。

また、ベノミル 15.6、62.5、125、500、1,000mg/kg を妊娠13日目に単回経口投与した Wistar ラットの妊娠21日目胎仔への影響が検討されている。その結果として、15.6mg/kg 以上のばく露群で胎仔内臓奇形率の高値、62.5mg/kg 以上のばく露群で胎仔外表奇形率、外表奇形仔妊娠率の高値が認められた。

また、ベノミル 15.6、62.5mg/kg/day を妊娠6日目から10日間経口投与した Wistar ラットの妊娠21日目胎仔への影響が検討されている。その結果として、62.5mg/kg のばく露群で生存胎仔数の低値、胎仔内臓奇形率、胎仔外表奇形率、外表奇形仔妊娠率の高値が認められた。

また、ベノミル 125、500、1,000mg/kg を妊娠7日目に単回経口投与した Wistar ラットの妊娠21日目胎仔への影響が検討されている。その結果として、1,000mg/kg のばく露群で生存胎仔数の低値、胎仔内臓奇形率、胎仔外表奇形率、外表奇形仔妊娠率の高値が認められた。

Zemanら(1986)によって、ベノミル 31.2mg/kg/day を妊娠7日目から21日目まで15日間経口投与した SD ラットの妊娠21日目胎仔への影響が検討されている。その結果として、胎仔の脳と眼の異常発生率、胎仔の脳及び眼以外の異常発生率(高蛋白質餌条件下での試験)の高値が認められた。

また、ベノミル 31.2mg/kg/day を妊娠7日目から16日目まで10日間経口投与した SD ラットの妊娠21日目胎仔への影響が検討されている。その結果として、胎仔の脳及び眼以外の異常発生率(高蛋白質餌条件下での試験)、胎仔心臓絶対及び相対重量の高値が認められた。

Hoogenboomら(1991)によって、ベノミル 62.4mg/kg/day を妊娠7日目から21日目まで15日間経口投与した SD ラットの妊娠21日目胎仔への影響が検討されている。その結果として、同腹着床数、胎仔体重、胎仔眼球の球面周距離(絶対値)の低値、胎仔眼球の異常発生率、異常胎仔妊娠発生率、胚吸収発生率の高値が認められた。

また、ベノミル 31.2mg/kg/day を妊娠7日目から16日目まで10日間経口投与した SD ラットの妊娠21日目胎仔への影響が検討されている。その結果として、胎仔の脳及び眼以外の異常発生率(高蛋白質餌条件下での試験)、胎仔心臓絶対及び相対重量の高値が認められた。

Piersmaら(1995)によって、ベノミル 90、270mg/kg/day を妊娠6日目から妊娠15日目まで10日

間経口投与した Wistar ラットの妊娠 21 日目胎仔への影響が検討されている。その結果として、90mg/kg/day 以上のばく露群で母動物増加体重、同腹生存胎仔数、胎仔体重の低値、着床後胚消失率、胎仔奇形発生率の高値が認められた。なお、黄体数、着床数、着床前胚消失率には影響は認められなかった。

Ellis ら(1987)によって、ベノミル 31.2、62.4、125.0mg/kg/day を妊娠 7 日目から妊娠 21 日目まで 15 日間経口投与した SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、胚吸収率、妊娠後期胎仔死亡率、胎仔頭部異常発生率、胎仔身体異常発生率に用量相関的な高値傾向が認められた。

### (3) 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

Kim ら(2009)によって、ベノミル  $1\mu\text{M}(=290\mu\text{g/L})$  の濃度に 4 日間ばく露したゼブラフィッシュ胚(ヒトエストロゲン受容体を発現と思われる)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた緑色蛍光蛋白質に転結した脳アロマターゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、脳アロマターゼ発現誘導が認められた。

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、脳アロマターゼ発現誘導が認められたことから、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。

### (4) エストロゲン作用または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

Scippo ら(2004)によって、ベノミル  $1,000\mu\text{M}(=290,000\mu\text{g/L})$  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。その結果として、 $\text{IC}_{50}$  値  $205\mu\text{M}(=59,500\mu\text{g/L})$  の濃度で標識  $17\beta$ -エストラジオール  $2\text{nM}$  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、設定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、標識  $17\beta$ -エストラジオールによる結合を阻害したことから、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。

### (5) 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ない報告

Scippo ら(2004)によって、ベノミル  $1,000\mu\text{M}(=290,000\mu\text{g/L})$  までの濃度範囲で、ヒトプロゲステロン受容体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  $50\text{nM}$  の結合を阻害し

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、設定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、標識プロゲステロン 50nM の結合を阻害しなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

## (6) 卵巣顆粒膜様腫瘍細胞への影響

### 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

Morinaga ら(2004)によって、ベノミル 1、2、4、6、8、10 $\mu$ M(=290、580、1,160、1,740、2,320、2,900 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト卵巣顆粒膜様腫瘍細胞 KGN への影響が検討されている。その結果として、4  $\mu$ M(=1,160 $\mu$ g/L)以上のばく露区でアロマターゼ相対発現量の高値が認められた。

また、10 $\mu$ M(=2,900 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト卵巣顆粒膜様腫瘍細胞 KGN への影響が検討されている。その結果として、アロマターゼ相対発現量、アロマターゼ mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、プロゲステロン産生量、P40sc mRNA 相対発現量、StAR mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、10 $\mu$ M(=2,900 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した正常ヒト卵巣顆粒膜細胞への影響が検討されている。その結果として、アロマターゼ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、アロマターゼ相対発現量、アロマターゼ mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、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：その他の作用（アロマターゼ活性上昇作用）

## 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、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用を示すこと、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6に示した。

表6 信頼性評価のまとめ

物質名：ベノミル

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	精細管への毒性	Linder ら(1988)		×	×
	精細管への毒性	Kavlock ら(1982)		×	×
	精細管への毒性	Hess ら(1991)		×	×
		Piersma ら(1995) 評価未実施			
		Linder ら(3534) 評価未実施			
		Carter と Laskey (1982) 評価未実施			
		Spencer ら(1998) 評価未実施			
	抗エストロゲン様作用	Spencer ら(1996)		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	Carter ら(1984)		P	
		Barnes ら(1983)	×		×
(2) 発達影響		Vergieva ら(1998) 評価未実施			
		Zeman ら(1986) 評価未実施			
		Hoogenboom ら(1991) 評価未実施			
		Kavlock ら(1982)		×	×
		Piersma ら(1995) 評価未実施			
		Ellis ら(1987) 評価未実施			
(3) エストロゲン作用	Kim ら(2009)		P		
(4) エストロゲン作用または抗エストロゲン作用	Scippo ら(2004)		P		
(5) 抗プロゲステロン作用	Scippo ら(2004)		N	×	

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>
(6) 卵巣顆粒膜様腫瘍細胞への影響	その他の作用(アロマトーゼ活性上昇作用)	Morinagaら(2004)		P
今後の対心案	動物試験の報告において、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用を示すこと、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

Linder RE, Rehnberg GL, Strader LF and Diggs JP (1988) Evaluation of reproductive parameters in adult male Wistar rats after subchronic exposure (gavage) to benomyl. Journal of Toxicology and Environmental Health, 25 (3), 285-298.

Kavlock RJ, Chernoff N, Gray LE, Jr., Gray JA and Whitehouse D (1982) Teratogenic effects of benomyl in the Wistar rat and CD-1 mouse, with emphasis on the route of administration. Toxicology and Applied Pharmacology, 62 (1), 44-54.



Hess RA, Moore BJ, Forrer J, Linder RE and Abuel-Atta AA (1991) The fungicide benomyl (methyl 1-(butylcarbamoyl)-2-benzimidazolecarbamate) causes testicular dysfunction by inducing the sloughing of germ cells and occlusion of efferent ductules. *Fundamental and Applied Toxicology*, 17 (4), 733-745.

Piersma AH, Verhoef A and Dortant PM (1995) Evaluation of the OECD 421 reproductive toxicity screening test protocol using 1-(butylcarbamoyl)-2-benzimidazolecarbamate (benomyl). *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 15 (2), 93-100.

Linder RE, Strader LF, Slott VL and Suarez JD (1992) Endpoints of spermatotoxicity in the rat after short duration exposures to fourteen reproductive toxicants. *Reproductive Toxicology*, 6 (6), 491-505.

Carter SD and Laskey JW (1982) Effect of benomyl on reproduction in the male rat. *Toxicology Letters*, 11 (1-2), 87-94.

Spencer F, Chi L and Zhu MX (1998) Biochemical characterization of benomyl inhibition on endometrial growth during decidualization in rats. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 444, 163-169.

Spencer F, Chi L and Zhu MX (1996) Effect of benomyl and carbendazim on steroid and molecular mechanisms in uterine decidual growth in rats. *Journal of Applied Toxicology*, 16 (3), 211-214.

Carter SD, Hein JF, Rehnberg GL and Laskey JW (1984) Effect of benomyl on the reproductive development of male rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 13 (1), 53-68.

Barnes TB, Verlangieri AJ and Wilson MC (1983) Reproductive toxicity of methyl-1-(butylcarbamoyl)-2-benzimidazole carbamate (benomyl) in male Wistar rats. *Toxicology*, 28 (1-2), 103-115.

Vergieva T (1998) Single day treatment - a feasible tool in revealing not dependent on maternal toxicity teratogenic potential. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 444, 191-199.

Zeman FJ, Hoogenboom ER, Kavlock RJ and Semple JL (1986) Effects on the fetus of maternal benomyl exposure in the protein-deprived rat. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 17 (4), 405-417.

Hoogenboom ER, Ransdell JF, Ellis WG, Kavlock RJ and Zeman FJ (1991) Effects on the fetal rat eye of maternal benomyl exposure and protein malnutrition. *Current Eye Research*, 10 (7), 601-612.

Ellis WG, Semple JL, Hoogenboom ER, Kavlock RJ and Zeman FJ (1987) Benomyl-induced craniocerebral anomalies in fetuses of adequately nourished and protein-deprived rats. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 7 (4), 357-375.

Kim DJ, Seok SH, Baek MW, Lee HY, Na YR, Park SH, Lee HK, Dutta NK, Kawakami K and Park JH (2009) Benomyl induction of brain aromatase and toxic effects in the zebrafish embryo. *Journal of Applied Toxicology*, 29 (4), 289-294.

Scippo ML, Argiris C, van de Weerd C, Muller M, Willemsen P, Martial J and Maghuin-Rogister G (2004) Recombinant human estrogen, androgen and progesterone receptors for detection of potential endocrine disruptors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378 (3), 664-669.

Morinaga H, Yanase T, Nomura M, Okabe T, Goto K, Harada N and Nawata H (2004) A benzimidazole fungicide, benomyl, and its metabolite, carbendazim, induce aromatase activity in a human ovarian granulosa-like tumor cell line (KGN). *Endocrinology*, 145 (4), 1860-1869.

## ．カルベンダジム

### 1．内分泌かく乱作用に関連する報告

カルベンダジム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、発達影響、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用及び卵巣顆粒膜様腫瘍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、殺菌剤(失効農薬)、防カビ剤(ポリウレタンシーラント、紙、塗料、木材)である。

本物質は、平成 23 年度化学物質環境実態調査及び平成 20 年度要調査項目等存在状況調査の水質調査において検出されている。

#### (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

Ribeiro ら(2011)によって、カルベンダジム 12.5、37.5、50、62.5、75µg/L(設定濃度)を 6 日齢から 15 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、50µg/L 以上のばく露区で総産仔数の低値、62.5µg/L 以上のばく露区で体長の低値、死亡卵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、試験方法の詳細な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、総産仔数の低値、体長の低値、死亡卵数の高値について、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：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

Aire (2005)によって、カルベンダジム 400mg/kg を単回経口投与した成熟雄ニホンウズラへの影響(投与 13 日後)が検討されている。その結果として、精巣絶対及び相対重量、精細管直径、精細管上皮厚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、精巣絶対及び相対重量、精細管直径、精細管上皮厚の低値について、既に知られている精細管への毒性と考えられたことから、内分泌かく乱作用との関連性は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：毒性(微細管機能低下)

## (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

Rajeswaryら(2007a)によって、カルベンダジム 25mg/kg/day を 48 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、血清中テストステロン濃度、血清中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度、ライディッヒ細胞中 3 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性、ライディッヒ細胞中 17 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性、ライディッヒ細胞中スーパーオキシドディスムターゼ活性、ライディッヒ細胞中カタラーゼ活性、ライディッヒ細胞中グルタチオンペルオキシダーゼ活性、ライディッヒ細胞中グルタチオンレダクターゼ活性、ライディッヒ細胞中グルタチオン-S-トランスフェラーゼ活性、ライディッヒ細胞中  $\gamma$ -グルタミルトランスぺプチダーゼ活性、ライディッヒ細胞中 G6P デヒドロゲナーゼ活性、ライディッヒ細胞中還元型グルタチオン濃度、ライディッヒ細胞中ビタミン C 濃度、ライディッヒ細胞中ビタミン E 濃度、ライディッヒ細胞中ビタミン A 濃度の低値、ライディッヒ細胞中過酸化脂質生成量、ライディッヒ細胞中過酸化水素生成量、ライディッヒ細胞中ヒドロキシラジカル生成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、試験動物の入手先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、血清中テストステロン濃度、血清中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度等の高値が認められたことから、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

Luら(2004)によって、カルベンダジム 25、50、100、200、400、800mg/kg/day を 4~5 週齢から 56 日間経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、25mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中アンドロゲン受容体発現量、精巣上体中アンドロゲン受容体発現量の高値が認められた。

また、カルベンダジム 675mg/kg/day を 4~5 週齢から 28 日間経口投与した雄 SD ラットへの影響への影響が検討されている。その結果として、精巣絶対重量の低値、精巣の組織病理学的重篤度スコア、精巣上体の組織病理学的重篤度スコア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、精巣中アンドロゲン受容体発現量、精巣上体中アンドロゲン受容体発現量の高値が認められたことから、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：アンドロゲン様作用

Faragら(2011)によって、カルベンダジム 150、300、600mg/kg/day を妊娠 6 日目から妊娠 15 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、150mg/kg/day 以上のばく露群で着床後胚消失率、同腹死亡胎仔数の高値、300mg/kg/day 以上のばく露群で体重、増加体重、日毎摂餌量(妊娠9、12、15、17日目)、子宮絶対及び相対重量、血清中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度、血清中プロゲステロン濃度、同腹生存胎仔数、胎仔体重の低値、血清中総コレステロール濃度、血清中グリセリド濃度、血清中総蛋白質濃度、血清中グルコース濃度、血清中クレアチニン濃度、初期胚吸収発生率、胚吸収が認められる妊娠率、胎仔骨格奇形発生率の高値、600mg/kg/day のばく露群で後期胚吸収発生率、総胚吸収が認められる妊娠率、胎仔外表奇形発生率、胎仔内臓変化発生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、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、血清中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度、血清中プロゲステロン濃度の高値が認められたことから、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

#### 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

Nakai と Hess (1997)によって、カルベンダジム 100mg/kg を 90~100 日齢に単回腹腔内投与した雄 SD ラットへの影響(投与8時間、1.5、4.5、7.5、10.5、20.0 日後)が検討されている。その結果として、精細管中精子細胞長(ばく露 4.5 日後)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、試験動物の入手先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、精細管中精子細胞長の高値について、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。

Hellman と Laryea (1990a)によって、カルベンダジム 247、484、969mg/kg を単回経口投与した雄 C57BL マウスへの影響(24 時間後)が検討されている。その結果として、247mg/kg 以上のばく露群で精巣細胞増殖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、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、精巣細胞増殖率の低値について、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：細胞増殖抑制

Carter ら(1987)によって、カルベンダジム 400mg/kg/day を 90 日齢から 10 日間経口投与した雄

SDラットへの影響(ばく露終了から 245 日後)が検討されている。その結果として、精巣絶対重量、ばく露期間中妊孕率の低値、右及び左精巣中精細管萎縮発生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、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、ばく露期間中妊孕率の低値、右及び左精巣中精細管萎縮発生率の高値について、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：精巣毒性

- ②Cumplings ら(1990)によって、カルベンダジム 1,000mg/kg/day を妊娠 1 日目から 8 日間経口投与した Holtzman ラットへの影響(妊娠 9 日目)が検討されている。その結果として、増加体重、総着床重量、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、血清中 17 $\beta$ -エストラジオール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、増加体重、総着床重量、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、血清中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度の高値について、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。

#### 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

Breslin ら(2013)によって、カルベンダジム 20、400mg/kg/day を 2 日間経口投与した雄 SD 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 以上のばく露群で右及び左精巣上体の組織病理学的所見の重篤度の高値、400mg/kg/day のばく露群で右精巣絶対重量の高値が認められた。

また、カルベンダジム 20、400mg/kg/day を 7 日間経口投与した雄 SD 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 以上のばく露群で右及び左精巣上体の組織病理学的所見の重篤度の高値、400mg/kg/day のばく露群で投与 5 日後の体重、血清中インヒピン濃度の低値、血清中卵巣刺激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、右及び左精巣上体の組織病理学的所見の重篤度、右精巣絶対重量の高値について、既に知られている精細管への毒性と考えられたことから、内分泌かく乱作用との関連性は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：毒性

Grayら(1990)によって、カルベンダジム 50、100、200、400mg/kg/day を離乳日(21日齢)から交配期間(84日齢から2週間)を経て、雄は104~106日齢まで、雌は出産25日後まで経口投与した雌雄LEラットへの影響が検討されている。その結果として、父動物影響として、50mg/kg/day以上のばく露群で精巢上体尾中精子数の低値、100mg/kg/day以上のばく露群で形態異常精子率、精巢の組織病理学的検査における異常所見数の高値、200mg/kg/day以上のばく露群で精巢絶対重量、精巢上体尾絶対重量、精巢中精子数、運動精子率の低値が認められた。生殖影響として、200mg/kg/day以上のばく露群で妊娠率、同腹仔数(1、5、21日齢)、仔動物体重(1日齢)の低値、未着床妊娠率の高値、400mg/kg/dayのばく露群で妊娠中母動物増加体重の低値、胚吸収を含む妊娠率の高値が認められた。

また、カルベンダジム 400mg/kg/day を22日齢から交配期間(68~71日齢)を経て、雄は81~85日齢まで、雌は出産を経て離乳まで経口投与した雌雄Syrianハムスターへの影響が検討されている。その結果として、父動物影響として、精巢中精子数、精巢上体尾中精子数の低値、肝臓絶対重量、腎臓絶対重量の高値が認められた。生殖影響として、仔動物(1、5日齢)体重、雄仔動物(186~190日齢)精巢絶対重量、雄仔動物(186~190日齢)精囊絶対重量、雄仔動物(186~190日齢)精巢上体尾中精子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、精巢上体尾中精子数の低値、形態異常精子率、精巢の組織病理学的検査における異常所見数の高値、精巢絶対重量、精巢上体尾絶対重量、精巢中精子数、運動精子率の低値等について、既に知られている精細管への毒性と考えられたことから、内分泌かく乱作用との関連性は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：microtubuleへの毒性

Goldmanら(1989)によって、カルベンダジム 50、100、200、400mg/kg/day を21日齢から85日間経口投与した雄LDラットへの影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/dayのばく露群で視床下部前葉中性腺刺激ホルモン濃度の高値(400mg/kg/dayのばく露群では低値)、400mg/kg/dayのばく露群で血清中卵胞刺激ホルモン濃度、下垂体前葉中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、視床下部前葉中性腺刺激ホルモン濃度の高値(400mg/kg/dayのばく露群では低値)、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、下垂体前葉中黄体形成ホルモン濃度の高値について、既に知られている精細管への毒性と考えられたことから、内分泌かく乱作用との関連性は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：microtubule への毒性

Moffit ら(2007)によって、カルベンダジム 0、67、100、200mg/kg を単回経口投与した雄 F344 ラットへの影響(投与 12 時間後)が検討されている。その結果として、67mg/kg 以上のばく露群で精巣絶対重量、精細管直径、剥離精細管率、液胞化精細管率、精細管中アポトーシス化細胞率の高値、200mg/kg のばく露群で精子細胞保持精細管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、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、精細管直径、剥離精細管率、液胞化精細管率、精細管中アポトーシス化細胞率、精子細胞保持精細管率の高値について、既に知られている精細管への毒性と考えられたことから、内分泌かく乱作用との関連性は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：セルトリ細胞に対する毒性

Yu ら(2009)によって、カルベンダジム 20、100、200mg/kg/day を 37~42 日齢から 80 日間経口投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で妊孕率、精巣絶対及び相対重量、精子数、運動精子率、S 期生殖細胞存在率、一倍体生殖細胞(1C)存在率、精原細胞(2C)存在率の低値、一次精母細胞(4C)存在率の高値、200mg/kg/day のばく露群で血清中黄体ホルモ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、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、妊孕率、精巣絶対及び相対重量、精子数、運動精子率、S 期生殖細胞存在率、一倍体生殖細胞(1C)存在率、精原細胞(2C)存在率の低値、一次精母細胞(4C)存在率の高値、血清中黄体ホルモン濃度の低値について、既に知られている精細管への毒性と考えられたことから、内分泌かく乱作用との関連性は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：生殖器に対する作用

Lim と Miller (1997a)によって、カルベンダジム 164mg/kg を 97~107 日齢に単回腹腔内投与した雄 SD ラットへの影響(投与 60 分後)が検討されている。その結果として、正常精細管率の低値、上皮に液胞が認められる精細管率、上皮の剥離が認められる精細管率、生殖細胞の内腔への離脱が認められる精細管率の高値が認められた。

また、カルベンダジム 262µg/testis を 97~107 日齢に単回精巣内投与した雄 SD ラットへの影響(投与 60 分後)が検討されている。その結果として、正常精細管率の低値、上皮に液胞が認められる精細管率、上皮の剥離が認められる精細管率、生殖細胞の内腔への離脱が認められる精細管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、正常精細管率の低値、上皮に液胞が認められる精細管率、上皮の剥離が認められる精細管率、生殖細胞の内腔への離脱について、既に知られている精細管への毒性と考えられたことから、内分泌かく乱作用との関連性は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：微小管重合阻害

LimとMiller(1997b)によって、カルベンダジム 164mg/kg を 30~35 日齢に単回腹腔内投与した雄 SD ラットへの影響(投与 120 分後)が検討されている。その結果として、正常精細管率の低値が認められた。

また、カルベンダジム 164mg/kg を 90~110 日齢に単回腹腔内投与した雄 SD ラットへの影響(投与 120 分後)が検討されている。その結果として、正常精細管率の低値、上皮に液胞が認められる精細管率、上皮の剥離が認められる精細管率、生殖細胞の内腔への離脱が認められる精細管率の高値が認められた。

また、カルベンダジム 262 $\mu$ g/testis を 30~35 日齢に単回精巣内投与した雄 SD ラットへの影響(投与 120 分後)が検討されている。その結果として、正常精細管率の低値、上皮に液胞が認められる精細管率の高値が認められた。

また、カルベンダジム 262 $\mu$ g/testis を 90~110 日齢に単回精巣内投与した雄 SD ラットへの影響(投与 120 分後)が検討されている。その結果として、正常精細管率の低値、上皮に液胞が認められる精細管率、上皮の剥離が認められる精細管率、生殖細胞の内腔への離脱が認められる精細管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、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、正常精細管率の低値、上皮に液胞が認められる精細管率、上皮の剥離が認められる精細管率、生殖細胞の内腔への離脱が認められる精細管率の高値について、既に知られている精細管への毒性と考えられたことから、内分泌かく乱作用との関連性は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：毒性

Adedaraら(2013)によって、カルベンダジム 200mg/kg/day を 70 日齢から 7 日間経口投与した成熟雄ラットへの影響が検討されている。その結果として、精巣中スーパーオキシドディスムターゼ比活性、精巣中カタラーゼ比活性、精巣中ステロイド産生急性調節蛋白質(StAR)相対発現量、精巣中アンドロゲン結合蛋白質(ANP)相対発現量、精巣中 3 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ(HSD)比活性、精巣中 17 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ(HSD)比活性の低値、精巣絶対及び相対重量、精巣中脂質過酸化酵素比活性、精巣中シアル酸濃度、精巣中チトクローム c 溶出量、精細管中アポトーシス生殖細胞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、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、精巢中スーパーオキシドディスムターゼ比活性、精巢中カタラーゼ比活性、精巢中ステロイド産生急性調節蛋白質(StAR)相対発現量、精巢中アンドロゲン結合蛋白質(ANP)相対発現量、精巢中 3 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ(HSD)比活性、精巢中 17 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ(HSD)比活性の低値、精巢絶対及び相対重量、精巢中脂質過酸化酵素比活性、精巢中シアル酸濃度、精巢中チトクローム c 溶出量、精細管中アポトーシス生殖細胞率の高値について、既に知られている精細管への毒性と考えられたことから、内分泌かく乱作用との関連性は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：毒性

Rehnbergら(1989)によって、カルベンダジム 50、100、200、400mg/kg/day を 21 日齢から 85 日間経口投与した雄 LE ラットへの影響が検討されている。その結果として、200mg/kg/day 以上のばく露群で精巢絶対重量、精巢上体頭絶対重量、精細管液絶対重量の低値、精巢のテストステロン分泌能(ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン誘導性)、精巢間質液中テストステロン結合蛋白質濃度、精細管液中テストステロン結合蛋白質濃度の高値、400mg/kg/day のばく露群で精巢間質液絶対重量の低値、精巢間質液中テストステロン濃度、精細管液中テストステロン濃度、血清中テストステロン結合蛋白質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ないため、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。

Nakaiら(1992)によって、カルベンダジム 400mg/kg を 86 日齢に単回経口投与した雄 SD ラットへの影響(投与 24 時間後)が検討されている。その結果として、精巢中精子数、精巢中精子濃度の低値、精巢絶対重量の高値が認められた。

また、カルベンダジム 400mg/kg を 86 日齢に単回経口投与した雄 SD ラットへの影響(投与 32 時間後)が検討されている。その結果として、精巢中精子数、精巢中精子濃度、精巢上体尾中の正常形態精子率の低値が認められた。

また、カルベンダジム 50、100、200、400、800mg/kg を 97~105 日齢に単回経口投与した雄 SD ラットへの影響(投与 2 日後)が検討されている。その結果として、100mg/kg 以上のばく露群で精巢絶対重量、上皮の剥離が認められる精細管率、精巢輸尿管閉鎖発生率の高値、400mg/kg 以上のばく露群で精細管直径の高値が認められた。

また、カルベンダジム 50、100、200、400、800mg/kg を 97~105 日齢に単回経口投与した雄 SD ラットへの影響(投与 70 日後)が検討されている。その結果として、50mg/kg 以上のばく露群で精細管直径の低値、100mg/kg 以上のばく露群で精巢絶対重量の低値、精巢萎縮発生率、精巢輸尿管閉鎖発生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、被験物質の入手先及び純度の記載がないため、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。

Spencerら(1996)によって、カルベンダジム 500、1,000mg/kg/day を偽妊娠 5 日目(1 日目に子宮頸部刺激処置、4 日目に子宮内膜脱離誘導処置)から 5 日間経口投与した雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、500mg/kg/day 以上のばく露群で子宮相対湿重量、子宮内膜中蛋白質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、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、子宮相対湿重量、子宮内膜中蛋白質濃度の低値について、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：不明

#### 参考 生殖影響(今回評価対象としなかった文献)

Rajeswaryら(2007b)によって、カルベンダジム 25mg/kg/day を 48 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、精巣絶対重量、精細管直径、精細管内腔直径の低値が認められた。

Pachecoら(2012)によって、カルベンダジム 50mg/kg/day を 57~63 週齢から 3 ヶ月間経口投与した雄 F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中  $\beta$ -インヒピン濃度の低値、ホモゲネーション耐性精子細胞数の高値、精巣中遺伝子 *Clu*, *sil1*, *Fank1*, *Abi2*, *Bag1*, *Mfap3l*, *Ift81*, *Ptgds*mRNA 発現量の変動が認められた。

Moffitら(2013)によって、カルベンダジム 200mg/kg/day を 29 日間経口投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、精細管における組織病理学的所見が認められた。

②Hellman と Laryea(1990b)によって、カルベンダジム 658mg/kg を単回経口投与した雄 C57BL マウスへの影響(24 時間後)が検討されている。その結果として、精巣細胞増殖率の低値が認められた。

#### 参考 (3) 発達影響(今回評価対象としなかった文献)

Sitarek(2001)によって、カルベンダジム 8、35mg/kg/day を妊娠 6 日目から 10 日間経口投与した雌ラットへの影響(妊娠 20 日目)が検討されている。その結果として、8mg/kg/day 以上のばく露群で胎仔骨格異常発生率の高値、35mg/kg/day のばく露群で母動物増加体重、母動物肝臓絶対及び相対重量、同腹生存胎仔数、胎仔体重、胎仔頭臀長、胎盤絶対重量の低値、胚吸収発生妊娠数、着床後胚吸収数、着床後胚消失数、胎仔内臓異常発生率の高値が認められた。

Cummingsら(1992)によって、カルベンダジム 100、200、400、600mg/kg/day を妊娠 1 日目から

8日間経口投与した Holtzman ラットへの影響(妊娠 20 日目)が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で母動物体重、同腹胎仔生存率、同腹生存胎仔数、生存胎仔体重の低値、全胚吸収妊娠率、胎仔の骨格異常発生率の高値が認められた。

また、カルベンダジム 100、200、400、600mg/kg/day を妊娠 1 日目から 8 日間経口投与した Holtzman ラットへの影響(妊娠 11 日目)が検討されている。その結果として、200mg/kg/day 以上のばく露群で同腹生存胚数、胚頭臀長、胚頭幅、胚体節数、胚生存率、胚発達率の低値、胚形態異常発生率の高値が認められた。

Perreault ら(1992)によって、カルベンダジム 50、500、700、1,000mg/kg を発情前期の時刻 15:30(減数分裂 I 期)に単回経口投与した雌 Syrian ハムスターへの影響(投与後に非投与雄と交配させ妊娠 15 日目)が検討されている。その結果として、250mg/kg 以上のばく露群で胎仔数の低値、着床前胚消失数の高値、500mg/kg 以上のばく露群で着床後胚消失数の高値、750mg/kg 以上のばく露群で妊娠率の低値が認められた。

また、カルベンダジム 1,000mg/kg を発情期の時刻 5:00(減数分裂 期)に単回経口投与した雌 Syrian ハムスターへの影響(投与後に非投与雄と交配させ妊娠 15 日目)が検討されている。その結果として、胎仔数の低値、着床前胚消失数、着床後胚消失数の高値が認められた。

#### (4) 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

Barlas ら(2002)によって、カルベンダジム 150、300、600mg/kg/day を 15 週間経口投与した雄 Wistar Swiss ラットへの影響が検討されている。その結果として、150mg/kg/day 以上のばく露群で甲状腺の組織病理学的変化発生率、副甲状腺の組織病理学的変化発生率、副腎の組織病理学的変化発生率の高値、300mg/kg/day のばく露群で血清中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、試験方法の詳細な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、甲状腺の組織病理学的変化発生率、副甲状腺の組織病理学的変化発生率、副腎の組織病理学的変化発生率、血清中トリヨードサイロニン濃度の高値について、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

#### (5) 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ない報告

Chakraborty ら(2011)によって、カルベンダジム 0.00001 ~ 1  $\mu$ M(=0.00183 ~ 183 $\mu$ g/L)の濃度に 44 時間ばく露したヒト胎児腎細胞 HEK-293(3 種類について検討、それぞれメダカエストロゲン受容体  $\alpha$ 、 $\beta$ 1、 $\beta$ 2 を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン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、ルシフェラ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、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、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

Yamadaら(2005)によって、カルベンダジム 0.01、0.1、0.5、1、5  $\mu$ M(=1.91、19.1、95.5、191、955 $\mu$ g/L)の濃度に 40時間ばく露したヒトがん細胞 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、ルシフェラ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、試験方法の詳細な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、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

## (6)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ない報告

Yamadaら(2005)によって、カルベンダジム 0.01、0.1、0.5、1、5 $\mu$ M(=1.91、19.1、95.5、191、955 $\mu$ g/L)の濃度に 40時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 0.1nM 共存下)したヒトがん細胞 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、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害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、試験方法の詳細な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、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

## (7)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

Luら(2004)によって、カルベンダジム 5、50、500 $\mu$ M(=956、9,560、95,600 $\mu$ g/L)の濃度で SD ラット精巣及び精巣上体由来アンド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、5  $\mu$ M(=956 $\mu$ g/L)以上の濃度で 5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 1 nM に対する結合阻害が認められた。

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、5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロンに対する結合阻害が認められたことから、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

Yamada ら(2005)によって、カルベンダジム 0.01、0.1、0.5、1、5  $\mu$ M(=1.91、19.1、95.5、191、955 $\mu$ g/L)の濃度に 40 時間ばく露したヒトがん細胞 Hela(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、ルシフェラ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、試験方法の詳細な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、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

### (8) 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ない報告

Yamada ら(2005)によって、カルベンダジム 0.01、0.1、0.5、1、5  $\mu$ M(=1.91、19.1、95.5、191、955 $\mu$ g/L)の濃度に 40 時間ばく露(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 0.1nM 共存下)したヒトがん細胞 Hela(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、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害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、試験方法の詳細な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、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

### (9) 卵巣顆粒膜様腫瘍細胞への影響

#### 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

Morinaga ら(2004)によって、カルベンダジム 10 $\mu$ M(=1,910 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト卵巣顆粒膜様腫瘍細胞 KGN への影響が検討されている。その結果として、アロマターゼ相対発現量の高値が認められた。

また、カルベンダジム 10 $\mu$ M(=1,910 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト卵巣顆粒膜様腫瘍細胞 KGN によるレポーターアッセイ(CYP19 プロモータ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)への影響が検討されている。その結果として、ルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

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、アロマターゼ相対発現量の高値及びルシフェラーゼ発現誘導が認められたことから、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：その他の作用（アロマターゼ活性上昇作用）

## 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、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用、アンドロゲン様作用、視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告においてアンドロゲン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7に示した。

表7 信頼性評価のまとめ

物質名：カルベンダジム

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>	
(I) 生態影響	毒性	Ribeiro ら(2011)		?	
	毒性(微細管機能低下)	Aire (2005)		×	×

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>	
(2) 生殖影響	毒性	Breslin ら(2013)		x	x
	視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用	Rajeswary ら(2007a)		P	
		Rajeswary ら(2007b) 評価未実施			
	アンドロゲン様作用	Lu ら(2004)		P	
		Pacheco ら(2012) 評価未実施			
	microtubule への毒性	Gray ら(1990)		x	x
	microtubule への毒性	Goldman ら(1989)		x	x
	セルトリ細胞に対する毒性	Moffit ら(2007)		x	x
	生殖器に対する作用	Yu ら(2009)		x	x
		Nakai と Hess(1997)		?	
	視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用	Farag ら(2011)		P	
	微小管重合阻害	Lim と Miller(1997a)		x	x
	毒性	Lim と Miller(1997b)		x	x
	毒性	Adedara ら(2013)		x	x
		Moffit ら(2013) 評価未実施			
		Rehnberg ら(1989)	x	-	x
	細胞増殖抑制	Hellman と Laryea(1990a)		?	
		Nakai ら(1992)	x	-	x
	精巣毒性	Carter ら(1987)		?	
		Spencer ら(1996)		x	x
	①Hellman と Laryea(1990b) 評価未実施				
	②Cummings ら(1990)		?		
(3) 発		Sitarek(2001) 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>
達影響	Cummingsら(1992) 評価未実施			
	Perreaultら(1992) 評価未実施			
(4) 甲状腺影響	視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用 Barlasら(2002)		P	
(5) エストロゲン作用	Chakrabortyら(2011)		N	×
	Yamadaら(2005)		N	×
(6) 抗エストロゲン作用	Yamadaら(2005)		N	×
(7) アンドロゲン作用	Yamadaら(2005)		N	×
	Luら(2004)		P	
(8) 抗アンドロゲン作用	Yamadaら(2005)		N	×
(9) 卵巣顆粒膜腫瘍細胞への影響	その他の作用(アロマターゼ活性上昇作用) Morinagaraら(2004)		P	
今後の対応案	動物試験の報告において、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用、アンドロゲン様作用、視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告においてアンドロゲン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

Ribeiro F, Ferreira NC, Ferreira A, Soares AM and Loureiro S (2011) Is ultraviolet radiation a synergistic stressor in combined exposures? The case study of *Daphnia magna* exposure to UV and carbendazim. *Aquatic Toxicology*, 102 (1-2), 114-122.

Aire TA (2005) Short-term effects of carbendazim on the gross and microscopic features of the testes of Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Anatomy and Embryology*, 210 (1), 43-49.

Breslin WJ, Paulman A, Sun-Lin D, Goldstein KM and Derr A (2013) The inhibin B (InhB) response to the testicular toxicants mono-2-ethylhexyl phthalate (MEHP), 1,3-dinitrobenzene (DNB), or carbendazim (CBZ) following short-term repeat dosing in the male rat. *Birth Defects Research. Part B, Developmental and Reproductive Toxicology*, 98 (1), 72-81.

Rajeswary S, Kumaran B, Ilangovan R, Yuvaraj S, Sridhar M, Venkataraman P, Srinivasan N and Aruldas MM (2007a) Modulation of antioxidant defense system by the environmental fungicide carbendazim in Leydig cells of rats. *Reproductive Toxicology*, 24 (3-4), 371-380.

Rajeswary S, Mathew N, Akbarsha MA, Kalyanasundram M and Kumaran B (2007b) Protective effect of vitamin E against carbendazim-induced testicular toxicity-histopathological evidences and reduced residue levels in testis and serum. *Archives of Toxicology*, 81 (11), 813-821.

Lu SY, Liao JW, Kuo ML, Wang SC, Hwang JS and Ueng TH (2004) Endocrine-disrupting activity in carbendazim-induced reproductive and developmental toxicity in rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 67 (19), 1501-1515.

Pacheco SE, Anderson LM, Sandrof MA, Vantangoli MM, Hall SJ and Boekelheide K (2012) Sperm mRNA transcripts are indicators of sub-chronic low dose testicular injury in the Fischer 344 rat. *PLoS One*, 7 (8), e44280.

Gray LE, Jr., Ostby J, Linder R, Goldman J, Rehnberg G and Cooper R (1990) Carbendazim-induced alterations of reproductive development and function in the rat and hamster. *Fundamental and Applied Toxicology*, 15 (2), 281-297.

Goldman JM, Rehnberg GL, Cooper RL, Gray LE, Jr., Hein JF and McElroy WK (1989) Effects of the benomyl metabolite, carbendazim, on the hypothalamic-pituitary reproductive axis in the male rat. *Toxicology*, 57 (2), 173-182.

Moffit JS, Bryant BH, Hall SJ and Boekelheide K (2007) Dose-dependent effects of sertoli cell toxicants 2,5-hexanedione, carbendazim, and mono-(2-ethylhexyl) phthalate in adult rat testis. *Toxicologic Pathology*, 35 (5), 719-727.

Yu G, Guo Q, Xie L, Liu Y and Wang X (2009) Effects of subchronic exposure to carbendazim on spermatogenesis and fertility in male rats. *Toxicology and Industrial Health*, 25 (1), 41-47.

Nakai M and Hess RA (1997) Effects of carbendazim (methyl 2-benzimidazole carbamate; MBC) on meiotic spermatocytes and subsequent spermiogenesis in the rat testis. *Anatomical Record*, 247 (3), 379-387.

Farag A, Ebrahim H, ElMazoudy R and Kadous E (2011) Developmental toxicity of fungicide carbendazim in female mice. *Birth Defects Research. Part B, Developmental and Reproductive Toxicology*, 92 (2), 122-130.

Lim J and Miller MG (1997a) The role of the benomyl metabolite carbendazim in benomyl-induced testicular toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 142 (2), 401-410.

Lim J and Miller MG (1997b) Role of testis exposure levels in the insensitivity of prepubertal rats to carbendazim-induced testicular toxicity. *Fundamental and Applied Toxicology*, 37 (2), 158-167.

Adedara IA, Vaithinathan S, Jubendradass R, Mathur PP and Farombi EO (2013) Kolaviron prevents carbendazim-induced steroidogenic dysfunction and apoptosis in testes of rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 35 (3), 444-453.

Moffit JS, Her LS, Mineo AM, Knight BL, Phillips JA and Thibodeau MS (2013) Assessment of inhibin B as a biomarker of testicular injury following administration of carbendazim, cetorelix, or 1,2-dibromo-3-chloropropane in wistar han rats. *Birth Defects Research. Part B, Developmental and Reproductive Toxicology*, 98 (1), 17-28.

Rehnberg GL, Cooper RL, Goldman JM, Gray LE, Hein JF and McElroy WK (1989) Serum and testicular testosterone and androgen binding protein profiles following subchronic treatment with

carbendazim. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 101 (1), 55-61.

Hellman B and Laryea D (1990a) Inhibitory action of benzimidazole fungicides on the *in vivo* incorporation of [<sup>3</sup>H]thymidine in various organs of the mouse. *Food and Chemical Toxicology*, 28 (10), 701-706.

Nakai M, Hess RA, Moore BJ, Guttroff RF, Strader LF and Linder RE (1992) Acute and long-term effects of a single dose of the fungicide carbendazim (methyl 2-benzimidazole carbamate) on the male reproductive system in the rat. *Journal of Andrology*, 13 (6), 507-518.

Carter SD, Hess RA and Laskey JW (1987) The fungicide methyl 2-benzimidazole carbamate causes infertility in male Sprague-Dawley rats. *Biology of Reproduction*, 37 (3), 709-717.

Spencer F, Chi L, and Zhu MX (1996) Effect of benomyl and carbendazim on steroid and molecular mechanisms in uterine decidual growth in rats. *Journal of Applied Toxicology*, 16 (3), 211-214.

Hellman B and Laryea D (1990b) Inhibitory effects of benomyl and carbendazim on the [<sup>3</sup>H]thymidine incorporation in various organs of the mouse--evidence for a more pronounced action of benomyl. *Toxicology*, 61 (2), 161-169.

Cummings AM, Harris ST and Rehnberg GL (1990) Effects of methyl benzimidazolecarbamate during early pregnancy in the rat. *Fundamental and Applied Toxicology*, 15 (3), 528-535.

Sitarek K (2001) Embryolethal and teratogenic effects of carbendazim in rats. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 21 (5), 335-340.

Cummings AM, Ebron-McCoy MT, Rogers JM, Barbee BD and Harris ST (1992) Developmental effects of methyl benzimidazolecarbamate following exposure during early pregnancy. *Fundamental and Applied Toxicology*, 18 (2), 288-293.

Perreault SD, Jeffay S, Poss P and Laskey JW (1992) Use of the fungicide carbendazim as a model compound to determine the impact of acute chemical exposure during oocyte maturation and fertilization on pregnancy outcome in the hamster. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 114 (2), 225-231.

Barlas N, Selmanoglu G, Koçkaya A and Songür S (2002) Effects of carbendazim on rat thyroid, parathyroid, pituitary and adrenal glands and their hormones. *Human and Experimental*

Toxicology, 21 (4), 217-221.

