

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(案)

I. 平成 29 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 28 年度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 17 物質について平成 29 年度に信頼性評価を実施した。

表 1 平成 29 年度に信頼性評価を実施した 17 物質

	物質名	選定年度	信頼性評価 の実施年度
1	トナリド	平成 28 年度	平成 29 年度
2	ベンゾフェノン-2	平成 28 年度	平成 29 年度
3	フタル酸ジ- <i>n</i> -オクチル	平成 28 年度	平成 29 年度
4	イブプロジオン	平成 28 年度	平成 29 年度
5	<i>N,N</i> -ジメチルアセトアミド	平成 28 年度	平成 29 年度
6	アセフェート	平成 28 年度	平成 29 年度
7	ノニルフェノールエトキシレート(重合度が 1 から 15 までのもの)	平成 28 年度	平成 29 年度
8	ペンディメタリン	平成 28 年度	平成 29 年度
9	クラリスロマイシン	平成 28 年度	平成 29 年度
10	クリンダマイシン	平成 28 年度	平成 29 年度
11	ロキシスロマイシン	平成 28 年度	平成 29 年度
12	スルファピリジン	平成 28 年度	平成 29 年度
13	スルファメトキサゾール	平成 28 年度	平成 29 年度
14	<i>n</i> -ヘキサン	平成 28 年度	平成 29 年度
15	2,4-トルエンジイソシアネート	平成 28 年度	平成 29 年度
16	2,6-トルエンジイソシアネート	平成 28 年度	平成 29 年度
17	りん酸トリス(2-クロロエチル)	平成 28 年度	平成 29 年度

表2 平成28年度に信頼性評価の対象とする23物質(群)

名称	主な用途	選定根拠となった調査区分の記号*
今回報告		
6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン(別名:トナリド)	香料 ¹⁾	(1)
2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン(別名:ベンゾフェノン-2)	紫外線吸収剤 ²⁾	(1)
フタル酸ジ- <i>n</i> -オクチル	可塑剤 ²⁾	(3)
3-(3,5-ジクロロフェニル)- <i>N</i> イソプロピル-2,4-ジオキソイミダゾリジン-1-カルボキサミド(別名:イプロジオン)	農薬(殺菌剤) ⁵⁾	(5)
<i>N,N</i> -ジメチルアセトアミド	反応溶媒、精製溶剤、樹脂溶剤 ²⁾	(1)
アセフェート	農薬(殺虫剤) ²⁾	(3)
ポリ(オキシエチレン)=ノニルフェニルエーテル類(別名:ノニルフェノールエトキシレート)(重合度が1から15までのもの)	界面活性剤(業務用洗剤・分散剤・切削剤・乳化剤・展着剤原料、医薬品用、化粧品用) ⁴⁾	(1)
<i>N</i> (1-エチルプロピル)-2,6-ジニトロ-3,4-キシリジン(別名:ペンディメタリン)	農薬(除草剤) ⁵⁾	(5)
クラリスロマイシン	医薬(抗生物質) ³⁾	(1)
クリンダマイシン	医薬・動物薬(抗生物質) ¹⁾	(1)
ロキシスロマイシン	動物薬(抗生物質) ⁴⁾	(1)
スルファピリジン	動物薬(抗菌剤) ⁴⁾	(1)
スルファメトキサゾール	医薬(抗生物質)、動物薬(抗菌剤) ⁴⁾	(1)
<i>n</i> -ヘキサン	反応溶媒、油脂抽出溶剤、溶剤(接着剤、インキ) ²⁾	(3)
トルエンジイソシアネートこのうち、4-メチル-1,3-フェニレン=ジイソシアネート(別名:2,4-トルエンジイソシアネート)	ポリウレタン原料 ²⁾	(1)
トルエンジイソシアネートこのうち、2-メチル-1,3-フェニレン=ジイソシアネート(別名:2,6-トルエンジイソシアネート)	合成樹脂原料(ポリウレタン樹脂) ⁵⁾	(5)
りん酸トリス(2-クロロエチル)	可塑剤、難燃剤、硬質ウレタンフォーム添加剤 ²⁾	(3)
評価実施中		
イミダクロプリド	農薬(殺虫剤) ²⁾	(4)
エリスロマイシン	医薬(抗生物質)、動物薬 ²⁾	(1)
スルファジアジン	医薬(サルファ剤)、動物薬(抗菌剤) ⁴⁾	(1)
トリメトプリム	医薬(抗菌剤)、動物薬(抗菌剤) ⁴⁾	(1)
メフェナム酸(別名: <i>n</i> -(2,3-ジメチルフェニル)アントラニル酸)	医薬(解熱・消炎・鎮痛剤) ²⁾	(6)
メラミン	原料(メラミン樹脂、接着剤、医薬) ²⁾	(3)

* PRTR 第一種指定化学物質

1) 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>)

- 2) 化学工業日報社、16615 の化学商品(2015)及びバックナンバー
- 3) 独立行政法人医薬品医療機器総合機構「医療用医薬品の添付文書情報」
(http://www.info.pmda.go.jp/psearch/html/menu_tenpu_base.html)
- 4) 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>)
- 5) 環境省、PRTR インフォメーション広場 対象物質情報
(http://www.env.go.jp/chemi/prtr/archive/target_chemi.html)

*選定根拠となった調査区分の記号

- (1) 化学物質環境実態調査
- (3) 要調査項目等存在状況調査結果
- (4) 農薬残留対策総合調査
- (5) PRTR 第一種指定化学物質であって化学物質環境実態調査結果及び要調査項目等存在状況調査結果にて不検出であった物質
- (6) 専門家から提案された物質

II. 平成 29 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 29 年度に信頼性評価を実施した 17 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並びに米国環境保護庁(US EPA)が実施した評価結果(EDSP)において示唆された作用について物質ごとに表 3 に示した。

なお、既に第 1 段階生物試験(TG229)を実施した 17 α -エチニルエストラジオールについても第 1 段階生物試験の結果から示唆された作用について試験管内試験を実施する対象物質の候補とする。

表 3 信頼性評価結果を基にした物質ごとの確認すべき作用
(試験管内試験の実施対象候補)