Chakraborty T, Katsu Y, Zhou LY, Miyagawa S, Nagahama Y and Iguchi T (2011) Estrogen receptors in medaka (*Oryzias latipes*) and estrogenic environmental contaminants: an *in vitro-in vivo* correlation. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 123 (3-5), 115-121.

Yamada T, Sumida K, Saito K, Ueda S, Yabushita S, Sukata T, Kawamura S, Okuno Y and Seki T (2005) Functional genomics may allow accurate categorization of the benzimidazole fungicide benomyl: lack of ability to act via steroid-receptor-mediated mechanisms. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 205 (1), 11-30.

Morinaga H, Yanase T, Nomura M, Okabe T, Goto K, Harada N and Nawata H (2004) A benzimidazole fungicide, benomyl, and its metabolite, carbendazim, induce aromatase activity in a human ovarian granulosa-like tumor cell line (KGN). *Endocrinology*, 145 (4), 1860-1869.

## 酢酸 2-エトキシエチル

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

酢酸 2-エトキシエチルの内分泌かく乱作用に関連する報告として、発達影響の有無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(塗料、インキ)である。

本物質は、平成 22 年度化学物質環境実態調査の大気調査において検出されている。

#### 参考 (1) 発達影響(今回評価対象としなかった文献)

Doe (1984)によって、酢酸 2-エトキシエチル 24.9±0.7、99±2、412±7ppm(チャンバー内空气中測定濃度)に妊娠 6 日目から 13 日間(日毎 6 時間)吸入ばく露した Dutch ウサギへの影響(妊娠 29 日目)が検討されている。その結果として、99ppm 以上のばく露区で生存胎仔体重の低値、胎仔骨格異常発生率の高値、412ppm のばく露区で同腹総胎仔重量、同腹生存胎仔数の低値、着床後胚消滅率の高値が認められた。

Tyl ら(1988)によって、酢酸 2-エトキシエチル 50、100、200、300ppm(チャンバー内空气中測定濃度)に妊娠 6 日目から 13 日間(日毎 6 時間)吸入ばく露した NZW ウサギへの影響(妊娠 29 日目)が検討されている。その結果として、200ppm 以上のばく露区で同腹死亡着床数、生存胎仔が認められない妊娠数、胎仔外表奇形発生率、胎仔内臓奇形発生率、胎仔骨格奇形発生率の高値、300ppm のばく露区でばく露期間中母動物増加体重、同腹黄体数の低値、同腹初期吸収胚数の高値が認められた。

また、酢酸 2-エトキシエチル 50、100、200、300ppm(チャンバー内空气中測定濃度)に妊娠 6 日目から 10 日間(日毎 6 時間)吸入ばく露した F344 ラットへの影響(妊娠 21 日目)が検討されている。その結果として、200ppm 以上のばく露区で雄及び雌胎仔体重、ばく露期間中母動物増加体重の低値、胎仔骨格奇形発生率の高値、300ppm のばく露区で同腹死亡着床数、胎仔内臓奇形発生率の高値が認められた。

#### (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ない報告

Chia ら(1997)によって、酢酸 2-エトキシエチルについて、シンガポールにて 1998 年にかけて、ばく露群として液晶画面製造作業に従事する女性 52 名(平均年齢 29.8 歳、平均勤続年数 5.2 年、平均初潮年齢 13.3 歳、酢酸 2-エトキシエチルばく露濃度幾何平均値 0.51±0.83ppm、酢酸 2-エトキシエチル尿中濃度幾何平均値 0.16±1.05mg/g クレアチニン)及び非ばく露群として同一工場同一階で作業に従事する女性 55 名(平均年齢 27.6 歳、平均勤続年数 3.8 年、平均初潮年齢 13.7 歳、作業中有機溶媒非ばく露を確認)を対象に、酢酸 2-エトキシエチルばく露と月経周期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いて、月経周期、継続日数に相関性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、酢酸 2-エトキシエチルばく露と月経周期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いて、月経周期、継続日数に相関性は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

## 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なかった。

以上に基づき、本物質は現時点では試験対象物質としないと判断された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表8に示した。

表8 信頼性評価のまとめ

物質名：酢酸 2-エトキシエチル

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) 発達影響	Doe (1984) 評価未実施			
	Tylら(1988) 評価未実施			
(2) 疫学的調査	Chiaら(1997)		×	×
今後の対応案	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は得られなかったため、現時点では試験対象物質にしない。			

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

Doe JE (1984) Ethylene glycol monoethyl ether and ethylene glycol monoethyl ether acetate teratology studies. *Environmental Health Perspectives*, 57, 33-41.

Tyl RW, Pritts IM, France KA, Fisher LC and Tyler TR (1988) Developmental toxicity evaluation of inhaled 2-ethoxyethanol acetate in Fischer 344 rats and New Zealand white rabbits. *Fundamental and Applied Toxicology*, 10 (1), 20-39.

Chia SE, Foo SC, Khoo NY and Jeyaratnam J (1997) Menstrual patterns of workers exposed to low levels of 2-ethoxyethylacetate (EGEEA). *American Journal of Industrial Medicine*, 31 (2), 148-152.



## ・ジクロロ酢酸

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ジクロロ酢酸の内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響、発達影響の有無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、有機合成原料、医薬原料である。

本物質は、平成 11 年度要調査項目等存在状況調査の水質調査において検出されている。

#### (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

Toth ら(1992)によって、ジクロロ酢酸 31.25、62.5、125mg/kg/day(Na 塩換算)に 114 日齢以後から 70 日間経口投与した雄 LE ラットへの影響(投与開始 70 日後に非ばく露雌との交配試験、投与開始 75 日後に剖検及び精子検査)が検討されている。その結果として、62.5mg/kg/day 以上のばく露群で体重、増加体重、精巣上体尾中精子数(重量当)、正常形態精子率、運動精子率、運動精子の直線及び曲線運動速度、運動精子の直進性、運動精子の頭部振幅、右精巣上体絶対及び相対重量、右包皮腺絶対及び相対重量の低値、肝臓絶対及び相対重量の高値、125mg/kg/day のばく露群で交配試験における同腹着床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、精巣上体尾中精子数(重量当)、正常形態精子率、運動精子率、運動精子の直線及び曲線運動速度、運動精子の直進性、運動精子の頭部振幅、右精巣上体絶対及び相対重量、右包皮腺絶対及び相対重量の低値が認められたことから、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

##### 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

Linder ら(1997)によって、ジクロロ酢酸 18、54、160、480、1,440mg/kg/day に 105 日齢から 14 日間経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、160mg/kg/day 以上のばく露群で精巣上体尾中精子数、精巣上体尾中精子の正常形態精子率、運動精子率、直進運動精子率の低値、480mg/kg/day 以上のばく露群で体重、精巣上体絶対重量、精巣上体頭中精子の正常形態精子率、精巣上体頭及び頭中精子の癒着精子率、運動精子の直線速度の低値、1,440mg/kg/day のばく露群で精巣上体頭中精子数の低値が認められた。

また、ジクロロ酢酸 1,500、3,000mg/kg に 104 日齢に単回経口投与した雄 SD ラットへの影響(投与 28 日後)が検討されている。その結果として、1,500mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中精子数の高値、3,000mg/kg のばく露群で精巣絶対重量の高値が認められた。なお、体重、精巣上体絶対

重量、血清中テストステロン濃度、精巣上体頭中精子数、精巣上体尾中精子数、精巣上体頭中精子  
の正常形態精子率、精巣上体尾中精子の正常形態精子率、運動精子率、直進運動精子率、運動精子  
の直線速度、運動精子の平均速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、精巣上体尾中精子数、精巣上体尾中精子の正  
常形態精子率、運動精子率、直進運動精子率の低値等について、既に知られている精巣への毒性と  
考えられたことから、内分泌かく乱作用との関連性は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：毒性

## (2) 発達影響

### 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

Fisherら(2001)によって、ジクロロ酢酸 300mg/kg/day に妊娠6日目から10日間経口投与したSD  
ラットへの影響が検討されている。その結果として、母動物増加体重、子宮絶対重量、仔動物体重  
の低値が認められた。なお、同腹着床数、同腹胎仔数、初期胚吸収が認められる妊娠数、胎仔奇形  
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、母動物増加体重、子宮絶対重量、仔動物体重  
の低値について、内分泌かく乱作用との関連性は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。

### 参考 発達影響(今回評価対象としなかった文献)

Smithら(1992)によって、ジクロロ酢酸 14、140、400mg/kg/day に妊娠6日目から10日間経口投  
与したLEラットへの影響(妊娠20日目)が検討されている。その結果として、14mg/kg/day以上の  
ばく露群で母動物肝臓絶対重量の高値、400mg/kg/dayのばく露群で母動物体重、母動物増加体重、  
同腹総着床数、雄及び雌胎仔体重、雄及び雌胎仔頭臀長の低値、母動物脾臓絶対重量、母動物腎臓  
絶対重量、胎仔柔組織奇形発生率高値が認められた。

また、ジクロロ酢酸 900、1,400、1,900、2,400mg/kg/day に妊娠6日目から10日間経口投与し  
たLEラットへの影響(妊娠20日目)が検討されている。その結果として、900mg/kg/day以上のば  
く露群で母動物体重、母動物増加体重、雄及び雌胎仔体重、雄及び雌胎仔頭臀長の低値、着床後胚  
消失率、母動物肝臓絶対重量、母動物脾臓絶対重量、母動物腎臓絶対重量、胎仔柔組織奇形発生率  
の高値、1,400及び1,900mg/kg/dayのばく露群で胎仔外表奇形発生率の高値、2,400mg/kg/dayの  
ばく露群で同腹生存胎仔数の低値、胎仔雄性比の高値が認められた。

### (3)疫学的調査

#### 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

Hinckley ら(2005)によって、ジクロロ酢酸について、米国 Arizona 州の一都市近郊地域(大部分が Salt River and Central Arizona プロジェクトに水道水供給)にて 1998 年から 2003 年にかけて、出産女性 48,119 名(子宮内胎児発育遅延発生率 9.5%、発育遅延出産率 2.1%)を対象に、公共水道消毒副生成物ばく露と発育遅延出産との関連性について検討されている。その結果として、低ばく露群(第 3 三半期間中の飲料水中ジクロロ酢酸濃度について 6 µg/L 未満)と中ばく露群(6 ~ 8 µg/L)、高ばく露群(8 µg/L 以上)との補正オッズ比において、高ばく露群の子宮内胎児発育遅延(当該人種、民族、妊娠期間の平均体重 10 パーセントイル値未満)発生率に正の相関性が認められた。なお、正常妊娠期間低体重(37 週間以上の妊娠期間後の出産において体重 2,500g 未満)には相関性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、高ばく露群の子宮内胎児発育遅延発生率に正の相関性が認められたが、ジクロロ酢酸の関与が他の物質の関与と区別できないため、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。

#### 参考 (3)疫学的調査(今回評価対象としなかった文献)

Wright ら(2004)によって、ジクロロ酢酸について、米 Massachusetts 州の人口一万人以上の 109 都市にて 1995 年から 1998 年にかけて、出産 196,000 件(全出生届 282,645 件のうち新生児体重 200g 以上、妊娠期間 22 から 45 週間の範囲)を対象に、公共水道消毒副生成物と出産影響との関連性について検討されているが、低ばく露群(第 3 三半期間中の水道水中ジクロロ酢酸濃度 2 ~ 15 µg/L)と中ばく露群(15 ~ 22 µg/L)、高ばく露群(22 ~ 24 µg/L)との補正オッズ比において、子宮内胎児発育遅延(当妊娠期間の平均体重 10 パーセントイル値未満)発生率、早産(妊娠期間 37 週間未満)発生率には相関性は認められなかった。

King ら(2005)によって、ジクロロ酢酸について、カナダ Nova Scotia 州及び Ontario 州西部にて 1999 年から 2001 年にかけて、妊娠女性 510 名(症例群 112 件、対照群 398 件)を対象に、公共水道中ハロ酢酸濃度と死産発生率との関連性について検討されているが、症例群(飲料水中ジクロロ酢酸濃度の各パーセントイル濃度は 25th 0.0 µg/L、50th 8.2 µg/L、75th 23.5 µg/L、90th 41.1 µg/L)と対照群(25th 0.0 µg/L、50th 7.1 µg/L、75th 25.8 µg/L、90th 47.5 µg/L)との比較において、死産発生率の補正リスク比には相関性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、動物試験の報告において、視床下部 下垂体 生殖腺軸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9に示した。

表9 信頼性評価のまとめ

物質名：ジクロロ酢酸

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	視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用	Iothら(1992)		P
	毒性	Linderら(1997)		×
(2) 発達影響		Smithら(1992) 評価未実施		
		Fisherら(2001)		N
(3) 疫学的調査		Hinckleyら(2005)		?
		Wrightら(2004) 評価未実施		
		Kingら(2005) 評価未実施		
今後の対応案	動物試験の報告において、視床下部 下垂体 生殖腺軸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

Toth GP, Kelty KC, George EL, Read EJ and Smith MK (1992) Adverse male reproductive effects following subchronic exposure of rats to sodium dichloroacetate. *Fundamental and Applied Toxicology*, 19 (1), 57-63.

Linder RE, Klinefelter GR, Strader LF, Suarez JD and Roberts NL (1997) Spermatotoxicity of dichloroacetic acid. *Reproductive Toxicology*, 11 (5), 681-688.

Smith MK, Randall JL, Read EJ and Stober JA (1992) Developmental toxicity of dichloroacetate in the rat. *Teratology*, 46 (3), 217-223.

Fisher JW, Channel SR, Eggers JS, Johnson PD, MacMahon KL, Goodyear CD, Sudberry GL, Warren DA, Latendresse JR and Graeter LJ (2001) Trichloroethylene, trichloroacetic acid, and dichloroacetic acid: do they affect fetal rat heart development? *International Journal of Toxicology*, 20 (5), 257-267.

Hinckley AF, Bachand AM and Reif JS (2005) Late pregnancy exposures to disinfection by-products and growth-related birth outcomes. *Environmental Health Perspectives*, 113 (12), 1808-1813.

Wright JM, Schwartz J and Dockery DW (2004) The effect of disinfection by-products and mutagenic activity on birth weight and gestational duration. *Environmental Health Perspectives*, 112 (8), 920-925.

King WD, Dodds L, Allen AC, Armson BA, Fell D and Nimrod C (2005) Haloacetic acids in drinking water and risk for stillbirth. *Occupational and Environmental Medicine*, 62 (2), 124-127.

## ・トリクロロ酢酸

### 1．内分泌かく乱作用に関連する報告

トリクロロ酢酸の内分泌かく乱作用に関連する報告として、発達影響、ライディッチ細胞への影響の有無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、医薬原料、農薬(除草剤)、除蛋白質剤である。

本物質は、平成 11 年度要調査項目等存在状況調査の水質調査において検出されている。

#### (1) 発達影響

##### 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

Fisher ら(2001)によって、トリクロロ酢酸 300mg/kg/day に妊娠 6 日目から 10 日間経口投与した SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、母動物増加体重、子宮絶対重量、仔動物体重の低値が認められた。なお、同腹着床数、同腹胎仔数、初期胚吸収が認められる妊娠数、胎仔奇形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、母動物増加体重、子宮絶対重量、仔動物体重の低値について、内分泌かく乱作用との関連性は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。

#### 参考(今回評価対象としなかった文献)

Johnson ら(1998)によって、トリクロロ酢酸 103mg/kg/day(飲水中濃度 2,730ppm)に妊娠 1 日目から 22 日間飲水投与した SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、同腹着床数、同腹吸収胚数の低値、心臓異常胎仔発生率の高値が認められた。

Smith ら(1992)によって、トリクロロ酢酸 330、800、1,200、1,800mg/kg/day に妊娠 6 日目から 10 日間経口投与した LE ラットへの影響(妊娠 20 日目)が検討されている。その結果として、330mg/kg/day 以上のばく露群で雄及び雌胎仔体重、雄及び雌胎仔頭臀長、母動物体重の低値、母動物脾臓絶対重量、母動物腎臓絶対重量、胎仔柔組織奇形発生率の高値、800mg/kg/day 以上のばく露群で母動物増加体重の低値、着床後胚消失率、同腹着床数の高値、12,000mg/kg/day のばく露群で同腹生存胎仔数、生存胎仔が一個体以上認められる妊娠数の低値、完全胚吸収妊娠数、胎仔骨格奇形発生率の高値が認められた。

#### (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

Liu ら(1996)によってトリクロロ酢酸 10 から 10,000 $\mu$ M(=16,300 から 16,300,000 $\mu$ g/L)までの濃度に最長 24 時間ばく露した雄 CD ラット由来ライディッチ細胞(基底状態)への影響が検討されている。

その結果として、100 $\mu$ M(=163,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で 17 $\beta$ -エストラジオール分泌量(21 時間)の高値、500 $\mu$ M(=815,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区でテストステロン分泌量(24 時間)の低値、分泌阻害が認められた。

また、トリクロロ酢酸 10 から 10,000 $\mu$ M(=16,300 から 16,300,000 $\mu$ g/L)までの濃度に最長 24 時間ばく露した雄 CD ラット由来ライディッチ細胞(ヒト絨毛性ゴナドトロピン共存下)への影響が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub> 値 113 $\mu$ M(=184,000 $\mu$ g/L)の濃度で 17 $\beta$ -エストラジオール分泌量(21 時間)の高値、IC<sub>50</sub> 値 836 $\mu$ M(=1,360,000 $\mu$ g/L)の濃度区でテストステロン分泌量(24 時間)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及び試験結果の統計処理方法の詳細な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、17 $\beta$ -エストラジオール分泌量の高値、テストステロン分泌量の低値、分泌阻害が認められたことから、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：エストロゲン作用、または抗アンドロゲン作用

### (3)疫学的調査

#### 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

Hinckley ら(2005)によって、トリクロロ酢酸について、米国 Arizona 州の一都市近郊地域(大部分が Salt River and Central Arizona プロジェクトに水道水供給)にて 1998 年から 2003 年にかけて、出産女性 48,119 名(子宮内胎児発育遅延発生率 9.5%、発育遅延出産率 2.1%)を対象に、公共水道消毒副生成物ばく露と発育遅延出産との関連性について検討されている。その結果として、低ばく露群(第 3 三半期間中の飲料水中トリクロロ酢酸濃度について 4 $\mu$ g/L 未満)と中ばく露群(4 ~ 6  $\mu$ g/L)、高ばく露群(6  $\mu$ g/L 以上)との補正オッズ比において、中ばく露群、高ばく露群の子宮内胎児発育遅延(当該人種、民族、妊娠期間の平均体重 10 パーセントイル値未満)発生率に正の相関性が認められた。なお、正常妊娠期間低体重(37 週間以上の妊娠期間後の出産において体重 2,500g 未満)には相関性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、中ばく露群、高ばく露群の子宮内胎児発育遅延発生率に正の相関性が認められたが、トリクロロ酢酸の関与が他の物質の関与と区別できないため、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。

#### 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

Xie ら(2011)によって、トリクロロ酢酸について、中国湖北省武漢市にて 2008 年 5 月から 2008 年 7 月にかけて、不妊男性 418 名(一年以上受胎が認められず来院、平均年齢 32.1±4.9 歳、尿中トリクロロ酢酸濃度補正平均値 9.2µg/g-creatinine。トリクロロエチレン、トリクロロエタン、テトラクロロエチレンばく露者及び無精子症判明者は含めない)を対象に、尿中トリクロロ酢酸濃度と精子の質との関連性について検討されているが、尿中トリクロロ酢酸濃度四分位群間比較(0th 2.1µg/g-creatinine、25th 3.3µg/g-creatinine、50th 5.1µg/g-creatinine、75th 8.7µg/g-creatinine、90th 16.1µg/g-creatinine)において、精子濃度、精子数、運動精子率、正常形態精子率、精子頭部異常率、精子尾部異常率には相関性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、尿中トリクロロ酢酸濃度四分位群間比較において、精子濃度、精子数、運動精子率、正常形態精子率、精子頭部異常率、精子尾部異常率には相関性は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

#### 参考(今回評価対象としなかった文献)

Wright ら(2004)によって、トリクロロ酢酸について、米 Massachusetts 州の人口一万人以上の 109 都市にて 1995 年から 1998 年にかけて、出産 196,000 件(全出生届 282,645 件のうち新生児体重 200g 以上、妊娠期間 22 から 45 週間の範囲)を対象に、公共水道消毒副生成物と出産影響との関連性について検討されているが、低ばく露群(第 3 三半期間中の水道水中トリクロロ酢酸濃度 0 ~ 18µg/L)と中ばく露群(18 ~ 27µg/L)、高ばく露群(27 ~ 37µg/L)との補正オッズ比において、子宮内胎児発育遅延(当妊娠期間の平均体重 10 パーセンタイル値未満)発生率、早産(妊娠期間 37 週間未満)発生率には相関性は認められなかった。

King ら(2005)によって、トリクロロ酢酸について、カナダ Nova Scotia 州及び Ontario 州西部にて 1999 年から 2001 年にかけて、妊娠女性 510 名(症例群 112 件、対照群 398 件)を対象に、公共水道中八口酢酸濃度と死産発生率との関連性について検討されているが、症例群(飲料水中トリクロロ酢酸濃度の各パーセンタイル濃度は 25th 0.0µg/L、50th 5.5µg/L、75th 14.3µg/L、90th 23.9µg/L)と対照群(25th 0.0µg/L、50th 4.5µg/L、75th 13.4µg/L、90th 26.7µg/L)との比較において、死産発生率の補正リスク比には相関性は認められなかった。

Zhou ら(2012)によって、トリクロロ酢酸について、中国湖北省武漢市にて 2008 年から 2009 年にかけて、出産女性 398 名(妊娠 37 ~ 42 週間目の単一児生存出産、尿中トリクロロ酢酸濃度補正平均値 13.4µg/g-creatinine)を対象に、尿中トリクロロ酢酸濃度と出生時体重との関連性について検討されているが、尿中トリクロロ酢酸濃度四分位群間比較(15th 3.0µg/g-creatinine、25th 5.4µg/g-creatinine、50th 9.5µg/g-creatinine、75th 16.1µg/g-creatinine、90th 26.9µg/g-creatinine)において、出生時体重には相関性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、エストロゲン作用、または抗アンドロゲン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 10 に示した。

表 10 信頼性評価のまとめ

物質名：トリクロロ酢酸

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) 発達影響	Johnsonら(1998) 評価未実施			
	Fisherら(2001)		N	×
	Smithら(1989) 評価未実施			
(2) ライディッシュ細胞への影響	Estrogen作用、または抗Androgen作用	Liuら(1996)		P
(3) 疫学的調査	Hinckleyら(2005)		?	
	Wrightら(2004) 評価未実施			
	Kingら(2005) 評価未実施			
	Zhouら(2012) 評価未実施			
	Xieら(2011)		N	×

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>
今後の対応案	試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、またはアンドロゲン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

Johnson PD, Dawson BV and Goldberg SJ (1998) Cardiac teratogenicity of trichloroethylene metabolites. *Journal of the American College of Cardiology*, 32 (2), 540-545.

Fisher JW, Channel SR, Eggers JS, Johnson PD, MacMahon KL, Goodyear CD, Sudberry GL, Warren DA, Latendresse JR and Graeter LJ (2001) Trichloroethylene, trichloroacetic acid, and dichloroacetic acid: do they affect fetal rat heart development? *International Journal of Toxicology*, 20 (5), 257-267.

Smith MK, Randall JL, Read EJ and Stober JA (1989) Teratogenic activity of trichloroacetic acid in the rat. *Teratology*, 40 (5), 445-451.

Liu RC, Hahn C and Hurtt ME (1996) The direct effect of hepatic peroxisome proliferators on rat Leydig cell function *in vitro*. *Fundamental and Applied Toxicology*, 30 (1), 102-108.

Hinckley AF, Bachand AM and Reif JS (2005) Late pregnancy exposures to disinfection by-products and growth-related birth outcomes. *Environmental Health Perspectives*, 113 (12), 1808-1813.

Wright JM, Schwartz J and Dockery DW (2004) The effect of disinfection by-products and mutagenic activity on birth weight and gestational duration. *Environmental Health Perspectives*, 112 (8), 920-925.

King WD, Dodds L, Allen AC, Armson BA, Fell D and Nimrod C (2005) Haloacetic acids in drinking water and risk for stillbirth. *Occupational and Environmental Medicine*, 62 (2), 124-127.

Zhou WS, Xu L, Xie SH, Li YL, Li L, Zeng Q, Du YK and Lu WQ (2012) Decreased birth weight in relation to maternal urinary trichloroacetic acid levels. *Science of the Total Environment*, 416, 105-110.

Xie SH, Li YF, Tan YF, Zheng D, Liu AL, Xie H and Lu WQ (2011) Urinary trichloroacetic acid levels and semen quality: a hospital-based cross-sectional study in Wuhan, China. *Environmental Research*, 111 (2), 295-300.

## ・フィプロニル

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

フィプロニルの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、甲状腺影響、抗アンドロゲン作用、神経芽細胞腫への影響の有無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、農薬(殺虫剤)である。

本物質は、平成18年度農薬残留対策総合調査の水質調査において検出されている。

#### (1) 生態影響

##### 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

Chandler ら(2004a)によって、フィプロニル 0.16±0.15、0.22±0.17、0.42±0.25µg/L(測定濃度)に Stage I コペポダイト幼生から最長 21 日間ばく露したカイアシ類ソコミジンコ目の一種 (*Amphiascus tenuiremis*)への影響が検討されている。その結果として、0.16µg/L 以上のばく露区で雌が交配から排卵に至るまでの所要日数の遅延、0.22µg/L 以上のばく露区で成体率(ばく露 12 日後)、生存雌の抱卵率の低値、雄及び雌が成体に至るまでの所要日数の遅延が認められた。

また、フィプロニル 0.16±0.15、0.22±0.17、0.42±0.25µg/L(測定濃度)に Stage I コペポダイト幼生から三世代に渡ってばく露したカイアシ類ソコミジンコ目の一種(*Amphiascus tenuiremis*)への影響が検討されている。その結果として、0.16µg/L 以上のばく露区で総個体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、雌が交配から排卵に至るまでの所要日数の遅延、生存雌の抱卵率、総個体数の低値が認められたことから、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：その他の作用(不明)

Chandler ら(2004b)によって、フィプロニル 0.25、0.50µg/L(設定濃度)にノープリウス幼生から 32 日間(ばく露開始から 18 から 21 日目に交配を開始し、その後の交配期間において 3 回の産卵を観察)ばく露したカイアシ類ソコミジンコ目の一種(*Amphiascus tenuiremis*)への影響が検討されている。その結果として、0.25µg/L 以上のばく露区で抱卵雌の生存卵出産率の低値、個体数の 80% が Stage I コペポダイトに至るまでの所要日数、雌が交配から排卵に至るまでの所要日数の遅延、0.5µg/L のばく露区で生存率の低値が認められた。

また、フィプロニル 0.25、0.50µg/L(設定濃度)にノープリウス幼生から三世代に渡ってばく露したカイアシ類ソコミジンコ目の一種(*Amphiascus tenuiremis*)への影響が検討されている。その結果として、総ノープリウス幼生数(F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 及び F<sub>3</sub> それぞれについての)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、試験方法(ばく露期間)の詳細な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、抱卵雌の生存卵出産率、総ノープリウス幼生数(F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>及びF<sub>3</sub>それぞれについて)の低値が認められたことから、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：その他の作用(不明)

Caryら(2004)によって、フィプロニル 0.63±0.05µg/L(測定濃度)に Stage Iコペポダイト幼生から 12 日間ばく露後、交配期間として更に 12 日間ばく露したカイアシ類ソコムジンコ目の一種(*Amphiascus tenuiremis*)への影響が検討されている。その結果として、生存雌の抱卵率の低値、雌が交配から排卵に至るまでの所要日数の遅延が認められた。

また、フィプロニル 0.63±0.05µg/L(測定濃度)に Stage Iコペポダイト幼生から 12 日間ばく露したカイアシ類ソコムジンコ目の一種(*Amphiascus tenuiremis*)雌雄への影響(ばく露後、12 日間の交配試験)が検討されている。その結果として、生存雌の抱卵率の低値、雌が交配から排卵に至るまでの所要日数の遅延が認められた。

また、フィプロニル 0.63±0.05µg/L(測定濃度)に Stage Iコペポダイト幼生から 12 日間ばく露したカイアシ類ソコムジンコ目の一種(*Amphiascus tenuiremis*)雄への影響(ばく露後、非ばく露雌との 12 日間の交配試験)が検討されている。その結果として、生存雌の抱卵率の低値、雌が交配から排卵に至るまでの所要日数の遅延が認められた。

また、フィプロニル 0.63±0.05µg/L(測定濃度)に Stage Iコペポダイト幼生から 12 日間ばく露したカイアシ類ソコムジンコ目の一種(*Amphiascus tenuiremis*)雌への影響(ばく露後、非ばく露雄との 12 日間の交配試験)が検討されているが、生存雌の抱卵率、雌が交配から排卵に至るまでの所要日数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、試験動物の入手先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、生存雌の抱卵率の低値、雌が交配から排卵に至るまでの所要日数の遅延等が認められたことから、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：その他の作用(不明)

#### 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

Wilsonら(2008)によって、(±)-フィプロニル 15、30、60、120µg/L(設定濃度)に 24 時間未満齢から 8 日間ばく露したニセネコゼミジンコ(*Ceriodaphnia dubia*)への影響が検討されている。その結果として、15µg/L 以上のばく露区で総産仔数、出産毎産仔数の低値、120µg/L のばく露区で出産回数、生存日数の低値、初産に至るまでの所要日数の遅延が認められた。

また、(+)-フィプロニル 2、8、32、64µg/L(設定濃度)に 24 時間未満齢から 8 日間ばく露したニセネコゼミジンコ(*Ceriodaphnia dubia*)への影響が検討されている。その結果として、2 µg/L 以上

のばく露区で総産仔数、出産毎産仔数の低値、32 $\mu$ g/L以上のばく露区で出産回数の低値が認められた。

また、(-)-フィプロニル 10、30、90、270 $\mu$ g/L(設定濃度)に24時間未満齢から8日間ばく露したニセネコゼミジンコ(*Ceriodaphnia dubia*)への影響が検討されている。その結果として、30 $\mu$ g/L以上のばく露区で総産仔数、出産毎産仔数の低値、90 $\mu$ g/L以上のばく露区で初産に至るまでの所要日数の遅延、270 $\mu$ g/Lのばく露区で出産回数、生存日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、総産仔数、出産毎産仔数、出産回数、生存日数の低値、初産に至るまでの所要日数の遅延が認められたが、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。

#### 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

Gaertnerら(2012)によって、フィプロニル 0.2 $\mu$ g/L(設定濃度)にコペポダイト期から30時間ばく露したカイアシ類ソコムジンコ目の一種(*Amphiascus tenuiremis*)への影響が検討されている。その結果として、エクジソン受容体 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、被験物質の入手先及び純度の記載がないため、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。

VolzとChandler(2004)によって、フィプロニル 0.6 $\mu$ g/L(設定濃度)にStage Iコペポダイト幼生から12日間ばく露したカイアシ類ソコムジンコ目の一種(*Amphiascus tenuiremis*)への影響が検討されている。その結果として、雌の全身中リポピテロ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、被験物質の入手先及び純度の記載がないため、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。

Bencicら(2013)によって、フィプロニル 0.049 $\pm$ 0.006、0.57 $\pm$ 0.08、6.10 $\pm$ 0.59 $\mu$ g/L(測定濃度)に21日間ばく露した成熟ファットヘッドミノール(*Pimephales promelas*)への影響が検討されているが、累積産卵数、雄及び雌の体重、雄及び雌の生殖腺重量、雄及び雌の生殖腺体指数、雄の第二次性徴(Fatpad及びTubercle)スコア、雄及び雌の血漿中5 $\alpha$ -テストステロン濃度、雄及び雌の血漿中17 $\beta$ -エストロゲン濃度、雌の血漿中ピテロゲン濃度、雄及び雌の性腺テストステロン産生能、雄及び雌の性腺エストラジオール産生能、雄及び雌の脳中 *gad67* mRNA 相対発現量、雄及び雌の脳中 *cgnrh* mRNA 相対発現量、雄及び雌の下垂体中 *fshb* mRNA 相対発現量、雄及び雌の下垂体中 *lhb* mRNA

相対発現量、雄脑中 *gad65* mRNA 相対発現量、雌卵巢中 *catb* mRNA 相対発現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、影響は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

#### 参考 生態影響(今回評価対象としなかった文献)

Volzら(2003)によって、フィプロニル 0.080±0.021、0.143±0.041µg/L(測定濃度)に 45 日間ばく露したテナガエビ科の一種グラスシュリンプ(*Palaemonetes pugio*)成体への影響が検討されている。その結果として、0.143µg/Lのばく露区で生存率の低値が認められた。なお、抱卵雌の体長、抱卵雌の体重、生存雌の抱卵率、抱卵雌の全身中ピテロゲニン濃度、抱卵雌の全身中コレステロール濃度、抱卵雌の全身中エクジステロイド類濃度には影響は認められなかった。

Stehrら(2006)によって、フィプロニル 3、10、33、100、333、1,000、5,000µg/L(設定濃度)に受精 1 から 2 時間後(8 から 64 細胞期)から 5 日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、100µg/L 以上のばく露区で幼生体長の低値、333µg/L 以上のばく露区で幼生の正常遊泳率の低値、1,000µg/L のばく露区で死亡率の高値が認められた。

## (2) 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

Leghaitら(2009)によって、フィプロニル 3 mg/kg/day を 11 週齢以上から 14 又は 28 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。その結果として、血清中総サイロキシン濃度、血清中遊離サイロキシン濃度、血清中総トリヨードサイロニン濃度、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度の低値、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値が認められた。

また、フィプロニル 3mg/kg/day を 11 週齢以上から 14 又は 28 日間経口投与した雌 Wistar ラット(甲状腺摘出处置後、トリヨリヨードサイロニン 12µg/kg/day を 14 又は 28 日間皮下投与)への影響が検討されている。その結果として、血清中総サイロキシン体内半減期、血清中遊離サイロキシン体内半減期の低値が認められた。

なお、フィプロニル代謝物フィプロニルスルホンの血清中濃度がフィプロニルの 20 倍超であったことから、これらの甲状腺影響がフィプロニルの代謝活性化によるものであることが示唆された。

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、用量の妥当性に関する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、血清中総サイロキシン濃度、血清中遊離サイロキシン濃度、血清中総トリヨードサイロニン濃度、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度の低値、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値等が認め

られたことから、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：その他の作用（肝臓における甲状腺ホルモン代謝）

追加補足情報

本報告以前に Hueley ら(1998)らは、U.S. Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs が収集した農薬データ(非公開情報を含む)を精査し、げっ歯動物の甲状腺濾胞細胞腫瘍を引き起こす可能性のある物質の作用メカニズムに基づいた分類を実施している。その結果として、フィプロニルは、サイロキシンの肝臓内代謝を活性化させ、血清中サイロキシン濃度の低下と血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の上昇を引き起こす物質に分類されている。

参考 甲状腺影響(今回評価対象としなかった文献)

Leghait ら(2010)によってフィプロニル 5 mg/kg/day を約 2 年齢から 11 週間(4 日毎)経口投与した成熟雄 Lacaune ヒツジへの影響が検討されているが、血清中総サイロキシン濃度、血清中遊離サイロキシン濃度、血清中総トリヨードサイロニン濃度には影響は認められなかった。

また、フィプロニル 5 mg/kg/day を約 2 年齢から 4 週間(4 日毎)経口投与した成熟雌 Lacaune ヒツジへ(甲状腺摘出处置)の影響が検討されているが、血清中総サイロキシン体内半減期、血清中遊離サイロキシン体内半減期には影響は認められなかった。

Roques ら(2012)らによって、フィプロニル 3.4 $\mu$ mol/kg/day(=1.49mg/kg/day)を 14 日間経口投与した成熟雌 Wistar ラット(甲状腺摘出处置後、ヨリヨードサイロニン 10 $\mu$  g/kg/day を 14 日間皮下投与)への影響が検討されている。その結果として、血清中総サイロキシン体内半減期、血清中遊離サイロキシン体内半減期の低値、血清中総サイロキシンのクリアランス、血清中遊離サイロキシンのクリアランス、UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ mRNA 相対発現量、UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ活性、スルホトランスフェラーゼ mRNA 相対発現量、*cyp2b2* mRNA 相対発現量、*cyp3a1* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、フィプロニルスルホン 3.4 $\mu$ mol/kg/day(=1.54mg/kg/day)を 14 日間経口投与した成熟雌 Wistar ラット(甲状腺摘出处置後、ヨリヨードサイロニン 10 $\mu$  g/kg/day を 14 日間皮下投与)への影響が検討されている。その結果として、血清中総サイロキシン体内半減期、血清中遊離サイロキシン体内半減期の低値、血清中総サイロキシンのクリアランス、血清中遊離サイロキシンのクリアランス、UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ mRNA 相対発現量、UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ活性、スルホトランスフェラーゼ mRNA 相対発現量、*cyp2b2* mRNA 相対発現量、*cyp3a1* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

なお、フィプロニルが速やかにフィプロニルスルホンに代謝されることから、これらの甲状腺影響がフィプロニルスルホンによるものであることが示唆された。

### (3) 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



Ait-Aissa ら(2010)によって、フィプロニル 0.1、0.3、1、3、10 $\mu$ M(=43.7、131、437、1,310、4,370 $\mu$ g/L)の濃度に 18時間ばく露(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 0.1nM 共存下)したヒト乳がん細胞 MDA-kb2(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、IC<sub>50</sub> 値 6.82 $\mu$ M(=2,980 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

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、ルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められたことから、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 (4) 神経芽細胞腫への影響(今回評価対象としなかった文献)

Sidiropoulou ら(2011)によって、フィプロニル 1、5、10 $\mu$ M(=437、2,190、4,370 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したマウス神経芽細胞腫 N2a への影響が検討されている。その結果として、1  $\mu$ M(=437 $\mu$ g/L)以上のばく露区で軸索様突起数の低値、5  $\mu$ M(=2,190 $\mu$ g/L)のばく露区でりん酸化 ERK(細胞外シグナル調節キナーゼ) 1/2 発現量、りん酸化 MAPK(分裂促進因子蛋白質キナーゼ) 1/2 発現量の低値が認められた。

なお、細胞生存率、 $\alpha$ -チューブリン発現総量、チロシン化  $\alpha$ -チューブリン発現量、ニューロフィラメント NFH 総発現量、りん酸化ニューロフィラメント NFH 発現量、総 ERK(細胞外シグナル調節キナーゼ) 1/2 発現量には影響は認められなかった。

#### (5) 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

Herin ら(2011)によって、フィプロニルについて、フランスにて 2008 年にかけて、フィプロニル含有獣医薬製造業従事者 159 名(男性 80 名、女性 79 名、平均年齢 34.1 $\pm$ 7.5 歳、フィプロニルばく露業務従事平均年数 4 $\pm$ 3.6 年、血清中フィプロニルは 33 名について検出され平均濃度 0.47 $\pm$ 0.28 $\mu$ g/L、血清中フィプロニルスルホンは 155 名について検出され平均濃度 7.79 $\pm$ 7.65 $\mu$ g/L)を対象に、フィプロニルばく露と血清中甲状腺ホルモン関連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、血清中フィプロニルスルホン濃度と血清中甲状腺刺激ホルモン濃度とに負の相関性が認められた。

なお、血清中フィプロニルスルホン濃度と血清中遊離サイロキシン濃度、血清中フィプロニルスルホン濃度と血清中総サイロキシン濃度、血清中フィプロニル濃度と血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中フィプロニル濃度と血清中遊離サイロキシン濃度、血清中フィプロニル濃度と血清中総サイロキシン濃度とには相関性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、血清中フィプロニルスルホン濃度と血清中甲状腺刺激ホルモン濃度とに負の相関性が認められたことから、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

追加補足情報

最近 Lu ら(2015)らは、フィプロニル又はその代謝物として知られているフィプロニルスルホンにばく露(トリヨードサイロニン共存下)したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 (ヒト甲状腺ホルモン受容体  $\beta$  を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン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)を検討している。その結果として、フィプロニルスルホンについてのみ、抗甲状腺ホルモン活性を認めている。

## 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、甲状腺への作用を示すこと、無脊椎動物の繁殖への影響を示すこと、試験管内試験の報告において抗アンドロゲン作用を示すこと、疫学的調査の報告において視床下部 下垂体 甲状腺軸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 11 に示した。

表 11 信頼性評価のまとめ

物質名：フィプロニル

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	Volz ら(2003) 評価未実施			
	その他の作用(不明) Chandler ら(2004a)		P	
	Gaertner ら(2012)	×		×
	その他の作用(不明) Chandler ら(2004b)		P	
	Volz と Chandler(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>
その他の作用(不明)	Caryら(2004)		P	
	Wilsonら(2008)		?	
	Stehrら(2006) 評価未実施			
	Bencicら(2013)		N	×
(2) 甲状腺影響	Leghaitら(2009)		P	
	Leghaitら(2010) 評価未実施			
	Roquesら(2012)ら 評価未実施			
(3) 抗アンドロゲン作用	Ait-Aissaら(2010)		P	
(4) 神経芽細胞腫への影響	Sidiropoulouら(2011) 評価未実施			
(5) 疫学的調査	視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用 Herinら(2011)		P	
今後の対応案	動物試験の報告において、甲状腺への作用、無脊椎動物の繁殖への影響を示すこと、試験管内試験の報告において抗アンドロゲン作用を示すこと、疫学的調査の報告において視床下部 下垂体 甲状腺軸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

Volz DC, Wirth EF, Fulton MH, Scott GI, Strozier E, Block DS, Ferry JL, Walse SS and Chandler GT (2003) Effects of fipronil and chlorpyrifos on endocrine-related endpoints in female grass shrimp (*Palaemonetes pugio*). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 71 (3),

497-503.

Chandler GT, Cary TL, Volz DC, Walse SS, Ferry JL and Klosterhaus SL (2004a) Fipronil effects on estuarine copepod (*Amphiascus tenuiremis*) development, fertility, and reproduction: a rapid life-cycle assay in 96-well microplate format. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23 (1), 117-124.

Gaertner K, Chandler GT, Quattro J, Ferguson PL and Sabo-Attwood T (2012) Identification and expression of the ecdysone receptor in the harpacticoid copepod, *Amphiascus tenuiremis*, in response to fipronil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 76 (2), 39-45.

Chandler GT, Cary TL, Bejarano AC, Pender J and Ferry JL (2004b) Population consequences of fipronil and degradates to copepods at field concentrations: an integration of life cycle testing with Leslie matrix population modeling. *Environmental Science and Technology*, 38 (23), 6407-6414.

Volz DC and Chandler GT (2004) An enzyme-linked immunosorbent assay for lipovitellin quantification in copepods: a screening tool for endocrine toxicity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23 (2), 298-305.

Cary TL, Chandler GT, Volz DC, Walse SS and Ferry JL (2004) Phenylpyrazole insecticide fipronil induces male infertility in the estuarine meiobenthic crustacean *Amphiascus tenuiremis*. *Environmental Science and Technology*, 38 (2), 522-528.

Wilson WA, Konwick BJ, Garrison AW, Avants JK and Black MC (2008) Enantioselective Chronic Toxicity of Fipronil to *Ceriodaphnia dubia*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 54 (1), 36-43.

Stehr CM, Linbo TL, Incardona JP and Scholz NL (2006) The developmental neurotoxicity of fipronil: notochord degeneration and locomotor defects in zebrafish embryos and larvae. *Toxicological Sciences*, 92 (1), 270-278.

Bencic DC, Villeneuve DL, Biales AD, Blake L, Durhan EJ, Jensen KM, Kahl MD, Makynen EA, Martinovic-Weigelt D and Ankley GT (2013) Effects of the insecticide fipronil on reproductive endocrinology in the fathead minnow. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32 (8), 1828-1834.

Leghait J, Gayrard V, Picard-Hagen N, Camp M, Perdu E, Toutain PL and Viguié C (2009) Fipronil-induced disruption of thyroid function in rats is mediated by increased total and free

thyroxine clearances concomitantly to increased activity of hepatic enzymes. *Toxicology*, 255 (1-2), 38-44.

Hurley PM (1998) Mode of carcinogenic action of pesticides inducing thyroid follicular cell tumors in rodents. *Environmental Health Perspectives*, 106 (8), 437-445.

Leghait J, Gayrard V, Toutain PL, Picard-Hagen N and Vigié C (2010) Is the mechanisms of fipronil-induced thyroid disruption specific of the rat: Re-evaluation of fipronil thyroid toxicity in sheep? *Toxicology Letters*, 194 (3), 51-57.

Roques BB, Lacroix MZ, Puel S, Gayrard V, Picard-Hagen N, Jouanin I, Perdu E, Martin PG and Vigié C (2012). CYP450-dependent biotransformation of the insecticide fipronil into fipronil sulfone can mediate fipronil-induced thyroid disruption in rats. *Toxicological Sciences*, 127 (1), 29-41.

Ait-Aissa S, Laskowski S, Laville N, Porcher JM and Brion F (2010) Anti-androgenic activities of environmental pesticides in the MDA-kb2 reporter cell line. *Toxicology In Vitro*, 24 (7), 1979-1985.

Sidiropoulou E, Sachana M, Flaskos J, Harris W, Hargreaves AJ and Woldehiwet Z (2011) Fipronil interferes with the differentiation of mouse N2a neuroblastoma cells. *Toxicology Letters*, 201 (1), 86-91.

Herin F, Boutet-Robinet E, Levant A, Dulaurent S, Manika M, Galatry-Bouju F, Caron P and Soulat JM (2011) Thyroid function tests in persons with occupational exposure to fipronil. *Thyroid*, 21 (7), 701-706.

Lu M, Du J, Zhou P, Chen H, Lu C and Zhang Q (2015) Endocrine disrupting potential of fipronil and its metabolite in reporter gene assays. *Chemosphere*. 120, 246-251.

#### 4-ノニルフェノール(分岐型)

##### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ノニルフェノールの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響(魚類)、生態影響(両生類)、生態影響(甲殻類)、生態影響(軟体動物等)、抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、ステロイド産生への影響、神経系への影響、免疫系への影響、副腎細胞への影響及び線維芽細胞への影響有無に関する報告がある。なお、健康影響、試験管内試験(エストロゲン作用)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。

ノニルフェノール:NPとしては、CAS# 25154-52-3(各種異性体混合物:NP)、CAS# 104-40-5(*p*-異性体、直鎖型:*p-n*-NP)、CAS# 84852-15-3(*p*-異性体混合物、分岐型:*p*-NP(branched))等が存在する。このうち、今回評価対象とする4-ノニルフェノール(分岐型)に該当するのはCAS# 84852-15-3である(該当する物質名に下線を付した。)

なお、この物質については、著者の記載とメーカーカタログでの記載が異なる場合が認められた。このような場合には、著者の記載を優先し、カッコ内にメーカーカタログでの記載を示した(試薬メーカーと規格については別紙参照)。また、4-ノニルフェノール(分岐型)と*p*-ノニルフェノール(分岐型)は、同義である。

なお、本物質の主な用途は、界面活性剤、ゴム加硫促進剤の原料である。

本物質は、平成25年度公共用水域水質測定結果(水生生物の保全に係る水質環境基準)の水質調査において検出されている。

##### (1)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

⑳ Seki ら(2003)によって、4-ノニルフェノール(関東化学、mixture of isomers、CAS#記載なし) 3.30±17.2、6.08±15.2、11.6±10.8、23.5±12.7、44.7±11.4µg/Lの濃度(測定濃度)に孵化12時間未満齢から60日間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、11.6µg/L以上のばく露区で雄性比(組織学的検査)の低値、雄及び雌肝臓中ビテロゲン濃度の高値、間性の出現、23.5µg/L以上のばく露区で雄性比(第二性徴による)、体重の低値、44.7µg/Lのばく露区で体長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、雄肝臓中ビテロゲン濃度の高値、間性の出現が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

㉑ Nozaka ら(2004)によって、4-ノニルフェノール(関東化学、mixture of isomers、CAS#記載なし) 7.40±0.7、12.8±1.9、22.5±1.9、56.2±5.7、118±10.8µg/Lの濃度(測定濃度)に約3ヶ月齢から21日

間ばく露した雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、22.5µg/L以上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、4-ノニルフェノール(関東化学、mixture of isomers、CAS#記載なし) 7.40±0.7、12.8±1.9、22.5±1.9、56.2±5.7、118±10.8µg/Lの濃度(設定濃度)に約3ヶ月齢から21日間ばく露した雌メダカ(*O. latipes*)への影響が検討されている。その結果として、118µg/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。

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、肝臓中ビテロゲニン濃度の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ③9 Jinら(2010)によって、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich、CAS#84852-15-3) 2.5、25µg/Lの濃度(設定濃度)に約5ヶ月齢から21日間ばく露(20、12L-12D)した雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、25µg/Lのばく露区で肝臓中ビテロゲニン1 mRNA 相対発現量、肝臓中ビテロゲニン2 mRNA 相対発現量、肝臓中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、肝臓中エストロゲン受容体  $\beta$  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、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、肝臓中ビテロゲニン1 mRNA 相対発現量、肝臓中ビテロゲニン2 mRNA 相対発現量、肝臓中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、肝臓中エストロゲン受容体  $\beta$  mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ④5 Liら(2012)によって、4-ノニルフェノール(Sigma-Aldrich、CAS#84852-15-3) 5、15、50、150、500µg/Lの濃度(設定濃度)に15日間ばく露した幼若キンギョ(*Carassius auratus*)への影響が検討されている。その結果として、50µg/L以上のばく露区で雄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、雄血漿中ビテロゲン濃度の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

④7 Jin ら(2011)によって、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, CAS#84852-15-3) 5、50 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に1ヶ月齢から7日間ばく露(20、12L-12D)した雌雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu$ g/Lのばく露区で雄及び雌全身中ビテロゲニン1 mRNA 相対発現量、雌全身中ビテロゲニン2 mRNA 相対発現量、雌全身中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, CAS#84852-15-3) 5、50 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に4ヶ月齢から7日間ばく露(20、12L-12D)した雌雄メダカ(*O. latipes*)への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu$ g/Lのばく露区で雄及び雌全身中ビテロゲニン1 mRNA 相対発現量、雌全身中ビテロゲニン2 mRNA 相対発現量の高値が認められた。

なお、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, CAS#84852-15-3) 5、50 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に1日齢から7日間ばく露(20、12L-12D)したメダカ(*O. latipes*)卵稚魚への影響が検討されているが、全身中ビテロゲニン1 mRNA 相対発現量、全身中ビテロゲニン2 mRNA 相対発現量、全身中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現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、雄全身中ビテロゲニン1 mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

④8 Jin ら(2009)によって、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, CAS#84852-15-3) 10、25、50、100 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に受精0日後から3日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu$ g/L以上のばく露区で全身中ビテロゲニン1 mRNA 相対発現量、全身中ビテロゲニン2 mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, CAS#84852-15-3) 10、25、50、100 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に受精4日後から7日間ばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu$ g/Lのばく露区で全身中ビテロゲニン2 mRNA 相対発現量、全身中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, CAS#84852-15-3) 10、25、50、100 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に5ヶ月齢から7日間ばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu$ g/L以上のばく露区で肝臓中ビテロゲニン2 mRNA 相対発現量の高値、100 $\mu$ g/Lのばく露区で肝臓中ビテロゲニン1 mRNA 相対発現量、肝臓中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量の高値が認められた。

なお、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, CAS#84852-15-3) 10、25、50、100 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に受精17日後から7日間ばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響が検討されているが、全身中ビテロゲニン1 mRNA 相対発現量、全身中ビテロゲニン2 mRNA 相対発現量、全身中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、全身中エストロゲン受容体  $\beta$  mRNA 相対発現量には影響は



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、全身中ビテロゲニン1 mRNA 相対発現量、全身中ビテロゲニン2 mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ⑤ Leeら(2002)によって、ノニルフェノール(Aldrich, mixture of ring and chain isomers とと思われる。CAS#記載なし) 5、50、100、200、500µg/Lの濃度(設定濃度)に144時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、50µg/L以上のばく露区で肝臓中コリオゲニン L mRNA 発現、100µg/L以上のばく露区で肝臓中コリオゲニン H mRNA 発現が認められた。

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、肝臓中コリオゲニン L mRNA 発現、肝臓中コリオゲニン H mRNA 発現が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- 55 van den Beltら(2003)によって、4-ノニルフェノール(Acros, mixture of isomers, CAS#記載なし) 20、100、500µg/Lの濃度(設定濃度)に3週間ばく露した幼若ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響が検討されている。その結果として、100µg/L以上のばく露区で血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

また、4-ノニルフェノール(Acros, mixture of isomers, CAS#記載なし) 20、100、500µg/Lの濃度(設定濃度)に3週間ばく露した成熟雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、500µg/Lのばく露区で血漿中ビテロゲ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、試験動物の入手先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、血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- 65 Yamaguchiら(2005)によって、ノニルフェノール(Aldrich, technical grade, mixture and ring and chain isomers, CAS#記載なし) 50、500µg/Lの濃度(設定濃度)に8時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、500 $\mu$ g/Lのばく露区で肝臓中エストロゲン受容体  $\alpha$ mRNA 相対発現量、肝臓中ピテロゲン II 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、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、肝臓中エストロゲン受容体  $\alpha$ mRNA 相対発現量、肝臓中ピテロゲン II mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、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。想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

#### 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

Xu ら(2013)によって、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, CAS#84852-15-3) 0.1、1、10、100 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に孵化4時間後から164時間後までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)での免疫応答及び酸化ストレス応答関連遺伝子発現(全身中)への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ g/L以上のばく露区で TRAF6 mRNA 相対発現量の低値、Nrf2 mRNA 相対発現量、IFN $\gamma$  mRNA 相対発現量、IL1 $\beta$  mRNA 相対発現量、IL10 mRNA 相対発現量、CC-chemokine mRNA 相対発現量、CXCL-clc mRNA 相対発現量、MyD88 mRNA 相対発現量、SARM mRNA 相対発現量、IRAK4 mRNA 相対発現量の高値、1、100 $\mu$ g/Lのばく露区で Mx mRNA 相対発現量の高値、10 $\mu$ g/L以上のばく露区で細胞内亜硝酸合成酵素濃度、iNOS mRNA 相対発現量、細胞内活性酸素種濃度の高値、100 $\mu$ g/L以上のばく露区で細胞内亜硝酸濃度、Keap1 mRNA 相対発現量、TNF $\alpha$  mRNA 相対発現量、TLR3 mRNA 相対発現量、TRIF 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、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、TRAF6 mRNA 相対発現量の低値、Nrf2 mRNA 相対発現量、IFN $\gamma$  mRNA 相対発現量、IL1 $\beta$  mRNA 相対発現量、IL10 mRNA 相対発現量、CC-chemokine mRNA 相対発現量、CXCL-clc mRNA 相対発現量、MyD88 mRNA 相対発現量、SARM mRNA 相対発現量、IRAK4 mRNA 相対発現量の高値等が認められたが、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。

想定されるメカニズム：免疫毒性

Miles-Richardson ら(1999)によって、4-tert-ノニルフェノール(Schenectady International, CAS#記載なし) 0.05、0.16、0.4、1.6、3.4 $\mu$ g/Lの濃度(測定濃度)に42日間(繁殖期開始に相当する6~7月にかけて)ばく露したファットヘッドミノール(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、1.6 $\mu$ g/L以上のばく露区で雄精巢の組織病理学的損傷重篤度スコアの高値が認められた。なお、雄生存率、雌生存率、雄第二次性徴(nuptial tubercle 直径)、雄第二次性徴(fat pad 厚)、雌卵巢の卵胞ステージには影響は認められなかった。

なお、4-tertノニルフェノール(Schenectady International, CAS#記載なし) 0.09、0.1、0.33、0.93、2.4 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に42日間(繁殖期終了に相当する9~10月にかけて)ばく露したフアットヘッドミノー(*P. promelas*)への影響が検討されているが、雄精巢の組織病理学的損傷重篤度スコア、雄生存率、雌生存率、雄第二性徴(nuptial tubercle 直径)、雄第二性徴(fat pad厚)、雌卵巢の卵胞ステージ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、試験方法(流水式ばく露速度等)の詳細な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、雄精巢の組織病理学的損傷重篤度スコアの高値が認められたが、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

Nimrod と Benson(1998)によって、ノニルフェノール(Schenectady International, CAS#84852-15-3) 0.54 $\pm$ 0.19、0.77 $\pm$ 0.29、1.93 $\pm$ 0.81 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に5~8日齢から28日間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響(ばく露開始から56日後までを発達期、ばく露開始から83日後までを繁殖期とし非ばく露にて飼育継続)が検討されている。その結果として、0.54 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で日毎産卵数(繁殖期)の高値、0.77 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄性比(発育期終了時)の高値が認められた。なお、生存率(ばく露、発育期、繁殖期終了時)、雄及び雌体長(ばく露、発育期終了時)、雄及び雌体重(発育期終了時)、雄及び雌生殖腺体指数(発育期、繁殖期終了時)、受精率(繁殖期)、孵化率(繁殖期)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、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、日毎産卵数、雄性比の高値について、濃度依存性がなく、内分泌かく乱作用との関連性は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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

<sup>71</sup>Shioda と Wakabayashi (2000)によって、ノニルフェノール(東京化成、*p*-体：*o*-体=9：1の混合物、CAS#記載なし) 0.03、0.1、0.3 $\mu\text{M}$ (=66.6、22.0、66.0 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)に2週間ばく露した成熟雌雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されているが、総産卵数、孵化率には影響が認められなかった。

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、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、

総産卵数、孵化率には影響が認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

#### 参考 生態影響(魚類)(今回評価対象としなかった文献)

Schoenfuss ら(2008)によって、4-ノニルフェノール(Schenectady International, technical grade とと思われる。CAS#記載なし) 0.15、0.25、0.63、3.2 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に8ヶ月齢から最長28日間ばく露した雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(ばく露終了から7日間の非ばく露期間中の産卵誘導試験を実施)が検討されている。その結果として、0.15 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で営巣能の高値(0.25 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区では低値)が認められた。

また、4-ノニルフェノール(Schenectady International, technical grade とと思われる。CAS#記載なし) 0.3、5、11、15 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に9ヶ月齢から最長28日間ばく露した雄ファットヘッドミノー(*P. promelas*)への影響(ばく露終了から7日間の非ばく露期間中の産卵誘導試験を実施)が検討されている。その結果として、0.3 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で営巣能の高値(11 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区では低値)、15 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で血漿中ピテロゲン濃度の高値(ばく露開始7、14日後)が認められた。

Kwak ら(2001)によって、ノニルフェノール(Aldrich, mixture of ring and chain isomers とと思われる。CAS#記載なし) 0.2、2、20 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に23日齢から60日間ばく露したカダヤシ科の一種ソードテール(*Xiphophorus helleri*)への影響が検討されている。その結果として、2 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区でソード長の低値が認められた。

また、ノニルフェノール(Aldrich, mixture of ring and chain isomers とと思われる。CAS#記載なし) 4、20、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に72時間ばく露したカダヤシ科の一種ソードテール(*X. helleri*)成熟雄への影響が検討されている。その結果として、4 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で精巣細胞の細胞膜損傷によるアポトーシス発生率の高値、肝臓中ピテロゲニン mRNA 発現、精巣細胞でのアポトーシス発生(細胞染色法による確認)、100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で精巣損傷(組織病理学検査による確認)が認められた。

Harris ら(2001)によって、4-ノニルフェノール(Acros Organics, isomeric mixture、CAS#記載なし) 0.7 $\pm$ 0.4、8.3 $\pm$ 0.9、85.6 $\pm$ 2.7 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に約2年齢から18週間ばく露した雌ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響が検討されている。その結果として、0.7 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で血漿中卵胞刺激ホルモン濃度、下垂体中卵胞刺激ホルモン mRNA 相対発現量の低値、8.3 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で下垂体中卵胞刺激ホルモン発現量、下垂体中黄体形成ホルモン mRNA 相対発現量の低値、血漿中ピテロゲニン濃度の高値、85.6 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で下垂体中黄体形成ホルモン発現量、血漿中17 $\beta$ -エストラジオール濃度、生殖腺体指数の低値、肝臓体指数の高値が認められた。

Zhang ら(2008)によって、ノニルフェノール(Aldrich, mixture of ring and chain isomers とと思われる。CAS#記載なし) 1、10、50、100、200 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に21日間ばく露したカマツカ亜科の一種(*Gobiocypris rarus*)成熟雌への影響が検討されている。その結果として、1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で卵中カテプシンD活性の低値、10 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で卵中活性酸素種濃度、卵中蛋

白質カルボニル濃度、絨毛膜中蛋白質カルボニル濃度の高値、50 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で卵中 SOD 活性、絨毛膜中脂質濃度、絨毛膜中蛋白質濃度の低値、卵中過酸化脂質濃度の高値、100 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で卵中グルタチオン濃度の低値、絨毛膜中過酸化脂質濃度の高値が認められた。

Schwaiger ら(2002)によって、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, mixture of ring and chain isomers)と思われる。CAS#記載なし) 1、10 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に3ヶ年齢から約4ヶ月間(産卵期前に相当する7、8、9、10月に月毎10日間、合計40日間)ばく露したニジマス(*Oncorhynchus mykiss*) $F_0$ への影響(最終ばく露終了後3日後に剖検)が検討されている。その結果として、1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄血漿中ピテロゲニン濃度、ばく露後人工受精卵の発眼卵前死亡率の高値、10 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でばく露後人工受精卵の孵化率の低値が認められた。

また更に、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, mixture of ring and chain isomers)と思われる。CAS#記載なし) 10 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)にばく露したニジマス(*O. mykiss*) $F_1$ への影響(上記 $F_0$ が産卵、人工受精卵から3ヶ年齢まで非ばく露条件にて飼育)が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄血漿中17 $\beta$ -エストラジオール濃度、雌血漿中ピテロゲニン濃度、雌血漿中テストステロン濃度の高値が認められた。

Burkhardt-Holm ら(2000)によって、4-*p*-ノニルフェノール(Hüls, technical, CAS#記載なし) 1、10 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に3ヶ年齢から約4ヶ月間(産卵期前に相当する7、8、9、10月に月毎10日間、合計40日間)ばく露したニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響が検討されている。その結果として、1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で上皮粘膜細胞における巨大又は変形ムコソーム数の高値が認められた。

Ashfield ら(1998)によって、4-*tert*-ノニルフェノール(Aldrich, mixture of ring and chain isomers)と思われる。CAS#記載なし) 1、10、50 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に0日齢から22日間ばく露したXX型雌ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響(ばく露後、更に非ばく露条件にて最長86日間飼育)が検討されている。その結果として、1、50 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で体重(108日齢)の低値が認められた。

また、4-*tert*-ノニルフェノール(Aldrich, mixture of ring and chain isomers)と思われる。CAS#記載なし) 1、10、30 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に0日齢から35日間ばく露したXX型雌ニジマス(*O. mykiss*)への影響(ばく露後、更に非ばく露条件にて最長431日間飼育)が検討されている。その結果として、30 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で体長(150日齢)、体重(150、220、300、466日齢)の低値(ただし、10 $\mu\text{g/L}$ 区では466日齢で有意な高値)、生殖腺体指数(466日齢)の高値が認められた。

Mochida ら(2004)によって、*p*-ノニルフェノール(関東化学、CAS#記載なし) 0.11、0.18、1.29、6.37 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に3週間ばく露した雌雄マハゼ(*Acanthogobius flavimanus*)への影響が検討されている。その結果として、1.29 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で精巢中ユビキチンC末端ヒドロラーゼ mRNA 相対発現量の低値、6.37 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で血漿中ピテロゲニン(-320及び-530)の検出が認められた。

Zhang ら(2008)によって、4-ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, technical grade, CAS#記載なし) 1.9 $\pm$ 0.4、10.8 $\pm$ 1.6、51.9 $\pm$ 5.7、256.3 $\pm$ 25.9、1,130.6 $\pm$ 198.9 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に約9ヶ月齢から21日間ばく露したカマツカ亜科の一種(*Gobiocypris rarus*)雌雄への影響が検討されている。その結果として、1.9 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄精巢中 *dmrt* (doublesex と MAB-3 に関連する転写因

子)mRNA 相対発現量の低値、10.5 $\mu$ g/L以上のばく露区で雄肝臓中ピテロゲニン mRNA 相対発現量の高値、1,130.6 $\mu$ g/Lのばく露区で雌肝臓中ピテロゲニン mRNA 相対発現量の高値が認められた。Wuら(2012)によって、4-ノニルフェノール(Sigma Aldrich, CAS#記載なし) 0.01、0.1、1  $\mu$ M(=2.20、22.0、220 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に受精後 21 日目から 3 日間ばく露したカマツカ亜科の一種(*Gobiocypris rarus*) (雌雄混合と思われる)への影響が検討されている。その結果として、0.01、0.1 $\mu$ M(=2.20、22.0 $\mu$ g/L)のばく露区でピテロゲニン mRNA 相対発現量、透明帯 B 蛋白質 1 mRNA 相対発現量の高値が認められた。

Zhaら(2008)によって、4-ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, technical grade, CAS#記載なし) 4.52 $\pm$ 0.83、9.13 $\pm$ 1.03、18.53 $\pm$ 2.33 $\mu$ g/Lの濃度(測定濃度)に約 9.5 ヶ月齢から 21 日間ばく露したカマツカ亜科の一種(*Gobiocypris rarus*)への影響が検討されている。その結果として、4.52 $\mu$ g/L以上のばく露区で雄血漿中ピテロゲニン濃度、雄腎臓体指数、腎臓病巣発生率(雌雄混合)の高値、9.13 $\mu$ g/L以上のばく露区で雌腎臓体指数、肝臓病巣発生率(雌雄混合)の高値、9.13 $\mu$ g/Lのばく露区で雄生殖腺体指数の高値、18.53 $\mu$ g/Lのばく露区で雄精巣卵出現率の高値が認められた。

Kortnerら(2009)によって、4-ノニルフェノール(Fluka, technical mixtureと思われる。CAS#記載なし) 5、50 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に 72 時間ばく露した未成熟タイセイヨウサケ(*Salmo salar*)への影響が検討されている。その結果として、5  $\mu$ g/L以上のばく露区で脳中 *cyp19a* mRNA 相対発現量、脳中アロマトラーゼ比活性の低値、血漿中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度の高値、50 $\mu$ g/L以上のばく露区で血漿中ピテロゲニン濃度、肝臓中ピテロゲニン mRNA 相対発現量の高値が認められた。

MeucciとArukwe(2006)によって、4-ノニルフェノール(Fluka, technical mixtureと思われる。CAS#記載なし) 5、15、50 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に 7 日間ばく露した未成熟タイセイヨウサケ(*Salmo salar*)への影響が検討されている。その結果として、5  $\mu$ g/L以上のばく露区で肝臓中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、肝臓中ピテロゲニン mRNA 相対発現量、肝臓中透明帯蛋白質 mRNA 相対発現量、脳中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、脳中エストロゲン受容体  $\beta$  mRNA 相対発現量、脳中 P450 アロマトラーゼ B mRNA 相対発現量の高値、15 $\mu$ g/L以上のばく露区で血漿中ピテロゲニン濃度の高値、15 $\mu$ g/Lのばく露区で脳中 P450 アロマトラーゼ A mRNA 相対発現量の高値が認められた。

MeucciとArukwe(2006)によって、4-ノニルフェノール(Fluka, technical mixtureと思われる。CAS#記載なし) 5、15、50 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に 7 日間ばく露した未成熟タイセイヨウサケ(*Salmo salar*)への影響が検討されている。その結果として、5  $\mu$ g/L以上のばく露区で肝臓中 *CYP3A* mRNA 相対発現量、肝臓中プレグナン X 受容体 mRNA 相対発現量の高値、肝臓中芳香族炭化水素受容体 mRNA 相対発現量の高値(ばく露 3 日後では低値)、肝臓中 *CYP1A1* mRNA 相対発現量の高値(ばく露 3 日後では低値、また 50 $\mu$ g/L 区では低値)が認められた。

Arukweら(2005)によって、4-ノニルフェノール(Fluka, technical mixtureと思われる。CAS#記載なし) 5、15、50 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に 7 日間ばく露した未成熟タイセイヨウサケ(*Salmo salar*)への影響が検討されている。その結果として、5  $\mu$ g/L以上のばく露区で脳中 *CYP3A* mRNA 相対発現量の高値、5  $\mu$ g/Lのばく露区で脳中 *CYP11B* mRNA 相対発現量の低値(15 $\mu$ g/L 区では有意な

高値)、脳中 *P450sc* mRNA 相対発現量の高値、5、15 $\mu$ g/L 以上のばく露区で脳中 *CYP11a* mRNA 相対発現量の高値、15 $\mu$ g/L のばく露区で脳中 *StAR* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

Meucci と Arukwe (2005) によって、4-ノニルフェノール(Fluka, technical mixture とと思われる。CAS#記載なし) 5、15、50 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に 7 日間ばく露した未成熟タイセイヨウサケ (*Salmo salar*) への影響が検討されている。その結果として、5  $\mu$ g/L 以上のばく露区で血漿中透明体蛋白質濃度、表面粘液中透明体蛋白質濃度の高値、15 $\mu$ g/L 以上のばく露区で血漿中ピテロゲニン濃度、表面粘液中ピテロゲニン濃度の高値が認められた。

Knoebl ら(2004)によって、*p*-ノニルフェノール(Schenectady International, CAS#記載なし) 0.64、5、12、23、43 $\mu$ g/L の濃度(測定濃度)に 13 日間ばく露した成熟雄シープヘッドミノー (*Cyprinodon variegatus*) への影響が検討されている。その結果として、5  $\mu$ g/L 以上のばく露区で肝臓中ピテロゲニン 1 mRNA 相対発現量、肝臓中ピテロゲニン 2 mRNA 相対発現量、肝臓中透明体蛋白質 2 mRNA 相対発現量、肝臓中透明体蛋白質 3 mRNA 相対発現量の高値が認められた。

②① Hemmer ら(2001)によって、*p*-ノニルフェノール(Schenectady International, CAS#記載なし) 0.64 $\pm$ 0.06、5.38 $\pm$ 0.45、11.81 $\pm$ 1.09、23.27 $\pm$ 3.61、42.67 $\pm$ 5.10 $\mu$ g/L の濃度(測定濃度)に 42 日間ばく露した成熟雄シープヘッドミノー (*Cyprinodon variegatus*) への影響が検討されている。その結果として、5.38 $\mu$ g/L 以上のばく露区で血漿中ピテロゲニン濃度の高値が認められた。

②② Hemmer ら(2002)によって、*p*-ノニルフェノール(Schenectady International, CAS#記載なし) 5.60 $\pm$ 1.14、59.64 $\pm$ 13.00 $\mu$ g/L の濃度(測定濃度)に 16 日間ばく露した成熟雄シープヘッドミノー (*Cyprinodon variegatus*) への影響が検討されている。その結果として、59.9 $\mu$ g/L のばく露区で血漿中ピテロゲニン濃度、肝臓中ピテロゲニン mRNA 相対発現量の高値が認められた。

②③ Lerner ら(2007)によって、4-ノニルフェノール(Schenectady International, CAS# 84852-15-3) 6.5 $\pm$ 1.1 $\mu$ g/L の濃度(測定濃度)に孵化 21 日後から最長 13 ヶ月間ばく露したタイセイヨウサケ (*Salmo salar*) への影響が検討されている。その結果として、1 年後の血漿中インシュリン様成長因子 1 濃度、血漿中トリヨードサイロニン濃度(1 年後)、血漿中塩素イオン濃度(1 年後、ストレス刺激 3 時間処理)、血漿中コルチゾール濃度(1 年後、ストレス刺激 3 時間処理)の低値、累積死亡率(81 日後)の高値が認められた。

②④ Lerner ら(2007)によって、4-ノニルフェノール(Schenectady International, CAS# 84852-15-3) 6.9 $\pm$ 0.5、73.9 $\pm$ 9.4 $\mu$ g/L の濃度(測定濃度)に 21 日間ばく露したタイセイヨウサケ (*Salmo salar*) への影響が検討されている。その結果として、6.9 $\mu$ g/L 以上のばく露区で血漿中コルチゾール濃度(基底状態及びストレス刺激 3 時間後)の高値、73.9 $\mu$ g/L のばく露区で血漿中ナトリウムイオン濃度(淡水中基底状態)の低値、血漿中塩素イオン濃度(海水中 24 時間後)、雄及び雌血漿中ピテロゲニン濃度の高値が認められた。

②⑤ Yokota ら(2001)によって、4-ノニルフェノール(関東化学、isomeric mixture、CAS#記載なし) 4.2 $\pm$ 1.6、8.2 $\pm$ 3.7、17.7 $\pm$ 3.4 $\mu$ g/L の濃度(測定濃度)に受精 24 時間以内から孵化 104 日後までばく露したメダカ (*Oryzias latipes*) F<sub>0</sub> への影響が検討されている。その結果として、8.2 $\mu$ g/L 以上のばく露区で雌生殖腺体指数の高値が認められた。

また更に、4-ノニルフェノール(関東化学、isomeric mixture、CAS#記載なし) 4.2 $\pm$ 1.6、8.2 $\pm$ 3.7、

17.7±3.4µg/Lの濃度(測定濃度)に受精 24時間以内(上記 F<sub>0</sub>が産卵)から孵化 60日後までばく露したメダカ(*O. latipes*)F<sub>1</sub>への影響が検討されている。その結果として、17.7µg/Lのばく露区で雌生雄性比の低値、精巣卵発生率の高値が認められた。

また、4-ノニルフェノール(関東化学、isomeric mixture、CAS#記載なし) 4.2±1.6、8.2±3.7、17.7±3.4、51.5±7.1µg/Lの濃度(測定濃度)に受精 24時間以内から孵化 60日後までばく露したメダカ(*O. latipes*)への影響が検討されている。その結果として、17.7µg/L以上のばく露区で孵化後累積死亡率の高値、51.5µg/L以上のばく露区で雄性比の低値、精巣卵発生率の高値が認められた。

また、4-ノニルフェノール(関東化学、isomeric mixture、CAS#記載なし) 4.2±1.6、8.2±3.7、17.7±3.4、51.5±7.1、183µg/Lの濃度(測定濃度)に受精 24時間以内から孵化までばく露したメダカ(*O. latipes*)への影響が検討されている。その結果として、183µg/Lのばく露区で孵化率、swim-up 行動不全率の低値が認められた。

- ②⑥Huangら(2010)によって、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich、technical grade、CAS#記載なし) 10、100µg/Lの濃度(設定濃度)に4週間ばく露したニルティラピア(*Oreochromis niloticus*)(成熟雄と思われる)への影響が検討されている。その結果として、10µg/L以上のばく露区で精巣中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量の高値、10µg/Lのばく露区で精巣中エストロゲン受容体  $\beta$  mRNA 相対発現量の低値が認められた。
- ②⑦Arukwe と Roe (2008)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、technical mixture とと思われる。CAS#記載なし) 10、60µg/Lの濃度(設定濃度)に10日間ばく露したタイセイヨウサケ(*Salmo salar*)への影響が検討されている。その結果として、10µg/L以上のばく露区で肝臓中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、肝臓及び表皮中エストロゲン受容体  $\beta$  mRNA 相対発現量、肝臓中ピテロゲニン mRNA 相対発現量、肝臓中透明帯蛋白質 mRNA 相対発現量の高値、10µg/Lのばく露区で表皮中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量の低値、血漿中透明帯蛋白質濃度の高値、60µg/Lのばく露区で表皮中透明帯蛋白質 mRNA 相対発現量、血漿中ピテロゲニン濃度の高値が認められた。
- ②⑧Zhaら(2007)によって、4-ノニルフェノール(Sigma-Aldrich、technical grade、CAS#記載なし) 3、10、30µg/Lの濃度(設定濃度)に約7ヶ月齢から28日間ばく露したカマツカ垂科の一種(*Gobiocypris rarus*)への影響が検討されている。その結果として、10µg/L以上のばく露区で雄生殖腺体指数、雄血漿中ピテロゲニン濃度の高値、30µg/Lのばく露区で雄精巣卵出現率の高値が認められた。
- ②⑨Ishibashiら(2006)によって、4-ノニルフェノール(Aldrich、CAS#記載なし) 10、50、100µg/Lの濃度(設定濃度)に21日間ばく露した成熟メダカ(*Oryzias latipes*)F<sub>0</sub>への影響(産卵後、F<sub>1</sub>にはばく露せず最長90日齢まで飼育)が検討されている。その結果として、10、50µg/Lのばく露区で雄肝臓中ピテロゲニンの高値、50µg/Lのばく露区で雄肝臓体指数の高値、100µg/Lのばく露区で総産卵数、受精率、孵化率(F<sub>1</sub>)の低値、雌肝臓体指数の高値、孵化(F<sub>1</sub>)までの所要日数の遅延が認められた。
- ③⑩LiとWang(2005)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、CAS#記載なし) 10、60、150µg/Lの濃度(設定濃度)に21日間ばく露した成熟雄グッピー(*Poecilia reticulata*)への影響が検討されている。その結果として、10µg/L以上のばく露区で血漿中ピテロゲニン濃度の高値が認められた。
- ③⑪Weberら(2003)によって、4-ノニルフェノール(Sigma-Aldrich、technical grade、CAS#記載なし)



10、30、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に孵化2日後から60日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で精巢繊維化重篤度、腎臓間質内核凝縮細胞数有意な高値、10、30 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で腎細管内核凝縮細胞数の高値、30 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で精巢内無細胞面積率、卵胞直径(卵原細胞期、前卵黄形成期、卵黄形成期及び排卵前期)の高値、100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で精巢内核凝縮細胞数の高値、卵巢内卵胞の発達 Stage の遅延、精巢内生殖細胞の発達 Stage の遅延が認められた。

③③ Shelley ら(2012)によって、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, mixture of ring and chain isomers とと思われる。CAS#記載なし) 2.8、18 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に4日間ばく露した幼若ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響が検討されている。その結果として、18 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で肝臓体指数の高値が認められた。

また、4-ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, mixture of ring and chain isomers とと思われる。CAS#記載なし) 18 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に4日間ばく露した幼若ニジマス(*O. mykiss*)への影響が検討されている。その結果として、白血球に占めるリンパ球率の高値が認められた。

また、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, mixture of ring and chain isomers とと思われる。CAS#記載なし) 18 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に14日間ばく露した幼若ニジマス(*O. mykiss*)への影響が検討されている。その結果として、*Listonella anguillarum* 感染条件下での累積死亡率の高値が認められた。

③④ Foran ら(2000)によって、*p*-ノニルフェノール(Schenectady International, technical grade, CAS#記載なし) 20 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に4日間ばく露した成熟雌雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響(ばく露後、更に非ばく露で5日間飼育)が検討されている。その結果として雄肝臓中ビテロゲン発現量の高値が認められた。

③⑤ Ruggeri ら(2008)によって、4-ノニルフェノール(Fluka, CAS#記載なし) 0.1 $\mu\text{M}$ (=22.0 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)に3週間ばく露した雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、血漿中ビテロゲン濃度の高値が認められた。

③⑥ Willey と Krone (2001)によって、ノニルフェノール(Chem Service、technical grade CAS#記載なし) 0.1 $\mu\text{M}$ (=22.0 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)に受精2~2.5時間後(64~256細胞期)から10日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、体節毎の始原生殖細胞数の変動が認められた。

③⑧ Kang ら(2003)によって、4-ノニルフェノール(関東化学、isomeric mixture、CAS#記載なし) 24.8 $\pm$ 1.6、50.9 $\pm$ 2.2、101 $\pm$ 4.1、184 $\pm$ 30.0 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に21日間ばく露した成熟雌雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、24.8 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で精巢卵の出現、50.9 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄及び雌肝臓中ビテロゲン濃度の高値、101 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で総産卵数の低値、雄肝臓体指数の高値、184 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄生殖腺体指数、卵受精率の低値が認められた。

④⑩ Cionna ら(2006)によって、ノニルフェノール(Fluka, mixture of isomers with differently branched nonyl side chains, CAS#記載なし) 25、100、1,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に48時間ばく露したボラ科の一種(*Liza aurata*)幼若個体への影響が検討されている。その結果として、25 $\mu\text{g/L}$

以上のばく露区で肝臓中 *CYP1A1* mRNA 相対発現量、肝臓中 EROD 比活性の低値が認められた。

- ④①Larsen ら(2006)によって、4-ノニルフェノール(Fluka, technical mixture とと思われる。CAS#記載なし) 29±3µg/L の濃度(測定濃度)に3週間ばく露した幼若タイセイヨウダラ(*Gadus morhua*)への影響が検討されている。その結果として、血漿中ピテロゲニン濃度(雌雄混合)、血漿中透明帯蛋白質濃度(雌雄混合)の高値が認められた。

また、4-ノニルフェノール(Fluka, technical mixture とと思われる。CAS#記載なし) 29±3µg/L の濃度(測定濃度)に3週間ばく露した幼若イシビラメ(*Scophthalmus maximus*)への影響(雌雄混合)が検討されている。その結果として、血漿中ピテロゲニン濃度、血漿中透明帯蛋白質濃度の高値が認められた。

- ④②Hill と Janz (2003)によって、4-ノニルフェノール(Aldrich, technical grade, CAS#記載なし) 10、30、100µg/L の濃度(設定濃度)に孵化2日後から60日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、30µg/L 以上のばく露区で精巣卵の出現、100µg/L のばく露区で60日齢雄性比の低値が認められた。

また、4-ノニルフェノール(Aldrich, technical grade, CAS#記載なし) 10、30、100µg/L の濃度(設定濃度)に孵化2日後から60日間ばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)の産卵への影響(ばく露後、更に非ばく露で60飼育し120~160日後に交配試験)が検討されている。その結果として、100µg/L のばく露区で孵化率、孵化後遊泳率の低値が認められた。

- ④③Bhattacharya ら(2008)によって、4-ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, CAS#記載なし) 0.17、0.34、0.68µM(=37、75、150µg/L)の濃度(設定濃度)に14日間ばく露したコイ科の一種ロージー・バルブ(*Puntius conchoni*)成熟個体への影響が検討されている。その結果として、0.17µM(=37µg/L)以上のばく露区で肝臓中アルカリ性ホスファターゼ活性の高値、0.17、0.34µM(=37、75µg/L)のばく露区で肝臓中アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性、肝臓中アラニンアミノトランスフェラーゼ活性、鰓中アルカリ性ホスファターゼ活性の高値(0.68µM では低値)、0.17µM(=37µg/L)のばく露区で鰓中アラニンアミノトランスフェラーゼ活性の高値(0.68µM では低値)、0.17µM(=37µg/L)のばく露区で鰓中アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性の高値(0.34、0.68µM 区では低値)、0.34µM(=75µg/L)のばく露区で腎臓中アラニンアミノトランスフェラーゼ活性、腎臓中アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性の高値(0.68µM では低値)、0.68µM(=150µg/L)のばく露区で腎臓中アルカリ性ホスファターゼ活性の高値が認められた。

- ④④El-Sayed ら(2014)によって、4-ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, CAS# 84852-15-3) 40、60、100µg/L の濃度(設定濃度)に4週間ばく露した成熟雌ナイルティラピア(*Oreochromis niloticus*)への影響が検討されている。その結果として、40、60µg/L のばく露区で血漿中17β-エストラジオール濃度、血漿中ピテロゲニン濃度の高値、60µg/L 以上のばく露区で卵母細胞最大直径、生殖腺体指数の低値、100µg/L のばく露区で血漿中11-ケトテストステロン濃度の低値が認められた。

- ④⑤Sayed ら(2012)によって、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, CAS#記載なし) 50、80、100µg/L の濃度(設定濃度)に15日間ばく露したヒレナマズ科の一種アフリカンクララ(*Clarias gariepinus*)成熟個体への影響が検討されている。その結果として、50µg/L 以上のばく露区で雄及び雌生殖腺体指数、雄及び雌血漿中甲状腺刺激ホルモン濃度、雌血漿中サイロキシン濃度、雄血漿中テストス

テロン濃度の低値、雄及び雌血漿中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度、雄血漿中黄体形成ホルモン濃度の高値、80 $\mu$ g/L 以上のばく露区で雄及び雌血漿中トリヨードサイロニン濃度、雄及び雌血漿中卵胞刺激ホルモン濃度、雄血漿中サイロキシン濃度、雌血漿中テストステロン濃度の低値、100 $\mu$ g/L のばく露区で雌血漿中黄体形成ホルモン濃度の低値が認められた。

④9 Yang ら(2006)によって、ノニルフェノール(Aldrich, technical grade, CAS#記載なし) 0.1、1、10、50、100、500 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に3週間ばく露した成熟雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu$ g/L のばく露区で産卵の卵殻厚の低値、500 $\mu$ g/L のばく露区で生殖腺体指数の低値が認められた。

また、ノニルフェノール(Aldrich, technical grade, CAS#記載なし) 0.1、1、10、50、100、500 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に3週間ばく露した成熟雌ゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu$ g/L のばく露区で全身中ピテロゲニン濃度の高値が認められた。

51 Gray と Metcalfe (1997)によって、4-ノニルフェノール(Aldrich, technical grade, CAS#記載なし) 10、50、100 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に孵化1~2日後から3ヶ月間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu$ g/L 以上のばく露区で雄の精巣卵発生率の高値、100 $\mu$ g/L のばく露区で雄性比の高値が認められた。

52 Kinnberg ら(2000)によって、4-ノニルフェノール(Fluka, technical mixture, CAS#記載なし) 80、640、960、1,280 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に28日間ばく露したカダヤシ科の一種サザンプラティフィッシュ(*Xiphophorus maculatus*)成熟雄への影響が検討されている。その結果として、80 $\mu$ g/L 以上のばく露区で精巣の組織病理学的異常所見が認められた。