	名称	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	脱皮ホルモン
1	トナリト ^o	○	○	—	○	—	—	—
2	ベンゾ ^o フェノン-2	○	○	—	○	○	○	—
3	フタル酸ジ ^o - <i>n</i> -オクチル	—	—	—	—	○	○	—
4	イ ^o プロジ ^o オン	○*	○*	○*	○	—	—	—
5	ロキシロマイシン	—	—	—	○	○	○	—
6	ニルフェノールエトキシレート類(重合度が 1 から 15 までのもの)	○	—	—	—	—	—	—
7	ペンテ ^o イメタリン	○	—	—	—	—	—	—
8	スルファメトキサゾール	○	—	—	○	—	—	—
9	<i>n</i> -ヘキサ ^o ン	○	○	—	—	—	—	—
10	りん酸トリス(2-クロロエチル)	—	—	—	—	○	○	—
11	アセフェート	—	—	—	—	—	—	—
12	クラリスロマイシン	—	—	—	—	—	—	—
13	<i>N,N</i> -ジ ^o メチルアセトアミド ^o	—	—	—	—	—	—	—
14	スルファピ ^o リジン	—	—	—	—	—	—	—
15	クリンダ ^o マイシン	—	—	—	—	—	—	—
16	2,4-トルエンジ ^o イソシアネート	—	—	—	—	—	—	—
17	2,6-トルエンジ ^o イソシアネート	—	—	—	—	—	—	—
18	17 α -エチニルエストラジオール	○**	—	—	—	—	—	—
合計	26 試験	8	4	1	5	4	4	0

* : USEPA EDSP において指摘された作用

** : 既に TG229 を実施した物質

○ : 既存知見から示唆された作用

P : 試験管内試験の結果において認められた作用

N：試験管内試験の結果では、認められなかった作用

—：試験管内試験を実施しない作用

1. 平成 29 年度に実施した 17 物質群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 12 物質群

- *6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン(別名：トナリド又は AHTN)：動物試験の報告において、エスト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、抗アンドロゲン作用、抗プロゲステロン作用、脂肪細胞の分化への影響を示すことが示唆されたため
- *2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン(別名：ベンゾフェノン-2)：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、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、ステロイドホルモン合成経路への影響を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、甲状腺ペルオキシダーゼへの影響、ステロイド合成経路への影響を示すことが示唆されたため
- *フタル酸ジ-*n*-オクチル：試験管内試験の報告において、抗甲状腺ホルモン作用を示すこと、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
- *イプロジオン：動物試験の報告において、抗アンドロゲン様作用、アンドロゲン生成抑制作用を示すこと、試験管内試験の報告において、抗アンドロゲン作用、生殖細胞への影響、ステロイド産生への影響、芳香族炭化水素受容体への影響を示すことが示唆されたため
- *アセフェート：試験管内試験の報告において、プロゲステロン作用を示すことが示唆されたため
- *ポリ(オキシエチレン)ニルフェニルエーテル類(別名：ニルフェノールエトキシレート)：動物試験の報告において、エストロゲン様作用を示すこと、試験管内試験の報告において、魚類精巣細胞への影響を示すことが示唆されたため
- *ペンディメタリン：動物試験の報告において、エストロゲン様作用を示すことが示唆されたため
- *クラリスロマイシン：試験管内試験の報告において、ステロイド代謝酵素への影響を示すことが示唆されたため
- *ロキシスロマイシン：動物試験の報告において、視床下部—下垂体—副腎軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、抗アンドロゲン作用、ステロイド代謝酵素への影響を示すことが示唆されたため
- *スルファメトキサゾール：動物試験の報告において、エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用を示すことが示唆されたため

- * *n*-ヘキサン：動物試験の報告において、エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用を示すことが示唆されたため
- * リン酸トリス(2-クロロエチル)：動物試験の報告において、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、ステロイド産生への影響が示唆されたため

(2)現時点では試験対象物質としない5物質

- * *N,N*-ジメチルアセトアミド：内分泌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としない。
- * クリンダマイシン：内分泌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としない。
- * スルファピリジン：内分泌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としない。
- * 2,4-トルエンジイソシアネート：内分泌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としない。
- * 2,6-トルエンジイソシアネート：内分泌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としない。

(別添)

I. 6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン(別名：トナリド又は AHTN)

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン又は 7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン又は 1-(5,6,7,8-テトラヒドロ-3,5,5,6,8,8-ヘキサメチル-2-ナフタレニル)エタノン(別名：トナリド又は AHTN) (CAS 番号：1506-02-1 又は 21145-77-7) 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、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、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用、プロゲステロン作用、抗プロゲステロン作用、ステロイド産生影響、脂肪細胞分化への影響及びミクロソーム酵素への影響の有無に関する報告がある。

(1)生態影響

- ②Yamauchi ら(2008)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 5、50、500 μ g/L(設定濃度)に約4ヶ月齢から3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、500 μ g/Lのばく露区で肝臓中ビテロゲニンI蛋白質相対発現量、肝臓中ビテロゲニンII蛋白質相対発現量、肝臓中ビテロゲニン濃度、肝臓中エストロゲン受容体 α mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、肝臓中エストロゲン受容体 β mRNA 相対発現量、肝臓中プレグナンX受容体 mRNA 相対発現量、肝臓中 CYP3A38 mRNA 相対発現量、肝臓中 CYP3A40 mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14149)(評価結果の略号： Δ OP)
想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用

※参考 生態影響(今回評価対象としなかった文献)

- ①Wollenberger ら(2003)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 4、10、30、60、160、400 μ g/L(設定濃度)に卵から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、EC₅₀値 26 μ g/Lの濃度でノープリウス6期からコペポダイト1期への到達率の低値、160 μ g/L以上のばく露区で幼生生存率の低値が認められた。なお、孵化率には影響は認められなかった。(13819)
評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため
- ③Breitholtz ら(2003)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 2、6、20、60 μ g/L(設定濃度)に遊泳開始 36 時間未満ノープリウスから 26~40 日間ばく露したナミミズベソコミジンコ(*Nitocra spinipes*)への影響が検討されているが、死亡率、コペポダイトへの到達率、内的繁殖速度には影響は認められなかった。(13820)
評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

(2)生殖影響

- ①Seinen ら(1999)によって、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン 2、6.5mg/kg/day(餌中濃度 15、50ppm に相当)を 21 日齢から 2 週間混餌投与した雌 Balb/c マウスへの影響が検討されて

いる。その結果として、6.5mg/kg/day のばく露群で肝臓相対重量の高値が認められた。なお、体重、子宮相対重量、胸腺相対重量には影響は認められなかった。(14151)(△○N)
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)

②Api ら(2004)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 1.5、5、15、50mg/kg/day を13週間混餌投与した雄SDラット(ばく露開始時体重202~205g、週齢の記載なし)への影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/day のばく露群で増加体重の低値、肝臓相対重量の高値が認められた。なお、その他の臓器及び器官(精巣、副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、下垂体、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺)相対重量、組織病理学的検査(前立腺、精囊、乳腺、精巣、乳腺)における異常所見発生状況には影響は認められなかった。

また、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 1.5、5、15、50mg/kg/day を13週間混餌投与した雌SDラット(ばく露開始時体重157~163g、週齢の記載なし)への影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/day のばく露群で増加体重の低値、肝臓相対重量の高値が認められた。なお、その他の臓器及び器官(卵巣、副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、下垂体、脾臓、胸腺、甲状腺)相対重量、組織病理学的検査(卵巣、乳腺、子宮、膈)における異常所見発生状況には影響は認められなかった。(13816)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