53 Chen ら(2008)によって、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, CAS#記載なし) 1、10、100、200 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に7日間ばく露した成熟雌雄インドメダカ(*Oryzias melastigma*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu$ g/L 以上のばく露区で雌肝臓中コリオゲニン H mRNA 相対発現量、雌肝臓中コリオゲニン L mRNA 相対発現量、雄肝臓中コリオゲニン H mRNA 相対発現量、雄肝臓中コリオゲニン L mRNA 相対発現量の高値が認められた。

54 Cardinali ら(2004)によって、ノニルフェノール(Fluka, technical mixture とされる。CAS#記載なし) 100 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に5日未滿齢から90日間ばく露した雌雄グッピー(*Poecilia reticulata*)への影響が検討されている。その結果として、雄性比の低値、雄及び雌の生殖腺体指数、雄及び雌の肝臓体指数、雄及び雌の肝臓中ピテロゲニン mRNA 相対発現量の高値が認められた。

56 Weber ら(2002)によって、4-ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, reagent grade, CAS#記載なし) 100 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に4ヶ月齢から6週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、精巣でのアポトーシス細胞発生率の高値が認められた。

57 LiMH ら(2008)によって、4-ノニルフェノール(Riedel-de Haën = Sigma-Aldrich, CAS#記載なし) 150、300 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に4日間ばく露したグッピー(*Poecilia reticulata*)への影響が検討されている。その結果として、150 $\mu$ g/L 以上のばく露区で筋肉中コリンエステラーゼ活性の低値が認められた。

58 Tanaka と Grizzle (2002)によって、*p*-ノニルフェノール(Schenectady International, CAS#記載なし) 150、300 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に孵化9時間後から60日間ばく露したカダヤシ目の一種

(*Kryptolebias marmoratus*)への影響(ばく露後、更に非ばく露で20日間飼育)が検討されている。その結果として、150 $\mu$ g/L以上のばく露区で卵胞が発達した個体率の低値、300 $\mu$ g/Lのばく露区で精巣組織が発達した個体率、生殖腺内腔が発達した個体率の低値が認められた。

59Palermo ら(2012)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、CAS#記載なし) 0.01、1 $\mu$ M(=0.220、220 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に3日間ばく露したササウシノシタ科の一種ドーバーソール(*Solea solea*)幼若個体への影響が検討されている。その結果として、1 $\mu$ M(=220 $\mu$ g/L)のばく露区で血漿中ビテロゲニン濃度、肝臓中エストロゲン受容体 $\beta$ mRNA 相対発現量の高値が認められた。

60Chandrasekar ら(2010)によって、4-ノニルフェノール(Sigma、CAS#記載なし) 1 $\mu$ M(=220 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に48時間ばく露した成熟雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、肝臓中エストロゲン受容体1mRNA 相対発現量、肝臓中エストロゲン受容体2a mRNA 相対発現量の低値、精巣中エストロゲン受容体2a mRNA 相対発現量の高値が認められた。

なお、4-ノニルフェノール(Sigma、CAS#記載なし) 1 $\mu$ M(=220 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に48時間ばく露した成熟雌ゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響が検討されているが、肝臓、脳及び卵巣中エストロゲン受容体1mRNA 相対発現量、エストロゲン受容体2a mRNA 相対発現量、エストロゲン受容体2b mRNA 相対発現量には影響が認められなかった。

61Soverchia ら(2005)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、CAS#記載なし) 1、10 $\mu$ M(=220、2,200 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に3週間ばく露した幼若キンギョ(*Carassius auratus*)への影響が検討されている。その結果として、1 $\mu$ M(=220 $\mu$ g/L)以上のばく露区で血漿中アンドロゲン類(テストステロン、5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン、11-ケトテストステロン、5 $\beta$ -ジヒドロテストステロン)濃度濃度の低値、血漿中17 $\beta$ -エストラジオール濃度、血漿中ビテロゲニン濃度、肝臓中エストロゲン受容体 $\beta$ 1mRNA 相対発現量の高値が認められた。

62van den Belt ら(2004)によって、4-ノニルフェノール(Across、CAS#記載なし) 0.14、0.57、1.13、2.27 $\mu$ M(=31、126、249、500 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に3週間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、1.13 $\mu$ M(=249 $\mu$ g/L)以上のばく露区で血漿中ビテロゲニン濃度の高値、2.27 $\mu$ M(=500 $\mu$ g/L)のばく露区で生殖腺体指数の低値が認められた。

63Senthil Kumaran ら(2011)によって、ノニルフェノール(Sigma Aldrich、CAS#84852-15-3) 250、500、750、1,000 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に7日間ばく露したヒレナマズ科の一種アフリカンクララ(*Clarias gariepinus*)成熟個体への影響が検討されている。その結果として、250 $\mu$ g/L以上のばく露区で血漿中コルチゾール濃度の高値が認められた。

64Kirby ら(2007)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、CAS#記載なし) 33、100、330 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に10日間ばく露したヌマガレイ属の一種ヨーロッパヌマガレイ(*Platichthys flesus*)への影響が検討されている。その結果として、330 $\mu$ g/Lのばく露区で血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

66Raldua と Babin (2009)によって、4-ノニルフェノール(Riedel-de Haën = Sigma Aldrich、CAS#記載なし) 2.3 $\mu$ M(=506 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に孵化2日後から3日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、甲状腺濾胞におけるサイロキシン免

疫蛍光発現強度の低値が認められた。

67Duffy ら(2014)によって、4-ノニルフェノール(Sigma Aldrich、CAS#記載なし) 881.4、8,814、88,140 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)にスモルト期に96時間ばく露したタイセイヨウサケ(*Salmo salar*)への影響が検討されている。その結果として、881.4、88,140 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で血漿中ピテロゲニン濃度の高値、8,814 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で肝臓中ピテロゲニン mRNA 相対発現量の低値が認められた。

また、4-ノニルフェノール(Sigma Aldrich、CAS#記載なし) 881.4、8,814、88,140 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に孵化約10日前の胚、卵稚仔、卵黄嚢吸収から約1ヶ月後の摂食稚魚の各段階で96時間ばく露したタイセイヨウサケ(*S. salar*)への影響が検討されている。その結果として、8,814 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で全身中ピテロゲニン mRNA 相対発現量(卵稚仔期及び摂食稚魚期)の高値、88,140 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で肝臓中ピテロゲニン濃度(摂食稚魚期)の高値が認められた。

68Hallgren と Olsen(2010)によって、4-ノニルフェノール(Sigma Aldrich、CAS#記載なし) 0.7 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に12~14日間ばく露した成熟雌雄グッピー(*Poecilia reticulata*)への影響が検討されているが、雄及び雌脳中アロマターゼ比活性認には影響が認められなかった。

また、4-ノニルフェノール(Sigma Aldrich、CAS#記載なし) 50 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に12~14日間ばく露した成熟雌雄グッピー(*P. reticulata*)への影響が検討されているが、雄及び雌脳中アロマターゼ比活性認、雄及び雌生殖腺体指数、雄及び雌肝臓体指数には影響が認められなかった。

69Kobayashi ら(2005)によって、*p*-ノニルフェノール(片山化学工業=Sigma Aldrich、CAS#記載なし) 500 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に12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が、肝臓中ピテロゲニン濃度、精巣中ピテロゲニン濃度には影響が認められなかった。

70Villeneuve ら(2002)によって、4-ノニルフェノール(Schenectady International、CAS#記載なし) <0.05、0.58 $\pm$ 0.07、1.51 $\pm$ 0.17、5.36 $\pm$ 0.57 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に2~3年齢から28~31日間ばく露した成熟雄コイ(*Cyprinus carpio*)への影響が検討されているが、血漿中17 $\beta$ -エストラジオール濃度、血漿中テストステロン濃度、血漿中ピテロゲニン濃度、精巣、肝臓、脳、鰓の組織病理学的検査には影響が認められなかった。

## (2)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

Fort と Stover (1997)によって、ノニルフェノール(Fluka、technical mixture と思われる。CAS#記載なし) 10、25、50、75、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に Nieuwkoop-Faber Stage 60 から 66 まで約14日間ばく露した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、50 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で Stage 63 から 66 にかけての尾吸収の早期化が認められた。

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、被験物質の純度及び試験動物の入手先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、Stage 63 から 66 にかけての尾吸収の早期化が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：甲状腺ホルモン様作用

#### 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

Park ら(2010)によって、ノニルフェノール(Aldrich、mixture of ring and chain isomersと思われる。CAS#記載なし) 0.1、1  $\mu\text{M}$ (=22.0、220 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)に受精 2 時間後から最長受精 24 時間後までばく露したチョウセンスズガエル(*Bombina orientalis*)への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu\text{M}$ (=22.0 $\mu\text{g/L}$ )以上のばく露区で尾部黒色素胞直径、体長(216 時間後)の低値、1  $\mu\text{M}$ (=220 $\mu\text{g/L}$ )のばく露区で尾部黒色素胞数(単位面積当)、死亡率の高値が認められた。

また、ノニルフェノール(Aldrich、mixture of ring and chain isomersと思われる。CAS#記載なし) 0.1、1  $\mu\text{M}$ (=22.0、220 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)に受精 25 日後(Nieuwkoop-Faber Stage 53 に相当)から 7 日間ばく露したチョウセンスズガエル(*B. orientalis*)への影響が検討されている。その結果として、1  $\mu\text{M}$ (=220 $\mu\text{g/L}$ )のばく露区で尾の増加長の高値が認められた。

また、ノニルフェノール(Aldrich、mixture of ring and chain isomersと思われる。CAS#記載なし) 0.1、1  $\mu\text{M}$ (=22.0、220 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)に受精 25 日後(Nieuwkoop-Faber Stage 53 に相当)から 7 日間ばく露したチョウセンスズガエル(*B. orientalis*)への影響(最初の 1 日間のみトリヨードサイロニン 50nM 共存下)が検討されている。その結果として、1  $\mu\text{M}$ (=220 $\mu\text{g/L}$ )のばく露区で尾の短縮長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及び野外で採集した動物を使用しているため、再現性に疑問が残り、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。

想定されるメカニズム：不明

Kbas ら(1999)によってノニルフェノール(Sigma Aldrich、CAS#記載なし) 0.01、0.1 $\mu\text{M}$ (=2.20、22.0 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)に Nieuwkoop-Faberstage38/40 から 12 週間ばく露した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、0.1 $\mu\text{M}$ (=22.0 $\mu\text{g/L}$ )のばく露区で雄性比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、被験物質の純度及び試験方法(餌の種類等)の詳細な記載がないことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

参考 生態影響(両生類)(今回評価対象としなかった文献)

Yang ら(2005)によって、4-ノニルフェノール(Sigma-Aldrich、technical grade、CAS#記載なし) 2、20、200 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に5日齢から60日間ばく露したトノサマガエル(*Rana nigromaculata*)への影響が検討されているが、その結果として、2 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で全身中テストステロン濃度、全身中ビテロゲニン濃度(アルカリ不安定ホスファターゼ活性測定で代用)の高値が認められた。

Selcer と Verbanic (2014)によって、ノニルフェノール(Chem Service、CAS#記載なし) 1,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に20日間ばく露した成熟雄ヒョウガエル(*Rana pipiens*)への影響が検討されているが、血漿中ビテロゲニン濃度には影響が認められなかった。

Matsumura ら(2005)によって、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich、technical grade、CAS#記載なし) 10、50、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に14日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されているが、血漿中ビテロゲニン濃度には影響が認められなかった。

参考 (3)生態影響(甲殻類)(今回評価対象としなかった文献)

Ghekiere ら(2006)によって、ノニルフェノール(Acros Organics、CAS#記載なし) 0.01、0.1、1 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に Stage I 胚を有する妊娠期から96時間ばく露したイサザアミ属の一種(*Neomysis integer*)への影響が検討されている。その結果として、0.01 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で体内ビテリン濃度の高値が認められた。

Marcial ら(2003)によって、4-ノニルフェノール(ナカライテスク、CAS#記載なし) 0.01、0.1、1、10 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に24時間未満齢から21日間ばく露したシオダマリミジンコ属の一種(*Tigriopus japonicus*) $F_0$ への影響が検討されている。その結果として、1 $\mu\text{g/L}$ 以上の濃度でコペポダイト幼生に至るまでの所要日数の遅延、10 $\mu\text{g/L}$ 以上の濃度で卵嚢形成に至るまでの所要日数の遅延が認められた。

また更に、4-ノニルフェノール(ナカライテスク、CAS#記載なし) 0.01、0.1、1、10 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に誕生(上記 $F_0$ が出産)から21日間ばく露したシオダマリミジンコ属の一種(*T. japonicus*) $F_1$ への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu\text{g/L}$ 以上の濃度でコペポダイト幼生に至るまでの所要日数の遅延、1 $\mu\text{g/L}$ 以上の濃度で卵嚢形成に至るまでの所要日数の遅延が認められた。

Michalec ら(2013)によって、4-ノニルフェノール(WWR France、CAS#68152-92-1と記載されているが、この番号はタールオイル tall oil を示す。) 2 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に30時間ばく露したケブカヒゲナガケンミジンコ(*Eurytemora affinis*)への影響が検討されている。その結果として、遊泳速度(雄、雌及び抱卵雌)の高値が認められた。

Cailleaud ら(2011)によって、4-ノニルフェノール(WWR France、CAS#68152-92-1と記載されているが、この番号はタールオイル tall oil を示す。) 2 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に40時間ばく露した成熟ケブカヒゲナガケンミジンコ(*Eurytemora affinis*)への影響(遊泳行動試験)が検討されている。その結果として、雄及び雌の休止行動頻度、雄及び雌のクルージング行動頻度、雄及び雌の潜水行動頻度の低値が認められた。

Forget-Leray ら(2005)によって、4-ノニルフェノール(Sigma、CAS#記載なし) 7 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に24時間未満齢から21日間ばく露したカイアシ類の一種(*Eurytemora affinis*)への影響が検討されている。その結果として、ノープリウス幼生期間の遅延が認められた。

Isidori ら(2006)によって、4-ノニルフェノール(Sigma、CAS#記載なし) (公比2倍で7ばく露区設定)に24時間未満齢から7日間ばく露したニセネコゼミジンコ(*Ceriodaphnia dubia*)への影響が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub>値8 $\mu$ g/Lの濃度で総産仔数の低値が認められた。

Zhang ら(2003)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、technical mixture とと思われる。CAS#記載なし) 12.5、25、50 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に24時間未満齢から35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、12.5 $\mu$ g/Lのばく露区で累積産仔数の低値、25 $\mu$ g/L以上のばく露区で産仔雌性比の低値が認められた。

Sun と Gu(2005)によって、ノニルフェノール(東京化成、CAS#記載なし) 13、25、50、100、200 $\mu$ g/Lの濃度(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。25 $\mu$ g/Lのばく露区で総産仔数の低値、50 $\mu$ g/L以上のばく露区で生存率の低値、脱皮間隔の早期化が認められた。

Baldwin ら(1997)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、CAS#104-40-5) 25、100 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に10日齢から48時間+16時間ばく露(後半の16時間は標識テストステロン共存化)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、25 $\mu$ g/L以上のばく露区でテストステロン水酸化酵素比活性の高値、25 $\mu$ g/Lのばく露区でテストステロン・硫酸エステル化酵素比活性の低値、100 $\mu$ g/Lのばく露区でテストステロン・グルコシル化酵素比活性の低値、テストステロン脱水素酵素比活性、テストステロン代謝変換率の高値が認められた。

また、4-ノニルフェノール(Fluka、CAS#104-40-5) 25、100 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に24時間未満齢から21日間+16時間ばく露(後半の16時間は標識テストステロン共存化)したオオミジンコ(*D. magna*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu$ g/Lのばく露区でテストステロン・グルコシル化酵素比活性、テストステロン・硫酸エステル化酵素比活性の低値が認められた。

また、4-ノニルフェノール(Fluka、CAS#104-40-5) 6.2、12、25、50、100 $\mu$ g/Lの濃度(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(*D. magna*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu$ g/Lのばく露区で累積産仔数の低値が認められた。

Comber ら(1993)によって、ノニルフェノール(ICI surfactants、mixture of ring isomers and homologues、CAS#記載なし) 18、32、56、100、180、320 $\mu$ g/Lの濃度(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、56 $\mu$ g/L以上のばく露区で生存産仔数の低値、産仔死亡率の高値、100 $\mu$ g/L以上のばく露区で体長の低値、180 $\mu$ g/L以上のばく露区で生存率、総産仔数の低値が認められた。

Gibble と Baer (2003)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、technical mixture とと思われる。CAS#記載なし) 100 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に24時間未満齢から14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、総産仔数の低値、総脱皮回数、総奇形仔数の高値が認められた。

LeBlanc ら(2000)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、technical mixture、CAS#記載なし) 0.46、



0.91 $\mu$ M(=101、202 $\mu$ g/L)の濃度(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、0.46 $\mu$ M(=101 $\mu$ g/L)以上のばく露区で胚発達異常率、新生仔の殻刺発達不全率の高値、0.91 $\mu$ M(=202 $\mu$ g/L)のばく露区で生存率の低値、新生仔の殻刺未発達率の高値が認められた。

Brennan ら(2006)によって、4-ノニルフェノール(Lancaster、CAS#記載なし) 200、400、600、800 $\mu$ g/L の濃度(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*) $F_0$  への影響が検討されている。その結果として、200 $\mu$ g/L 以上の濃度で死亡率の高値、800 $\mu$ g/L 以上の濃度で累積産仔数の低値が認められた。

また更に、4-ノニルフェノール(Lancaster、CAS#記載なし) 200、400、600 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に誕生(上記  $F_0$ が出産)から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*) $F_1$ への影響が検討されている。その結果として、400 $\mu$ g/L 以上の濃度で累積産仔数の低値、死亡率の高値が認められた。

#### 参考 (4)生態影響(軟体動物等)(今回評価対象としなかった文献)

Nice (2005)によって、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich、CAS# 84852-15-3) 1、100 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に受精 3ヶ月後から 72 時間(配偶子形成期に相当)ばく露したマガキ(*Crassostrea gigas*)への影響が検討されている。その結果として、1  $\mu$ g/L 以上のばく露区で運動精子率の低値が認められた。

Marin ら(2008)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、CAS#記載なし) 12.5、25、50、100 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に 14 日間ばく露したザルガイ科の一種ナミヨーロッパザル(*Cerastoderma glaucum*)成熟雌雄への影響が検討されている。その結果として、12.5 $\mu$ g/L 以上のばく露区で雄へモリンパ中ピテロゲニン様蛋白質濃度の高値、50 $\mu$ g/L 以上のばく露区で雄消化腺中ピテロゲニン様蛋白質濃度(アルカリ不安定ホスファターゼ活性測定で代用)の高値が認められた。

Ricciardi ら(2008)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、CAS#記載なし) 25、50、100、200 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に 7 日間ばく露した成熟雄ムラサキガイ(*Mytilus galloprovincialis*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu$ g/L のばく露区で消化腺中ピテロゲニン様蛋白質濃度(アルカリ不安定ホスファターゼ活性測定で代用)の高値が認められた。

また、4-ノニルフェノール(Fluka、CAS#記載なし) 50、100、200、400、600、800、1,000 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に 7 日間ばく露した成熟チチュウカイミドリガニ(*Carcinus aestuarii*)への影響が検討されている。その結果として、100、800 $\mu$ g/L のばく露区でへモリンパ中ピテロゲニン様蛋白質濃度(アルカリ不安定ホスファターゼ活性測定で代用)の高値、400、600、800 $\mu$ g/L のばく露区で性腺中ピテロゲニン様蛋白質濃度(アルカリ不安定ホスファターゼ活性測定で代用)の高値、600、800 $\mu$ g/L のばく露区で消化腺中ピテロゲニン様蛋白質濃度(アルカリ不安定ホスファターゼ活性測定で代用)の高値が認められた。

Matozzo と Marin (2005)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、CAS#記載なし) 25、50、100、200 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に 7 日間ばく露(剖検により性判別が可能な初夏に試験実施)した成熟アサリ(*Tapes philippinarum*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu$ g/L 以上のばく露区

で雄ヘモリンパ中ピテロゲニン様蛋白質濃度、雄消化管中ピテロゲニン様蛋白質濃度の高値が認められた。

Czechら(2001)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、CAS#記載なし) 100 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に約3ヶ月齢から12週間ばく露した成熟ヨーロッパモノアラガイ(*Lymnaea stagnalis*)への影響が検討されている。その結果として、週毎産卵数の低値が認められた。

#### (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ない報告

SohoniとSumpter(1998)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、CAS#記載なし)0.001から1 $\mu$ M(=0.220から220 $\mu$ g/L)の濃度に72時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール0.25nM共存下)した酵母(ヒトエストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導に対する阻害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、試験濃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、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導に対する阻害は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

Preussら(2010)によって、p-ノニルフェノール(Aldrich、mixture of isomers with branched side chains、CAS#記載なし)又は4-ノニルフェノール(3,5-dimethyl-3-heptyl体 p353-NP、2,5-dimethyl-2-heptyl体 p252-NP、3,6-dimethyl-3-heptyl体 p363-NP、2,6-dimethyl-2-heptyl体 p262-NP、3-methyl-3-octyl体 p33-NP、2-methyl-2-octyl体 p22-NPのそれぞれについて測定)0.0001から1,000 $\mu$ M(=0.00022から220,000 $\mu$ g/L)の濃度でヒトエストロゲン受容体 $\alpha$ リガンド結合ドメイン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、IC<sub>50</sub>値2.9から7.4 $\mu$ M(=638から1,630 $\mu$ g/L)の濃度でクメステロール100nMに対する結合阻害が認められた。

また、p-ノニルフェノール(Aldrich、mixture of isomers with branched side chains、CAS#記載なし)5、10、15、18 $\mu$ M(=1,100、2,200、3,300、3,960 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール1nM共存下)した乳がん細胞MVLN(エストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン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、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害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、試験に用いた細胞の入手先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、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

想定されるメカニズム：抗エストロゲン作用

## (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る報告

Sohoni と Sumpter (1998)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、CAS#記載なし) 0.0001 から 10 $\mu$ M(=0.0220 から 2,200 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した酵母(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  $\beta$ ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、EC50 値約 1 $\mu$ M(=220 $\mu$ g/L)の濃度で  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。

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、試験濃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、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められたことから、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

Jolly ら(2009)によって、ノニルフェノール(Qmx Laboratories、CAS#記載なし) 0.00000001、0.000001、0.0001、0.01、1  $\mu$ M(=0.00000228、0.000228、0.0228、2.28、228 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したイトヨ腎臓細胞(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロンばく露により腎臓肥大が認められた成熟雌由来)への影響が検討されているが、スピギン発現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、スピギン発現量には影響は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

Xu ら(2005)によって、4-ノニルフェノール(Sigma、CAS#記載なし) 0.1、1、10 $\mu$ M(=22、220、2,200 $\mu$ 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蛋白質発現誘導)が検討されているが、クロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質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、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、クロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

## (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

Jolly ら(2009)によって、ノニルフェノール(Qmx Laboratories, CAS#記載なし) 0.00000001、0.000001、0.0001、0.01、1  $\mu$ M(=0.00000228、0.000228、0.0228、2.28、228 $\mu$ g/L)の濃度に48時間ばく露(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 10nM 共存下)したイトヨ腎臓細胞(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロンばく露により腎臓肥大が認められた成熟雌由来)への影響が検討されている。その結果として、0.01 $\mu$ M(=2.28 $\mu$ g/L)の濃度でスピギン発現誘導に対する阻害が認められた。

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、スピギン発現誘導に対する阻害が認められたことから、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。

Xu ら(2005)によって、4-ノニルフェノール(Sigma, CAS#記載なし) 0.1、1、10 $\mu$ M(=22、220、2,200 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 1nM 共存下)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蛋白質発現誘導)が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,200 $\mu$ g/L)の濃度でクロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導に対する阻害が認められた。

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、クロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導に対する阻害が認められたことから、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。

Lee ら(2003)によって、4-ノニルフェノール(Aldrich, CAS#記載なし) 0.001、0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=0.22、2.2、22、220、2,200 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(テストステロン 10nM 共存下)したヒト肝臓がん細胞 HepG2(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、IC<sub>50</sub>値 0.781 $\mu$ M(=172 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

また、4-ノニルフェノール(Aldrich, CAS#記載なし) 0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=22、220、2,200 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(テストステロン 10nM 共存下)したマウスセルトリ細胞 15p-1(アンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞

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、IC<sub>50</sub> 値 1.97μM(=433μg/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

また、4-ノニルフェノール(Aldrich、CAS#記載なし)\_0.1、1、10、100μM(=22、220、2,200、22,000μg/L)の濃度に3時間ばく露(テストステロン 10nM 共存下)した酵母(アンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたβ-ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 2.6μM(=572μg/L)の濃度でβ-ガラクトシダーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

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、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められたことから、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

Sohoni と Sumpter (1998)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、CAS#記載なし) 0.001 から 10μM(=0.220から 2,200μg/L)の濃度に24時間ばく露(5α-ジヒドロテストステロン 1.25nM 共存下)した酵母(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(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたβ-ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、β-ガラクトシダーゼ発現誘導に対する阻害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、試験濃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、β-ガラクトシダーゼ発現誘導に対する阻害は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

#### 参考 抗アンドロゲン作用(今回評価対象としなかった文献)

Fang ら(2003)によって、ノニルフェノール(Aldrich、CAS#25154-52-3) 0.00428 から 428μM(=0.942から 94,200μg/L)の濃度でアンドロゲン受容体(ヒトアンドロゲン受容体と同じリガンド結合ドメインをもつ)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、IC<sub>50</sub> 値 11.5μM(=2,530μg/L)の濃度でR1881 1nM に対する結合阻害が認められた。

#### (8)抗甲状腺ホルモン作用

##### 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

Ishihara ら(2003)によって、4-ノニルフェノール(関東化学、CAS#記載なし) 8 μM(=1,760μg/L)の濃度でニホンウズラ血清由来精製トランスサイレチン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、トリヨードサイロニン 0.1nM に対する結合阻害が認められた。

なお、4-ノニルフェノール(関東化学、CAS#記載なし) 1  $\mu$ M(=220 $\mu$ g/L)の濃度で由来甲状腺ホルモン受容体  $\beta$ リガンド結合ドメインを用いた結合阻害試験が検討されているが、トリヨードサイロニン 0.1nM に対する結合阻害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、試験方法(試験動物の性別、飼育条件)の詳細な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、トリヨードサイロニンに対する結合阻害が認められたことから、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。

#### (9)ステロイド産生への影響

##### 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

Ying ら(2012)によって、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich、technical grade、CAS#記載なし) 1、5、10、20 $\mu$ M(=220、1,100、2,200、4,400 $\mu$ g/L)の濃度に6時間ばく露したラットライディッヒ細胞(成熟雄 SD ラット精巣由来)への影響が検討されている。その結果として、5  $\mu$ M(=1,100 $\mu$ g/L)以上の濃度でテストステロン産生量、細胞生存率の低値、5  $\mu$ M(=1,100 $\mu$ g/L)の濃度で *Hsd3b* mRNA 相対発現量、*Cyp11a1* mRNA 相対発現量、*Star* 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、テストステロン産生量、細胞生存率の低値が認められたことから、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

Kortner と Arukwe(2007)によって、4-ノニルフェノール(Fluka、technical mixture と思われる。CAS#記載なし) 1、10、50、100 $\mu$ M(=220、2,200、11,000、22,000 $\mu$ g/L)の濃度に14日間ばく露したタイセイヨウダラ(*Gadus morhus*)卵母細胞(幼若雌由来、前卵黄形成期)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,200 $\mu$ g/L)の濃度で11-ケトテストステロン産生量、*P450sc* mRNA 相対発現量の低値、50 $\mu$ M(=11,000 $\mu$ g/L)以上の濃度で17 $\beta$ -エストラジオール産生量、サイクリン-B(細胞周期関連蛋白質の一種)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、11-ケトテストステロン産生量、*P450sc* mRNA 相対発現量の低値等が認められたことから、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：その他の作用（ステロイド産生系）

参考 ステロイド産生への影響(今回評価対象としなかった文献)

Wu ら(2010)によって、4-ノニルフェノール(Sigma-Aldrich、CAS#記載なし) 4.25、12.75、42.5、127.5 $\mu$ M(=936、2,810、9,360、28,100 $\mu$ g/L)の濃度に1時間ばく露したラットライディヒ細胞(成熟雄 SD ラット精巣由来)への影響が検討されている。その結果として、42.5 $\mu$ M(=9,360 $\mu$ g/L)以上の濃度でテストステロン産生量(8-プロモ-cAMP 100 $\mu$ M 共存下)の低値、テストステロン産生量(基底状態)の高値、127.5 $\mu$ M(=28,100 $\mu$ g/L)の濃度でテストステロン産生量(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 0.05 IU/mL 共存下)、テストステロン産生量(アンドロステンジオン 1 $\mu$ M 共存下)の低値が認められた。

また、4-ノニルフェノール(Sigma-Aldrich、CAS#記載なし) 42.5、127.5 $\mu$ M(=9,360、28,100 $\mu$ g/L)の濃度に1時間ばく露したラットライディヒ細胞(成熟雄 SD ラット精巣由来)への影響が検討されている。その結果として、42.5 $\mu$ M(=9,360 $\mu$ g/L)の濃度で StAR 相対発現量(基底状態)の低値、127.5 $\mu$ M(=28,100 $\mu$ g/L)の濃度で StAR 相対発現量(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 0.05 IU/mL 共存下)、P450acc 相対発現量(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 0.05 IU/mL 共存下)の低値が認められた。

Chang ら(2012)によって、ノニルフェノール(Fluka、technical mixture とされる。CAS#記載なし) 14、43、85 $\mu$ M(=3,080、9,460、18,700 $\mu$ g/L)の濃度に1時間ばく露したラット球状帯細胞(雄 SD ラット甲状腺由来)への影響が検討されている。その結果として、43 $\mu$ M(=9,460 $\mu$ g/L)以上の濃度でアルドステロン産生能、プロゲステロン産生能の高値が認められた。

参考 (10)神経系への影響(今回評価対象としなかった文献)

Matsunaga ら(2010)によって、4-ノニルフェノール(和光純薬、CAS#記載なし) 0.1、1、10 $\mu$ M(=22.2、220、2,200 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したラット神経細胞(妊娠17日目ラット海馬由来)への影響が検討されている。その結果として、1 $\mu$ M(=220 $\mu$ g/L)以上の濃度で MAP2(微小管結合蛋白質の一種)を発現する神経突起長の低値が認められた。

Bevan ら(2006)によって、ノニルフェノール(Aldrich、CAS#記載なし) 5 $\mu$ M(=1,100 $\mu$ g/L)の濃度に36時間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)神経細胞(stage 15 胚脊髄由来)への影響が検討されている。その結果として、神経突起長(神経成長因子 50ng/mL 共存下)の低値、神経突起分岐点数(基底状態)の高値が認められた。

また、ノニルフェノール(Aldrich、CAS#記載なし) 5 $\mu$ M(=1,100 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(15、30、60分間のいずれかと思われる)したラット副腎髄質褐色細胞腫細胞 PC12 への影響が検討されている。その結果として、神経突起長(神経成長因子 100ng/mL 共存下)の低値が認められた。

参考 (11)免疫系への影響(今回評価対象としなかった文献)

Iwata ら(2004)によって、4-ノニルフェノール(東京化成、CAS#記載なし) 10 $\mu$ M(=2,200 $\mu$ g/L)の濃度に5時間ばく露した DKO マウス脾臓細胞への影響が検討されている。その結果として、インタ

ーフェロン- $\gamma$ -産生細胞率の高値が認められた。

参考 (12)副腎細胞への影響(今回評価対象としなかった文献)

Liu ら(2008)によって、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, mixture of ring and chain isomers と 思われる。CAS#記載なし) 0.1、0.5、1、2、5、10 $\mu$ M(=22、110、220、440、1,100、2,200 $\mu$ g/L) の濃度に 30 分間ばく露したブタ副腎髄質細胞への影響が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 5.9 $\mu$ M(=1,300 $\mu$ g/L)の濃度で細胞質内カルシウムイオン濃度上昇(カリウムイオン 56mM 共存下) の阻害、IC<sub>50</sub> 値 0.7 $\mu$ M(=154 $\mu$ g/L)の濃度で細胞質内カルシウムイオン濃度上昇(ニコチン性アセチルコリン受容体ブロッカーの一種エピバチジン 2  $\mu$ M 共存下)の阻害、IC<sub>50</sub> 値 1  $\mu$ M(=220 $\mu$ g/L)の濃度で細胞質内カルシウムイオン濃度上昇(ニコチン性アセチルコリン受容体アゴニストの一種ジメチルフェニルピペラジニウム 10 $\mu$ M 共存下)の阻害、IC<sub>50</sub> 値 1.8 $\mu$ M(=396 $\mu$ g/L)の濃度で細胞質内カルシウムイオン濃度上昇(コリン作動薬の一種カルバコール 0.3mM 共存下)の阻害が認められた。

また、ノニルフェノール(Sigma-Aldrich, mixture of ring and chain isomers と 思われる。CAS# 記載なし) 0.1、0.5、1、2、5、10 $\mu$ M(=22、110、220、440、1,100、2,200 $\mu$ g/L)の濃度に 15 分間ばく露したブタ副腎髄質細胞への影響が検討されている。その結果として、0.5、1、5、10 $\mu$ M(=110、220、1,100、2,200 $\mu$ g/L)の濃度区でエピネフリン分泌量(ジメチルフェニルピペラジニウム 10 $\mu$ M 共存下)の低値、0.5、5、10 $\mu$ M(=110、1,100、2,200 $\mu$ g/L)の濃度区でノルエピネフリン分泌量(ジメチルフェニルピペラジニウム 10 $\mu$ M 共存下)の低値、1  $\mu$ M(=220 $\mu$ g/L)以上の濃度区でエピネフリン分泌量(基底状態)の高値、2  $\mu$ M(=440 $\mu$ g/L)以上の濃度区でノルエピネフリン分泌量(基底状態)の高値が認められた。

Nakajin ら(2001)によって、4-ノニルフェノール(関東化学, mixture of isomers with differently branched nonyl chains, CAS#記載なし) 1.2、2.7、4.5、12、27、45 $\mu$ M(=260、600、1,000、2,600、6,000、10,000 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露(ジブチリル c-AMP 1mM 共存下)したヒト副腎皮質細胞 H295R への影響が検討されている。その結果として、27 $\mu$ M(=6,000 $\mu$ g/L)以上の濃度でコルチゾール産生量の低値が認められた。

参考 (13)線維芽細胞への影響(今回評価対象としなかった文献)

Masuno ら(2003)によって、4-ノニルフェノール(東京化成, mixture of compounds with branched sidechain, CAS#記載なし) 1,000、5,000、10,000 $\mu$ g/L の濃度に 8 日間ばく露したマウス線維芽細胞 3T3-L1 への影響が検討されている。その結果として、1,000 $\mu$ g/L 以上の濃度でリポ蛋白質リパーゼ活性(DNA 重量当)、トリアシルグリセロール産生量(DNA 重量当)の低値、DNA 量の高値が認められた。

## 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、エストロゲン様作用、甲状腺ホルモン様作用を示すこと、試験管内試験の報告において、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、ステロイド産生系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 12 に示した。

表 12 信頼性評価のまとめ

物質名：4-ノニルフェノール(分岐型)

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(魚類)	免疫毒性	Xuら(2013)		?	
		Schoenfussら(2008) 評価未実施			
		Kwakら(2001) 評価未実施			
	エストロゲン様作用	NimrodとBenson(1998)		N	×
		Harrisら(2001) 評価未実施			
		Zhangら(2008)評価未実施			
		Schwaigerら(2002) 評価未実施			
		Burkhardt-Holmら(2000) 評価未実施			
		Ashfieldら(1998) 評価未実施			
		Mochidaら(2004) 評価未実施			
	不明	Miles-Richardsonら(1999)		?	
		Zhangら(2008) 評価未実施			
		Wuら(2012) 評価未実施			
		Zhaら(2008) 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>
	Kortner ら(2009) 評価未実施			
	Meucci と Arukwe ら(2006) 評価未実施			
	Meucci と Arukwe (2006) 評価未実施			
	Arukwe ら(2005) 評価未実施			
	Meucci と Arukwe (2005) 評価未実施			
	Knoebl ら(2004) 評価未実施			
	⑳Hemmer ら(2001) 評価未実施			
	㉑Hemmer ら(2002) 評価未実施			
	㉒Lerner ら(2007) 評価未実施			
	㉓Lerner ら(2007) 評価未実施			
	㉔Yokota ら(2001) 評価未実施			
	㉕Huang ら(2010) 評価未実施			
	㉖Arukwe と Roe (2008) 評価未実施			
	㉗Zha ら(2007) 評価未実施			
	㉘Ishibashi ら(2006) 評価未実施			
	㉙Li と Wang (2005) 評価未実施			
	㉚Weber ら(2003) 評価未実施			
エストロゲン様作用	㉛Seki ら(2003)		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>
	③ Shelley ら(2012) 評価未実施			
	④ Foran ら(2000) 評価未実施			
	⑤ Ruggeri ら(2008) 評価未実施			
	⑥ Willey と Krone (2001) 評価未実施			
エストロゲン様作用	⑦ Nozaka ら(2004)		P	
	⑧ Kang ら(2003) 評価未実施			
エストロゲン様作用	⑨ Jin ら(2010)		P	
	⑩ Cionna ら(2006) 評価未実施			
	⑪ Larsen ら(2006) 評価未実施			
	⑫ Hill と Janz (2003) 評価未実施			
	⑬ Bhattacharya ら(2008) 評価未実施			
	⑭ El-Sayed ら(2014) 評価未実施			
エストロゲン様作用	⑮ Li ら(2012)		P	
	⑯ Sayed ら(2012) 評価未実施			
エストロゲン作用	⑰ Jin ら(2011)		P	
エストロゲン作用	⑱ Jin ら(2009)		P	
	⑲ Yang ら(2006) 評価未実施			
エストロゲン様作用	⑳ Lee ら(2002)		P	
	㉑ Gray と Metcalfe (1997) 評価未実施			
	㉒ Kinnberg ら(2000) 評価未実施			
	㉓ Chen ら(2008) 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>
	54 Cardinali ら (2004) 評価未実施			
エストロゲン様作用	55 van den Belt K ら (2003)		P	
	56 Weber ら (2002) 評価未実施			
	57 Li MH ら (2008) 評価未実施			
	58 Tanaka と Grizzle (2002) 評価未実施			
	59 Palermo ら (2012) 評価未実施			
	60 Chandrasekar ら (2010) 評価未実施			
	61 Soverchia ら (2005) 評価未実施			
	62 van den Belt ら (2004) 評価未実施			
	63 Senthil ら (2011) 評価未実施			
	64 Kirby ら (2007) 評価未実施			
エストロゲン様作用	65 Yamaguchi ら (2005)		P	
	66 Raldua と Babin (2009) 評価未実施			
	67 Duffy ら (2014) 評価未実施			
	68 Hallgren と Olsen (2010) 評価未実施			
	69 Kobayashi ら (2005) 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>
	70 Villeneuve ら (2002) 評価未実施			
	71 Shioda と Wakabayashi (2000)		×	×
(2) 生態影響 (両生類)	Yang ら (2005) 評価未実施			
	抗甲状腺ホルモン様作用 Park ら (2010)	×	-	×
	エストロゲン様作用 Kloas ら (1999)	×	-	×
	甲状腺ホルモン様作用 Fort と Stover (1997)		P	
	Selcer と Verbanic (2014) 評価未実施			
	Matsumura ら (2005) 評価未実施			
(3) 生態影響 (甲殻類)	Ghekiere ら (2006) 評価未実施			
	Marcial ら (2003) 評価未実施			
	Michalec ら (2013) 評価未実施			
	Cailleaud ら (2011) 評価未実施			
	Forget-Leray ら (2005) 評価未実施			
	Isidori ら (2006) 評価未実施			
	Zhang ら (2003) 評価未実施			
	Sun と Gu (2005) 評価未実施			
	Baldwin ら (1997) 評価未実施			
	Comber ら (1993) 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>
	Gibble と Baer (2003) 評価未実施			
	LeBlanc ら(2000) 評価未実施			
	Brennan ら(2006) 評価未実施			
(4)生態影響(軟体動物等)	Nice (2005) 評価未実施			
	Marin ら(2008) 評価未実施			
	Ricciardi ら(2008) 評価未実施			
	Matozzo と Marin (2005) 評価未実施			
	Czech ら(2001) 評価未実施			
(5)抗エストロゲン作用	Sohoni と Sumpter (1998)		N	×
	Preuss ら(2010)		N	×
(6)アンドロゲン作用	Sohoni と Sumpter (1998)		P	
	Jolly ら(2009)		N	×
	Xu ら(2005)		N	×
(7)抗アンドロゲン作用	Jolly ら(2009)		P	
	Xu ら(2005)		P	
	Lee ら(2003)		P	
	Fang ら(2003) 評価未実施			
	Sohoni と Sumpter (1998)		N	×
(8)抗甲状腺ホルモン作用	Ishihara ら(2003)		P	
(9)ステロイド産生への影響	抗アンドロゲン作用 Ying ら(2012)		P	
	Wu ら(2010) 評価未実施			
	Chang ら(2012) 評価未実施			
	その他の作用(ステロイド産生系) Kortner と Arukwe(2007)		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>
(10) 神経系への影響	Matsunaga ら (2010) 評価未実施			
	Bevan ら (2006) 評価未実施			
(11) 免疫系への影響	Iwata ら (2004) 評価未実施			
(12) 副腎細胞への影響	Liu ら (2008) 評価未実施			
	Nakajin ら (2001) 評価未実施			
(13) 線維芽細胞への影響	Masuno ら (2003) 評価未実施			
今後の対応案	動物試験の報告において、エストロゲン様作用、甲状腺ホルモン様作用を示すこと、試験管内試験の報告において、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、ステロイド産生系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

Ghekiere A, Verslycke T and Janssen C (2006) Effects of methoprene, nonylphenol, and estrone on the vitellogenesis of the mysid *Neomysis integer*. *General and Comparative Endocrinology*, 147 (2), 190-195.

- Marcial HS, Hagiwara A and Snell TW (2003) Estrogenic compounds affect development of harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22 (12), 3025-3030.
- Michalec FG, Holzner M, Menu D, Hwang JS and Souissi S (2013) Behavioral responses of the estuarine calanoid copepod *Eurytemora affinis* to sub-lethal concentrations of waterborne pollutants. *Aquatic Toxicology*, 138-139, 129-138.
- Cailleaud K, Michalec FG, Forget-Leray J, Budzinski H, Hwang JS, Schmitt FG and Souissi S (2011) Changes in the swimming behavior of *Eurytemora affinis* (*Copepoda, Calanoida*) in response to a sub-lethal exposure to nonylphenols. *Aquatic Toxicology*, 102 (3-4), 228-231.
- Forget-Leray J, Landriau I, Minier C and Le Boulenger F (2005) Impact of endocrine toxicants on survival, development, and reproduction of the estuarine copepod *Eurytemora affinis* (Poppe). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60 (3), 288-294.
- Isidori M, Lavorgna M, Nardelli A and Parrella A (2006) Toxicity on crustaceans and endocrine disrupting activity on *Saccharomyces cerevisiae* of eight alkylphenols. *Chemosphere*, 64 (1), 135-143.
- Zhang L, Gibble R and Baer KN (2003) The effects of 4-nonylphenol and ethanol on acute toxicity, embryo development, and reproduction in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55 (3), 330-337.
- Sun H and Gu X (2005) Comprehensive toxicity study of nonylphenol and short-chain nonylphenol polyethoxylates on *Daphnia magna*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75 (4), 677-683.
- Baldwin WS, Graham SE, Shea D and Leblanc GA (1997) Metabolic androgenization of female *Daphnia magna* by the xenoestrogen 4-nonylphenol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16 (9), 1905-1911.
- Comber MH, Williams TD and Stewart KM (1993) The effects of nonylphenol on *Daphnia magna*. *Water Research*, 27 (2), 273-276.
- Gibble R and Baer KN (2003) Effects of 4-nonylphenol on sexual maturation in *Daphnia magna*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 70 (2), 315-321.



- LeBlanc GA, Mu X and Rider CV (2000) Embryotoxicity of the alkylphenol degradation product 4-nonylphenol to the crustacean *Daphnia magna*. *Environmental Health Perspectives*, 108 (12), 1133-1138.
- Brennan SJ, Brougham CA, Roche JJ and Fogarty AM (2006) Multi-generational effects of four selected environmental oestrogens on *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 64 (1), 49-55.
- Xu H, Yang M, Qiu W, Pan C and Wu M (2013) The impact of endocrine-disrupting chemicals on oxidative stress and innate immune response in zebrafish embryos. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32 (8), 1793-1799.
- Schoenfuss HL, Bartell SE, Bistodeau TB, Cediell RA, Grove KJ, Zintek L, Lee KE and Barber LB (2008) Impairment of the reproductive potential of male fathead minnows by environmentally relevant exposures to 4-nonylphenol. *Aquatic Toxicology*, 86 (1), 91-98.
- Kwak HI, Bae MO, Lee MH, Lee YS, Lee BJ, Kang KS, Chae CH, Sung HJ, Shin JS, Kim JH, Mar WC, Sheen YY and Cho MH (2001) Effects of nonylphenol, bisphenol A, and their mixture on the viviparous swordtail fish (*Xiphophorus helleri*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20 (4), 787-795.
- Nimrod AC and Benson WH (1998) Reproduction and development of Japanese medaka following an early life stage exposure to xenoestrogens. *Aquatic Toxicology*, 44 (1-2), 141-156.
- Harris CA, Santos EM, Janbakhsh A, Pottinger TG, Tyler CR and Sumpter JP (2001) Nonylphenol affects gonadotropin levels in the pituitary gland and plasma of female rainbow trout. *Environmental Science and Technology*, 35 (14), 2909-2916.
- Zhang X, Yang F, Cai YQ and Xu Y (2008) Oxidative damage in unfertilized eggs of Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) exposed to nonylphenol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27 (1), 213-219.
- Schwaiger J, Mallow U, Ferling H, Knoerr S, Braunbeck T, Kalbfus W and Negele RD (2002) How estrogenic is nonylphenol? A transgenerational study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as a test organism. *Aquatic Toxicology*, 59 (3-4), 177-189.

- Burkhardt-Holm P, Wahli T and Meier W (2000) Nonylphenol affects the granulation pattern of epidermal mucous cells in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 46 (1), 34-40.
- Ashfield LA, Pottinger TG and Sumpter JP (1998) Exposure of female juvenile rainbow trout to alkylphenolic compounds results in modifications to growth and ovosomatic index. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17 (4), 679-686.
- Mochida K, Ohkubo N, Matsubara T, Ito K, Kakuno A and Fujii K (2004) Effects of endocrine-disrupting chemicals on expression of ubiquitin C-terminal hydrolase mRNA in testis and brain of the Japanese common goby. *Aquatic Toxicology*, 70 (2), 123-136.
- Miles-Richardson SR, Pierens SL, Nichols KM, Kramer VJ, Snyder EM, Snyder SA, Render JA, Fitzgerald SD and Giesy JP (1999) Effects of waterborne exposure to 4-nonylphenol and nonylphenol ethoxylate on secondary sex characteristics and gonads of fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Environmental Research*, 80 (2), Part 2, S122-S137.
- Zhang X, Zha J and Wang Z (2008) Influences of 4-nonylphenol on doublesex- and mab-3-related transcription factor 1 gene expression and vitellogenin mRNA induction of adult rare minnow (*Gobiocypris rarus*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27 (1), 196-205.
- Wu T, Wang H, Qin F, Liu S, Li M, Xu P and Wang Z (2012) Expression of zona pellucida B proteins in juvenile rare minnow (*Gobiocypris rarus*) exposed to 17 $\alpha$ -ethinylestradiol, 4-nonylphenol and bisphenol A. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 155 (2), 259-268.
- Zha J, Sun L, Spear PA and Wang Z (2008) Comparison of ethinylestradiol and nonylphenol effects on reproduction of Chinese rare minnows (*Gobiocypris rarus*) *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71 (2), 390-399.
- Kortner TM, Mortensen AS, Hansen MD and Arukwe A (2009) Neural aromatase transcript and protein levels in Atlantic salmon (*Salmo salar*) are modulated by the ubiquitous water pollutant, 4-nonylphenol. *General and Comparative Endocrinology*, 164 (1), 91-99.
- Meucci V and Arukwe A (2006) Transcriptional modulation of brain and hepatic estrogen receptor and P450arom isotypes in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) after waterborne exposure to the xenoestrogen, 4-nonylphenol, *Aquatic Toxicology*, 77 (2), 167-177.

- Meucci V and Arukwe A (2006) The xenoestrogen 4-nonylphenol modulates hepatic gene expression of pregnane X receptor, aryl hydrocarbon receptor, CYP3A and CYP1A1 in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 142 (1-2), 142-150.
- Arukwe A (2005) Modulation of brain steroidogenesis by affecting transcriptional changes of steroidogenic acute regulatory (StAR) protein and cholesterol side chain cleavage (P450scc) in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) is a novel aspect of nonylphenol toxicity. *Environmental Science and Technology*, 39 (24), 9791–9798.
- Meucci V and Arukwe A (2005) Detection of vitellogenin and zona radiata protein expressions in surface mucus of immature juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) exposed to waterborne nonylphenol. *Aquatic Toxicology*, 73 (1), 1-10.
- Knoebli I, Hemmer MJ and Denslow ND (2004) Induction of zona radiata and vitellogenin genes in estradiol and nonylphenol exposed male sheepshead minnows (*Cyprinodon variegatus*). *Marine Environmental Research*, 58 (2-5), 547-551.
- Hemmer MJ, Hemmer BL, Bowman CJ, Kroll KJ, Folmar LC, Marcovich D, Hoglund MD and Denslow ND (2001) Effects of *p*-nonylphenol, methoxychlor, and endosulfan on vitellogenin induction and expression in sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20 (2), 336-343.
- Hemmer MJ, Bowman CJ, Hemmer BL, Friedman SD, Marcovich D, Kroll KJ and Denslow ND (2002) Vitellogenin mRNA regulation and plasma clearance in male sheepshead minnows, (*Cyprinodon variegatus*) after cessation of exposure to 17beta-estradiol and *p*-nonylphenol, *Aquatic Toxicology*, 58 (1-2), 99-112.
- Lerner DT, Bjornsson BT and McCormick SD (2007) Larval exposure to 4-nonylphenol and 17beta-estradiol affects physiological and behavioral development of seawater adaptation in Atlantic salmon smolts. *Environmental Science and Technology*, 41 (12), 4479-4485.
- Lerner DT, Bjornsson BT and McCormick SD (2007) Aqueous exposure to 4-nonylphenol and 17beta-estradiol increases stress sensitivity and disrupts ion regulatory ability of juvenile Atlantic salmon. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26 (7), 1433-1440.

- Yokota H, Seki M, Maeda M, Oshima Y, Tadokoro H, Honjo T and Kobayashi K (2001) Life-cycle toxicity of 4-nonylphenol to medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20 (11), 2552-2560.
- Huang W, Zhang Y, Jia X, Ma X, Li S, Liu Y, Zhu P, Lu D, Zhao H, Luo W, Yi S, Liu X and Lin H (2010) Distinct expression of three estrogen receptors in response to bisphenol A and nonylphenol in male Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 36 (2), 237-249.
- Arukwe A and Roe K (2008) Molecular and cellular detection of expression of vitellogenin and zona radiata protein in liver and skin of juvenile salmon (*Salmo salar*) exposed to nonylphenol. *Cell and Tissue Research*, 331, (3), 701-712.
- Zha J, Wang Z, Wang N and Ingersoll C (2007) Histological alternation and vitellogenin induction in adult rare minnow (*Gobiocypris rarus*) after exposure to ethynylestradiol and nonylphenol. *Chemosphere*, 66 (3), 488-495.
- Ishibashi H, Hirano M, Matsumura N, Watanabe N, Takao Y and Arizono K (2006) Reproductive effects and bioconcentration of 4-nonylphenol in medaka fish (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*, 65 (6), 1019-1026.
- Li MH and Wang ZR (2005) Effect of nonylphenol on plasma vitellogenin of male adult guppies (*Poecilia reticulata*). *Environmental Toxicology*, 20 (1), 53-59.
- Weber LP, Hill RL, Jr and Janz DM (2003) Developmental estrogenic exposure in zebrafish (*Danio rerio*): II. Histological evaluation of gametogenesis and organ toxicity. *Aquatic Toxicology*, 63 (4), 431-446.
- Seki M, Yokota H, Maeda M, Tadokoro H and Kobayashi K (2003) Effects of 4-nonylphenol and 4-tert-octylphenol on sex differentiation and vitellogenin induction in medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22 (7), 1507-1516.
- Shelley LK, Ross PS, Miller KM, Kaukinen KH and Kennedy CJ (2012) Toxicity of atrazine and nonylphenol in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on general health, disease susceptibility and gene expression. *Aquatic Toxicology*, 124-125, 217-226.

Foran CM, Bennett ER, Benson and WH (2000) Exposure to environmentally relevant concentrations of different nonylphenol formulations in Japanese medaka. *Marine Environmental Research*, 50 (1-5), 135-139.

Ruggeri B, Ubaldi M, Lourdasamy A, Soverchia L, Ciccocioppo R, Hardiman G, Baker ME, Palermo F and Polzonetti-Magni AM (2008) Variation of the genetic expression pattern after exposure to estradiol-17beta and 4-nonylphenol in male zebrafish (*Danio rerio*). *General and Comparative Endocrinology*, 158 (1), 138-144.

Willey JB and Krone PH (2001) Effects of endosulfan and nonylphenol on the primordial germ cell population in pre-larval zebrafish embryos. *Aquatic Toxicology*, 54 (1-2), 113-123.

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: an International Journal of Environmental Physiology and Toxicology*, 11 (2), 99-121.

Kang IJ, Yokota H, Oshima Y, Tsuruda Y, Hano T, Maeda M, Imada N, Tadokoro H and Honjo T (2003) Effects of 4-nonylphenol on reproduction of Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22 (10), 2438-2445.

Jin Y, Shu L, Sun L, Liu W and Fu Z (2010) Temperature and photoperiod affect the endocrine disruption effects of ethinylestradiol, nonylphenol and their binary mixture in zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 151 (2), 258-263.

Cionna C, Maradonna F, Olivotto I, Pizzonia G and Carnevali O (2006) Effects of nonylphenol on juveniles and adults in the grey mullet, *Liza aurata*. *Reproductive Toxicology*, 22 (3), 449-454.

Larsen BK, Bjornstad A, Sundt RC, Taban IC, Pampanin DM and Andersen OK (2006) Comparison of protein expression in plasma from nonylphenol and bisphenol A-exposed Atlantic cod (*Gadus morhua*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) by use of SELDI-TOF. *Aquatic Toxicology*, 78 (Supplement 1), S25-S33.

Hill RL Jr and Janz DM (2003) Developmental estrogenic exposure in zebrafish (*Danio rerio*): I. Effects on sex ratio and breeding success. *Aquatic Toxicology*, 63 (4), 417-429.

- Bhattacharya H, Xiao Q and Lun L (2008) Toxicity studies of nonylphenol on rosy barb (*Puntius conchionius*): a biochemical and histopathological evaluation. *Tissue Cell*, 40 (4), 243-249.
- El-Sayed Ali T, Abdel-Aziz SH, El-Sayed AF and Zeid S (2014) Structural and functional effects of early exposure to 4-nonylphenol on gonadal development of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): a-histological alterations in ovaries. *Fish Physiology and Biochemistry*, 40 (5), 1509-1519.
- Li Z, Zhang H, Gibson M and Liu P (2012) An evaluation of the combined effects of phenolic endocrine disruptors on vitellogenin induction in goldfish *Carassius auratus*. *Ecotoxicology*, 21 (7), 1919-1927.
- Sayed Ael D, Mahmoud UM and Mekkawy IA (2012) Reproductive biomarkers to identify endocrine disruption in *Clarias gariepinus* exposed to 4-nonylphenol. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 78, 310-319.
- Jin Y, Shu L, Huang F, Cao L, Sun L and Fu Z (2011) Environmental cues influence EDC-mediated endocrine disruption effects in different developmental stages of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic Toxicology*, 101 (1), 254-260.
- Jin Y, Chen R, Sun L, Qian H, Liu W and Fu Z (2009) Induction of estrogen-responsive gene transcription in the embryo, larval, juvenile and adult life stages of zebrafish as biomarkers of short-term exposure to endocrine disrupting chemicals. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 150 (3), 414-420.
- Yang FX, Xu Y and Hui Y (2006) Reproductive effects of prenatal exposure to nonylphenol on zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 142 (1-2), 77-84.
- Lee C, Na JG, Lee KC and Park K (2002) Choriogenin mRNA induction in male medaka, *Oryzias latipes* as a biomarker of endocrine disruption. *Aquatic Toxicology*, 61 (3-4), 233-241.
- Gray MA and Metcalfe CD (1997) Induction of testis-ova in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to *p*-nonylphenol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16 (5), 1082-1086.
- Kinnberg K, Korsgaard B, Bjerregaard P and Jespersen A (2000) Effects of nonylphenol and 17beta-estradiol on vitellogenin synthesis and testis morphology in male platyfish *Xiphophorus maculatus*. *Journal of Experimental Biology*, 203 (part 2), 171-181.

- Chen X, Li VW, Yu RM and Cheng SH (2008) Choriogenin mRNA as a sensitive molecular biomarker for estrogenic chemicals in developing brackish medaka (*Oryzias melastigma*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71 (1), 200-208.
- Cardinali M, Maradonna F, Olivotto I, Bortoluzzi G, Mosconi G, Polzonetti-Magni AM and Carnevali O (2004) Temporary impairment of reproduction in freshwater teleost exposed to nonylphenol. *Reproductive Toxicology*, 18 (4), 597-604.
- van den Belt K, Verheyen R and Witters H (2003) Comparison of vitellogenin responses in zebrafish and rainbow trout following exposure to environmental estrogens. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56 (2), 271-281.
- Weber LP, Kiparissis Y, Hwang GS, Niimi AJ, Janz DM and Metcalfe CD (2002) Increased cellular apoptosis after chronic aqueous exposure to nonylphenol and quercetin in adult medaka (*Oryzias latipes*). *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 131 (1), 51-59.
- Li MH (2008) Effects of nonylphenol on cholinesterase and carboxylesterase activities in male guppies (*Poecilia reticulata*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71 (3), 781-786.
- Tanaka JN and Grizzle JM (2002) Effects of nonylphenol on the gonadal differentiation of the hermaphroditic fish, *Rivulus marmoratus*. *Aquatic Toxicology*, 57 (3), 117-125.
- Palermo FA, Cocci P, Angeletti M, Polzonetti-Magni A and Mosconi G (2012) PCR-ELISA detection of estrogen receptor beta mRNA expression and plasma vitellogenin induction in juvenile sole (*Solea solea*) exposed to waterborne 4-nonylphenol. *Chemosphere*, 86 (9), 919-925.
- Chandrasekar G, Archer A, Gustafsson JA and Andersson Lendahl M (2010) Levels of 17beta-estradiol receptors expressed in embryonic and adult zebrafish following *in vivo* treatment of natural or synthetic ligands. *PLoS One*, 5 (3), e9678
- Soverchia L, Ruggeri B, Palermo F, Mosconi G, Cardinaletti G, Scortichini G, Gatti G and Polzonetti-Magni AM (2005) Modulation of vitellogenin synthesis through estrogen receptor beta-1 in goldfish (*Carassius auratus*) juveniles exposed to 17-beta estradiol and nonylphenol. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 209 (3), 236-243.

- van den Belt K, Berckmans P, Vangenechten C, Verheyen R and Witters H (2004) Comparative study on the *in vitro/in vivo* estrogenic potencies of 17beta-estradiol, estrone, 17alpha-ethynylestradiol and nonylphenol. *Aquatic Toxicology*, 66 (2), 183-195.
- Senthil Kumaran S, Kavitha C, Ramesh M and Grummt T (2011) Toxicity studies of nonylphenol and octylphenol: hormonal, hematological and biochemical effects in *Clarias gariepinus*. *Journal of Applied Toxicology*, 31 (8), 752-761.
- Kirby MF, Smith AJ, Rooke J, Neall P, Scott AP and Katsiadaki I (2007) Ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD) and vitellogenin (VTG) in flounder (*Platichthys flesus*): system interaction, crosstalk and implications for monitoring . *Aquatic Toxicology*, 81 (3), 233-244.
- Yamaguchi A, Ishibashi H, Kohra S, Arizono K and Tominaga N (2005) Short-term effects of endocrine-disrupting chemicals on the expression of estrogen-responsive genes in male medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic Toxicology*, 72 (3), 239-249.
- Raldua D and Babin PJ (2009) Simple, rapid zebrafish larva bioassay for assessing the potential of chemical pollutants and drugs to disrupt thyroid gland function. *Environmental Science and Technology*, 43 (17), 6844-6850.
- Duffy TA, Iwanowicz LR and McCormick SD (2014) Comparative responses to endocrine disrupting compounds in early life stages of Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquatic Toxicology*, 152, 1-10.
- Hallgren S and Olsen KH (2010) Effects on guppy brain aromatase activity following short-term steroid and 4-nonylphenol exposures. *Environmental Toxicology*, 25 (3), 261-271.
- Kobayashi K, Tamotsu S, Yasuda K and Oishi T (2005) Vitellogenin-immunohistochemistry in the liver and the testis of the medaka, *Oryzias latipes*, exposed to 17beta-estradiol and p-nonylphenol. *Zoological Science*, 22 (4), 453-461.
- Villeneuve DL, Villalobos SA, Keith TL, Snyder EM, Fitzgerald SD and Giesy JP (2002) Effects of waterborne exposure to 4-nonylphenol on plasma sex steroid and vitellogenin concentrations in sexually mature male carp (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere*, 47 (1), 15-28.
- Shioda T and Wakabayashi M (2000) Effect of certain chemicals on the reproduction of medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*, 40, (3), 239-243.



- Yang FX, Xu Y and Wen S (2005) Endocrine-disrupting effects of nonylphenol, bisphenol A, and *p,p'*-DDE on *Rana nigromaculata* tadpoles. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75 (6), 1168-1175.
- Park CJ, Kang HS and Gye MC (2010) Effects of nonylphenol on early embryonic development, pigmentation and 3,5,3'-triiodothyronine-induced metamorphosis in *Bombina orientalis* (*Amphibia: Anura*). *Chemosphere*, 81 (10), 1292-1300.
- Kloas W, Lutz I and Einspanier R (1999) Amphibians as a model to study endocrine disruptors: II. Estrogenic activity of environmental chemicals *in vitro* and *in vivo*. *Science of the Total Environment*, 225 (1-2), 59-68.
- Fort DJ and Stover EL (1997) Development of short-term, whole-embryo assays to evaluate detrimental effects on amphibian limb development and metamorphosis using *Xenopus laevis*. *Environmental Toxicology and Risk Assessment: Modeling and Risk Assessment*, 6, 376-390.
- Selcer KW and Verbanic JD (2014) Vitellogenin of the northern leopard frog (*Rana pipiens*): Development of an ELISA assay and evaluation of induction after immersion in xenobiotic estrogens. *Chemosphere*, 112, 348-354.
- Matsumura N, Ishibashi H, Hirano M, Nagao Y, Watanabe N, Shiratsuchi H, Kai T, Nishimura T, Kashiwagi A and Arizono K (2005) Effects of nonylphenol and triclosan on production of plasma vitellogenin and testosterone in male South African clawed frogs (*Xenopus laevis*). *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28 (9), 1748-1751.
- Nice HE (2005) Sperm motility in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) is affected by nonylphenol. *Marine Pollution Bulletin*, 50 (12), 1668-1674.
- Marin MG, Rigato S, Ricciardi F and Matozzo V (2008) Lethal and estrogenic effects of 4-nonylphenol in the cockle *Cerastoderma glaucum*. *Marine Pollution Bulletin*, 57 (6-12), 552-558.
- Ricciardi F, Matozzo V and Marin MG (2008) Effects of 4-nonylphenol exposure in mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and crabs (*Carcinus aestuarii*) with particular emphasis on vitellogenin induction. *Marine Pollution Bulletin*, 57 (6-12), 365-372.

- Matozzo V and Marin MG (2005) Can 4-nonylphenol induce vitellogenin-like proteins in the clam *Tapes philippinarum*? *Environmental Research*, 97 (1), 43-49.
- Czech P, Weber K and Dietrich DR (2001) Effects of endocrine modulating substances on reproduction in the hermaphroditic snail *Lymnaea stagnalis* L. *Aquatic Toxicology*, 53 (2), 103-114.
- Sohoni P and Sumpter JP (1998) Several environmental oestrogens are also anti-androgens. *Journal of Endocrinology*, 158 (3), 327-339.
- Preuss TG, Gurer-Orhan H, Meerman J and Ratte HT (2010) Some nonylphenol isomers show antiestrogenic potency in the MVLN cell assay. *Toxicology in Vitro*, 24 (1), 129-134.
- 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.
- Xu LC, Sun H, Chen JF, Bian Q, Qian J, Song L and Wang XR (2005) Evaluation of androgen receptor transcriptional activities of bisphenol A, octylphenol and nonylphenol *in vitro*. *Toxicology*, 216 (2-3), 197-203.
- Lee HJ, Chattopadhyay S, Gong EY, Ahn RS and Lee K (2003) Antiandrogenic effects of bisphenol A and nonylphenol on the function of androgen receptor. *Toxicological Sciences*, 75 (1), 40-46.
- Fang H, Tong W, Branham WS, Moland CL, Dial SL, Hong H, Xie Q, Perkins R, Owens W and Sheehan DM (2003) Study of 202 natural, synthetic, and environmental chemicals for binding to the androgen receptor. *Chemical Research in Toxicology*, 16 (10), 1338-1358.
- Ishihara A, Nishiyama N, Sugiyama S and Yamauchi K (2003) The effect of endocrine disrupting chemicals on thyroid hormone binding to Japanese quail transthyretin and thyroid hormone receptor. *General and Comparative Endocrinology*, 134 (1), 36-43.
- Ying F, Ding C, Ge R, Wang X, Li F, Zhang Y, Zeng Q, Yu B, Ji R and Han X (2012) Comparative evaluation of nonylphenol isomers on steroidogenesis of rat Leydig Cells. *Toxicology in Vitro*, 26 (7), 1114-1121.
- Wu JJ, Wang KL, Wang SW, Hwang GS, Mao IF, Chen ML and Wang PS (2010) Differential effects of nonylphenol on testosterone secretion in rat Leydig cells. *Toxicology*, 268 (1-2), 1-7.

- Chang LL, Wun WS and Wang PS (2012) Effects of nonylphenol on aldosterone release from rat zona glomerulosa cells. *Chemico-Biological Interactions*, 195 (1), 11-17.
- Kortner TM and Arukwe A (2007) The xenoestrogen, 4-nonylphenol, impaired steroidogenesis in previtellogenic oocyte culture of Atlantic cod (*Gadus morhua*) by targeting the StAR protein and P450scc expressions. *General and Comparative Endocrinology*, 150 (3), 419-429.
- Matsunaga H, Mizota K, Uchida H, Uchida T and Ueda H (2010) Endocrine disrupting chemicals bind to a novel receptor, microtubule-associated protein 2, and positively and negatively regulate dendritic outgrowth in hippocampal neurons. *Journal of Neurochemistry*, 114 (5), 1333-1343.
- Bevan CL, Porter DM, Schumann CR, Bryleva EY, Hendershot TJ, Liu H, Howard MJ and Henderson LP (2006) The endocrine-disrupting compound, nonylphenol, inhibits neurotrophin-dependent neurite outgrowth. *Endocrinology*, 147 (9), 4192-4204.
- Iwata M, Eshima Y, Kagechika H and Miyaura H (2004) The endocrine disruptors nonylphenol and octylphenol exert direct effects on T cells to suppress Th1 development and enhance Th2 development. *Immunology Letters*, 94 (1-2), 135-139.
- Liu PS, Liu GH and Chao WL (2008) Effects of nonylphenol on the calcium signal and catecholamine secretion coupled with nicotinic acetylcholine receptors in bovine adrenal chromaffin cells. *Toxicology*, 244 (1), 77-85.
- Nakajin S, Shinoda S, Ohno S, Nakazawa H and Makino T (2001) Effect of phthalate esters and alkylphenols on steroidogenesis in human adrenocortical H295R cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10 (3), 103-110.
- Masuno H, Okamoto S, Iwanami J, Honda K, Shiosaka T, Kidani T, Sakayama K and Yamamoto H (2003) Effect of 4-nonylphenol on cell proliferation and adipocyte formation in cultures of fully differentiated 3T3-L1 cells. *Toxicological Sciences*, 75 (2), 314-320.

(別紙)

4-ノニルフェノール(分岐型)に該当すると思われる試薬一覧  
主要試薬会社のインターネットカタログ(2015/2/24 現在)において  
#84852-15-3 とされているノニルフェノール類

試薬会社	試薬名	備考
関東化学	4-Nonylphenol (環境分析用)	<i>p</i> -Nonylphenol は直鎖型 CAS# 104-40-5 とされている
東京化成	4-Nonylphenol (mixture of branched chain isomers)	Nonylphenol 試薬はこれのみと思われる
ナカライテスク	4-Nonylphenol (mixture of branched chain isomers)	
和光純薬	Nonylphenol (mixture of isomers)	
Acros Organics	4-Nonylphenol (99%, mixture of isomers)	Nonylphenol 試薬はこれのみと思われる
Fluka	Nonylphenol (PESTANAL®, technical mixture)	4-Nonylphenol は CAS# 104-40-5 とされている
Schenectady International	<i>p</i> -Nonylphenol (high grade) 又は <i>p</i> -Nonylphenol (technical grade)	Nonylphenol 試薬はこれのみと思われる
Sigma-Aldrich	Nonylphenol (technical grade, mixture of ring and chain isomers)	4-Nonylphenol は直鎖型 CAS# 104-40-5 とされている

- ・純度や組成比については詳細に公表されていない場合が多い。諸文献における記載から 4-Nonylphenol (*p*-Nonylphenol) / 2-Nonylphenol (*o*-Nonylphenol) = 9 / 1 程度の混合物であり、しかも試薬会社によっては、Nonylphenol 以外の不純物も最大 10%程度含有していることもうかがえる。
- ・試薬会社によっては、紛らわしい試薬名で直鎖型 CAS# 104-40-5 も取り扱っている場合があるので注意を要する。
- ・Sigma-Aldrich が入手先で、4-Nonylphenol と記載されている場合、しかも、高純度が記載されている場合は、直鎖体である可能性が高い。
- ・Sigma-Aldrich が入手先で、記載全般に Nonylphenol と「4」抜きで記載されている場合は、むしろ #84852-15-3 である可能性が高い。
- ・東京化成、Acros Organics、Schenectady International が入手先の場合、#84852-15-3 である可能性が高い。

ノニルフェノール(Nonylphenol:以下、NP と略記)の異性体について

名称	CAS Number*	略号	備考
NP 4-NP(mixture of isomers) NP(technical mixture)	25154-52-3	NP	多種類のNP異性体の混合物 工業製品 不純物として、オクチルフェノール、デシルフェノール等を含む
<i>ortho</i> -NP <i>O</i> -NP 2-NP	136-83-4	2- <i>n</i> -NP	単一製品としては製造されていない
Normal-NP Linear-NP <i>n</i> -NP(mixed isomers)	104-40-5	4- <i>n</i> -NP	4- <i>n</i> -NP と 2- <i>n</i> -NP の混合物
4-NP(mixture of branched chain isomers) NP 4-NP, tech 4-NP, (99%, )mixture of isomers 4-NP, verzweit 13, 259 4-NP(mixture)	84852-15-3	4-NP(branched)	4-NP 異性体(分岐型)(>90%)の混合物で2-NP(分岐型)(<4%)を不純物として含むことがある

\*CAS Number:American Chemical Society に登録された化学物質固有の番号

## ・4-tert-オクチルフェノール

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

4-tert-オクチルフェノール(該当する物質名に下線を付した。)の内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響(魚類)、生態影響(両生類)、生態影響(甲殻類)、生態影響(軟体動物等)、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用、ステロイド産生への影響、免疫系への影響、副腎皮質細胞への影響及び線維芽細胞への影響の有無に関する報告がある。なお、健康影響、試験管内試験(エストロゲン作用を対象としたことが明確に判断された報告)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、4-オクチルフェノールとの記載では、4-tert-オクチルフェノールと4-n-オクチルフェノールとの区別がつかない。

なお、本物質の主な用途は、油溶性フェノール樹脂、界面活性剤の原料である。

本物質は、平成24年度化学物質環境実態調査の水質調査において検出されている。

### (1)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

HuangとWang(2001)によって4-tert-オクチルフェノール4、16、40、64、256 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に42日間ばく露した幼若雄コイ(*Cyprinus carpio*)への影響が検討されている。その結果として、4 $\mu$ g/L以上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、被験物質の純度及び試験方法(ばく露方法、注射手法)の詳細な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、血漿中ビテロゲン濃度の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

Sekiら(2003)によって4-tert-オクチルフェノール6.94 $\pm$ 13.0、11.4 $\pm$ 11.7、23.7 $\pm$ 6.5、48.1 $\pm$ 6.6、94.0 $\pm$ 6.0 $\mu$ g/Lの濃度(測定濃度)に孵化12時間未満齢から60日間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、11.4 $\mu$ g/L以上のばく露区で雄肝臓中ビテロゲン濃度の高値、間性の出現、23.7 $\mu$ g/Lのばく露区で累積死亡率、体長、体重の高値、48.1 $\mu$ g/Lのばく露区で雄性比(第二次性徴及び組織学的検査による)の低値、雌肝臓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、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、雄肝臓中ビテロゲン濃度の高値、間性の出現が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

Liら(2012)によって 4-tert-オクチルフェノール 5、15、50、150、500 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に15日間ばく露した幼若キングヨ(*Carassius auratus*)への影響が検討されている。その結果として、15 $\mu$ g/L以上のばく露区で雄血漿中ピ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、雄血漿中ピテロゲン濃度の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

Gronenら(1999)によって 4-tert-オクチルフェノール 20.0 $\pm$ 12.6、40.7 $\pm$ 10.0、73.9 $\pm$ 17.0、229.5 $\pm$ 8.5 $\mu$ g/Lの濃度(測定濃度)に約6ヶ月齢から21日間ばく露した雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、20.0 $\mu$ g/L以上のばく露区で日毎産卵数の低値、胚発達異常発生数の高値が認められた。また、受精率、胚生存率に濃度依存的な低値傾向、血漿中ピテロゲン濃度に濃度依存的な高値傾向が認められた。

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、血漿中ピテロゲン濃度に濃度依存的な高値傾向が認められたが認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

van den Beltら(2003)によって 4-tert-オクチルフェノール 12.5、25、30、50、100 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に3週間ばく露した幼若ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響が検討されている。その結果として、30 $\mu$ g/Lのばく露区で血漿中ピテロゲン濃度の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 20、100、500 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に3週間ばく露した成熟雄ゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響が検討されているが、血漿中ピテロゲン濃度には影響が認められなかった。

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、試験動物の入手先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、血漿中ピテロゲン濃度の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

Nozaka ら(2004)によって 4-tert-オクチルフェノール 12.7±0.6、27.8±0.8、64.1±7.7、129±4.6、296±16.5µg/L の濃度(測定濃度)に約3ヶ月齢から21日間ばく露した雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、64.1µg/L以上のばく露区で肝臓中ピテロゲニン濃度の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 12.7±0.6、27.8±0.8、64.1±7.7、129±4.6、296±16.5µg/Lの濃度(測定濃度)に約3ヶ月齢から21日間ばく露した雌メダカ(*O. latipes*)への影響が検討されている。その結果として、296µg/Lのばく露区で肝臓中ピテロゲ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、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、肝臓中ピテロゲニン濃度の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

#### 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

Gray ら(1999)によって 4-tert-オクチルフェノール 10、25、50、100µg/L の濃度(設定濃度)に1日齢から6ヶ月間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、10、50、100µg/Lのばく露区でばく露雄と非ばく露雌による産卵の受精率の低値、10、25、100µg/Lのばく露区でばく露雌雄による産卵の受精率の低値、25µg/L以上のばく露区で旋回遊泳行動回数、繁殖成功率(相対受精卵数)の低値、50µg/L以上のばく露区で接近行動回数、交尾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、試験方法(飼育条件等)の詳細な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、受精率、旋回遊泳行動回数、繁殖成功率、接近行動回数、交尾行動回数の低値が認められたが、一般的な毒性と区別がつかないことから、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。

想定されるメカニズム：一般的な毒性と区別がつかない

#### 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

Scholz と Gutzeit (2001)によって 4-tert-オクチルフェノール 10、100µg/L の濃度(設定濃度)に孵化直後から2ヶ月間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、10µg/Lのばく露区で雌の生殖腺体指数の低値、100µg/Lのばく露区で雄精巢中アロマトーゼ mRNA の発現が認められた。



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、試験方法(ばく露方法等)の詳細な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、生殖腺体指数の低値、1雄精巢中アロマターゼ mRNA の発現が認められたが、濃度依存性がなく、内分泌かく乱作用との関連性は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。

#### 参考 生態影響(魚類)(今回評価対象としなかった文献)

Ashfield ら(1998)によって 4-tert-オクチルフェノール 1、10、50 $\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に0日齢から22日間ばく露した XX 型雌ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響(ばく露後、更に非ばく露で最長 86 日間飼育)が検討されている。その結果として、1 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で体重(108 日齢)の低値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 1、10、30 $\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に0日齢から35日間ばく露した XX 型雌ニジマス(*O. mykiss*)への影響(ばく露後、更に非ばく露で最長 431 日間飼育)が検討されている。その結果として、1 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で体重(300、466 日齢)の低値、10 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で体重(150 日齢)、体長(150 日齢)の低値が認められた。なお、生殖腺体指数(466 日齢)には影響が認められなかった。

Knorr と Braunbeck (2002)によって 4-オクチルフェノール(Sigma-Aldrich、CAS#記載なし) 2、20、50 $\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に受精 2 ~ 4 時間後(2 及び 4 割球期)から孵化 7 日後までばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、2 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で累積死亡率の高値が認められた。

また、4-オクチルフェノール(Sigma-Aldrich、CAS#記載なし) 2、20、50 $\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に孵化 7 日後(上記孵化稚魚)から 14 週齢までばく露したメダカ(*O. latipes*)への影響(12 ~ 13 週間齢にて 3 日間連続生殖試験)が検討されている。その結果として、2 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で雄性比の低値、精巢卵の出現、50 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で雄及び雌体重、雄及び雌体長の低値が認められた。なお、受精率、日毎産卵数には影響は認められなかった。

Rasmussen ら(2005)によって 4-tert-オクチルフェノール 9 $\pm$ 0.5、35 $\pm$ 1.4、63 $\pm$ 3.0 $\mu\text{g/L}$  の濃度(測定濃度)に 3 週間(精子産生期に相当する春季)ばく露したゲンゲ科の一種(*Zoarces viviparus*)成熟雄への影響が検討されている。その結果として、9 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で精巢中  $\gamma$ -グルタミルトランスぺプチダーゼ活性の低値、組織病理学的検査における精巢影響の重篤度の高値、35 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で生殖腺体指数の低値、血漿中ビテロゲニン濃度の高値、65 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で肝臓体指数、精巢中蛋白質濃度の高値認められた。

Andreassen ら(2005)によって 4-tert-オクチルフェノール 25 $\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に 168 時間ばく露したゲンゲ科の一種(*Zoarces viviparus*)雄への影響が検討されている。その結果として、血漿中ビテロゲニン濃度、肝臓中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、肝臓中ビテロゲニン受容体発現量の高値が認められた。

van den Belt ら(2001)によって 4-tert-オクチルフェノール 12.5、25、50、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に3週間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(ばく露期間最後の5日間は雌雄隔離し雌に自然産卵)が検討されている。その結果として、25 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で非産卵雌生殖腺体指数の低値が認められた。なお、雄及び雌の累積死亡率、雄及び雌の血漿中ビテロゲン濃度、雌産卵率、雄受精率には影響が認められなかった。

Robinson ら(2004)によって 4-tert-オクチルフェノール 4 $\pm$ 5、3 $\pm$ 2、20 $\pm$ 5、31 $\pm$ 6、101 $\pm$ 47 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に28日間ばく露したハゼ科の一種サンドゴビー(*Pomatoschistus minutus*)未成熟雌雄への影響が検討されている。その結果として、31 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄肝臓中ビテロゲン濃度の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 7、28、119 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度中央値)に最長6ヶ月間ばく露したハゼ科の一種サンドゴビー(*P. minutus*)未成熟雌雄への影響が検討されている。その結果として、28 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で累積死亡率の高値、28 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄肝臓中ビテロゲン mRNA 相対発現量(ばく露開始から46、80、159日後)、雌肝臓中ビテロゲン mRNA 相対発現量(ばく露開始から24、80、159日後)、雄精管腺(sperm duct gland)体指数(ばく露開始から46、80日後)、雄婚姻色スコア(ばく露開始から80、137日後)の低値が認められた。

Segner ら(2003)によって 4-tert-オクチルフェノール 1.2、3.7、11.9、38 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に受精卵から75日齢までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(75~78日齢で交配試験)が検討されている。その結果として、 $\text{EC}_{50}$ 値 0.136 $\mu\text{M}$ (=28.0 $\mu\text{g/L}$ )の濃度で受精率の低値が認められた。

Toft と Baatrup (2003)によって 4-tert-オクチルフェノール 1、10、100、200 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に約6日齢から90日間ばく露したグッピー(*Poecilia reticulata*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌生殖腺体指数の低値、雄性行動試験における posturing 行動頻度、雄交尾びれ長、雄精巢中精子数の高値、200 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄婚姻色係数の低値、雄体長の高値が認められた。

Toft と Baatrup (2001)によって 4-tert-オクチルフェノール 100、300、900 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に30日間ばく露した成熟雄グッピー(*Poecilia reticulata*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で生殖腺体指数の低値、100、300 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で放出精子数の高値、300 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で体色係数(オレンジ斑点模様が体表に占める面積率)の低値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 100、300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に60日間ばく露した成熟雄グッピー(*P. reticulata*)への影響が検討されている。その結果として、300 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で体色係数(オレンジ斑点模様が体表に占める面積率)の低値、放出精子数の高値が認められた。

Bayley ら(1999)によって 4-tert-オクチルフェノール 150 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に4週間ばく露した成熟雄グッピー(*Poecilia reticulata*)への影響(ばく露後、更に非ばく露で10日間飼育)が検討されている。その結果として、性行動(sigmoid displays)持続時間の低値が認められた。

Senthil Kumaran ら(2011)によって 4-tert-オクチルフェノール 250、500、750、1,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に7日間ばく露したヒレナマズ科の一種アフリカンクララ(*Clarias gariepinus*)成熟個

体への影響が検討されている。その結果として、250 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で血漿中コルチゾール濃度の高値が認められた。

Rheeら(2009)によって 4-tert-オクチルフェノール 300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に受精2日後から24時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)への影響が検討されている。その結果として、全身中コリオゲニン H mRNA 相対発現量、全身中コリオゲニン L mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に96時間ばく露したカダヤシ目の一種(*K. marmoratus*)成熟雌雄同体個体への影響が検討されている。その結果として、肝臓中コリオゲニン H mRNA 相対発現量、肝臓中コリオゲニン L mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に96時間ばく露したカダヤシ目の一種(*K. marmoratus*)成熟二次雄への影響が検討されている。その結果として、肝臓中コリオゲニン H mRNA 相対発現量、肝臓中コリオゲニン L mRNA 相対発現量の高値が認められた。

②① Yuら(2008)によって 4-tert-オクチルフェノール 300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に24時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)成熟雌雄同体個体への影響が検討されている。その結果として、精巣中グルタチオン S-トランスフェラーゼ-Mu mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に24時間ばく露したカダヤシ目の一種(*K. marmoratus*)成熟二次雄への影響が検討されている。その結果として、精巣中グルタチオン S-トランスフェラーゼ-Mu mRNA 相対発現量の高値が認められた。

②② Rheeら(2008)によって 4-tert-オクチルフェノール 300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に96時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)成熟雌雄同体個体への影響が検討されている。その結果として、性腺刺激ホルモン放出ホルモン受容体 mRNA 相対発現量(脳下垂体、精巣及び腸管中)の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に96時間ばく露したカダヤシ目の一種(*K. marmoratus*)成熟二次雄への影響が検討されている。その結果として、性腺刺激ホルモン放出ホルモン受容体 mRNA 相対発現量(脳下垂体、精巣、腸管及び肝臓中)の高値が認められた。

②③ Leeら(2006)によって 4-tert-オクチルフェノール 300 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に96時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)成熟雌雄同体個体への影響が検討されている。その結果として、脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量、肝臓中ピテロゲニン mRNA 相対発現量の高値が認められた。

②④ GrayとMetcalf(1999)によって 4-tert-オクチルフェノール 50、100、250、500、750、1,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に受精2～3時間後から遊泳開始まで17日間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、500 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で孵化終了までの生存率の低値が認められた。

## (2)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

Mayerら(2003)によって 4-tert-オクチルフェノール 0.001、0.01、0.1 $\mu\text{M}$  (=0.206、2.06、20.6 $\mu\text{g/L}$ )