(3)エストロゲン作用

①Mori ら(2007)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 0.0001~100µM(=0.0258~25,800µg/L)の濃度に20時間ばく露したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 (ヒトエストロゲン受容体 α 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、EC₅₀ 値 2.0µM(=517µg/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。(13814)(△○P)

②Seinen ら(1999)によって、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、10、50µM(=25.8、258、2,580、12,920µg/L)の濃度に16時間ばく露したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容体 α 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、1µM(=258µg/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた(有意差検定なし)。

また、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、10、50µM(=25.8、258、2,580、12,920µg/L)の濃度に16時間ばく露したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容体 β 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。(14151)(△○P)

③Schreurs ら(2002)によって、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、10µM(=25.8、258、2,580µg/L)の濃度に24時間ばく露したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容体

α 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、 $10\mu\text{M}(=2,580\mu\text{g/L})$ の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

また、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、 $10\mu\text{M}(=25.8、258、2,580\mu\text{g/L})$ の濃度に24時間ばく露したヒト骨芽細胞 U2-OS (ヒトエストロゲン受容体 α 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、 $10\mu\text{M}(=2,580\mu\text{g/L})$ の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

また、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、 $10\mu\text{M}(=25.8、258、2,580\mu\text{g/L})$ の濃度に24時間ばく露したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容体 β 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。

また、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、 $10\mu\text{M}(=25.8、258、2,580\mu\text{g/L})$ の濃度に24時間ばく露したヒト骨芽細胞 U2-OS (ヒトエストロゲン受容体 β 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。(13821)(Δ OP)

④Bitsch ら(2002)によって、1-(5,6,7,8-テトラヒドロ-3,5,5,6,8,8-ヘキサメチル-2-ナフタレニル)エタノン $10\mu\text{M}(=2,580\mu\text{g/L})$ の濃度に6日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による E-Screen Assay 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。なお、この影響はエストロゲン受容体アンタゴニストであるタモキシフェン $1\mu\text{M}$ 共存下では消失した。(7427)(Δ OP)

⑤Schreurs ら(2005a)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、3、 $10\mu\text{M}(=25.8、258、775、2,580\mu\text{g/L})$ の濃度に24時間ばく露したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容体 α 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。

また、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、3、 $10\mu\text{M}(=25.8、258、775、2,580\mu\text{g/L})$ の濃度に24時間ばく露したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容体 β 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。

なお、Schreurs ら(2005b)においてもほぼ同一の記載がある。(13815)(Δ ON)

(4)抗エストロゲン作用

①Schreurs ら(2004)によって、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン 0.01、0.1、 $1\mu\text{M}(=2.58、25.8、258\mu\text{g/L})$ (設定濃度)に4~5週齢から96時間ばく露(17 β -エストラジオール 10nM 共存下)した遺伝子組み換え(ゼブラフィッシュエストロゲン受容体及び応答遺伝子発現系をもつ)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、 $0.1\mu\text{M}(=25.8\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、10 μ M(=25.8、258、2,580 μ g/L)の濃度に24時間ばく露(17 β -エストラジオール 0.1nM 共存下)したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容体 β 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、0.1 μ M(=25.8 μ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、10 μ M(=25.8、258、2,580 μ g/L)の濃度に24時間ばく露(17 β -エストラジオール 0.1nM 共存下)したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (ゼブラフィッシュエストロゲン受容体 γ 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、0.1 μ M(=25.8 μ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、10 μ M(=25.8、258、2,580 μ g/L)の濃度に24時間ばく露(17 β -エストラジオール 0.01nM 共存下)したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容体 α 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、10 μ M(=2,580 μ g/L)の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、10 μ M(=25.8、258、2,580 μ g/L)の濃度に24時間ばく露(17 β -エストラジオール 1nM 共存下)したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (ゼブラフィッシュエストロゲン受容体 β 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、10 μ M(=2,580 μ g/L)の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、10 μ M(=25.8、258、2,580 μ g/L)の濃度に24時間ばく露(17 β -エストラジオール 1nM 共存下)したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (ゼブラフィッシュエストロゲン受容体 α 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の阻害は認められなかった。(13817)(Δ OP)

②Schreurs ら(2002)によって、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、10 μ M(=25.8、258、2,580 μ g/L)の濃度に24時間ばく露(17 β -エストラジオール 0.1nM 共存下)したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容体 β 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、0.1 μ M(=25.8 μ g/L)の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。また、標識 17 β -エストラジオール(濃度記載不明瞭)に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている(受容体を単離せず、培養細胞に1時間ばく露後の標識回収率を測定)。その結果として、IC₅₀値 2.8 μ M(=724 μ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。

また、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、10 μ M(=25.8、258、2,580 μ g/L)の濃度に24時間ばく露(17 β -エストラジオール 0.01nM 共存下)したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容体 α 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

$\mu\text{M}(=258\mu\text{g/L})$ の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。また、標識 17β エストラジオール(濃度記載不明瞭)に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている(受容体を単離せず、培養細胞に1時間ばく露後の標識回収率を測定)。その結果として、 IC_{50} 値 $24\mu\text{M}(=6,200\mu\text{g/L})$ の濃度で結合阻害が認められた。

また、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルトetraリン 0.1、1、 $10\mu\text{M}(=25.8、258、2,580\mu\text{g/L})$ の濃度に24時間ばく露(17β エストラジオール 0.1nM 共存下)したヒト骨芽細胞 U2-OS (ヒトエストロゲン受容体 β 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、 $1\mu\text{M}(=258\mu\text{g/L})$ の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルトetraリン 0.1、1、 $10\mu\text{M}(=25.8、258、2,580\mu\text{g/L})$ の濃度に24時間ばく露(17β エストラジオール 0.01nM 共存下)したヒト骨芽細胞 U2-OS (ヒトエストロゲン受容体 α 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の阻害は認められなかった。(13821)(Δ OP)

③Schreurs ら(2005a)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルトetraリン 0.1、1、3、 $10\mu\text{M}(=25.8、258、775、2,580\mu\text{g/L})$ の濃度に24時間ばく露(17β エストラジオール 0.1nM 共存下)したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容体 β 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、 IC_{50} 値 $1.9\mu\text{M}(=491\mu\text{g/L})$ の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルトetraリン 0.1、1、3、 $10\mu\text{M}(=25.8、258、775、2,580\mu\text{g/L})$ の濃度に24時間ばく露(17β エストラジオール 0.003nM 共存下)したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容体 α 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の阻害は認められなかった。

なお、Schreurs ら(2005b)においてもほぼ同一の記載がある。(13815)(Δ OP)