の濃度(設定濃度)に Gosner stage32 の朝 8:00~ 10:00 から 24 時間ばく露したウシガエル(*Rana catesbeiana*)幼生への影響が検討されている。その結果として、0.001 $\mu$ M(=0.206 $\mu$ g/L)以上のばく露区で性分化が認められた個体率、雄個体率、雌個体率の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 0.001、0.01、0.1 $\mu$ M (=0.206、2.06、20.6 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に Gosner stage33 の朝 8:00~ 10:00 から 24 時間ばく露したウシガエル(*R. catesbeiana*)幼生への影響が検討されている。その結果として、0.001 $\mu$ M(=0.206 $\mu$ g/L)以上のばく露区で性分化が認められた個体率、雄個体率の高値が認められた。

また、4-tert-オクチルフェノール 0.001、0.01、0.1 $\mu$ M (=0.206、2.06、20.6 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に Gosner stage33 の朝 8:00~ 10:00 から 24 時間ばく露したウシガエル(*R. catesbeiana*)幼生への影響が検討されている。その結果として、0.001 $\mu$ M(=0.206 $\mu$ g/L)以上のばく露区で性分化が認められた個体率、雄個体率の高値、0.1 $\mu$ M(=20.6 $\mu$ g/L)のばく露区で雄及び未分化生殖腺中 SF-1 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、性分化が認められた個体率、雄個体率、雌個体率、雄及び未分化生殖腺中 SF-1 発現量の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用

Porter ら(2011)によって 4-tert-オクチルフェノール 1.2 $\pm$ 0.5、3.5 $\pm$ 0.7、10 $\pm$ 2、36 $\pm$ 7 $\mu$ g/L の濃度(測定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 46 から 31 週間(変態が完了する stage 65 から 25 週間後に相当)ばく露したネツタイツメガエル(*Xenopus tropicalis*)への影響が検討されている。その結果として、1.2、36 $\mu$ g/L のばく露区で雄精巣の組織病理学的異常所見発生率(多巣変性生殖細胞壊変)の高値、10 $\mu$ g/L のばく露区で雄精巣中精子濃度、表現型雌性比の高値、36 $\mu$ g/L のばく露区で累積生存率の低値、卵管出現雄の卵管重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、卵管出現雄の卵管重量の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

#### 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

Kbas ら(1999)によって 4-オクチルフェノール(Sigma-Aldrich、CAS#記載なし) 0.01、0.1 $\mu$ M(=2.06、20.6 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 38/40 から 12 週間ばく露したアフリカツメ

ガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、 $0.01\mu\text{M}(=2.06\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区で雄性比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、被験物質の純度及び試験方法(餌の種類等)の詳細な記載がないことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

#### 参考 生態影響(両生類)(今回評価対象としなかった文献)

Crump ら(2002)によって 4-オクチルフェノール(Aldrich、CAS#記載なし)  $0.001\mu\text{M}(=0.206\mu\text{g/L})$  の濃度(設定濃度)に Gosner stage 21 から 10 日間ばく露したヒョウガエル(*Rana pipiens*)への影響が検討されている。その結果として、視床下部中 *BA12* mRNA 相対発現量の低値、間脳中 *NAP4* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

Selcer と Verbanic (2014)によって 4-オクチルフェノール(Chem Service、CAS#記載なし)  $1,000\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に 20 日間ばく露した成熟雄ヒョウガエル(*Rana pipiens*)への影響が検討されているが、血漿中ピテロゲニン濃度には影響が認められなかった。

#### 参考 (3)生態影響(甲殻類)(今回評価対象としなかった文献)

Marcial ら(2003)によって、4-tert-オクチルフェノール 0.01、0.1、1、 $10\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に 24 時間未満齢から 21 日間ばく露したシオダマリミジンコ属の一種(*Tigriopus japonicus*) $F_0$ への影響が検討されている。その結果として、0.1、 $1\mu\text{g/L}$  の濃度でコペポダイト幼生に至るまでの所要日数の遅延、 $1\mu\text{g/L}$  の濃度で総産卵数の高値が認められた。

また更に、4-tert-オクチルフェノール 0.01、0.1、1、 $10\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に誕生(上記  $F_0$  が出産から 21 日間ばく露したシオダマリミジンコ属の一種(*T. japonicus*) $F_1$ への影響が検討されている。その結果として、0.01、0.1、 $1.0\mu\text{g/L}$  の濃度でコペポダイト幼生に至るまでの所要日数の遅延、 $1\mu\text{g/L}$  以上の濃度で卵嚢形成に至るまでの所要日数の遅延が認められた。

Isidori ら(2006)によって 4-tert-オクチルフェノール(公比2倍で7ばく露区設定)に 24 時間未満齢から 7 日間ばく露したニセネコゼミジンコ(*Ceriodaphnia dubia*)への影響が検討されている。その結果として、 $EC_{50}$  値  $10\mu\text{g/L}$  の濃度で総産仔数の低値が認められた。

Zou と Fingerman (1997)によって 4-オクチルフェノール(Sigma、CAS#記載なし) $10$ 、 $20$ 、 $40\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に 1 令幼生(初脱皮 12 時間後)から 4 令幼生に至るまで約 5 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が、4 令幼生に至るまでの所要日数には影響が認められなかった。

#### 参考 (4)生態影響(軟体動物等)(今回評価対象としなかった文献)

Oehlmann ら(2000)によって 4-オクチルフェノール(Merck、CAS#記載なし) 1、5、25、 $100\mu\text{g/L}$

の濃度(設定濃度)に最長5ヶ月間ばく露した成熟アンモナイトスネール(*Marisa cornuarietis*)への影響が検討されている。その結果として、1 µg/L以上のばく露区で累積死亡率の高値、5 µg/L以上のばく露区で累積産卵数、累積産卵容積の高値が認められた。

また、4-オクチルフェノール(Merck、CAS#記載なし)1、100µg/Lの濃度(設定濃度)に孵化後から最長12ヶ月間ばく露したアンモナイトスネール(*M. cornuarietis*)への影響が検討されている。その結果として、1 µg/L以上のばく露区で累積産卵数、累積産卵容積の高値が認められた。

また、4-オクチルフェノール(Merck、CAS#記載なし)1、25、100µg/Lの濃度(設定濃度)に成熟期から最長3ヶ月間ばく露したヨーロッパチヂミボラ(*Nucella lapillus*)への影響が検討されている。その結果として、1 µg/L以上のばく露区で陰茎長、前立腺長の低値、卵管に卵母細胞をもつ雌の個体率、卵殻腺(capsule gland)長、卵管外套腺(pallial gland)重量の高値が認められた。

Joblingら(2004)によって4-tert-オクチルフェノール1、5、25、100µg/Lの濃度(設定濃度)に最長63日間ばく露した成熟コモチカワツボ(*Potamopyrgus antipodarum*)への影響が検討されている。その結果として、525µg/Lのばく露区で胚産生数の高値(21日目)、5、25µg/Lのばく露区で胚産生数の高値(63日目)が認められた。

#### (5) 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

GhisariとBonfeld-Jorgensen(2005)によって、4-オクチルフェノール(Aldrich、CAS#記載なし)0.01、0.1、1、10µM(=2.06、20.6、206、2,060µg/L)の濃度に6日間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞GH3(甲状腺ホルモン応答性)による細胞増殖試験(T-Screen assay)が検討されている。その結果として、1 µM(=206µg/L)の濃度で細胞濃度の高値が認められた(10µMでは細胞毒性が認められた濃度範囲に相当し、低値)。なお、この細胞増殖活性は、エストロゲン受容体アンタゴニストICI 18-2780 1nM共存下で阻害された。

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及び異性体の区別がつかないことから、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、細胞増殖活性が、エストロゲン受容体アンタゴニストICI 18-2780共存下で阻害されたが認められたことから、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。

#### (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

Xuら(2005)によって、4-オクチルフェノール(Sigma、CAS#記載なし)0.1、1、10µM(=20.6、206、2,060µg/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蛋白質発現誘導)が検討されているが、クロラムフェ

ニコールトランスフェラーゼ蛋白質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、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、クロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

#### (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

Xuら(2005)によって、4-オクチルフェノール(Sigma, CAS#記載なし) 0.1、1、10 $\mu$ M(=20.6、206、2,060 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 1nM共存下)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蛋白質発現誘導)が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,060 $\mu$ g/L)の濃度でクロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導に対する阻害が認められた。

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、クロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導に対する阻害が認められたことから、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。

#### (8)抗甲状腺ホルモン作用

##### 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

Ishiharaら(2003)によって、4-tert-オクチルフェノール 8  $\mu$ M(=1,650 $\mu$ g/L)の濃度でニホンウズラ血清由来精製トランスサイレチン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、トリヨードサイロニン 0.1nM に対する結合阻害が認められた。

なお、4-tert-オクチルフェノール 1  $\mu$ M(=206 $\mu$ g/L)の濃度で由来甲状腺ホルモン受容体  $\beta$  リガンド結合ドメインを用いた結合阻害試験が検討されているが、トリヨードサイロニン 0.1nM に対する結合阻害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、試験方法(試験動物の性別、飼育条件)の詳細な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、トリヨードサイロニンに対する結合阻害が認められたことから、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。

#### 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

Ghisari と Bonefeld-Jorgensen (2005)によって、4-オクチルフェノール(Aldrich、CAS#記載なし) 0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=2.06、20.6、206、2,060 $\mu$ g/L)の濃度に6時間ばく露(0.5nMトリヨードサイロニン共存下)したラット下垂体腫瘍細胞 GH3(甲状腺ホルモン応答性)による細胞増殖試験(T-Screen assay)が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,060 $\mu$ g/L)の濃度で細胞濃度の低値が認められた(ただし、細胞毒性が認められる濃度範囲に相当)。

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及び異性体の区別がつかないことから、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、細胞濃度の低値が認められたが、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。

#### (9)ステロイド産生への影響

##### 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

Kotula-Balak ら(2011)によって、4-tert-オクチルフェノール 0.01、0.1、1、10、100 $\mu$ M(=2.06、20.6、206、2,060、20,600 $\mu$ g/L)の濃度に3時間ばく露したマウスライディッチ腫瘍細胞 MA-10 への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=20.6 $\mu$ g/L)以上の濃度で3 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ相対発現量、アンドロゲン受容体相対発現量の低値、1 $\mu$ M(=206 $\mu$ g/L)以上の濃度でプロゲステロン相対分泌量の低値が認められた。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン作用

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、3 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ相対発現量、アンドロゲン受容体相対発現量の低値が認められたことから、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。

Murono ら(2001)によって、4-tert-オクチルフェノール 0.001、0.01、0.1、0.5、2 $\mu$ M(=0.206、2.06、20.6、103、412 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 10mIU/mL 共存下で培養後、各基質を添加し更に4時間培養)したラットライディッチ細胞(55から65日齢SDラット精巢由来)への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=20.6 $\mu$ g/L)以上の濃度でテストステロン産生量(プレグネノロン1 $\mu$ Mを基質とする)の低値、0.5 $\mu$ M(=103 $\mu$ g/L)以上の濃度でテストステロン産生量(22R-ヒドロキシコレステロール1 $\mu$ Mを基質とする)、テストステロン産生量(プロゲステロン1 $\mu$ Mを基質とする)の低値が認められた。なお、テストステロン産生量(アンドロステンジ



オン 1  $\mu\text{M}$  を基質とする)には影響は認められなかった。

また、4-tert-オクチルフェノール 0.001、0.01、0.1、0.5、2  $\mu\text{M}$ (=0.206、2.06、20.6、103、412 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に24時間ばく露したラットライディッヒ細胞(55から65日齢SDラット精巢由来)への影響が検討されている。その結果として、0.5 $\mu\text{M}$ (=103 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度でテストステロン産生量(基底状態)の低値が認められた。なお、テストステロン産生量(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 10mIU/mL 共存下)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、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、3 $\beta$ -テストステロン産生量の低値が認められたことから、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：その他の作用(テストステロン産生系への影響)

Nikulaら(1999)によって、4-tert-オクチルフェノール 0.1、1、10、100 $\mu\text{M}$ (=20.6、206、2,060、20,600 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に48時間ばく露(前処理として培養後、ヒト絨毛性ゴナドトロピン 10mIU/mL 共存下で更に3時間培養)したマウス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  $\mu\text{M}$ (=206 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度でプロゲステロン産生量、c-AMP 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、被験物質の純度及び試験に使用した細胞の入手先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、プロゲステロン産生量、c-AMP 産生量の低値が認められたことから、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：抗プロゲステロン作用

参考 ステロイド産生への影響(今回評価対象としなかった文献)

Muronoら(2000)によって、4-tert-オクチルフェノール 0.001、0.01、0.1、0.5、2  $\mu\text{M}$ (=0.206、2.06、20.6、103、412 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に24時間ばく露(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 10mIU/mL 共存下で培養後、各基質を添加し更に4時間培養)したラットライディッヒ細胞(23日齢SDラット精巢由来)への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu\text{M}$ (=20.6 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度でテストステロン産生量(プレグネノン 1  $\mu\text{M}$  を基質とする)の低値、0.5 $\mu\text{M}$ (=103 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度でテストステロン産生量(22R-ヒドロキシコレステロール 1  $\mu\text{M}$  を基質とする)、テストステロン産生量(プロゲステロン 1  $\mu\text{M}$  を基質とする)の低値が認められた。なお、テストステロン産生量(アンドロステンジオン 1  $\mu\text{M}$  を基質とする)には影響は認められなかった。

また、4-tert-オクチルフェノール 0.001、0.01、0.1、0.5、2  $\mu\text{M}$ (=0.206、2.06、20.6、103、412 $\mu\text{g/L}$ )

の濃度に 24 時間ばく露したラットライディッヒ細胞(23 日齢 SD ラット精巣由来)への影響が検討されている。その結果として、 $0.1\mu\text{M}(=20.6\mu\text{g/L})$ 以上の濃度でテストステロン産生量(8-プロモ-cAMP  $1\text{mIU/mL}$  共存下)の低値、 $0.5\mu\text{M}(=103\mu\text{g/L})$ 以上の濃度でテストステロン産生量(ヒト絨毛性ゴナドトロピン  $10\text{mIU/mL}$  共存下)の低値が認められた。

Murono ら(1999)によって、4-tertオクチルフェノール  $0.001$ 、 $0.01$ 、 $0.1$ 、 $0.5$ 、 $2\mu\text{M}(=0.206$ 、 $2.06$ 、 $20.6$ 、 $103$ 、 $412\mu\text{g/L})$ の濃度に 24 時間ばく露したラットライディッヒ細胞(1 から 3 日齢 SD ラット精巣由来)への影響が検討されている。その結果として、 $0.5\mu\text{M}(=103\mu\text{g/L})$ 以上の濃度でテストステロン産生量(8-プロモ-cAMP  $1\text{mIU/mL}$  共存下)の低値、 $2\mu\text{M}(=412\mu\text{g/L})$ の濃度でテストステロン産生量(ヒト絨毛性ゴナドトロピン  $10\text{mIU/mL}$  共存下)の低値が認められた(ただし、 $0.001$  及び  $0.01\mu\text{M}$  の濃度では高値)。

また、4-tertオクチルフェノール  $0.001$ 、 $0.01$ 、 $0.1$ 、 $0.5$ 、 $2\mu\text{M}(=0.206$ 、 $2.06$ 、 $20.6$ 、 $103$ 、 $412\mu\text{g/L})$ の濃度に 24 時間ばく露(ヒト絨毛性ゴナドトロピン  $10\text{mIU/mL}$  共存下で培養後、プレグネロン、 $22\text{R}$ -ヒドロキシコレステロール、プロゲステロン、アンドロステンジオンのいずれか  $1\mu\text{M}$  を基質として添加し更に 4 時間培養)したラットライディッヒ細胞(1 から 3 日齢 SD ラット精巣由来)への影響が検討されているが、テストステロン産生量には影響は認められなかった。

#### 参考 (10)免疫系への影響(今回評価対象としなかった文献)

Lee ら(2004)によって、4-tertオクチルフェノール  $0.01$ 、 $0.1$ 、 $1$ 、 $5$ 、 $10\mu\text{M}(=20.6$ 、 $206$ 、 $1,030$ 、 $2,060\mu\text{g/L})$ の濃度に 4 時間ばく露したマウスリンパ節細胞への影響が検討されている。その結果として、 $0.1\mu\text{M}(=20.6\mu\text{g/L})$ 以上の濃度でキーホールリンペットヘモシアニン誘導性インターロイキン-4 分泌量の高値が認められた。

また、4-tertオクチルフェノール  $0.01$ 、 $0.1$ 、 $1$ 、 $5$ 、 $10\mu\text{M}(=20.6$ 、 $206$ 、 $1,030$ 、 $2,060\mu\text{g/L})$ の濃度に 2 時間ばく露したマウス胸腺腫細胞 EL4 への影響が検討されている。その結果として、 $1$ 、 $5\mu\text{M}(=206$ 、 $1,030\mu\text{g/L})$ の濃度で PMA(ホルボルエステル類の一種)誘導性インターロイキン-4 分泌量の高値が認められた。

Iwata ら(2004)によって、4-tertオクチルフェノール  $10\mu\text{M}(=2,060\mu\text{g/L})$ の濃度に 5 時間ばく露した DKO マウス脾臓細胞への影響が検討されているが、インターフェロン- $\gamma$ 産生細胞率、インターロイキン-4 産生細胞率には影響は認められなかった。

#### 参考 (11)副腎皮質細胞への影響(今回評価対象としなかった文献)

Nakajin ら(2001)によって、4-tertオクチルフェノール  $1.3$ 、 $2.3$ 、 $4.8$ 、 $13$ 、 $23$ 、 $48\mu\text{M}(=260$ 、 $600$ 、 $1,000$ 、 $2,600$ 、 $6,000$ 、 $10,000\mu\text{g/L})$ の濃度に 48 時間ばく露(ジブチリル c-AMP  $1\text{mM}$  共存下)したヒト副腎皮質細胞 H295R への影響が検討されている。その結果として、 $1.3\mu\text{M}(=260\mu\text{g/L})$ 以上の濃度でコルチゾール産生量の低値が認められた。

#### 参考 (12)線維芽細胞への影響(今回評価対象としなかった文献)

Masuno ら(2003)によって、4-tertオクチルフェノール  $10,000\mu\text{g/L}$  の濃度に 8 日間ばく露したマ

ウス線維芽細胞 3T3-L1 への影響が検討されている。その結果として、リポ蛋白質リパーゼ活性 (DNA重量当)、トリアシルグリセロール産生量 (DNA重量当)の低値、DNA量の高値が認められた。

## 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、エストロゲン様作用、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、ステロイド産生系への作用、抗プロゲステロン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 13 に示した。

表 13 信頼性評価のまとめ

物質名：4-*tert*-オクチルフェノール

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(魚類)	Ashfield ら(1998) 評価未実施			
	Knorr と Braunbeck (2002) 評価未実施			
	エストロゲン様作用 Huang と Wang (2001)		P	
	Rasmussen ら (2005) 評価未実施			
	Scholz と Gutzeit (2001)		N	×
	一般的な毒性と区別 がつかない Gray ら(1999)		?	
	エストロゲン様作用 Seki ら(2003)		P	
	エストロゲン様作用 Li ら(2012)		P	
	エストロゲン様作用 Gronen ら(1999)		P	
	Andreassen ら (2005) 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>
	van den Belt ら (2001) 評価未実施			
	Robinson ら (2004) 評価未実施			
	Segner ら(2003) 評価未実施			
エストロゲン様作用	van den Belt ら (2003)		P	
エストロゲン様作用	Nozaka ら(2004)		P	
	Toft と Baatrup (2003) 評価未実施			
	Toft と Baatrup (2001)評価未実施			
	Bayley ら(1999) 評価未実施			
	Senthil Kumaran ら (2011) 評価未実施			
	Rhee ら(2009) 評価未実施			
	①Yu ら(2008) 評価未実施			
	②Rhee ら(2008) 評価未実施			
	③Lee ら(2006) 評価未実施			
	④Gray と Metcalfe (1999) 評価未実施			
(2)生態影響(両生類)	エストロゲン様作用、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用	Mayer ら(2003)		P
		Crump ら(2002) 評価未実施		
	エストロゲン様作用	Porter ら(2011)		P
	エストロゲン様作用	Kloas ら(1999)	×	-

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>
	SelcerとVerbanic (2014) 評価未実施			
(3)生態影響(甲殻類)	Marcial ら(2003) 評価未実施			
	Isidori ら(2006) 評価未実施			
	ZouとFingerman (1997) 評価未実施			
(4)生態影響(軟体動物等)	Oehlmann ら(2000) 評価未実施			
	Jobling ら(2004) 評価未実施			
(5)エストロゲン作用	GhisariとBonefeld-Jorgensen (2005)		P	
(6)アンドロゲン作用	Xu ら(2005)		N	×
(7)抗アンドロゲン作用	Xu ら(2005)		P	
(8)抗甲状腺ホルモン作用	Ishihara ら(2003)		P	
	GhisariとBonefeld-Jorgensen (2005)		?	
(9)ステロイド産生への影響	抗アンドロゲン作用 Kotula-Balak ら(2011)		P	
	その他の作用(テストステロン産生系への影響) Murono ら(2001)		P	
	Murono ら(2000) 評価未実施			
	Murono ら(1999) 評価未実施			
	抗プロゲステロン作用 Nikula ら(1999)		P	
(10)免疫系への影響	Lee ら(2004) 評価未実施			
	Iwata ら(2004) 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>
(11)副腎皮質細胞への影響	Nakajin ら(2001) 評価未実施			
(12)線維芽細胞への影響	Masuno ら(2003) 評価未実施			
今後の対応案	動物試験の報告において、エストロゲン様作用、視床下部-下垂体生殖腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、ステロイド産生系への作用、抗プロゲステロン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

Marcial HS, Hagiwara A and Snell TW (2003) Estrogenic compounds affect development of harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22 (12), 3025-3030.

Isidori M, Lavorgna M, Nardelli A and Parrella A (2006) Toxicity on crustaceans and endocrine disrupting activity on *Saccharomyces cerevisiae* of eight alkylphenols. *Chemosphere*, 64 (1), 135-143.

Zou E and Fingerman M (1997) Effects of estrogenic xenobiotics on molting of the water flea, *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 38 (3), 281-285.

Ashfield LA, Pottinger TG and Sumpter JP (1998) Exposure of female juvenile rainbow trout to alkylphenolic compounds results in modifications to growth and ovosomatic index. *Environmental*

- Toxicology and Chemistry, 17 (4), 679-686.
- Knorr S and Braunbeck T (2002) Decline in reproductive success, sex reversal, and developmental alterations in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) after continuous exposure to octylphenol. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 51 (3), 187-196.
- Huang RK and Wang CH (2001) The effect of two alkylphenols on vitellogenin levels in male carp. *Proceedings of the National Science Council, Republic of China. Part B, Life Sciences*, 25 (4), 248-52.
- Rasmussen TH, Teh SJ, Bjerregaard P and Korsgaard B (2005) Anti-estrogen prevents xenoestrogen-induced testicular pathology of eelpout (*Zoarces viviparus*). *Aquatic Toxicology*, 72 (3), 177-194.
- Scholz S and Gutzeit HO (2001) Lasting effects of xeno- and phytoestrogens on sex differentiation and reproduction of fish. *Environmental Sciences: an International Journal of Environmental Physiology and Toxicology*, 8 (1), 57-73.
- Gray MA, Teather KL and Metcalfe CD (1999) Reproductive success and behavior of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 4-*tert*-octylphenol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18 (11), 2587-2594.
- Seki M, Yokota H, Maeda M, Tadokoro H and Kobayashi K (2003) Effects of 4-nonylphenol and 4-*tert*-octylphenol on sex differentiation and vitellogenin induction in medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22 (7), 1507-1516.
- Li Z, Zhang H, Gibson M and Liu P (2012) An evaluation of the combined effects of phenolic endocrine disruptors on vitellogenin induction in goldfish *Carassius auratus*. *Ecotoxicology*, 21 (7), 1919-1927.
- Gronen S, Denslow N, Manning S, Barnes S, Barnes D and Brouwer M (1999) Serum vitellogenin levels and reproductive impairment of male Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 4-*tert*-octylphenol. *Environmental Health Perspectives*, 107 (5), 385-390.
- Andreassen TK, Skjoedt K and Korsgaard B (2005) Upregulation of estrogen receptor alpha and vitellogenin in eelpout (*Zoarces viviparus*) by waterborne exposure to 4-*tert*-octylphenol and 17beta-estradiol. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and*

Pharmacology, 140 (3-4), 340-346.

van den Belt K, Verheyen R and Witters H (2001) Reproductive effects of ethynylestradiol and 4-*tert*-octylphenol on the zebrafish (*Danio rerio*). Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 41 (4), 458-467.

Robinson CD, Brown E, Craft JA, Davies IM and Moffat CF (2004) Effects of prolonged exposure to 4-*tert*-octylphenol on toxicity and indices of oestrogenic exposure in the sand goby (*Pomatoschistus minutus*, Pallas). Marine Environmental Research, 58 (1), 19-38.

Segner H, Navas JM, Schafers C and Wenzel A (2003) Potencies of estrogenic compounds in *in vitro* screening assays and in life cycle tests with zebrafish *in vivo*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 54 (3), 315-322.

van den Belt K, Verheyen R and Witters H (2003) Comparison of vitellogenin responses in zebrafish and rainbow trout following exposure to environmental estrogens. Ecotoxicology and Environmental Safety, 56 (2), 271-281.

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: an International Journal of Environmental Physiology and Toxicology, 11 (2), 99-121.

Toft G and Baatrup E (2003) Altered sexual characteristics in guppies (*Poecilia reticulata*) exposed to 17beta-estradiol and 4-*tert*-octylphenol during sexual development. Ecotoxicology and Environmental Safety, 56 (2), 228-237.

Toft G and Baatrup E (2001) Sexual characteristics are altered by 4-*tert*-octylphenol and 17beta-estradiol in the adult male guppy (*Poecilia reticulata*). Ecotoxicology and Environmental Safety, 48 (1), 76-84.

Bayley M, Nielsen JR and Baatrup E (1999) Guppy sexual behavior as an effect biomarker of estrogen mimics. Ecotoxicology and Environmental Safety, 43 (1), 68-73.

Senthil Kumaran S, Kavitha C, Ramesh M and Grummt T (2011) Toxicity studies of nonylphenol and octylphenol: hormonal, hematological and biochemical effects in *Clarias gariepinus*. Journal of Applied Toxicology, 31 (8), 752-61.



- Rhee JS, Kang HS, Raisuddin S, Hwang DS, Han J, Kim RO, Seo JS, Lee YM, Park GS, Lee SJ and Lee JS (2009) Endocrine disruptors modulate expression of hepatic choriogenin genes in the hermaphroditic fish, *Kryptolebias marmoratus*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 150 (2), 170-178.
- Yu IT, Rhee JS, Raisuddin S and Lee JS (2008) Characterization of the glutathione S-transferase-Mu (GSTM) gene sequence and its expression in the hermaphroditic fish, *Kryptolebias marmoratus* as a function of development, gender type and chemical exposure. *Chemico-Biological Interactions*, 174 (2), 118-125.
- Pelayo S, Oliveira E, Thienpont B, Babin PJ, Raldua D, Andre M and Pina B (2012) Triiodothyronine-induced changes in the zebrafish transcriptome during the eleutheroembryonic stage: implications for bisphenol A developmental toxicity. *Aquatic Toxicology*, 110-111, 114-122.
- Rhee JS, Seo JS, Raisuddin S, Ki JS, Lee KW, Kim IC, Yoon YD and Lee JS (2008) Gonadotropin-releasing hormone receptor (GnRHR) gene expression is differently modulated in gender types of the hermaphroditic fish *Kryptolebias marmoratus* by endocrine disrupting chemicals. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 147 (3), 357-365.
- Lee YM, Seo JS, Kim IC, Yoon YD and Lee JS (2006) Endocrine disrupting chemicals (bisphenol A, 4-nonylphenol, 4-*tert*-octylphenol) modulate expression of two distinct cytochrome P450 aromatase genes differently in gender types of the hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 345 (2), 894-903.
- Gray MA and Metcalfe CD (1999) Toxicity of 4-*tert*-octylphenol to early life stages of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic Toxicology*, 46 (2), 149-154.
- Mayer LP, Dyer CA and Propper CR (2003) Exposure to 4-*tert*-octylphenol accelerates sexual differentiation and disrupts expression of steroidogenic factor 1 in developing bullfrogs. *Environmental Health Perspectives*, 111 (4), 557-561.
- Crump D, Lean D and Trudeau VL (2002) Octylphenol and UV-B radiation alter larval development and hypothalamic gene expression in the leopard frog (*Rana pipiens*). *Environmental Health Perspectives*, 110 (3), 277-284.

- Porter KL, Olmstead AW, Kumsher DM, Dennis WE, Sprando RL, Holcombe GW, Korte JJ, Lindberg-Livingston A and Degitz SJ (2011) Effects of 4-*tert*-octylphenol on *Xenopus tropicalis* in a long term exposure. *Aquatic Toxicology*, 103 (3-4), 159-169.
- Kloas W, Lutz I and Einspanier R (1999) Amphibians as a model to study endocrine disruptors: II. Estrogenic activity of environmental chemicals *in vitro* and *in vivo*. *Science of the Total Environment*, 225 (1-2), 59-68.
- Selcer KW and Verbanic JD (2014) Vitellogenin of the northern leopard frog (*Rana pipiens*): Development of an ELISA assay and evaluation of induction after immersion in xenobiotic estrogens. *Chemosphere*, 112, 348-354.
- Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Tillmann M and Markert B (2000) Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (*Mollusca: Gastropoda*) in the laboratory. Part I: Bisphenol A and octylphenol as xeno-estrogens. *Ecotoxicology*, 9 (6), 383-397.
- Jobling S, Casey D, Rogers-Gray T, Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Pawłowski S, Baunbeck T, Turner AP and Tyler CR (2004) Comparative responses of molluscs and fish to environmental estrogens and an estrogenic effluent. *Aquatic Toxicology*, 66 (2), 207-222.
- Xu LC, Sun H, Chen JF, Bian Q, Qian J, Song L and Wang XR (2005) Evaluation of androgen receptor transcriptional activities of bisphenol A, octylphenol and nonylphenol *in vitro*. *Toxicology*, 216 (2-3), 197-203.
- Ghisari M and Bonefeld-Jorgensen EC (2005) Impact of environmental chemicals on the thyroid hormone function in pituitary rat GH3 cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 244 (1-2), 31-41.
- Ishihara A, Nishiyama N, Sugiyama S and Yamauchi K (2003) The effect of endocrine disrupting chemicals on thyroid hormone binding to Japanese quail transthyretin and thyroid hormone receptor. *General and Comparative Endocrinology*, 134 (1), 36-43.
- Kotula-Balak M, Pocheć E, Hejmej A, Duda M and Bilinska B (2011) Octylphenol affects morphology and steroidogenesis in mouse tumor Leydig cells. *Toxicology in Vitro*, 25 (5), 1018-1026.
- Murono EP, Derk RC and de Leon JH (2001) Differential effects of octylphenol, 17 $\beta$ -estradiol,

endosulfan, or bisphenol A on the steroidogenic competence of cultured adult rat Leydig cells. *Reproductive Toxicology*, 15 (5), 551-560.

Murono EP, Derk RC and de Leon JH (2000) Octylphenol inhibits testosterone biosynthesis by cultured precursor and immature Leydig cells from rat testes. *Reproductive Toxicology*, 14 (3), 275-288.

Murono EP, Derk RC and de Leon JH (1999) Biphasic effects of octylphenol on testosterone biosynthesis by cultured Leydig cells from neonatal rats. *Reproductive Toxicology*, 13 (6), 451-462.

Nikula H, Talonpoika T, Kaleva M and Toppari J (1999) Inhibition of hCG-stimulated steroidogenesis in cultured mouse Leydig tumor cells by bisphenol A and octylphenols. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 157 (3), 166-173.

Lee MH, Kim E and Kim TS (2004) Exposure to 4-*tert*-octylphenol, an environmentally persistent alkylphenol, enhances interleukin-4 production in T cells via NF-AT activation. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 197 (1), 19-28.

Iwata M, Eshima Y, Kagechika H and Miyaura H (2004) The endocrine disruptors nonylphenol and octylphenol exert direct effects on T cells to suppress Th1 development and enhance Th2 development. *Immunology Letters*, 94 (1-2), 135-139.

Nakajin S, Shinoda S, Ohno S, Nakazawa H and Makino T (2001) Effect of phthalate esters and alkylphenols on steroidogenesis in human adrenocortical H295R cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10 (3), 103-110.

Masuno H, Okamoto S, Iwanami J, Honda K, Shiosaka T, Kidani T, Sakayama K and Yamamoto H (2003) Effect of 4-nonylphenol on cell proliferation and adipocyte formation in cultures of fully differentiated 3T3-L1 cells. *Toxicological Sciences*, 75 (2), 314-320.

## ・ビスフェノールA

### 1．内分泌かく乱作用に関連する報告

ビスフェノールA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)、生態影響(魚類)、生態影響(両生類)、生態影響(軟体動物等)、抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用、ステロイド産生への影響、神経系への影響、免疫系への影響、成長因子及び成長ホルモン産生への影響及び脂肪細胞への影響の有無に関する報告がある。なお、健康影響、試験管内試験(エストロゲン作用)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、エポキシ樹脂、ポリカーボネート、可塑性ポリエステル原料である。本物質は、平成23年度化学物質環境実態調査の大気調査において検出されている。

#### (1)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

Hatefら(2012a)によって、ビスフェノールA 0.2、20 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に2～3年齢から最長90日間ばく露した成熟雄キングヨ(*Carassius auratus*)への影響が検討されている。その結果として、0.2 $\mu$ g/L以上のばく露区で精液容量、精液中総精子細胞数、運動精子率の低値、肝臓中エストロゲン受容体  $\beta$ 1 mRNA 相対発現量、精巣中エストロゲン受容体  $\beta$ 2 mRNA 相対発現量の高値、0.2 $\mu$ g/Lのばく露区で精巣中 *StAR* mRNA 相対発現量の低値、20 $\mu$ g/Lのばく露区で精液中精子密度、精子運動速度の低値、精巣中アンドロゲン受容体 mRNA 相対発現量、精巣中 *CYP19a*mRNA 相対発現量、精巣中エストロゲン受容体  $\beta$ 1 mRNA 相対発現量、肝臓中エストロゲン受容体  $\beta$ 2 mRNA 相対発現量、肝臓中ピテロゲニン 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、被験物質の純度及び試験方法(飼育条件等)の詳細な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、肝臓中ピテロゲニン mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

Hatefら(2012b)によって、ビスフェノールA 0.61 $\pm$ 0.03、4.5 $\pm$ 0.70、11.01 $\pm$ 0.55 $\mu$ g/Lの濃度(測定濃度)に2～3年齢から最長30日間ばく露した成熟雄キングヨ(*Carassius auratus*)への影響が検討されている。その結果として、0.61 $\mu$ g/L以上のばく露区で運動精子率、精子運動速度の低値、0.61 $\mu$ g/Lのばく露区で血漿中11-ケトテストステロン濃度の低値、11.01 $\mu$ g/Lのばく露区で血漿中テストステロン濃度の低値、血漿中ピテロゲ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、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、

血漿中 11-ケトテストステロン濃度、血漿中テストステロン濃度の低値、血漿中ピテロゲニン濃度の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用

Sun ら(2014)によって、ビスフェノール A 6、20、60、200、600 $\mu\text{g/L}$  の濃度(設定濃度)に受精後 4 時間から 44 日間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)の全身中遺伝子発現への影響が検討されている。その結果として、6  $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄 *CYP11A* mRNA 相対発現量、雄 *CYP11B* mRNA 相対発現量の低値、20 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄 *CYP17A* mRNA 相対発現量、雄 *CYP17B* mRNA 相対発現量、雄 *CYP19A* mRNA 相対発現量、雄 *CYP19B* mRNA 相対発現量の低値、雌エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量の高値、20、60、200 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌 *CYP19A* mRNA 相対発現量の高値、20 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌アンドロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、雌 *CYP17A* mRNA 相対発現量、雌 *CYP17B* mRNA 相対発現量の高値、60 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雌 *CYP19B* mRNA 相対発現量、雄エストロゲン受容体  $\beta$  mRNA 相対発現量の低値、200 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄アンドロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、雌 *CYP11A* mRNA 相対発現量、雌 *CYP11B* mRNA 相対発現量、孵化率、総生存率の低値、雌体重、雌 *VTG2* mRNA 相対発現量の高値、200 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌体長の高値、600 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌雄 *VTG1* mRNA 相対発現量、雄 *VTG2* 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、試験動物の入手先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 *VTG1* mRNA 相対発現量、雄 *VTG2* mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

Yokota ら(2000)によって、ビスフェノール A 2.27、13.0、71.2、355、1,820 $\mu\text{g/L}$  の濃度(測定濃度)に受精後数時間以内から孵化までばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、13.0 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で孵化までの所要日数の遅延が認められた。

また、ビスフェノール A 2.27、13.0、71.2、355、1,820 $\mu\text{g/L}$  の濃度(測定濃度)に受精後数時間以内からばく露を継続し孵化 60 日間後までばく露したメダカ(*O. latipes*)への影響が検討されている。その結果として、1,820 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で雄性比(表現型)、体長、体重の低値、精巣卵の出現が認められた。

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、雄性比(表現型)の低値、精巣卵の出現が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

Leeら(2002)によって、ビスフェノールA 5、50、100、200、500 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に144時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、50 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で肝臓中コリオゲニン L mRNA 発現、200 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で肝臓中コリオゲニン HmRNA 発現が認められた。

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、肝臓中コリオゲニン L mRNA 発現、肝臓中コリオゲニン H mRNA 発現が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

Mihaichら(2012)によって、ビスフェノールA 1.19、13.4、52.8、130、567 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に約120日齢から164日間ばく露した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、52.8 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄及び雌血漿中ビテロゲニン濃度の高値、130 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄生殖腺細胞に占める精母細胞率、雄生殖腺細胞に占めるライディッヒ細胞率の低値、567 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄生存率、雌生殖細胞に占める初期卵黄形成期での卵胞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、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、雄血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ②Liら(2012)によって、ビスフェノールA 10、30、100、300、1,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に15日間ばく露した幼若キンギョ(*Carassius auratus*)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、雄血漿中ビテロゲン濃度の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ②④ Staples ら(2011)によって、ビスフェノールA 10、100、320、640 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に受精後24時間未満から孵化32日後まで36日間ばく露したファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されているが、孵化率、生存率、体長、体重、全身中ビテロゲニン濃度には影響が認められなかった。

また、ビスフェノールA 1、16、160、640、1,280 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に122日齢から286日齢までばく露した成熟F<sub>0</sub>雌雄ファットヘッドミノー(*P. promelas*)への影響(164日齢から交配試験開始)が検討されている。その結果として、160 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄血漿中ビテロゲニン濃度の高値、640 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄及び雌生殖腺体指数の低値、1,280 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で日毎産卵数の低値が認められた。

また更に、ビスフェノールA 1、16、160、640 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に産卵後(上記F<sub>0</sub>が産卵)から306日齢までばく露したF<sub>1</sub>雌雄ファットヘッドミノー(*P. promelas*)への影響(150日齢から交配試験開始)が検討されている。その結果として、160 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄及び雌血漿中ビテロゲニン濃度の高値、640 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で孵化率、60日齢生存率、日毎産卵数の低値が認められた。

また更に、ビスフェノールA 1、16、160、640 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に産卵後から60日齢までばく露したF<sub>2</sub>雌雄ファットヘッドミノー(*P. promelas*)への影響(150日齢から交配試験開始)が検討されている。その結果として、160 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で孵化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、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、雄血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ③② Tabata ら(2004)によって、ビスフェノールA 100、200、500、1,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に5週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、500 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で血清中ビテロゲ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、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、血清中ビテロゲニン濃度の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ③⑧ Kang ら(2002)によって、ビスフェノールA 837 $\pm$ 134、1,720 $\pm$ 184、3,120 $\pm$ 574 $\mu\text{g/L}$ の濃度(測定濃度)に21日間ばく露した成熟雌雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果と

して、837 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で精巣卵の出現、3,120 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄肝臓中ビテロゲン濃度の高値が認められた。なお、総産卵数、受精率、雄及び雌生殖腺体指数、雄及び雌肝臓体指数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、精巣卵の出現、雄肝臓中ビテロゲン濃度の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ④① van den Beltら(2003)によって、ビスフェノールA 40、200、1,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に3週間ばく露した幼若ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響が検討されている。その結果として、1,000 $\mu\text{g/L}$ 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。

また、ビスフェノールA 40、200、1,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に3週間ばく露した成熟雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、1,000 $\mu\text{g/L}$ 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、被験物質の純度及び試験動物の入手先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、血漿中ビテロゲン濃度の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ④② ShiodaとWakabayashi(2000)によって、ビスフェノールA 0.3、1、3、10 $\mu\text{M}$ (=68.4、228、684、2,280 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)に2週間ばく露した成熟雌雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{M}$ (=2,280 $\mu\text{g/L}$ )のばく露区で総産卵数、孵化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、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、総産卵数、孵化率の低値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：その他の作用(毒性影響の可能性もあり)、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用

- ④③ Chowら(2013)によって、ビスフェノールA 525、2,010、2,620、3,930 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に受精直後から96時間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)胚への影響が検討されている。その



結果として、3,930 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で全身中ビテロゲン mRNA 相対発現量の高値が認められた。

ビスフェノールA 804、2,010、4,020、6,030 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に受精直後から 96 時間ばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)卵稚仔への影響が検討されている。その結果として、6,030 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で全身中ビテロゲン 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、被験物質の純度及び試験動物の入手先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、全身中ビテロゲン mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ④7 Schiller ら(2014)によって、ビスフェノールA 8,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に孵化後 7 日目から 7 日間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、アロマターゼ b mRNA 相対発現量、エストロゲン受容体 2 $\alpha$  RNA 相対発現量、ラノステロールシンターゼ mRNA 相対発現量の低値、メバロン酸ジカルボキシラーゼ 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、アロマターゼ b mRNA 相対発現量、エストロゲン受容体 2 $\alpha$  RNA 相対発現量、ラノステロールシンターゼ mRNA 相対発現量の低値、メバロン酸ジカルボキシラーゼ mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

- ④8 Yamaguchi ら(2005)によって、ビスフェノールA 800、8,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 8 時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、8,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で肝臓中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、肝臓中ビテロゲン II 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、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、肝臓中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、肝臓中ビテロゲン II mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

### 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

Xuら(2013)によって、ビスフェノールA 0.1、1、10、100、1,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に孵化4時間後から164時間後までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)での免疫応答及び酸化ストレス応答関連遺伝子発現(全身中)への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で *TRAF6* mRNA 相対発現量の低値、*MyD88* mRNA 相対発現量の高値、0.1、1、100、1,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *IL10* mRNA 相対発現量の高値、0.1、1、1,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *Nrf2* mRNA 相対発現量、*IFN $\gamma$*  mRNA 相対発現量、*CXCL-dc* mRNA 相対発現量、*TRIF* mRNA 相対発現量の高値、0.1、100、1,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *SARM* mRNA 相対発現量の高値、0.1、10、1,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *IL1 $\beta$*  mRNA 相対発現量の高値、0.1、1,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *IRAK4* mRNA 相対発現量の高値、1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で *Mx* mRNA 相対発現量の高値、1、1,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *CC-chemokine* mRNA 相対発現量、*TLR3* mRNA、*iNOS* mRNA 相対発現量の高値、100 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で細胞内活性酸素種濃度、細胞内亜硝酸濃度、細胞内亜硝酸合成酵素濃度の高値、1,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *Keap1* mRNA 相対発現量、*TNF $\alpha$*  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、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、*TRAF6* mRNA 相対発現量の低値、*MyD88* mRNA 相対発現量の高値等が認められたが、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。