④Mori ら(2007)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルトetraリン $0.0001\sim 100\mu\text{M}(=0.0258\sim 25,800\mu\text{g/L})$ の濃度に20時間ばく露(17β エストラジオール 1nM 共存下)したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 (ヒトエストロゲン受容体 α 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の阻害は認められなかった。(13814)(Δ ON)

(5)アンドロゲン作用

①Mori ら(2007)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルトetraリン $0.0001\sim 100\mu\text{M}(=0.0258\sim 25,800\mu\text{g/L})$ の濃度に20時間ばく露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)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められ

なかった。(13814)(△○N)

②Schreurs ら(2005a)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、3、10 μ M(=25.8、258、775、2,580 μ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (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。

なお、Schreurs ら(2005b)においてもほぼ同一の記載がある。(13815)(△○N)

(6)抗アンドロゲン作用

①Mori ら(2007)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 0.0001~100 μ M(=0.0258~25,800 μ g/L)の濃度に20時間ばく露(5 α -ジヒドロテストステロン 0.5nM 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、IC₅₀値 0.15 μ M(=38.8 μ 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。(13814)(△○P)

②Schreurs ら(2005a)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 0.1、1、3、10 μ M(=25.8、258、775、2,580 μ g/L)の濃度に24時間ばく露(5 α -ジヒドロテストステロン 0.1nM 共存下)したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (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、IC₅₀値 3.6 μ M(=930 μ 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。

なお、Schreurs ら(2005b)においてもほぼ同一の記載がある。(13815)(△○P)

(7)甲状腺ホルモン作用

①Mori ら(2007)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 0.0001~100 μ M(=0.0258~25,800 μ g/L)の濃度に20時間ばく露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 β を発現)によるレポーターアッセイ(ヒト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。(13814)(△○N)

(8)抗甲状腺ホルモン作用

①Mori ら(2007)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 0.0001~100 μ M(=0.0258~25,800 μ g/L)の濃度に20時間ばく露(トリヨードサイロニン 10nM 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 β を発現)によるレポーターアッセイ(ヒト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の阻害は認められなかった。(13814)(△○N)

(9) プロゲステロン作用

①Schreurs ら(2005a)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 0.001、0.01、0.1、1、3、10 μ M(=0.258、2.58、25.8、258、775、2,580 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト骨芽細胞 U2-OS (ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(ヒト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の阻害は認められなかった。(13815)(Δ ○N)

(10) 抗プロゲステロン作用

①Schreurs ら(2005a)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 0.001、0.01、0.1、1、3、10 μ M(=0.258、2.58、25.8、258、775、2,580 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(プロゲステロンアゴニスト ORG2058 0.03nM 共存下)したヒト骨芽細胞 U2-OS (ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(ヒト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。その結果として、IC₅₀ 値 0.02 μ M(=5.17 μ 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。(13815)(Δ ○P)

(11) ステロイド産生への影響

①Li ら(2013)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 0.25、2.5、25 μ M(=64.6、646、6,460 μ g/L)の濃度に 48 時間ばく露(8-ブロモ-cAMP 1mM 共存下)したヒト副腎皮質上皮がん細胞 H295R への影響が検討されている。その結果として、0.25 μ M(=64.6 μ g/L)以上のばく露区でプロゲステロン産生量の低値、2.5 μ M(=646 μ g/L)以上のばく露区で CYP17 比活性(プロゲステロンから 17 α ヒドロキシプロゲステロンへの代謝速度)の高値、25 μ M(=6,460 μ g/L)のばく露区でアルドステロン産生量、コルチゾール産生量、17 α ヒドロキシプロゲステロン産生量、テストステロン産生量、17 β エストラジオール産生量、メラノコルチン 2 受容体(MC2R: melanocortin 2 receptor) mRNA 相対発現量、CYP17 比活性(17 α ヒドロキシプロゲステロンからアンドロステンジオンへの代謝速度)の低値が認められた。なお、アンドロステンジオン産生量には影響は認められなかった。

また、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 0.25、2.5、25 μ M(=64.6、646、6,460 μ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト副腎皮質上皮がん細胞 H295R への影響が検討されている。その結果として、0.25 μ M(=64.6 μ g/L)以上のばく露区でプロゲステロン産生量の低値、CYP17 比活性(プロゲステロンから 17 α ヒドロキシプロゲステロンへの代謝速度)の高値、25 μ M(=6,460 μ g/L)のばく露区でコルチゾール産生量の低値が認められた。なお、メラノコルチン 2 受容体(MC2R: melanocortin 2 receptor) mRNA 相対発現量の高値、アルドステロン産生量、17 α ヒドロキシ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、17 β エストラジオール産生量、CYP17 比活性(17 α ヒドロキシプロゲステロンからアンドロステンジオンへの代謝速度)には影響は認められなかった。(13811)(○○P)

(12) 脂肪細胞の分化への影響

①Pereira-Fernandes ら(2013)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン 3.25、7.5、

15、30 μ M(=840、1,940、3,880、7,750 μ g/L)の濃度に10日間ばく露(2日目からインスリン10 μ g/mL共存下、2~3日毎に培地交換)したマウス脂肪前駆細胞3T3-L1への影響が検討されている。その結果として、3.25 μ M(=840 μ g/L)以上のばく露区で脂肪蓄積度(DLA: degree of lipid accumulation)の高値が認められた。

また、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン3.25、7.5、15、30 μ M(=840、1,940、3,880、7,750 μ g/L)の濃度に10日間ばく露(2~3日毎に培地交換)したマウス脂肪前駆細胞3T3-L1への影響が検討されている。その結果として、7.5 μ M(=1,940 μ g/L)以上のばく露区でDLAの高値が認められた。なお、30 μ M(=7,750 μ g/L)の濃度におけるDLAの高値は、PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ)アンタゴニストT0070907 10 μ M共存条件によっても阻害をうけなかった。

また、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン30 μ M(=7,750 μ g/L)の濃度に10日間ばく露(2~3日毎に培地交換)したマウス脂肪前駆細胞3T3-L1への影響が検討されている。その結果として、脂肪細胞特異的蛋白質2(aP2: adipocyte specific protein)相対発現量の高値が認められた。

また、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン1、3、10、30 μ M(=258、775、2,580、7,750 μ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト骨芽細胞U2-OS(ヒトPPAR γ を発現)によるレポーターアッセイ(PPAR γ 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 μ M(=2,580 μ 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。(14148)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：脂肪産生(obesogenic)作用

(13)ミクロソーム酵素への影響

①Schnellら(2009)によって、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン100 μ M(=25,800 μ g/L)の濃度にばく露したコイ肝臓ミクロソーム分画への影響が検討されている。その結果として、CYP1A比活性(EROD活性)、CYP3A比活性(BFCOD比活性)の阻害が認められた。