想定されるメカニズム：免疫毒性

### 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

Bhandariら(2015)によって、ビスフェノールA 100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に受精8時間後から7日間(受精5~7日後が性分化のcritical windowに相当)ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響( $P_0$ にのみばく露し、 $F_4$ まで経代飼育、各世代とも120日齢からペア化し2週間交配試験)が検討されている。その結果として、 $F_2$ ペア受精率、 $F_3$ ペア受精率、 $F_3$ 胚生存率、 $F_4$ 胚生存率の低値が認められた。なお、 $P_0$ ペア受精率、 $F_1$ ペア受精率、 $P_0$ 胚生存率、 $F_1$ 胚生存率、 $F_2$ 胚生存率、 $P_0$ ペア産卵数、 $F_1$ ペア産卵数、 $F_2$ ペア産卵数、 $F_3$ ペア産卵数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、被験物質の純度及び入手先の記載がないこと及び試験方法(飼育条件等)の詳細な記載がないことから、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。

### 参考 生態影響(魚類)(今回評価対象としなかった文献)

Mandichら(2007)によって、ビスフェノールA 0.85 $\pm$ 0.08、7.34 $\pm$ 0.08、90.73 $\pm$ 16.30、

1055.40±166.32µg/Lの濃度(測定濃度)に1年齢から14日間ばく露したコイ(*Cyprinus carpio*)への影響が検討されている。その結果として、雄への影響として、0.85µg/L以上のばく露区で精巣顆粒球浸潤発生率、精巣小葉構造変化発生率の高値、0.85、7.34µg/Lのばく露区で血漿中17β-エストラジオール濃度の低値、血漿中17β-エストラジオール/11-ケトテストステロン濃度比の低値(1055.40µg/L区では有意な高値)、90.73µg/L以上のばく露区で間性出現率の高値、1055.40µg/Lのばく露区で血漿中テストステロン濃度の低値、血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。また、雌への影響として、0.85µg/L以上のばく露区で前卵黄形成期卵胞の閉鎖率の高値、0.85、7.34、90.73µg/Lのばく露区で血漿中17β-エストラジオール濃度の低値、1055.40µg/Lのばく露区で血漿中テストステロン濃度の低値、血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

Molinaら(2013)によって、ビスフェノールA 1、10、100、1,000µg/Lの濃度(設定濃度)に16週齢から14日間ばく露した雌ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、1µg/L以上のばく露区で成熟卵胞存在率の低値、表層卵胞存在率、卵黄形成期卵胞存在率、閉鎖卵胞存在率の高値、1、10、100µg/Lのばく露区で卵原細胞を有する成卵胞存在率の高値が認められた。

Kwakら(2001)によって、ビスフェノールA 0.2、2、20µg/Lの濃度(設定濃度)に23日齢から60日間ばく露したカダヤシ科の一種ソードテール(*Xiphophorus helleri*)への影響が検討されている。その結果として、2µg/L以上のばく露区でソード長の低値が認められた。

また、ビスフェノールA 400、2,000、10,000µg/Lの濃度(設定濃度)に72時間ばく露したカダヤシ科の一種ソードテール(*X. helleri*)成熟雄への影響が検討されている。その結果として、400µg/L以上のばく露区で精巣細胞の細胞膜損傷によるアポトーシス発生率の高値、2,000µg/L以上のばく露区で肝臓中ビテロゲニン mRNA 発現、10,000µg/Lのばく露区で精巣細胞でのアポトーシス発生(細胞染色法による確認)が認められた。

Sailiら(2012)によって、ビスフェノールA 0.001、0.01、0.1、1、10µM(=0.228、2.28、22.8、228、2,280µg/L)の濃度(設定濃度)に受精後8~10時間後から48時間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(ばく露後、更に受精後5日目まで非ばく露条件下で飼育)が検討されている。その結果として、0.01、0.1µM(=2.28、22.8µg/L)のばく露区で自発運動試験における遊泳持続時間の高値、雄及び雌のT-迷路試験における習得までの試行回数の高値が認められた。

Zhangら(2014)によって、ビスフェノールA 5、15、50µg/Lの濃度(設定濃度)に約9ヶ月齢から35日間ばく露したカマツカ亜科の一種(*Gobiocypris rarus*)雌への影響が検討されている。その結果として、5µg/L以上のばく露区で肝臓中ビテロゲニン相対濃度の高値、5、15µg/L以上のばく露区で卵巣中 *star* mRNA 相対発現量の高値、5µg/Lのばく露区で卵巣中 *hsd11b2* mRNA 相対発現量、卵巣中 *esr1* mRNA 相対発現量の高値、15µg/Lのばく露区で生殖腺体指数、卵巣中 *nr5a1b* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

Gaoら(2014)によって、ビスフェノールA 5、15、50µg/Lの濃度(設定濃度)に8ヶ月齢から最長35日間ばく露したカマツカ亜科の一種(*Gobiocypris rarus*)雌雄への影響が検討されている。その結果として、5µg/L以上のばく露区で雄肝臓中 *CYP3A* mRNA 相対発現量の低値、5、15µg/L以上のばく露区で雄肝臓中 *PXR* mRNA 相対発現量、雄肝臓中 *SULT1 ST6* mRNA 相対発現量の低値、

5 µg/Lのばく露区で雌肝臓中 *PXR* mRNA 相対発現量、雌肝臓中 *SULT1 ST6* mRNA 相対発現量の高値、50µg/Lのばく露区で雌肝臓中 *CYP3A*mRNA 相対発現量の低値が認められた。

Zhangら(2013)によって、ビスフェノールA 5、15、50µg/Lの濃度(設定濃度)に8ヶ月齢から14日間(最長35日間)ばく露したカマツカ亜科の一種(*Gobiocypris rarus*)雄への影響が検討されている。その結果として、5 µg/L以上のばく露区で精巣中 *nr5a2* mRNA 相対発現量の低値、生殖腺体指数、肝臓中 *vtg* mRNA 相対発現量の高値、5 µg/Lのばく露区で精巣中 *nr5a1b* mRNA 相対発現量の低値、15µg/L以上のばく露区で精巣中 *foxl2* mRNA 相対発現量の低値、15µg/Lのばく露区で精巣中 *nr5a1a* mRNA 相対発現量の高値、50µg/Lのばく露区で精巣中 *esr2b* mRNA 相対発現量の低値が認められた。

Liuら(2012)によって、ビスフェノールA 5、15、50µg/Lの濃度(設定濃度)に受精233日後から7日間ばく露したカマツカ亜科の一種(*Gobiocypris rarus*)雌雄への影響が検討されている。その結果として、5、50µg/Lのばく露区で卵巣中 *cyp19a1* mRNA 相対発現量の低値(15µg/L区では高値)、15µg/Lのばく露区で精巣中 *cyp11a1* mRNA 相対発現量の高値、50µg/Lのばく露区で卵巣中 *cyp17a1* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

Huangら(2010)によって、ビスフェノールA 10、100µg/Lの濃度(設定濃度)に4週間ばく露したナイルティラピア(*Oreochromis niloticus*)(成熟雄と思われる)への影響が検討されている。その結果として、10µg/L以上のばく露区で精巣中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、精巣中エストロゲン受容体  $\beta 1$  mRNA 相対発現量の高値、10µg/Lのばく露区で精巣中エストロゲン受容体  $\beta 2$  mRNA 相対発現量の低値が認められた。

Zhangら(2014)によって、ビスフェノールA 5、15、50µg/Lの濃度(設定濃度)に8ヶ月齢から14日間(最長35日間)ばく露したカマツカ亜科の一種(*Gobiocypris rarus*)雌への影響が検討されている。その結果として、15µg/Lのばく露区で肝臓中 bone morphogenetic protein 15 mRNA 相対発現量、肝臓中 growth differentiation factor 9 mRNA 相対発現量の高値が認められた。

Larsenら(2006)によって、ビスフェノールA 59±10µg/Lの濃度(測定濃度)に3週間ばく露した幼若タイセイヨウダラ(*Gadus morhua*)への影響が検討されている。その結果として、血漿中ビテロゲニン濃度(雌雄混合)、血漿中透明帯蛋白質濃度(雌雄混合)の高値が認められた。

また、ビスフェノールA 59±10µg/Lの濃度(測定濃度)に3週間ばく露した幼若イシビラメ(*S. maximus*)への影響が検討されている。その結果として、血漿中透明帯蛋白質濃度(雌雄混合)の高値が認められた。

Shanthanagoudaら(2014)によって、ビスフェノールA 100、500µg/Lの濃度(設定濃度)に96時間ばく露した成熟雌雄 Murray レインボーフィッシュ(*Melanotaenia fluviatilis*)への影響が検討されている。その結果として、100µg/L以上のばく露区で精巣中 *cyp19a1b* mRNA 相対発現量の低値、雄脳中 *cyp19a1b* mRNA 相対発現量、卵巣中 *cyp19a1b* mRNA 相対発現量の高値、500µg/Lのばく露区で雌脳中 *cyp19a1a* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

②Chenら(2008)によって、ビスフェノールA 1、10、100、200µg/Lの濃度(設定濃度)に7日間ばく露した成熟雌雄インドメダカ(*Oryzias melastigma*)への影響が検討されている。その結果として、100µg/L以上のばく露区で雌肝臓中コリオゲニン H mRNA 相対発現量、雌肝臓中コリオゲニン L

mRNA 相対発現量、雄肝臓中コリオゲニン H mRNA 相対発現量の高値、200 $\mu$ g/L のばく露区で雄肝臓中コリオゲニン L mRNA 相対発現量の高値が認められた。

- ②③ Metcalfe ら (2001) によって、ビスフェノール A 10、50、100、200 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に孵化 1 日後から孵化 85 ~ 110 日後までばく露したメダカ (*Oryzias latipes*) への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu$ g/L 以上のばく露区で肥満度(雌雄混合)の高値が認められた。なお、全長(雌雄混合)、体重(雌雄混合)、性比には影響は認められなかった。
- ②⑤ Huang ら (2011) によって、ビスフェノール A 200 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に受精 2 時間後から孵化までばく露したインドメダカ (*Oryzias melastigma*) への影響(孵化後、非ばく露条件下で飼育し 10 日齢で試験)が検討されている。その結果として、体長(孵化時)、体幅(孵化時)、NKA mRNA 相対発現量、BMP4 mRNA 相対発現量、COX-1 mRNA 相対発現量、FGF8 mRNA 相対発現量、GATA4 mRNA 相対発現量、NKX2.5 mRNA 相対発現量の低値、COX-2 mRNA 相対発現量、LERP mRNA 相対発現量、TNF $\alpha$  mRNA 相対発現量、IL 1 $\beta$  mRNA 相対発現量、SOD mRNA 相対発現量、CCL11 mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ②⑥ Wang ら (2013) によって、ビスフェノール A 1、5、15 $\mu$ M (=228、1,140、3,420 $\mu$ g/L) の濃度(設定濃度)に受精 6 時間後から 90 時間ばく露したゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) への影響が検討されている。その結果として、1 $\mu$ M (=228 $\mu$ g/L) 以上のばく露区で受精 120 時間後の平均遊泳速度の低値、受精 96 時間後の壊疽死細胞率、受精 96 時間後の DNA 損傷量の高値、5 $\mu$ M (=1,140 $\mu$ g/L) 以上のばく露区で受精 27 時間後の一次運動神経細胞軸索長の低値、受精 96 時間後のアポトーシス死細胞率、受精 96 時間後のカスパーゼ-3 活性、受精 96 時間後の活性酸素種発生量の高値、15 $\mu$ M (=3,420 $\mu$ g/L) のばく露区で受精 72 時間後の二次運動神経細胞軸索長、受精 27 時間後の尾運動距離、受精 28 時間後の自発運動頻度、受精 48 時間後の遊泳距離及び遊泳時間の低値、受精 96 時間後の Bax mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ②⑦ Suzuki ら (2003) によって、ビスフェノール A 1 $\mu$ M (=228 $\mu$ g/L) の濃度(設定濃度)に最長 8 日間ばく露した未成熟キンギョ (*Carassius auratus*) への影響が検討されている。その結果(雌雄混合)として、血漿中カルシウム濃度、血漿中カルシトニン濃度の低値、血漿中ピテロゲニン発現が認められた。
- ②⑧ Rhee ら (2011) によって、ビスフェノール A 300 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に 25 日齢から 24 時間ばく露したカダヤシ目の一種 (*Kryptolebias marmoratus*) への影響が検討されている。その結果として、*sf1* mRNA 相対発現量、*dmrt1* mRNA 相対発現量、*mis* mRNA 相対発現量の低値、*figla* mRNA 相対発現量、*dax1* mRNA 相対発現量、*StAR* mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ②⑨ Yu ら (2008) によって、ビスフェノール A 300 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に 24 時間ばく露したカダヤシ目の一種 (*Kryptolebias marmoratus*) 稚魚への影響が検討されている。その結果として、全身中グルタチオン S-トランスフェラーゼ-Mu mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- また、ビスフェノール A 300 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に 24 時間ばく露したカダヤシ目の一種 (*K. marmoratus*) 成熟雌雄同体への影響が検討されている。その結果として、精巣中グルタチオン S-トランスフェラーゼ-Mu mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- また、ビスフェノール A 300 $\mu$ g/L の濃度(設定濃度)に 24 時間ばく露したカダヤシ目の一種 (*K. marmoratus*) 成熟二次雄への影響が検討されている。その結果として、精巣中グルタチオン S-トラ

ンスフェラーゼ-Mu mRNA 相対発現量の高値が認められた。

- ③⑩ Pelayo ら(2012)によって、ビスフェノール A 100、400、1,000、2,000、4,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に受精 48 時間後(自由遊泳)から 72 時間ばく露(トリヨードサイロニン 5nM 共存下)したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(全身中遺伝子発現)が検討されている。その結果として、400 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で hemoglobin alpha embryonic-3 mRNA 相対発現量の低値、1,000 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で alpha globin (adult) mRNA 相対発現量の高値、2,000 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で red-sensitive opsin-1 mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ビスフェノール A 17.5 $\mu\text{M}$ (=4,000 $\mu\text{g/L}$ )の濃度(設定濃度)に受精 48 時間後(自由遊泳)から 72 時間ばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響(全身中遺伝子発現)が検討されている。その結果として、甲状腺ホルモン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量、red-sensitive opsin-1 mRNA 相対発現量、alpha globin (adult) mRNA 相対発現量、hemoglobin alpha embryonic-3 mRNA 相対発現量、cyp261a mRNA 相対発現量の高値が認められた。

- ③⑪ Song ら(2014)によって、ビスフェノール A 500、1,000、1,500 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 2 ヶ月齢から 21 日間ばく露した雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、500 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で血漿中ピテロゲニン濃度の高値が認められた。

- ③⑫ Rhee ら(2009)によって、ビスフェノール A 600 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に受精 2 日後から 24 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)への影響が検討されている。その結果として、全身中コリオゲニン H mRNA 相対発現量、全身中コリオゲニン L mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ビスフェノール A 600 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*K. marmoratus*)成熟雌雄同体への影響が検討されている。その結果として、肝臓中コリオゲニン H mRNA 相対発現量、肝臓中コリオゲニン L mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ビスフェノール A 600 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*K. marmoratus*)成熟二次雄への影響が検討されている。その結果として、肝臓中コリオゲニン H mRNA 相対発現量、肝臓中コリオゲニン L mRNA 相対発現量の高値が認められた。

- ③⑬ Rhee ら(2008)によって、ビスフェノール A 600 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)成熟雌雄同体への影響が検討されている。その結果として、性腺刺激ホルモン放出ホルモン受容体 mRNA 相対発現量(腸管及び肝臓中)の高値が認められた。

また、ビスフェノール A 600 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*K. marmoratus*)成熟二次雄への影響が検討されている。その結果として、性腺刺激ホルモン放出ホルモン受容体 mRNA 相対発現量(脳下垂体、精巣、腸管及び肝臓中)の高値が認められた。

- ③⑭ Lee ら(2008)によって、ビスフェノール A 600 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)成熟雌雄同体への影響が検討されている。その結果として、精巣及び腸管中 *N-ras* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

- ③⑮ Seo ら(2006)によって、ビスフェノール A 600 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種(*Kryptolebias marmoratus*)成熟雌雄同体への影響が検討されている。その結果として、精巣及び肝臓中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量の高値が認められた。

- ③⑦ Lee ら (2006) によって、ビスフェノール A 600 $\mu\text{g/L}$  の濃度 (設定濃度) に 96 時間ばく露したカダヤシ目の一種 (*Kryptolebias marmoratus*) 成熟雌雄同体への影響が検討されている。その結果として、脳中及び生殖腺中 *cyp11a* mRNA 相対発現量の低値、脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量、卵巣中 *cyp19a* mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ③⑨ Kamata ら (2011) によって、ビスフェノール A 100、300、1,000、3,000 $\mu\text{g/L}$  の濃度 (設定濃度) に 48 時間ばく露した成熟雄カダヤシ (*Gambusia affinis*) への影響が検討されている。その結果として、1,000 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区でビテロゲニン (*vtga*、*vtgb* 及び *vtgd*) mRNA 発現個体率の高値が認められた。
- ④① Segner ら (2003) によって、ビスフェノール A 94、188、375、750、1,500 $\mu\text{g/L}$  の濃度 (設定濃度) に受精卵から 75 日齢までばく露したゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) への影響 (75~78 日齢で交配試験) が検討されている。その結果として、 $\text{EC}_{50}$  値 6.14 $\mu\text{M}$  (=1,400 $\mu\text{g/L}$ ) の濃度で受精率の低値が認められた。
- ④② Kausch ら (2008) によって、ビスフェノール A 0.1、2、20、200、400、1,000、2,000 $\mu\text{g/L}$  の濃度 (設定濃度) に 11 日間ばく露した成熟雄ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) への影響が検討されている。その結果として、2,000 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で肝臓中 *vtg1* mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ④③ Cotter ら (2013) によって、ビスフェノール A 10 $\mu\text{M}$  (=2,280 $\mu\text{g/L}$ ) の濃度 (設定濃度) に受精 24 時間後から受精 120 時間後までばく露したゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) への影響が検討されている。その結果として、エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ④④ Kishida ら (2001) によって、ビスフェノール A 設定濃度、0.01、0.1、1、10 $\mu\text{M}$  (=2.28、22.8、228、2,280 $\mu\text{g/L}$ ) の濃度 (設定濃度) に孵化 2 時間後から孵化 48 時間後までばく露したゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{M}$  (=2,280 $\mu\text{g/L}$ ) のばく露区で P450 アロマトラーゼ B (脳内イソフォーム) mRNA 相対発現量の高値が認められた。
- ④⑨ Wu ら (2012) によって、ビスフェノール A 0.0001、0.001、0.01 $\mu\text{M}$  (=0.0228、0.228、2.28 $\mu\text{g/L}$ ) の濃度 (設定濃度) に受精後 21 日目から 3 日間ばく露したカマツカ亜科の一種 (*Gobiocypris rarus*) (雌雄混合と思われる) への影響が検討されているが、ビテロゲニン mRNA 相対発現量、透明帯 B 蛋白質 1 mRNA 相対発現量、透明帯 B 蛋白質 2 mRNA 相対発現量、透明帯 B 蛋白質 3 mRNA 相対発現量、透明帯 B 蛋白質 4 mRNA 相対発現量、透明帯 B 蛋白質 5 mRNA 相対発現量には影響が認められなかった。
- ⑤⑩ Mochida ら (2004) によって、ビスフェノール A 0.28、0.79、3.02、19.1 $\mu\text{g/L}$  の濃度 (測定濃度) に 3 週間ばく露した雌雄マハゼ (*Acanthogobius flavimanus*) への影響が検討されているが、精巣中ユビキチン C 末端ヒドロラーゼ mRNA 相対発現量、脳中ユビキチン C 末端ヒドロラーゼ mRNA 相対発現量、血漿中ビテロゲニン-320 濃度、血漿中ビテロゲニン-530 濃度には影響が認められなかった。
- 51 Pastva ら (2001) によって、ビスフェノール A 20、200 $\mu\text{g/L}$  の濃度 (設定濃度) に受精 5 時間以内から 9 日間ばく露したメダカ (*Oryzias latipes*) への影響が検討されているが、胚発達異常 (重篤度を日毎観察) には影響が認められなかった。

## (2) 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

Levy ら(2004)によって、ビスフェノールA 0.01、0.1 $\mu$ M(=2.28、22.8 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 42/43 から 120 日間ばく露した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、0.1 $\mu$ M(=22.8 $\mu$ g/L)のばく露区で雄性比の低値が認められた。

また、ビスフェノールA 0.01、0.1、1  $\mu$ M(=2.28、22.8、228 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 42/43 から 120 日間ばく露したアフリカツメガエル(*X. laevis*)への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=22.8 $\mu$ g/L)のばく露区で雄性比の低値が認められた。

また、ビスフェノールA 0.1 $\mu$ M(=22.8 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 50 から 14 日間ばく露したアフリカツメガエル(*X. laevis*)への影響が検討されている。その結果として、全身中エストロゲン受容体 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、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、雄性比の低値、全身中エストロゲン受容体 mRNA 相対発現量の高値が認められたことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

### 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

Kloas ら(1999)によって、ビスフェノールA 0.01、0.1 $\mu$ M(=2.28、22.8 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 38/40 から 12 週間ばく露した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、0.1 $\mu$ M(=22.8 $\mu$ g/L)のばく露区で雄性比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、被験物質の純度及び試験方法(餌の種類等)の詳細な記載がないことから、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。

想定されるメカニズム：エストロゲン様作用

Iwamuro ら(2003)によって、ビスフェノールA 10、25 $\mu$ M(=2,280、5,700 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 52 から 22 日間ばく露した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、10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)以上のばく露区で到達 stage の遅延、甲状腺受容体  $\beta$ -mRNA 相対発現量(頭部、胴部、尾部のそれぞれにおいて)の低値が認められた。

また、ビスフェノールA 10、25 $\mu$ M(=2,280、5,700 $\mu$ g/L)の濃度(設定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 52 から 22 日間ばく露(0.1 $\mu$ Mサイロキシン共存下)した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、10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)以上のばく露区で到達 stage の



遅延、甲状腺受容体  $\beta$ -mRNA 相対発現量(頭部、胴部、尾部のそれぞれにおいて)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、試験動物の入手先及び試験方法(餌の種類等)の詳細な記載がないことから、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。

想定されるメカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用

#### 参考 生態影響(両生類)(今回評価対象としなかった文献)

Selcer と Verbanic (2014)によって、ビスフェノールA 1,000 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に 20 日間ばく露した成熟雄ヒョウガエル(*Rana pipiens*)への影響が検討されているが、血漿中ピテロゲニン濃度には影響が認められなかった。

Yangら(2005)によって、ビスフェノールA 2、20、200 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に 5 日齢から 60 日間ばく露したトノサマガエル(*Rana nigromaculata*)への影響が検討されているが、全身中総サイロキシン濃度、全身中テストステロン濃度、全身中ピテロゲニン濃度(アルカリ不安定ホスファターゼ活性測定で代用)には影響が認められなかった。

Pickfordら(2003)によって、ビスフェノールA 0.83、2.1、9.5、23.8、100、493 $\mu$ g/Lの濃度(測定濃度)に stage 43/45(受精 4 日後)から stage 66(変態完了)まで約 90 日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されているが、全長(雌雄混合プールデータとして)、雄頭胴長(SVL)、stage 66 到達所要日数、性比、累積死亡率には影響が認められなかった。

#### 参考 (3)生態影響(甲殻類)(今回評価対象としなかった文献)

Marcialら(2003)によって、ビスフェノールA 0.01、0.1、1、10 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に 24 時間未満齢から 21 日間ばく露したシオダマリミジンコ属の一種(*Tigriopus japonicus*) $F_0$ への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ g/L以上の濃度でコペポダイト幼生に至るまでの所要日数の遅延、1 $\mu$ g/L以上の濃度で卵嚢形成に至るまでの所要日数の遅延が認められた。

また更に、ビスフェノールA 0.01、0.1、1、10 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に誕生(上記  $F_0$ が出産)から 21 日間ばく露したシオダマリミジンコ属の一種(*T. japonicus*) $F_1$ への影響が検討されている。その結果として、0.01、0.1、1.0 $\mu$ g/Lの濃度でコペポダイト幼生に至るまでの所要日数の遅延、1 $\mu$ g/L以上の濃度で卵嚢形成に至るまでの所要日数の遅延が認められた。

Brennanら(2006)によって、ビスフェノールA 200、400、600、800、1,000 $\mu$ g/Lの濃度(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*) $F_0$ への影響が検討されている。その結果として、600 $\mu$ g/L以上の濃度で死亡率の高値が認められたが、累積脱皮回数、累積産仔数には影響は認められなかった。

また更に、ビスフェノールA 200、400、600、800、1,000 $\mu$ g/Lの濃度(設定濃度)に誕生(上記  $F_0$ が出産)から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*) $F_1$ への影響が検討されている。その結果と

して、200 $\mu\text{g/L}$ 以上の濃度で死亡率の高値が認められたが、累積脱皮回数、累積産仔数には影響は認められなかった。

Caspers (1998)によって、ビスフェノールA 0.316、3.16 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に21日間(24時間未満齢からと思われる)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が、総産仔数、脱皮回数には影響は認められなかった。

#### 参考 (4)生態影響(軟体動物等)(今回評価対象としなかった文献)

Oehlmannら(2006)によって、ビスフェノールA 0.05、0.1、0.25、0.5 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に18ヶ月齢以後から5ヶ月間ばく露した成熟アンモナイトスネール(*Marisa cornuarietis*)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産卵数、個体当産卵数、死亡率の高値が認められた。

Joblingら(2004)によって、ビスフェノールA 1、5、25、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に最長63日間ばく露した成熟コモチカワツボ(*Potamopyrgus antipodarum*)への影響が検討されている。その結果として、1、5、25 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で胚産生数の高値(21、42日目)が認められた。

Oehlmannら(2000)によって、ビスフェノールA 1、5、25、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に最長5ヶ月間ばく露した成熟アンモナイトスネール(*Marisa cornuarietis*)への影響が検討されている。その結果として、1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で累積死亡率の高値、5 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で累積産卵数、累積産卵容積の高値が認められた。

また、ビスフェノールA 1、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に孵化後から最長12ヶ月間ばく露したアンモナイトスネール(*M. cornuarietis*)への影響が検討されている。その結果として、1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で累積産卵数、累積産卵容積の高値、100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でインポーズックス重篤度の高値が認められた。

また、ビスフェノールA 1、25、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に成熟期から最長3ヶ月間ばく露したヨーロッパチミボラ(*Nuccella lapillus*)への影響が検討されている。その結果として、1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で陰莖長、前立腺長の低値、卵管に卵母細胞をもつ雌の個体率、卵殻腺(capsule gland)長、卵管外套腺(pallial gland)重量の高値が認められた。

Sieratowiczら(2011)によって、ビスフェノールA 4.60、8.89、19.4、38.7 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に4週間ばく露した成熟コモチカワツボ(*Potamopyrgus antipodarum*)への影響が検討されている。その結果として、8.89 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で胚産生数(7、25で飼育)の高値、38.7 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で胚産生数(16で飼育)の高値が認められた。

Schirlingら(2006)によって、ビスフェノールA 50、100 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に最長14日間ばく露した成熟アンモナイトスネール(*Marisa cornuarietis*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で心拍数(9日後)の低値、産卵後体重の高値が認められた。

Mihaichら(2009)によって、ビスフェノールA 470、940、1,900、3,800、7,500 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に21日齢から48時間ばく露したツボワムシ(*Bachionus calyciflorus*)への影響が検討されている。その結果として、3,800 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で内的増殖速度の低値が認められた。

Ortiz-ZarragoitiaとCajaraville(2006)によって、ビスフェノールA 50 $\mu\text{g/L}$ の濃度(設定濃度)に3

週間ばく露した成熟ムラサキイガイ (*Mytilus edulis*)への影響が検討されているが、消化腺ペルオキシソーム中アシル-CoA オキシダーゼ活性、ペルオキシソームが消化腺に占める容積率、雄及び雌の生殖腺体指数、生殖腺中ピテロゲニン濃度(アルカリ不安定ホスファターゼ活性測定で代用)、雌生殖腺に閉鎖卵母細胞が占める容積率には影響が認められなかった。

#### (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ない報告

Teng ら(2013)によって、ビスフェノールA 0.01 から 100 $\mu$ M(=2.28 から 22,800 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 0.2nM 共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(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、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害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、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、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

Sohoni と Sumpter (1998)によって、ビスフェノールA 0.001 から 100 $\mu$ M(=0.228 から 22,800 $\mu$ g/L)の濃度に 72 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 0.25nM 共存下)した酵母(ヒトエストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導に対する阻害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、試験方法(設定濃度等)の詳細な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、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導に対する阻害は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

#### (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

Teng ら(2013)によって、ビスフェノールA 0.01 から 100 $\mu$ M(=2.28 から 22,800 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 0.2nM 共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(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、ルシフェラ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、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、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

Sohoni と Sumpter (1998)によって、ビスフェノール A 0.0001 から 100 $\mu$ M(=0.0228 から 22,800 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した酵母(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  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ -ガラクトシダ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、試験方法(設定濃度等)の詳細な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、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。Jolly ら (2009)によって、ビスフェノール A 0.00000001、0.000001、0.0001、0.01、1  $\mu$ M(=0.00000228、0.000228、0.0228、2.28、228 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したイトヨ腎臓細胞(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロンばく露により腎臓肥大が認められた成熟雌由来)への影響が検討されているが、スピギン発現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、スピギン発現量には影響は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

Xu ら(2005)によって、ビスフェノール A 0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ 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蛋白質発現誘導)が検討されているが、クロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質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、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、クロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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。

#### 参考 アンドロゲン作用(今回評価対象としなかった文献)

Sunら(2006)によって、ビスフェノールA 0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ 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 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導は認められなかった。

#### (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

Jollyら(2009)によって、ビスフェノールA 0.00000001、0.000001、0.0001、0.01、1 $\mu$ M(=0.00000228、0.000228、0.0228、2.28、228 $\mu$ g/L)の濃度に48時間ばく露(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 10nM 共存下)したイトヨ腎臓細胞(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロンばく露により腎臓肥大が認められた成熟雌由来)への影響が検討されている。その結果として、0.01 $\mu$ M(=2.28 $\mu$ g/L)の濃度でスピギン発現誘導に対する阻害が認められた。

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、スピギン発現誘導に対する阻害が認められたことから、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。

Leeら(2003)によって、ビスフェノールA 0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(テストステロン 10nM 共存下)したマウスセルトリ細胞 15p-1(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、IC<sub>50</sub>値 0.08 $\mu$ M(=18.2 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

また、ビスフェノールA 0.001、0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=0.228、2.28、22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(テストステロン 10nM 共存下)したヒト肝臓がん細胞 HepG2(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、IC<sub>50</sub>値 0.318 $\mu$ M(=72.6 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

また、ビスフェノールA 0.1、1、10、100 $\mu$ M(=22.8、228、2,280、22,800 $\mu$ g/L)の濃度に3時間ばく露(テストステロン 10nM 共存下)した酵母(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 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub>値 1.8 $\mu$ M(=411 $\mu$ g/L)の濃度で $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

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、試験動物の入手先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、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められたことから、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。

Xu ら(2005)によって、ビスフェノールA 0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 1nM 共存下)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蛋白質発現誘導)が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=22.8 $\mu$ g/L)以上の濃度でクロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導に対する阻害が認められた。

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、クロラムフェニコールトランスフェラーゼ蛋白質発現誘導に対する阻害が認められたことから、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。

Teng ら(2013)によって、ビスフェノールA 0.01 から 100 $\mu$ M(=2.28 から 22,800 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(R1881 0.5nM 共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(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、IC<sub>50</sub>値 2.34 $\mu$ M(=534 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

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、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められたことから、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。

Sohoni と Sumpter (1998)によって、ビスフェノールA 0.01 から 100 $\mu$ M(=2.28 から 22,800 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 1.25nM 共存下)した酵母(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 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub>値約 10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

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、試験方法(設定濃度等)の詳細な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、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められたことから、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 抗アンドロゲン作用(今回評価対象としなかった文献)

Sun ら(2006)によって、ビスフェノールA 0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 1nM 共存下)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 $\beta$ ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、1 $\mu$ M(=228 $\mu$ g/L)以上の濃度で $\beta$ ガラクトシダーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

Ermler ら(2010)によって、ビスフェノールA 0.1 から 100 $\mu$ M(=22.8 から 22,800 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 0.25nM 共存下)したヒト乳がん細胞 MDA-kb2(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、IC<sub>50</sub> 値 4.2 $\mu$ M(=958 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

Roy ら(2004)によって、ビスフェノールA 0.1、1、10、50 $\mu$ M(=22.8、228、2,280、11,400 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(R1881 0.1nM 共存下)したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO K1(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、IC<sub>50</sub> 値 19.6 $\mu$ M(=4,470 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。(12223)(、p .)

Fang ら(2003)によって、ビスフェノールA 0.00428 から 428 $\mu$ M(=0.976 から 97,600 $\mu$ g/L)の濃度でアンドロゲン受容体(ヒトアンドロゲン受容体と同じリガンド結合ドメインをもつ)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、IC<sub>50</sub> 値 75 $\mu$ M(=17,100 $\mu$ g/L)の濃度で R1881 1nM に対する結合阻害が認められた。

Kim ら(2010)によって、ビスフェノールA 10 から 1,000 $\mu$ M(=2,280 から 228,000 $\mu$ g/L)の濃度でアンドロゲン受容体(ヒトアンドロゲン受容体と同じリガンド結合ドメインをもつ)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞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、IC<sub>50</sub> 値 110 $\mu$ M(=17,100 $\mu$ g/L)の濃度で R1881 8nM に対する結合阻害が認められた。

#### (8)甲状腺ホルモン作用

##### 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

Ghisari と Bonefeld-Jorgensen (2005)によって、ビスフェノールA 0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に6日間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 GH3(甲状腺ホルモン応答性)による細胞増殖試験(TScreen assay)が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=22.8 $\mu$ g/L)以上の濃度で細胞濃度の高値が認められた。なお、この細胞増殖活性は、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 18-2780 1nM 共存下で阻害された。

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、細胞濃度の高値、細胞増殖活性が、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 18-2780 共存下で阻害されたことが認められたが、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：甲状腺ホルモン作用については不明

#### 参考 甲状腺ホルモン作用(今回評価対象としなかった文献)

Sheng ら(2012)によって、ビスフェノールA 0.001 から 0.1 $\mu$ M(=0.228 から 22.8 $\mu$ 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(甲状腺ホルモン受容体  $\beta$ 1 を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン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、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

Sun ら(2009)によって、ビスフェノールA 1、2.5、10、31.6 $\mu$ M(=228、570、2,280、7,200 $\mu$ g/L)の濃度に 12 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(甲状腺ホルモン受容体  $\beta$  を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン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、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

Freitas ら(2011)によって、ビスフェノールA 0.01、0.05、0.1、1、5、10、50、100、500 $\mu$ M(=2.28、11.4、22.8、114、228、1,140、2,228、11,400、22,800、114,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 GH3(甲状腺ホルモン応答性)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン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、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

Terasaki ら(2011)によって、ビスフェノールA 100 $\mu$ M(=22,800 $\mu$ g/L)までの濃度に 4 時間ばく露した酵母(ヒト甲状腺ホルモン受容体  $\alpha$  を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン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、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

#### (9) 抗甲状腺ホルモン作用

##### 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

Moriyama ら(2002)によって、ビスフェノールA 0.001、0.01、0.1、1、10、100 $\mu$ M(=0.228、2.28、22.8、228、2,280、22,800 $\mu$ g/L)の濃度に 8 時間ばく露(トリヨードサイロニン 3 nM 共存下)したヒト腎臓細胞 TSA201(ヒト胚由来、ヒト甲状腺ホルモン受容体  $\alpha$ 1 又は  $\beta$ 1 を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン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、1  $\mu$ M(=228 $\mu$ g/L)以上の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

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、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められたことから、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。

Ishihara ら(2003)によって、ビスフェノールA 8  $\mu\text{M}$ (=1,820 $\mu\text{g/L}$ )の濃度でニホンウズラ血清由来精製トランスサイレチン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、トリヨードサイロニン 0.1nM に対する結合阻害が認められた。

なお、ビスフェノールA 1  $\mu\text{M}$ (=228 $\mu\text{g/L}$ )の濃度で由来甲状腺ホルモン受容体  $\beta$  リガンド結合ドメインを用いた結合阻害試験が検討されているが、トリヨードサイロニン 0.1nM に対する結合阻害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、試験方法(試験動物の性別、飼育条件)の詳細な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、トリヨードサイロニンに対する結合阻害が認められたことから、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

Sheng ら(2012)によって、ビスフェノールA 0.001 から 0.1 $\mu\text{M}$ (=0.228 から 22.8 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 24 時間ばく露(トリヨードサイロニン 0.1nM 共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(甲状腺ホルモン受容体  $\beta 1$  を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン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、0.001 $\mu\text{M}$ (=0.228 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。 疑惑論文

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、試験結果のねつ造が疑われており、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。Ghisari と Bonefeld-Jorgensen (2005)によって、ビスフェノールA 0.01、0.1、1、10 $\mu\text{M}$ (=22.8、228、2,280 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 6 日間ばく露(トリヨードサイロニン 0.5nM 共存下)したラット下垂体腫瘍細胞 GH3(甲状腺ホルモン応答性)による細胞増殖試験(T-Screen assay)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害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、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、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性

は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。

#### 参考 抗甲状腺ホルモン(今回評価対象としなかった文献)

Sun ら(2009)によって、ビスフェノールA 1、2.5、10、31.6 $\mu$ M(=228、570、2,280、7,200 $\mu$ g/L)の濃度に 12 時間ばく露(トリヨードサイロニン 10nM 共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1(甲状腺ホルモン受容体  $\beta$  を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン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、10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)以上の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害が認められた。

Freitas ら(2011)によって、ビスフェノールA 0.01、0.05、0.1、1、5、10、50、100、500 $\mu$ M(=2.28、11.4、22.8、114、228、1,140、2,228、11,400、22,800、114,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(トリヨードサイロニン 0.25nM 共存下)したラット下垂体腫瘍細胞 GH3(甲状腺ホルモン応答性)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン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、IC<sub>50</sub> 値約 50 $\mu$ M(=11,400 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導に対する微弱な阻害が認められた。

Terasaki ら(2011)によって、ビスフェノールA 0.4、8、20 $\mu$ M(=182、912、4,560 $\mu$ g/L)までの濃度に 4 時間ばく露(トリヨードサイロニン 100nM 共存下)した酵母(ヒト甲状腺ホルモン受容体  $\alpha$  を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン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、ルシフェラーゼ発現誘導に対する阻害は認められなかった。

Marchesini ら(2006)によって、ビスフェノールA 0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度の濃度でサイロキシン被膜化バイオセンサーを用いた結合阻害試験が検討されているが、サイロキシン結合グロブリン、トランスサイレチンに対する結合阻害は認められなかった。

#### (10)ステロイド産生への影響

##### 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

Kim ら(2010)によって、ビスフェノールA 0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に最長 72 時間ばく露したラットライディヒ細胞 RC2 への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=22.8 $\mu$ g/L)以上の濃度でテストステロン産生量(24 時間)の低値、アロマターゼ mRNA 相対発現量(24 時間)、アロマターゼ相対発現量(72 時間)、細胞増殖率(テストステロン 0.1 $\mu$ M 共存下、72 時間)、シクロオキシゲナーゼ-2 mRNA 相対発現量(16 時間)、プロスタグランジン E2 産生量(24 時間)、cAMP 産生量(18 時間)の高値が認められた。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン作用

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、テストステロン産生量の低値が認められたことから、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。

Zhouら(2008)によって、ビスフェノールA 0.1、1、10、100 $\mu$ M(=22.8、228、2,280、22,800 $\mu$ g/L)の濃度に48時間ばく露したラット卵巣莢膜及び間質細胞(幼若雌SDラット由来)への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=22.8 $\mu$ g/L)以上の濃度でテストステロン産生量、P450scc mRNA 相対発現量の高値、0.1、10、100 $\mu$ M(=22.8、2,280、22,800 $\mu$ g/L)の濃度でP450c17 mRNA 相対発現量の高値、10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)以上の濃度でStAR mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ビスフェノールA 0.1、1、10、100 $\mu$ M(=22.8、228、2,280、22,800 $\mu$ g/L)の濃度に48時間ばく露したラット卵巣顆粒膜細胞(幼若雌SDラット由来)への影響が検討されている。その結果として、0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度でプロゲステロン産生量の高値(ただし、100 $\mu$ Mでは低値)、1 $\mu$ M(=228 $\mu$ g/L)以上の濃度でエストラジオール産生量、P450arom mRNA 相対発現量の低値、1、10 $\mu$ M(=228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度P450scc mRNA 相対発現量の高値、100 $\mu$ M(=22,800 $\mu$ g/L)の濃度でStAR 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、テストステロン産生量の高値、エストラジオール産生量の低値が認められたことから、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：抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用

Nikulaら(1999)によって、ビスフェノールA 0.1、1、10、100 $\mu$ M(=22.8、228、2,280、22,800 $\mu$ g/L)の濃度に48時間ばく露(前処理として培養後、ヒト絨毛性ゴナドトロピン10mIU/mL共存下で更に3時間培養)したマウスライディツヒ腫瘍細胞mLTC-1への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=22.8 $\mu$ g/L)以上の濃度でc-AMP産生量の低値、1 $\mu$ M(=228 $\mu$ g/L)以上の濃度でプロゲ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、プロゲステロン産生量の低値が認められたことから、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：抗プロゲステロン作用

Zhangら(2011)によって、ビスフェノールA 0.039、0.156、0.625、2.5、10、40 $\mu$ M(=2.2、8.9、35.6、143、571、2,280、9,120 $\mu$ g/L)の濃度に30分間ばく露したヒト副腎皮質がん細胞H295Rへの影響が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)以上の濃度で17 $\beta$ -エストラジオール代謝速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、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、17β-エストラジオール代謝速度の低値が認められたことから、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：ステロイド産生への影響

#### 試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

Murono ら(2001)によって、ビスフェノールA 0.001、0.01、0.1、0.5、2μM(=0.228、2.28、22.8、114、456μg/L)の濃度に基づく露(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 10mIU/mL 共存下 24 時間後、更に 22R-ヒドロキシコレステロール 1 μM を添加し 4 時間)したラットライディッシュ細胞(55 から 65 日齢 SD ラット精巣由来)への影響が検討されているが、テストステロン産生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、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、テストステロン産生量には影響は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は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：その他の作用(テストステロン産生系への影響)