また、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン1,000 μ M(=258,000 μ g/L)の濃度にばく露したコイ精巣ミクロソーム分画への影響が検討されている。その結果として、CYP19比活性(P450アロマターゼ比活性)、CYP17比活性(17-ヒドロキシプロゲステロン代謝速度)、CYP17比活性(アンドロステンジオン代謝速度)の阻害が認められた。

また、7-アセチル-1,1,3,4,4,6-ヘキサメチルテトラリン100、1,000 μ M(=25,800、258,000 μ g/L)の濃度にばく露したコイ肝臓ミクロソーム分画への影響が検討されている。その結果として、100 μ M(=25,800 μ g/L)以上のばく露区でUDP-スルホトランスフェラーゼ比活性(17 β -エストラジオールを基質とする)の阻害、1,000 μ M(=258,000 μ g/L)のばく露区でUDP-グルクロニルトランスフェラーゼ比活性(α -ナフトールを基質とする)の誘導が認められた。なお、UDP-グルクロニルトランスフェラーゼ比活性(テストステロンを基質とする)、UDP-スルホトランスフェラーゼ比活性(α -ナフトールを基質とする)には影響は認められなかった。(13813)(\times -)

想定される作用メカニズム：ヘム代謝阻害

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、エスト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、抗アンドロゲン作用、抗プロゲステロン作用、脂肪細胞の分化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1に示した。

表1 信頼性評価のまとめ

物質名：6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルトetraリン（別名：トナリド又はAHTN）

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 ¹⁾	内分泌か く乱作用 との関連 の有無 ²⁾	内分泌か く乱作用 に関する 試験対象 物質とし て選定す る根拠と しての評 価 ³⁾
(1)生態影響		①Wollenberger ら (2003)評価未実施		
	エストロゲン様作用	②Yamauchi ら(2008)	△	○P
		③Breitholtz ら(2003) 評価未実施		
(2)生殖影響		①Seinen ら(1999)	△	○N
		②Api ら(2004) 評価未実施		
(3)エストロゲン作用		①Mori ら(2007)	△	○P
		②Seinen ら(1999)	△	○P
		③Schreurs ら(2002)	△	○P
		④Bitsch ら(2002)	△	○P
		⑤Schreurs ら (2005a)、Schreurs ら (2005b)	△	○N
(4)抗エストロゲン作用		①Schreurs ら(2004)	△	○P
		②Schreurs ら(2002)	△	○P
		③Schreurs ら (2005a)、Schreurs ら (2005b)	△	○P
		④Mori ら(2007)	△	○N
(5)アンドロゲン作用		①Mori ら(2007)	△	○N

		②Schreurs ら (2005a) 、Schreurs ら (2005b)	△	○N	×
(6)抗アンドロゲン作用		①Mori ら(2007)	△	○P	○
		②Schreurs ら (2005a) 、Schreurs ら (2005b)	△	○P	○
(7)甲状腺ホルモン作用		①Mori ら(2007)	△	○N	×
(8)抗甲状腺ホルモン作用		①Mori ら(2007)	△	○N	×
(9)プロゲステロン作用		①Schreurs ら(2005a)	△	○N	×
(10)抗プロゲステロン作用		①Schreurs ら(2005a)	△	○P	○
(11)ステロイド産生影響		①Li ら(2013)	○	○P	○
(12)脂肪細胞の分化への影響	脂肪産生 (obesogenic)作用	①Pereira-Fernandes ら(2013)	△	○P	○
(13)ミクロソーム酵素への影響	ヘム代謝阻害	①Schnell ら(2009)	×	—	×
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を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗プロゲステロン作用、脂肪細胞の分化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

- 13819: Wollenberger L, Breitholtz M, Ole Kusk K and Bengtsson BE (2003) Inhibition of larval development of the marine copepod *Acartia tonsa* by four synthetic musk substances. *Science of the Total Environment*, 305 (1-3), 53-64.
- 14149: Yamauchi R, Ishibashi H, Hirano M, Mori T, Kim JW and Arizono K (2008) Effects of synthetic polycyclic musks on estrogen receptor, vitellogenin, pregnane X receptor, and cytochrome P450 3A gene expression in the livers of male medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic Toxicology*, 90 (4), 261-268.
- 13820: Breitholtz M, Wollenberger L and Dinan L (2003) Effects of four synthetic musks on the

- life cycle of the harpacticoid copepod *Nitocra spinipes*. *Aquatic Toxicology*, 63 (2), 103-118.
- 13816: Api AM, Smith RL, Pipino S, Marczylo T and de Matteis F (2004) Evaluation of the oral subchronic toxicity of AHTN (7-Acetyl-1,1,3,4,4,6-hexamethyl-1,2,3,4-tetrahydronaphthalene) in the rat. *Food and Chemical Toxicology*, 42 (5), 791-801.
- 13814: Mori T, Iida M, Ishibashi H, Kohra S, Takao Y, Takemasa T and Arizono K (2007) Hormonal activity of polycyclic musks evaluated by reporter gene assay. *Environmental Sciences*, 14 (4), 195-202.
- 14151: Seinen W, Lemmen JG, Pieters RH, Verbruggen EM and van der Burg B (1999) AHTN and HHCb show weak estrogenic - but no uterotrophic activity. *Toxicology Letters*, 111 (1-2), 161-168.
- 13821: Schreurs RH, Quaedackers ME, Seinen W and van der Burg B (2002) Transcriptional activation of estrogen receptor ERalpha and ERbeta by polycyclic musks is cell type dependent. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 183 (1), 1-9.
- 7427: Bitsch N, Dudas C, Korner W, Failing K, Biselli S, Rimkus G and Brunn H (2002) Estrogenic activity of musk fragrances detected by the E-screen assay using human mcf-7 cells. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43 (3), 257-264.
- 13815: Schreurs RH, Sonneveld E, Jansen JH, Seinen W and van der Burg B (2005a) Interaction of polycyclic musks and UV filters with the estrogen receptor (ER), androgen receptor (AR), and progesterone receptor (PR) in reporter gene bioassays. *Toxicological Sciences*, 83 (2), 264-272.
- 14150: Schreurs RH, Sonneveld E, van der Saag PT, van der Burg B and Seinen W (2005b) Examination of the *in vitro* (anti)estrogenic, (anti)androgenic and (anti)dioxin-like activities of tetralin, indane and isochroman derivatives using receptor-specific bioassays. *Toxicology Letters*, 156 (2), 261-275.
- 13817: Schreurs RH, Legler J, Artola-Garicano E, Sinnige TL, Lanser PH, Seinen W and van der Burg B (2004) *In vitro* and *in vivo* antiestrogenic effects of polycyclic musks in zebrafish. *Environmental Science & Technology*, 38 (4), 997-1002.
- 13811: Li Z, Yin N, Liu Q, Wang C, Wang T, Wang Y, Qu G, Liu J, Cai Y, Zhou Q and Jiang G (2013) Effects of polycyclic musks HHCb and AHTN on steroidogenesis in H295R cells. *Chemosphere*, 90 (3), 1227-1235.

14148: Pereira-Fernandes A, Demaegdt H, Vandermeiren K, Hectors TL, Jorens PG, Blust R and Vanparys C (2013) Evaluation of a screening system for obesogenic compounds: screening of endocrine disrupting compounds and evaluation of the PPAR dependency of the effect. PLOS ONE, 8 (10), e77481.

13813: Schnell S, Martin-Skilton R, Fernandes D and Porte C (2009) The interference of nitro- and polycyclic musks with endogenous and xenobiotic metabolizing enzymes in carp: an *in vitro* study. Environmental Science & Technology, 43 (24), 9458-9464.

II. 2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン(別名：ベンゾフェノン-2)

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン(別名：ベンゾフェノン-2)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、抗甲状腺ホルモン作用、甲状腺ホルモン合成阻害作用、ステロイド合成経路への影響、免疫影響の有無及び疫学的調査に関する報告がある。

(1)生態影響

①Weisbrod ら(2007)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 10、100、1,000、5,000、10,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に15日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、1,000 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄血漿中ビテロゲニン濃度の高値、雄精巢中生殖細胞の発達遅延(精原細胞数が占める率の高値)、雌卵巢中卵母細胞の発達遅延(前卵黄形成期卵胞数が占める率の高値)、1,000、10,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄繁殖結節(nuptial tubercle)数の低値、5,000 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雌生殖腺体指数の低値、10,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄肥満度(condition factor)、雄生殖腺体指数の低値が認められた。なお、雌の生存率、体重、体長、血漿中ビテロゲニン濃度、肥満度、雄の生存率、体重、体長には影響は認められなかった。(13980)(評価結果の略号： Δ OP)

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用

②Haselman ら(2016)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 1,600 \pm 100、3,500 \pm 200、6,100 \pm 100 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度、設定濃度 1,500、3,000、6,000 $\mu\text{g/L}$ に相当)に Nieuwkoop & Faber (NF) stage 8 から NF stage 62 までばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)幼生への影響が検討されている。その結果として、1,600 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で血漿中ビテロゲニン濃度(遺伝的雌雄)、甲状腺濾胞上皮細胞の軽度な過形成発生率の高値、3,500 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で甲状腺の中程度の肥大発生率、甲状腺濾胞上皮細胞の中程度の腫大発生率の高値、3,500 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で遺伝的雌の肝臓体指数の高値(6,100 $\mu\text{g/L}$ 区では低値)、6,100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で体重(遺伝的雌雄)、体長(snout-vent length)(遺伝的雌雄)の低値、死亡率の高値が認められた。

更に、上記 NF stage 62 到達日中央値から10週間継続ばく露したアフリカツメガエル(*X. laevis*)幼若個体への影響が検討されている。その結果として、1,600 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で遺伝的雌における卵巢発達段階及び卵管発達段階の低値、遺伝的雄における軽微な精巢卵の発生率及び精巢の卵巣への転換発生率の高値、3,500 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区でウォルフ管の発達段階(遺伝的雌雄)の高値、6,100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で死亡率の高値が認められた。(14145)(\circ OP)

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用

③Thienpont ら(2011)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 1~100 μM (=246~24,600 $\mu\text{g/L}$ 、設定濃度)に受精48時間後から3日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)卵稚仔への影響が検討されている。その結果として、IC₅₀値 19.1 μM (=4,700 $\mu\text{g/L}$)で甲状腺濾胞内サイロキシン濃度(IT4C: intrafollicular T4-content)の濃度依存的な低値が認められた。(13657)(Δ OP)

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

- ④Kunz と Fent (2009)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 10、100、1,000、5,000、10,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に2～3ヶ月齢から14日間ばく露した幼若ファットヘッドミノー (*Pimephales promelas*)への影響(雌雄混合)が検討されている。その結果として、5,000 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で全身中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。なお、肥満度には影響は認められなかった。(13978)(○●P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用

(2)生殖影響

- ①Kim ら(2011)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 50mg/kg を5週齢に単回腹腔内投与した雄 C57BL/6J(B6)マウス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、精巣中 StAR mRNA 相対発現量、精巣中 P450c17 mRNA 相対発現量、精巣中 P450scc 蛋白質相対発現量の低値、精巣中 3 β ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ mRNA 相対発現量、精巣中 3 β ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、精巣中テストステロン濃度、精巣中 StAR 蛋白質相対発現量、精巣中 P450c17 蛋白質相対発現量、精巣中 P450scc mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(13977)(△●P)

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン合成経路への影響

(3)甲状腺影響

- ①Schmutzler ら(2007)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 10、33、100、333、1,000mg/kg/day を5日間経口投与(餌中よう素濃度 2.1ppm)した成熟雌 SD ラット(約2ヶ月齢で両卵巢摘出处置、その後14日間馴養)への影響が検討されている。その結果として、33mg/kg/day のばく露群で肝臓中 5 α -デオナーゼ比活性の高値(1,000mg/kg/day 群では有意な低値)、333mg/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、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値が認められた。なお、血清中総トリヨードサイロニン濃度、甲状腺中ペルオキシダーゼ (TPO)比活性には影響は認められなかった。(10858)(×—)

想定される作用メカニズム：視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用

(4)エストロゲン作用

- ①Schlecht ら(2006)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 10、33、100、333、1,000mg/kg/day を5日間経口投与した雌 SD ラット(卵巢摘出处置、投与開始まで2週間馴養)への影響が検討されている。その結果として、33mg/kg/day 以上のばく露群で下垂体中 TERP1 (truncated エストロゲン受容体蛋白質1) mRNA 相対発現量の高値、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中コレステロール濃度、血清中高密度リポ蛋白質濃度の低値、子宮相対重量(wet)、子宮中 C3 (complement 蛋白質3) mRNA 相対発現量、子宮中 IGF1 (インシュリン様成長因子1) mRNA 相対発現量の高値、333mg/kg/day 以上のばく露群で下垂体中 LH β (黄体形成ホルモン β サブユニット) mRNA 相対発現量、下垂体中 LH α (黄体形成ホルモン α サブユニット) mRNA 相対発現量、

血清中低密度リポ蛋白質濃度の低値、子宮中 $ER\beta$ (エストロゲン受容体 β) mRNA 相対発現量の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で肝臓中 IGF1 (インシュリン様成長因子 1) mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、血清中レプチン濃度には影響は認められなかった。(13983)(Δ OP)

②Koda ら(2005)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 100、250、625mg/kg/day を 13~14 週齢から 3 日間皮下投与した雌 SD ラット雌(卵巣摘出处置、投与開始まで 2 週間馴養)への影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で子宮絶対及び相対重量(wet 及び blotted)の高値が認められた。なお、体重には影響は認められなかった。(13985)(\circ OP)