#### 参考 ステロイド産生への影響(今回評価対象としなかった文献)

Ye ら(2011)によって、ビスフェノールA 0.01、0.1、1、10、100μM(=2.28、22.8、228、2,280、22,800μg/L)の濃度でヒト精巣マイクロソームを用いた酵素活性阻害試験が検討されている。その結果として、3β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性を IC<sub>50</sub> 値 7.92μM(=1,806μg/L)の濃度で、CYP17A1 活性を IC<sub>50</sub> 値 18.99μM(=4,300μg/L)の濃度で阻害した。

また、ビスフェノールA 0.01、0.1、1、10、100μM(=2.28、22.8、228、2,280、22,800μg/L)の濃度でラット精巣マイクロソームを用いた酵素活性阻害試験が検討されている。その結果として、3β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性を IC<sub>50</sub> 値 26.49μM(=6,040μg/L)の濃度で、CYP17A1 活性を IC<sub>50</sub> 値 64.67μM(=14,700μg/L)の濃度で阻害した。

また、ビスフェノールA 0.01、0.1、1、10、100μM(=2.28、22.8、228、2,280、22,800μg/L)の濃度に 3 時間ばく露(基質として黄体形成ホルモン 100ng/mL、プレグネノロン 20μM、プロゲステロン 20μM、アンドロステンジオン 20μM のいずれかの共存下)したラットライディッシュ細胞(90 日齢雄 SD ラット精巣由来)への影響が検討されている。その結果として、10μM(=2,280μg/L)以上の濃度でテストステロン産生量の低値が認められた。

Dankers ら(2013)によって、ビスフェノールA 0.1、0.3、1、3、10、30μM(=22.8、68.4、228、2,280、6,840μg/L)の濃度に 24 時間ばく露したマウスライディッシュ腫瘍細胞 MA-10 への影響が検

討されている。その結果として、 $10\mu\text{M}(=2,280\mu\text{g/L})$ 以上の濃度でテストステロン産生量の高値が認められた。

Peretz と Flaws (2013)によって、ビスフェノールA 1、10、 $100\mu\text{M}(=228、2,280、22,800\mu\text{g/L})$ の濃度に96時間ばく露したマウス胞状卵胞(32-35日齢雌 CD-1 マウス卵巣由来)への影響が検討されている。その結果として、 $10\mu\text{M}(=2,280\mu\text{g/L})$ 以上の濃度でプロゲステロン産生量、アンドロステンジオン産生量、テストステロン産生量、エストラジオール産生量、StAR mRNA 相対発現量、Cyp11a1 mRNA 相対発現量の低値が認められた。

Savchuk ら(2013)によって、ビスフェノールA  $10\mu\text{M}(=2,280\mu\text{g/L})$ の濃度に17時間ばく露(ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン  $10\text{ng/mL}$  共存下)したマウスライディッヒ細胞(未成熟雄 CBA/Lac マウス精巣由来、血清中テストステロン/エストロゲン濃度比が高い系統)への影響が検討されている。その結果として、 $5\alpha$ -アンドロスタン- $3\alpha,17\beta$ -ジオール産生量の低値、テストステロン産生量の高値が認められた。

また、ビスフェノールA  $10\mu\text{M}(=2,280\mu\text{g/L})$ の濃度に17時間ばく露(ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン  $10\text{ng/mL}$  共存下)したマウスライディッヒ細胞(未成熟雄 C57BL/6j マウス精巣由来、血清中テストステロン/エストロゲン濃度比が低い系統)への影響が検討されている。その結果として、 $5\alpha$ -アンドロスタン- $3\alpha,17\beta$ -ジオール産生量の低値、テストステロン産生量の高値が認められた。

Kwintkiewicz ら(2010)によって、ビスフェノールA 40、60、80、 $100\mu\text{M}(=9,130、13,700、18,300、22,800\mu\text{g/L})$ の濃度に48時間ばく露(卵胞刺激ホルモン  $100\text{ng/mL}$  共存下)したヒト卵巣顆粒膜様がん細胞 KGN への影響が検討されている。その結果として、 $40\mu\text{M}(=9,120\mu\text{g/L})$ 以上の濃度でIGF-1 mRNA 相対発現量、CYP19 mRNA 相対発現量、転写因子 GATA4 mRNA 相対発現量の低値、 $80\mu\text{M}(=18,300\mu\text{g/L})$ 以上の濃度で $17\beta$ -エストラジオール分泌量の低値が認められた。

また、ビスフェノールA 40、60、80、 $100\mu\text{M}(=9,130、13,700、18,300、22,800\mu\text{g/L})$ の濃度に48時間ばく露(卵胞刺激ホルモン  $100\text{ng/mL}$  共存下)したヒト卵巣顆粒膜細胞への影響が検討されている。その結果として、 $40\mu\text{M}(=9,120\mu\text{g/L})$ 以上の濃度でCYP19 mRNA 相対発現量の低値が認められた。

#### 参考 (11)神経系への影響(今回評価対象としなかった文献)

Miyatake ら(2006)によって、ビスフェノールA  $0.0000001、0.000001、0.000001、0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、1\mu\text{M}(=0.00000228、0.0000228、0.000228、0.00228、0.0228、0.228、2.28、22.8、228\mu\text{g/L})$ の濃度に24時間ばく露したマウス星状細胞(1日齢 ICR マウス中脳由来)への影響が検討されている。その結果として、 $0.000001\mu\text{M}(=0.0000228\mu\text{g/L})$ 以上の濃度(ただし、 $0.0001、0.001\mu\text{M}$  では影響なし)でグリア線維性酸性蛋白質発現量の高値が認められた。

また、ビスフェノールA  $0.0000001、0.000001、0.000001、0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、1\mu\text{M}(=0.00000228、0.0000228、0.000228、0.00228、0.0228、0.228、2.28、22.8、228\mu\text{g/L})$ の濃度に24時間ばく露したマウスニューロン細胞及びグリア細胞(1日齢 ICR マウス中脳由来)への影響が検討されている。その結果として、 $0.000001\mu\text{M}(=0.0000228\mu\text{g/L})$ 以上の濃度(ただし、 $0.0001、0.001、0.01\mu\text{M}$  では影響なし)でグリア線維性酸性蛋白質発現量の高値が認められた。

Tanabe ら(2012)によって、ビスフェノールA 0.001、0.01、0.1、10 $\mu$ M(=0.228、2.28、22.8、22,800 $\mu$ g/L)の濃度に2時間ばく露したラット CA-1 神経細胞(成熟雄 SD ラット海馬由来)への影響が検討されている。その結果として、0.01、0.1 $\mu$ M(=2.28、22.8 $\mu$ g/L)で棘突起数(樹状突起面積当)の高値が認められた。

Iwakura ら(2010)によって、ビスフェノールA 0.1 $\mu$ M(=22.8 $\mu$ g/L)の濃度に7日間ばく露したラット視床下部細胞(妊娠 15 日目胎仔 SD ラット由来)への影響が検討されている。その結果として、Sinapsin I (シナプス前駆蛋白質の一種)発現量、MAP2 (微小管結合蛋白質の一種)発現量、pERK 1 (リン酸化細胞外シグナル調節キナーゼの一種)発現量、pERK 2 (リン酸化細胞外シグナル調節キナーゼの一種)発現量の高値が認められた。

Nakazawa と Ohno (2001)によって、ビスフェノールA 10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)の濃度にばく露したアフリカツメガエル卵母細胞(ヒト神経細胞ニコチン受容体  $\alpha 3\beta 4$  を発現)への影響が検討されている。その結果として、興奮電位(アセチルコリン 300 $\mu$ M 共存下、20 秒間)の低値が認められた。

Matsunaga ら(2010)によって、ビスフェノールA 10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したラットニューロン細胞(妊娠 17 日目ラット由来)への影響が検討されているが、MAP2 又は Tau(いずれも微小管結合蛋白質の一種)を発現する神経突起長には影響は認められなかった。

#### 参考 (12)免疫系への影響(今回評価対象としなかった文献)

Watanabe ら(2003)によって、ビスフェノールA 10.0001、0.001、0.01、0.1 $\mu$ M(=0.0228、0.228、2.28、22.8 $\mu$ g/L)の濃度に6日間ばく露(顆粒球コロニー刺激因子 25ng/mL 共存下)したヒト白血病細胞 HL-60 への影響が検討されている。その結果として、0.0001 $\mu$ M(=0.0228 $\mu$ g/L)以上の濃度でオプソニン化ザイモサン誘導性スーパーオキシド産生量の高値、0.0001 $\mu$ M(=0.0228 $\mu$ g/L)の濃度でオプソニン化ザイモサン誘導性 CD18 受容体発現量の高値が認められた。

#### 参考 (13)成長因子及び成長ホルモン産生への影響(今回評価対象としなかった文献)

Nanjappa ら(2012)によって、ビスフェノールA 10 $\mu$ M(=2,280 $\mu$ g/L)の濃度に18時間ばく露(黄体形成ホルモン 10ng/mL 共存下)したラットライディッヒ前駆細胞(21 日齢ラット精巣由来)への影響が検討されている。その結果として、インスリン様成長因子 1 受容体相対発現量、上皮成長因子受容体相対発現量の高値が認められた。

Okada ら(2007)によって、ビスフェノールA 0.001、0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=0.228、2.28、22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に48時間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 GH3 への影響が検討されている。その結果として、1  $\mu$ M(=228 $\mu$ g/L)以上の成長ホルモン産生量の高値が認められた。

#### 参考 (14)脂肪細胞への影響(今回評価対象としなかった文献)

Masuno ら(2003)によって、ビスフェノールA 0.001 $\mu$ M(=0.228 $\mu$ g/L)の濃度に6時間ばく露したヒト脂肪細胞(ヒト乳房組織、ヒト腹部上皮組織由来)への影響が検討されている。その結果として、アディポネクチン産生量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、エストロゲン様作用、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用を示すこと、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、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、抗プロゲステロン作用、ステロイド産生への影響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 14 に示した。

表 14 信頼性評価のまとめ

物質名：ビスフェノールA

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(魚類)	免疫毒性	Xu ら(2013)		?
	エストロゲン様作用	Hatef ら(2012a)		P
	エストロゲン様作用、視床下部 下垂体 生殖腺軸への作用	Hatef ら(2012b)		P
		Mandich ら(2007) 評価未実施		
		Molina ら(2013) 評価未実施		
		Kwak ら(2001) 評価未実施		
		Saili ら(2012) 評価未実施		
		Zhang ら(2014) 評価未実施		
		Gao ら(2014) 評価未実施		
		Zhang ら(2013) 評価未実施		
		Liu ら(2012) 評価未実施		
	エストロゲン様作用	Sun ら(2014)		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>
	Huangら(2010) 評価未実施			
エストロゲン様作用	Yokotaら(2000)		P	
	Zhangら(2014) 評価未実施			
エストロゲン様作用	Leeら(2002)		P	
エストロゲン様作用	Mihaichら(2012)		P	
	Larsenら(2006) 評価未実施			
	Bhandariら (2015)	x	-	x
	Shanthanagouda ら(2014) 評価未実施			
エストロゲン様作用	①Liら(2012)		P	
	②Chenら(2008) 評価未実施			
	③Metcalfelら(2001) 評価未実施			
エストロゲン様作用	④Staplesら(2011)		P	
	⑤Huangら(2011) 評価未実施			
	⑥Wangら(2013) 評価未実施			
	⑦Suzukiら(2003) 評価未実施			
	⑧Rheeら(2011) 評価未実施			
	⑨Yuら(2008) 評価未実施			
	⑩Pelayoら(2012) 評価未実施			
	⑪Songら(2014) 評価未実施			
エストロゲン様作用	⑫Tabataら(2004)		P	
	⑬Rheeら(2009) 評価未実施			
	⑭Rheeら(2008) 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>
	③⑤ Lee ら(2008) 評価未実施			
	③⑥ Seo ら(2006) 評価未実施			
	③⑦ Lee ら(2006) 評価未実施			
エストロゲン様作用	③⑧ Kang ら(2002)		P	
	③⑨ Kamata ら(2011) 評価未実施			
エストロゲン様作用	④⑩ van den Belt ら(2003)		P	
	④⑪ Segner ら(2003) 評価未実施			
	④⑫ Kausch ら(2008) 評価未実施			
	④⑬ Cotter ら(2013) 評価未実施			
	④⑭ Kishida ら(2001) 評価未実施			
視床下部 下垂体 生殖腺への作用	④⑮ Shioda と Wakabayashi (2000)		P	
エストロゲン様作用	④⑯ Chow ら(2013)		P	
エストロゲン様作用	④⑰ Schiller ら(2014)		P	
エストロゲン様作用	④⑱ Yamaguchi ら(2005)		P	
	④⑲ Wu ら(2012) 評価未実施			
	⑤⑰ Mochida ら(2004) 評価未実施			
	51 Pastva ら(2001) 評価未実施			
(2)生態影響(両生類)	エストロゲン様作用	Levy ら(2004)	P	
	エストロゲン様作用	Kloas ら(1999)	-	×
	抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部 下垂体 甲状腺軸への作用	Iwamuro ら(2003)	-	×

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>
	SelcerとVerbanic (2014) 評価未実施			
	Yangら(2005) 評価未実施			
	Pickfordら(2003) 評価未実施			
(3)生態 影響(甲 殻類)	Marcialら(2003) 評価未実施			
	Brennanら(2006) 評価未実施			
	Caspers(1998) 評価未実施			
(4)生態 影響(軟 体動物 等)	Oehlmannら (2006) 評価未実施			
	Joblingら(2004) 評価未実施			
	Oehlmannら (2000) 評価未実施			
	Sieratowiczら (2011) 評価未実施			
	Schirlingら (2006) 評価未実施			
	Mihaichら(2009) 評価未実施			
	Ortiz-Zarragoitia と Cajaraville (2006) 評価未実施			
(5)抗エストロゲン作用	Tengら(2013)		N	×
	Sohoniと Sumpter(1998)		N	×
(6)アンドロゲン作用	Tengら(2013)		N	×
	Sohoniと Sumpter(1998)		N	×
	Jollyら(2009)		N	×

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>
	Xu ら(2005)		N	x
	Sun ら(2006) 評価未実施			
(7)抗アンドロゲン作用	Jolly ら(2009)		P	
	Lee ら(2003)		P	
	Xu ら(2005)		P	
	Sun ら(2006) 評価未実施			
	Teng ら(2013)		P	
	Ermler ら(2010) 評価未実施			
	Sohoni と Sumpter (1998)		P	
	Roy ら(2004) 評価未実施			
	Fang ら(2003) 評価未実施			
	Kim ら(2010) 評価未実施			
(8)甲状腺ホルモン作用	Ghisari と Bonefeld-Jorgensen (2005)		？ エストロゲ ン作用は認 められた	
	Sheng ら(2012)	x	-	x
	Sun ら(2009) 評価未実施			
	Freitas ら(2011) 評価未実施			
	Terasaki ら(2011) 評価未実施			
(9)抗甲状腺ホルモン作用	Sheng ら(2012)	x	-	x
	Moriyama ら (2002)		P	
	Sun ら(2009) 評価未実施			
	Freitas ら(2011) 評価未実施			
	Terasaki 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>
	Ghisariと Bonefeld-Jorgensen (2005)		N	×
	Marchesiniら (2006) 評価未実施			
	Ishiharaら (2003)		P	
(10)ステロイド産生への影響	抗アンドロゲン作用	Kimら (2010)	P	
	抗エストロゲン作用、 抗アンドロゲン作用	Zhouら (2008)	P	
	抗プロゲステロン作用	Nikulaら (1999)	P	
		Yeら (2011) 評価未実施		
		Dankersら (2013) 評価未実施		
		Peretzと Flaws (2013) 評価未実施		
		Savchukら (2013) 評価未実施		
	エストロゲン作用、 抗アンドロゲン作用	Zhangら (2011)	P	
	ステロイド産生への影響	Kwintkiewiczら (2010) 評価未実施		
その他の作用 (テストステロン産生系への影響)	Muronoら (2001)		N	×
(11) 神経系への影響		Miyatakeら (2006) 評価未実施		
		Tanabeら (2012) 評価未実施		
		Iwakuraら (2010) 評価未実施		
		Nakazawaと Ohno (2001) 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>
	Matsunaga ら (2010) 評価未実施			
(12)免疫系への影響	Watanabe ら (2003) 評価未実施			
(13)成長因子及び成長ホルモン産生への影響	Nanjappa ら (2012) 評価未実施			
	Okada ら (2007) 評価未実施			
(14)脂肪細胞への影響	Masuno ら (2003) 評価未実施			
今後の対応案	動物試験の報告において、エストロゲン様作用、視床下部 下垂体生殖腺軸への作用を示すこと、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、アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、抗プロゲステロン作用、ステロイド産生への影響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

Marcial HS, Hagiwara A and Snell TW (2003) Estrogenic compounds affect development of harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*. Environmental Toxicology and Chemistry, 22 (12), 3025-3030.

- Brennan SJ, Brougham CA, Roche JJ and Fogarty AM (2006) Multi-generational effects of four selected environmental oestrogens on *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 64 (1), 49-55.
- Caspers N (1998) No estrogenic effects of Bisphenol A in *Daphnia magna* STRAUS. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 61 (2), 143-148.
- Xu H, Yang M, Qiu W, Pan C and Wu M (2013) The impact of endocrine-disrupting chemicals on oxidative stress and innate immune response in zebrafish embryos. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32 (8), 1793-1799.
- Hatef A, Zare A, Alavi SM, Habibi HR and Linhart O (2012a) Modulations in androgen and estrogen mediating genes and testicular response in male goldfish exposed to bisphenol A. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31 (9), 2069-2077.
- Hatef A, Alavi SM, Abdulfatah A, Fontaine P, Rodina M and Linhart O (2012b) Adverse effects of bisphenol A on reproductive physiology in male goldfish at environmentally relevant concentrations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 76 (2), 56-62.
- Mandich A, Bottero S, Benfenati E, Cevasco A, Erratico C, Maggioni S, Massari A, Pedemonte F and Vigano L (2007) *In vivo* exposure of carp to graded concentrations of bisphenol A. *General and Comparative Endocrinology*, 153 (1-3), 15-24.
- Molina AM, Lora AJ, Blanco A, Monterde JG, Ayala N and Moyano R (2013) Endocrine-active compound evaluation: Qualitative and quantitative histomorphological assessment of zebrafish gonads after bisphenol-A exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 88, 155-162.
- Kwak HI, Bae MO, Lee MH, Lee YS, Lee BJ, Kang KS, Chae CH, Sung HJ, Shin JS, Kim JH, Mar WC, Sheen YY and Cho MH (2001) Effects of nonylphenol, bisphenol A, and their mixture on the viviparous swordtail fish (*Xiphophorus helleri*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20 (4), 787-795.
- Saili KS, Corvi MM, Weber DN, Patel AU, Das SR, Przybyla J, Anderson KA and Tanguay RL (2012) Neurodevelopmental low-dose bisphenol A exposure leads to early life-stage hyperactivity and learning deficits in adult zebrafish. *Toxicology*, 291 (1-3), 83-92.

- Zhang Y, Gao J, Xu P, Yuan C, Qin F, Liu S, Zheng Y, Yang Y and Wang Z (2014) Low-dose bisphenol A disrupts gonad development and steroidogenic genes expression in adult female rare minnow *Gobiocypris rarus*. *Chemosphere*, 112, 435-442.
- Gao J, Zhang Y, Yang Y, Yuan C, Qin F, Liu S, Zheng Y and Wang Z (2014) Molecular characterization of PXR and two sulfotransferases and hepatic transcripts of PXR, two sulfotransferases and *CYP3A* responsive to bisphenol A in rare minnow *Gobiocypris rarus*. *Molecular Biology Reports*, 41 (11), 7153-7165.
- Zhang Y, Yuan C, Hu G, Li M, Zheng Y, Gao J, Yang Y, Zhou Y and Wang Z (2013) Characterization of four nr5a genes and gene expression profiling for testicular steroidogenesis-related genes and their regulatory factors in response to bisphenol A in rare minnow *Gobiocypris rarus*. *General and Comparative Endocrinology*, 194, 31-44.
- Liu S, Qin F, Wang H, Wu T, Zhang Y, Zheng Y, Li M and Wang Z (2012) Effects of 17alpha-ethinylestradiol and bisphenol A on steroidogenic messenger ribonucleic acid levels in the rare minnow gonads. *Aquatic Toxicology*, 122-123, 19-27.
- Sun L, Lin X, Jin R, Peng T, Peng Z and Fu Z (2014) Toxic Effects of Bisphenol A on Early Life Stages of Japanese Medaka (*Oryzias latipes*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 93 (2), 222-227.
- Huang W, Zhang Y, Jia X, Ma X, Li S, Liu Y, Zhu P, Lu D, Zhao H, Luo W, Yi S, Liu X and Lin H (2010) Distinct expression of three estrogen receptors in response to bisphenol A and nonylphenol in male Nile tilapias (*Oreochromis niloticus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 36 (2), 237-249.
- Yokota H, Tsuruda Y, Maeda M, Oshima Y, Tadokoro H, Nakazono A, Honjo T and Kobayashi K (2000) Effect of bisphenol A on the early life stage in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19 (7), 1925-1930.
- Zhang Y, Yuan C, Qin F, Hu G and Wang Z (2014) Molecular characterization of *gdf9* and *bmp15* genes in rare minnow *Gobiocypris rarus* and their expression upon bisphenol A exposure in adult females. *Gene*, 546 (2), 214-221.
- Lee C, Na JG, Lee KC and Park K (2002) Choriogenin mRNA induction in male medaka, *Oryzias latipes* as a biomarker of endocrine disruption. *Aquatic Toxicology*, 61 (3-4), 233-241.

- Mihaich E, Rhodes J, Wolf J, van der Hoeven N, Dietrich D, Hall AT, Caspers N, Ortego L, Staples C, Dimond S and Hentges S (2012) Adult fathead minnow, *Pimephales promelas*, partial life-cycle reproductive and gonadal histopathology study with bisphenol A. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31 (11), 2525-2535.
- Larsen BK, Bjornstad A, Sundt RC, Taban IC, Pampanin DM and Andersen OK (2006) Comparison of protein expression in plasma from nonylphenol and bisphenol A-exposed Atlantic cod (*Gadus morhua*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) by use of SELDI-TOF. *Aquatic Toxicology*, 78 (Supplement 1), S25-S33.
- Bhandari RK, vom Saal FS and Tillitt DE (2015) Transgenerational effects from early developmental exposures to bisphenol A or 17 $\alpha$ -ethinylestradiol in medaka, *Oryzias latipes*. *Scientific Reports*, 5, 9303. doi: 10.1038/srep09303.
- Shanthanagouda AH, Nugegoda D and Patil JG (2014) Effects of Bisphenol A and Fadrozole Exposures on *cyp19a1* Expression in the Murray Rainbowfish, *Melanotaenia fluviatilis*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 67 (2), 270-280.
- Li Z, Zhang H, Gibson M and Liu P (2012) An evaluation of the combined effects of phenolic endocrine disruptors on vitellogenin induction in goldfish *Carassius auratus*. *Ecotoxicology*, 21 (7), 1919-1927.
- Chen X, Li VW, Yu RM and Cheng SH (2008) Choriogenin mRNA as a sensitive molecular biomarker for estrogenic chemicals in developing brackish medaka (*Oryzias melastigma*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71 (1), 200-208.
- Metcalfe CD, Metcalfe TL, Kiparissis Y, Koenig BG, Khan C, Hughes RJ, Croley TR, March RE and Potter T (2001) Estrogenic potency of chemicals detected in sewage treatment plant effluents as determined by *in vivo* assays with Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20 (2), 297-308.
- Staples CA, Tilghman Hall A, Friederich U, Caspers N and Klecka GM (2011) Early life-stage and multigeneration toxicity study with bisphenol A and fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74 (6), 1548-1557.



- Huang Q, Fang C, Chen Y, Wu X, Ye T, Lin Y and Dong S (2011) Embryonic exposure to low concentration of bisphenol A affects the development of *Oryzias melastigma* larvae. *Environmental Science and Pollution Research*, 19 (7), 2506-2514.
- Wang X, Dong Q, Chen Y, Jiang H, Xiao Q, Wang Y, Li W, Bai C, Huang C and Yang D (2013) Bisphenol A affects axonal growth, musculature and motor behavior in developing zebrafish. *Aquatic Toxicology*, 142-143, 104-113.
- Suzuki N, Kambegawa A and Hattori A (2003) Bisphenol A influences the plasma calcium level and inhibits calcitonin secretion in goldfish. *Zoological Science*, 20 (6), 745-748.
- Rhee JS, Kim BM, Lee CJ, Yoon YD, Lee YM and Lee JS (2011) Bisphenol A modulates expression of sex differentiation genes in the self-fertilizing fish, *Kryptolebias marmoratus*. *Aquatic Toxicology*, 104 (3-4), 218-229.
- Yu IT, Rhee JS, Raisuddin S and Lee JS (2008) Characterization of the glutathione S-transferase-Mu (GSTM) gene sequence and its expression in the hermaphroditic fish, *Kryptolebias marmoratus* as a function of development, gender type and chemical exposure. *Chemico-Biological Interactions*, 174 (2), 118-125.
- Song M, Liang D, Liang Y, Chen M, Wang F, Wang H and Jiang G (2014) Assessing developmental toxicity and estrogenic activity of halogenated bisphenol A on zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 112, 275-281.
- Tabata A, Watanabe N, Yamamoto I, Ohnishi Y, Itoh M, Kamei T, Magara Y and Terao Y (2004) The effect of bisphenol A and chlorinated derivatives of bisphenol A on the level of serum vitellogenin in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Water Science and Technology*, 50 (5), 125-132.
- Rhee JS, Kang HS, Raisuddin S, Hwang DS, Han J, Kim RO, Seo JS, Lee YM, Park GS, Lee SJ and Lee JS (2009) Endocrine disruptors modulate expression of hepatic choriogenin genes in the hermaphroditic fish, *Kryptolebias marmoratus*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 150 (2), 170-178.
- Rhee JS, Seo JS, Raisuddin S, Ki JS, Lee KW, Kim IC, Yoon YD and Lee JS (2008) Gonadotropin-releasing hormone receptor (GnRHR) gene expression is differently modulated in gender types of the hermaphroditic fish *Kryptolebias marmoratus* by endocrine disrupting

chemicals. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 147 (3), 357-365.

Lee YM, Raisuddin S, Rhee JS, Ki JS, Kim IC and Lee JS (2008) Modulatory effect of environmental endocrine disruptors on *N-ras* oncogene expression in the hermaphroditic fish, *Kryptolebias marmoratus*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 147 (3), 299-305.

Seo JS, Lee YM, Jung SO, Kim IC, Yoon YD and Lee JS (2006) Nonylphenol modulates expression of androgen receptor and estrogen receptor genes differently in gender types of the hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 346 (1), 213-223.

Lee YM, Seo JS, Kim IC, Yoon YD and Lee JS (2006) Endocrine disrupting chemicals (bisphenol A, 4-nonylphenol, 4-*tert*-octylphenol) modulate expression of two distinct cytochrome P450 aromatase genes differently in gender types of the hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 345 (2), 894-903.

Kang IJ, Yokota H, Oshima Y, Tsuruda Y, Oe T, Imada N, Tadokoro H and Honjo T (2002) Effects of bisphenol a on the reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21 (11), 2394-2400.

Kamata R, Itoh K, Nakajima D, Kageyama S, Sawabe A, Terasaki M and Shiraishi F (2011) The feasibility of using mosquitofish (*Gambusia affinis*) for detecting endocrine-disrupting chemicals in the freshwater environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30 (12), 2778-2785.

van den Belt K, Verheyen R and Witters H (2003) Comparison of vitellogenin responses in zebrafish and rainbow trout following exposure to environmental estrogens. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56 (2), 271-281.

Segner H, Navas JM, Schafers C and Wenzel A (2003) Potencies of estrogenic compounds in *in vitro* screening assays and in life cycle tests with zebrafish *in vivo*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54 (3), 315-322.

Kausch U, Alberti M, Haindl S, Budczies J and Hock B (2008) Biomarkers for exposure to estrogenic compounds: Gene expression analysis in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology*, 23 (1), 15-24.

- Cotter KA, Yershov A, Novillo A and Callard GV (2013) Multiple structurally distinct ER $\alpha$  mRNA variants in zebrafish are differentially expressed by tissue type, stage of development and estrogen exposure. *General and Comparative Endocrinology*, 194, 217-229.
- Kishida M, McLellan M, Miranda JA and Callard GV (2001) Estrogen and xenoestrogens upregulate the brain aromatase isoform (P450aromB) and perturb markers of early development in zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 129 (2-3), 261-268.
- Shioda T and Wakabayashi M (2000) Effect of certain chemicals on the reproduction of medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*, 40 (3), 239-243.
- Chow WS, Chan WK and Chan KM (2013) Toxicity assessment and vitellogenin expression in zebrafish (*Danio rerio*) embryos and larvae acutely exposed to bisphenol A, endosulfan, heptachlor, methoxychlor and tetrabromobisphenol A. *Journal of Applied Toxicology*, 33 (7), 670-678.
- Schiller V, Zhang X, Hecker M, Schafers C, Fischer R and Fenske M (2014) Species-specific considerations in using the fish embryo test as an alternative to identify endocrine disruption. *Aquatic Toxicology*, 155, 62-72.
- Yamaguchi A, Ishibashi H, Kohra S, Arizono K and Tominaga N (2005) Short-term effects of endocrine-disrupting chemicals on the expression of estrogen-responsive genes in male medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic Toxicology*, 72 (3), 239-249.
- Wu T, Wang H, Qin F, Liu S, Li M, Xu P and Wang Z (2012) Expression of zona pellucida B proteins in juvenile rare minnow (*Gobiocypris rarus*) exposed to 17 $\alpha$ -ethinylestradiol, 4-nonylphenol and bisphenol A. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology and Pharmacology*, 155 (2), 259-268.
- Mochida K, Ohkubo N, Matsubara T, Ito K, Kakuno A and Fujii K (2004) Effects of endocrine-disrupting chemicals on expression of ubiquitin C-terminal hydrolase mRNA in testis and brain of the Japanese common goby. *Aquatic Toxicology*, 70 (2), 123-136.
- Pastva SD, Villalobos SA, Kannan K and Giesy JP (2001) Morphological effects of Bisphenol-A on the early life stages of medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*, 45 (4-5), 535-541.

- Levy G, Lutz I, Kruger A and Kloas W (2004) Bisphenol A induces feminization in *Xenopus laevis* tadpoles. *Environmental Research*, 94 (1), 102-111.
- Kloas W, Lutz I and Einspanier R (1999) Amphibians as a model to study endocrine disruptors: II. Estrogenic activity of environmental chemicals *in vitro* and *in vivo*. *Science of the Total Environment*, 225 (1-2), 59-68.
- Iwamuro S, Sakakibara M, Terao M, Ozawa A, Kurobe C, Shigeura T, Kato M and Kikuyama S (2003) Teratogenic and anti-metamorphic effects of bisphenol A on embryonic and larval *Xenopus laevis*. *General and Comparative Endocrinology*, 133 (2), 189-198.
- Selcer KW and Verbanic JD (2014) Vitellogenin of the northern leopard frog (*Rana pipiens*): Development of an ELISA assay and evaluation of induction after immersion in xenobiotic estrogens. *Chemosphere*, 112, 348-354.
- Yang FX, Xu Y and Wen S (2005) Endocrine-disrupting effects of nonylphenol, bisphenol A, and *p,p'*-DDE on *Rana nigromaculata* tadpoles. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75 (6), 1168-1175.
- Pickford DB, Hetheridge MJ, Caunter JE, Hall AT and Hutchinson TH (2003) Assessing chronic toxicity of bisphenol A to larvae of the African clawed frog (*Xenopus laevis*) in a flow-through exposure system. *Chemosphere*, 53 (3), 223-235.
- Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Bachmann J, Oetken M, Lutz I, Kloas W and Ternes TA (2006) Bisphenol A induces superfeminization in the ramshorn snail *Marisa cornuarietis* (*Gastropoda: Prosobranchia*) at environmentally relevant concentrations. *Environmental Health Perspectives*, 114 (Supplement 1), 127-133.
- Jobling S, Casey D, Rogers-Gray T, Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Pawlowski S, Baunbeck T, Turner AP and Tyler CR (2004) Comparative responses of molluscs and fish to environmental estrogens and an estrogenic effluent. *Aquatic Toxicology*, 66 (2), 207-222.
- Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Tillmann M and Markert B (2000) Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (*Mollusca: Gastropoda*) in the laboratory. Part I: Bisphenol A and octylphenol as xeno-estrogens. *Ecotoxicology*, 9 (6), 383-397.

- Sieratowicz A, Stange D, Schulte-Oehlmann U and Oehlmann J (2011) Reproductive toxicity of bisphenol A and cadmium in *Potamopyrgus antipodarum* and modulation of bisphenol A effects by different test temperature. *Environmental Pollution*, 159 (10), 2766-2774.
- Schirling M, Bohlen A, Triebkorn R and Kohler HR (2006) An invertebrate embryo test with the apple snail *Marisa cornuarietis* to assess effects of potential developmental and endocrine disruptors. *Chemosphere*, 64 (10), 1730-1738.
- Mihaich EM, Friederich U, Caspers N, Hall AT, Klecka GM, Dimond SS, Staples CA, Ortego LS and Hentges SG (2009) Acute and chronic toxicity testing of bisphenol A with aquatic invertebrates and plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72 (5), 1392-1399.
- Ortiz-Zarragoitia M and Cajaraville MP (2006) Biomarkers of exposure and reproduction-related effects in mussels exposed to endocrine disruptors. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 50 (3), 361-369.
- Teng C, Goodwin B, Shockley K, Xia M, Huang R, Norris J, Merrick BA, Jetten AM, Austin CP and Tice RR (2013) Bisphenol A affects androgen receptor function via multiple mechanisms. *Chemico-Biological Interactions*, 203 (3), 556-564.
- Sohoni P and Sumpter JP (1998) Several environmental oestrogens are also anti-androgens. *Journal of Endocrinology*, 158 (3), 327-339.
- 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.
- Xu LC, Sun H, Chen JF, Bian Q, Qian J, Song L and Wang XR (2005) Evaluation of androgen receptor transcriptional activities of bisphenol A, octylphenol and nonylphenol in vitro. *Toxicology*, 216 (2-3), 197-203.
- Sun H, Xu LC, Chen JF, Song L and Wang XR (2006) Effect of bisphenol A, tetrachlorobisphenol A and pentachlorophenol on the transcriptional activities of androgen receptor-mediated reporter gene. *Food and Chemical Toxicology*, 44 (11), 1916-1921.
- Lee HJ, Chattopadhyay S, Gong EY, Ahn RS and Lee K (2003) Antiandrogenic effects of bisphenol A and nonylphenol on the function of androgen receptor. *Toxicological Sciences*, 75 (1), 40-46.

Ermeler S, Scholze M, and Kortenkamp A (2010) The sensitivity of the MDA-kb2 cell in vitro assay in detecting anti-androgenic chemicals-identification of sources of variability and estimation of statistical power. *Toxicology in Vitro*, 24 (6), 1845-1853.

Roy P, Salminen H, Koskimies P, Simola J, Smeds A, Saukko P and Huhtaniemi IT (2004) Screening of some anti-androgenic endocrine disruptors using a recombinant cell-based *in vitro* bioassay. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 88 (2), 157-166.

Fang H, Tong W, Branham WS, Moland CL, Dial SL, Hong H, Xie Q, Perkins R, Owens W and Sheehan DM (2003) Study of 202 natural, synthetic, and environmental chemicals for binding to the androgen receptor. *Chemical Research in Toxicology*, 16 (10), 1338-1358.

Kim JY, Han EH, Kim HG, Oh KN, Kim SK, Lee KY and Jeong HG (2010) Bisphenol A-induced aromatase activation is mediated by cyclooxygenase-2 up-regulation in rat testicular Leydig cells. *Toxicology Letters*, 193 (2), 200-208.

Ghisari M and Bonefeld-Jorgensen EC (2005) Impact of environmental chemicals on the thyroid hormone function in pituitary rat *GH3* cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 244 (1-2), 31-41.

Sheng ZG, Tang Y, Liu YX, Yuan Y, Zhao BQ, Chao XJ and Zhu BZ (2012) Low concentrations of bisphenol a suppress thyroid hormone receptor transcription through a nongenomic mechanism. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 259 (1), 133-142.

Sun H, Shen OX, Wang XR, Zhou L, Zhen SQ and Chen XD (2009) Anti-thyroid hormone activity of bisphenol A, tetrabromobisphenol A and tetrachlorobisphenol A in an improved reporter gene assay. *Toxicology in Vitro*, 23 (5), 950-954.

Freitas J, Cano P, Craig-Veit C, Goodson ML, Furlow JD and Murk AJ (2011) Detection of thyroid hormone receptor disruptors by a novel stable *in vitro* reporter gene assay. *Toxicology in Vitro*, 25 (1), 257-266.

Terasaki M, Kosaka K, Kunikane S, Makino M and Shiraishi F (2011) Assessment of thyroid hormone activity of halogenated bisphenol A using a yeast two-hybrid assay. *Chemosphere*, 84 (10), 1527-1530.

- Marchesini GR, Meulenberg E, Haasnoot W, Mizuguchi M and Irth H (2006) Biosensor recognition of thyroid-disrupting chemicals using transport proteins. *Analytical Chemistry*, 78 (4), 1107-1114.
- Moriyama K, Tagami T, Akamizu T, Usui T, Saijo M, Kanamoto N, Hataya Y, Shimatsu A, Kuzuya H and Nakao K (2002) Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87 (11), 5185-5190.
- Ishihara A, Nishiyama N, Sugiyama S and Yamauchi K (2003) The effect of endocrine disrupting chemicals on thyroid hormone binding to Japanese quail transthyretin and thyroid hormone receptor. *General and Comparative Endocrinology*, 134 (1), 36-43.
- Kim JY, Han EH, Kim HG, Oh KN, Kim SK, Lee KY and Jeong HG (2010) Bisphenol A-induced aromatase activation is mediated by cyclooxygenase-2 up-regulation in rat testicular Leydig cells. *Toxicology Letters*, 193 (2), 200-208.
- Zhou W, Liu J, Liao L and Han S (2008) Effect of bisphenol A on steroid hormone production in rat ovarian theca-interstitial and granulosa cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 283 (1-2), 12-18.
- Nikula H, Talonpoika T, Kaleva M and Toppari J (1999) Inhibition of hCG-stimulated steroidogenesis in cultured mouse Leydig tumor cells by bisphenol A and octylphenols. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 157 (3), 166-173.
- Ye L, Zhao B, Hu G, Chu Y and Ge RS (2011) Inhibition of human and rat testicular steroidogenic enzyme activities by bisphenol A. *Toxicology Letters*, 207 (2), 137-142.
- Dankers AC, Roelofs MJ, Piersma AH, Sweep FC, Russel FG, van den Berg M, van Duursen MB and Masereeuw R (2013) Endocrine disruptors differentially target ATP-binding cassette transporters in the blood-testis barrier and affect Leydig cell testosterone secretion *in vitro*. *Toxicological Sciences*, 136 (2), 382-391.
- Peretz J and Flaws JA (2013) Bisphenol A down-regulates rate-limiting *Cyp11a1* to acutely inhibit steroidogenesis in cultured mouse antral follicles. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 271 (2), 249-256.
- Savchuk I, Soder O and Svechnikov K (2013) Mouse leydig cells with different androgen production potential are resistant to estrogenic stimuli but responsive to bisphenol a which attenuates

testosterone metabolism. PLoS One, 8 (8), e71722.

Zhang X, Chang H, Wiseman S, He Y, Higley E, Jones P, Wong CK, Al-Khedhairy A, Giesy JP and Hecker M (2011) Bisphenol A disrupts steroidogenesis in human *H295R* cells. Toxicological Sciences, 121 (2), 320-327.

Kwintkiewicz J, Nishi Y, Yanase T and Giudice LC (2010) Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma mediates bisphenol A inhibition of FSH-stimulated *IGF-1*, aromatase, and estradiol in human granulosa cells. Environmental Health Perspectives, 118 (3), 400-406.

Murono EP, Derk RC and de Leon JH (2001) Differential effects of octylphenol, 17beta-estradiol, endosulfan, or bisphenol A on the steroidogenic competence of cultured adult rat Leydig cells. Reproductive Toxicology, 15 (5), 551-560.

Miyatake M, Miyagawa K, Mizuo K, Narita M and Suzuki T (2006) Dynamic changes in dopaminergic neurotransmission induced by a low concentration of bisphenol-A in neurones and astrocytes. Journal of Neuroendocrinology, 18 (6), 434-444.

Tanabe N, Yoshino H, Kimoto T, Hojo Y, Ogiue-Ikeda M, Shimohigashi Y and Kawato S (2012) Nanomolar dose of bisphenol A rapidly modulates spinogenesis in adult hippocampal neurons. Molecular and Cellular Endocrinology, 351 (2), 317-325.

Iwakura T, Iwafuchi M, Muraoka D, Yokosuka M, Shiga T, Watanabe C and Ohtani-Kaneko R (2010) *In vitro* effects of bisphenol A on developing hypothalamic neurons. Toxicology, 272 (1-3), 52-58.

Nakazawa K and Ohno Y (2001) Modulation by estrogens and xenoestrogens of recombinant human neuronal nicotinic receptors. European Journal of Pharmacology, 430 (2-3), 175-183.

Matsunaga H, Mizota K, Uchida H, Uchida T and Ueda H (2010) Endocrine disrupting chemicals bind to a novel receptor, microtubule-associated protein 2, and positively and negatively regulate dendritic outgrowth in hippocampal neurons. Journal of Neurochemistry, 114 (5), 1333-1343.

Watanabe H, Adachi R, Kusui K, Hirayama A, Kasahara T and Suzuki K (2003) Bisphenol A significantly enhances the neutrophilic differentiation of promyelocytic HL-60 cells. International Immunopharmacology, 3 (12), 1601-1608.



Nanjappa MK, Simon L and Akingbemi BT (2012) The industrial chemical bisphenol A (BPA) interferes with proliferative activity and development of steroidogenic capacity in rat Leydig cells. *Biology of Reproduction*, 86 (5), 135, 131-112.

Okada K, Imaoka S, Hashimoto S, Hiroi T and Funae Y (2007) Over-expression of protein disulfide isomerase reduces the release of growth hormone induced by bisphenol A and/or T3. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 278 (1-2), 44-51.

Hugo ER, Brandebourg TD, Woo JG, Loftus J, Alexander JW and Ben-Jonathan N (2008) Bisphenol A at environmentally relevant doses inhibits adiponectin release from human adipose tissue explants and adipocytes. *Environmental Health Perspectives*, 116 (12), 1642-1647.