③Yamasaki ら(2003a)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 40、200、800mg/kg/day を 19 日齢から 3 日間皮下投与した雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、200mg/kg/day 以上のばく露群で子宮絶対及び相対重量(blotted)の高値が認められた。なお、体重には影響は認められなかった。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.00246、0.0246、0.246、2.46、24.6、246、2,460 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト子宮頸がん細胞 HeLa (ヒトエストロゲン受容体 α 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、ルシフェラーゼ発現誘導が認められた(作用濃度の記載不明瞭)。(13990)(\circ OP)

⑤Yamasaki ら(2003b)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 40、200、800mg/kg/day を 19 日齢から 3 日間皮下投与した雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、200mg/kg/day 以上のばく露群で子宮絶対及び相対重量の高値が認められた。なお、体重には影響は認められなかった。(5714)(Δ OP)

⑥Schlecht ら(2004)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 250、1,000mg/kg/day を 5 日間経口投与した雌 SD ラット雌(卵巣摘出处置、投与開始まで 2 週間馴養)への影響(最終投与 4 時間後)が検討されている。その結果として、250mg/kg/day 以上のばく露群で子宮相対重量(wet)、1,000mg/kg/day のばく露群で子宮中 ERR1 (エストロゲン受容体関連受容体 1) mRNA 相対発現量、子宮中 $ER\alpha$ (エストロゲン受容体 α) mRNA 相対発現量、子宮中 $ER\beta$ (エストロゲン受容体 β) mRNA 相対発現量、甲状腺中 ERR1 (エストロゲン受容体関連受容体 1) mRNA 相対発現量、下垂体及び甲状腺中 AhR (芳香族炭化水素受容体) mRNA 相対発現量の低値、甲状腺中 $ER\beta$ (エストロゲン受容体 β) mRNA 相対発現量の高値が認められた。(13987)(Δ OP)

⑦Ohta ら(2012)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 30、100、300、1,000mg/kg/day を 8 週齢から 7 日間経口投与した雌 C57BL/6J マウス(卵巣摘出处置、投与開始まで 2 週間馴養)への影響が検討されている。その結果として、1,000mg/kg/day のばく露群で子宮絶対重量の高値が認められた。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 30、100、300、1,000mg/kg/day を 8 週齢から 7 日間皮下投与した雌 C57BL/6J マウス(卵巣摘出处置、投与開始まで 2 週間馴養)への影響が検討されている。その結果として、300mg/kg/day 以上のばく露群で子宮絶対重量の高値が認められた。(13269)(\circ OP)

⑧Matsumoto ら(2005)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.03、0.1、0.3、

1、3、10、30、100 μ M(=2.46、7.38、24.6、73.8、246、738、2,460、7,380、24,600 μ g/L)の濃度に2日間ばく露したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHOOSER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アルカリ性ホスファターゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、0.03 μ M(=7.38 μ g/L)以上の濃度区でアルカリ性ホスファターゼ発現誘導が認められた。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.1、0.3、1、3、10、30、100 μ M(=24.6、73.8、246、738、2,460、7,380、24,600 μ g/L)の濃度に5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、0.3 μ M(=73.8 μ g/L)以上の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。なお、この影響は、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182,780 1 μ M 共存下で消失した。(13984)(\bigcirc \bigcirc P)

⑨Suzuki ら(2005)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.1、1、10、100 μ M(=2.46、24.6、246、2,460、24,600 μ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7(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、EC₅₀値 0.30 μ M(=74 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。(13986)(Δ \bigcirc P)

⑩Molina-Molina ら(2008)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10、30、100 μ M(=2.46、7.38、24.6、73.8、246、738、2,460、7,380、24,600 μ g/L)の濃度に16時間ばく露したヒト乳がん細胞 HELN-rtER α (HeLa 由来、ニジマスエストロゲン受容体 α を安定発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、0.1 μ M(=24.6 μ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10、30、100 μ M(=2.46、7.38、24.6、73.8、246、738、2,460、7,380、24,600 μ g/L)の濃度に16時間ばく露したヒト乳がん細胞 HELN-ER β (HeLa 由来、ヒトエストロゲン受容体 β を安定発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、0.3 μ M(=73.8 μ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。なお、細胞増殖試験(10日間)においては、0.1 μ M(=24.6 μ g/L)以上の濃度区で細胞増殖の阻害が認められた。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10、30、100 μ M(=2.46、7.38、24.6、73.8、246、738、2,460、7,380、24,600 μ g/L)の濃度に16時間ばく露したヒト乳がん細胞 HELN-ER α (HeLa 由来、ヒトエストロゲン受容体 α を安定発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、1 μ M(=246 μ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。なお、細胞増殖試験(10日間)においては、0.1 μ M(=24.6 μ g/L)以上の濃度区で細胞増殖の阻害が認められた。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10、30、100 μ M(=2.46、7.38、24.6、73.8、246、738、2,460、7,380、24,600 μ g/L)の濃度に16時間ばく露したヒト乳がん

細胞 MELN (MCF-7 由来、ヒトエストロゲン受容体 α 陽性)によるレポーターアッセイ(エストロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、1 μ M(=246 μ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 1、3、10、30、100 μ M(=246、738、2,460、7,380、24,600 μ g/L)の濃度に4時間ばく露したニジマス肝臓細胞への影響が検討されている。その結果として、3 μ M(=738 μ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた(ただし、100 μ M では細胞毒性が確認された)。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10、30、100 μ M(=2.46、7.38、24.6、73.8、246、738、2,460、7,380、24,600 μ g/L)の濃度に16時間ばく露したヒト乳がん細胞 HELN (HeLa 由来)によるレポーターアッセイ(エストロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。(13979)(Δ OP)

※参考 エストロゲン作用(今回評価対象としなかった文献)

- ④Seidlová-Wuttke ら(2005)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 153、677mg/kg/day を12週間混餌投与した雌SDラット(卵巣摘出处置後、投与開始までの馴養期間なし)への影響が検討されている。その結果として、153mg/kg/day 以上のばく露群で増加体重、日毎摂餌量、後脚脂肪蓄積量、血清中レプチン濃度、血清中低密度リポ蛋白質濃度、血清中高密度リポ蛋白質濃度、血清中コレステロール濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、677mg/kg/day のばく露群で日毎摂水量、血清中サイロキシシン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度の低値が認められた。なお、血清中トリグリセリド濃度には影響は認められなかった。(5602)

評価未実施の理由：有意な結果が得られた低用量における評価項目が一般毒性と考えられたため

(5)抗エストロゲン作用

- ①Yamasaki ら(2003a)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 40、200、800mg/kg/day を19日齢から3日間皮下投与(17 α -エチニルエストラジオール 0.6 μ g/kg/day を同時皮下投与)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、40、200mg/kg/day のばく露群で子宮絶対重量(blotted)の低値(800mg/kg/day 群では影響なし)、200mg/kg/day のばく露群で子宮相対重量(blotted)の低値(800mg/kg/day 群では高値)が認められた。なお、体重には影響は認められなかった。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.00001~100 μ M(=0.00246~24,600 μ g/L)の濃度で標識 17 β -エストラジオール 5nM に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、結合阻害が認められた(作用濃度の記載不明瞭、力価として 17 β -エストラジオールの 0.0925%に相当)。

なお、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.00246、0.0246、0.246、2.46、24.6、246、2,460 μ g/L)の濃度に24時間ばく露(17 β -エストラジオール 25pM 共存下)したヒト子宮頸がん細胞 HeLa (ヒトエストロゲン受容体 α 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の阻害は認められなかった。(13990)(○●P)

②Yamasaki ら(2003b)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 40、200、800mg/kg/day を 19 日齢から 3 日間皮下投与(17 α エチニルエストラジオール 0.6 μ g/kg/day を同時皮下投与)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、40、200mg/kg/day のばく露群で子宮絶対重量の低値(800mg/kg/day 群では影響なし)、200mg/kg/day のばく露群で子宮相対重量の低値(800mg/kg/day 群では高値)が認められた。なお、体重には影響は認められなかった。(5714)(△○P)

③Ohta ら(2012)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 30、100、300、1,000mg/kg/day を 8 週齢から 7 日間経口投与(17 α エチニルエストラジオール 0.6 μ g/kg/day を同時皮下投与)した雌 C57BL/6J マウス(卵巣摘出处置、投与開始まで 2 週間馴養)への影響が検討されている。その結果として、1,000mg/kg/day のばく露群で子宮絶対重量の低値が認められた。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 30、100、300、1,000mg/kg/day を 8 週齢から 7 日間皮下投与(17 α エチニルエストラジオール 0.6 μ g/kg/day を同時皮下投与)した雌 C57BL/6J マウス(卵巣摘出处置、投与開始まで 2 週間馴養)への影響が検討されている。その結果として、100、300mg/kg/day のばく露群で子宮絶対重量の低値が認められた(1,000mg/kg/day 群では高値)。(13269)(○●P)

④Matsumoto ら(2005)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン(試験濃度範囲の記載なし)のヒトエストロゲン受容体 β へのエストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182,780 1 μ M に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 0.18 μ M(=44 μ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン(試験濃度範囲の記載なし)のヒトエストロゲン受容体 α へのエストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182,780 1 μ M に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 0.29 μ M(=71 μ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。(13984)(○●P)

⑤Molina-Molina ら(2008)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10、30、100 μ M(=2.46、7.38、24.6、73.8、246、738、2,460、7,380、24,600 μ g/L)の濃度に 3 時間ばく露(標識 17 β エストラジオール 0.3nM 共存下)したヒト乳がん細胞 HELN-rtER α (HeLa 由来、ニジマスエストロゲン受容体 α を安定発現)による結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、0.03 μ M(=7.38 μ g/L)以上の濃度区で結合阻害が認められた。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10、30、100 μ M(=2.46、7.38、24.6、73.8、246、738、2,460、7,380、24,600 μ g/L)の濃度に 3 時間ばく露(標識 17 β エストラジオール 0.1nM 共存下)したヒト乳がん細胞 HELN-ER β (HeLa 由来、ヒトエストロゲン受容体 β を安定発現)による結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、0.03 μ M(=7.38 μ g/L)以上の濃度区で結合阻害が認められた。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10、30、100 μ M(=2.46、

7.38、24.6、73.8、246、738、2,460、7,380、24,600 $\mu\text{g/L}$ の濃度に3時間ばく露(標識17 β エストラジオール0.1nM共存下)したヒト乳がん細胞 HELN-ER α (HeLa 由来、ヒトエストロゲン受容体 α を安定発現)による結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、0.1 μM (=24.6 $\mu\text{g/L}$)以上の濃度区で結合阻害が認められた。(13979)(Δ OP)

(6)アンドロゲン作用

- ①Yamasaki ら(2003b)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 50、200、600 (400、強毒性のため投与期間途中で減量)mg/kg/day を56日齢から10日間経口投与した雄SDラット(精巣摘出処置後、投与開始まで14日間馴養)への影響が検討されている。その結果として、200mg/kg/day以上のばく露群で体重の低値が認められたが、腹側前立腺相対重量、精嚢相対重量、肛門挙筋+球海綿体筋相対重量、陰茎相対重量、カウパー腺相対重量には影響は認められなかった。(5714)(Δ ON)
- ②Suzuki ら(2005)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.1、1、10、100 μM (=2.46、24.6、246、2,460、24,600 $\mu\text{g/L}$)の濃度に24時間ばく露したマウス胎仔線維芽細胞 NIH3T3 (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。(13986)(Δ ON)
- ③Molina-Molina ら(2008)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10 μM (=2.46、7.38、24.6、73.8、246、738、2,460 $\mu\text{g/L}$)の濃度に40時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 PALM (PC3 系統、ヒトアンドロゲン受容体を発現発現)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。(13979)(Δ ON)

(7)抗アンドロゲン作用

- ①Yamasaki ら(2003b)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 50、200、600 (400、強毒性のため投与期間途中で減量)mg/kg/day を56日齢から10日間経口投与(テストステロンプロピオネート0.2mg/kg/dayを同時皮下投与)した雄SDラット(精巣摘出処置後、投与開始まで14日間馴養)への影響が検討されている。その結果として、600 (400)mg/kg/dayのばく露群で体重の低値が認められたが、腹側前立腺相対重量、精嚢相対重量、肛門挙筋+球海綿体筋相対重量、陰茎相対重量、カウパー腺相対重量には影響は認められなかった。(5714)(Δ ON)
- ②Molina-Molina ら(2008)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10 μM (=2.46、7.38、24.6、73.8、246、738、2,460 $\mu\text{g/L}$)の濃度に40時間ばく露(アンドロゲン受容体アゴニスト R1881 0.2nM 共存下)したヒト前立腺がん細胞 PALM (PC3 系統、ヒトアンドロゲン受容体を発現発現)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、0.3 μM (=73.8 $\mu\text{g/L}$)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(13979)(Δ OP)
- ③Suzuki ら(2005)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.1、1、10、

100 μ M(=2.46、24.6、246、2,460、24,600 μ g/L)の濃度に24時間ばく露(5 α -ジヒドロテストステロン 0.1nM 共存下)したマウス胎仔線維芽細胞 NIH3T3 (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、IC₅₀ 値 1.53 μ M(=377 μ 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。(13986)(Δ OP)

(8)抗甲状腺ホルモン作用

①Zhang ら(2015)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 10 μ M(=2,460 μ g/L)までの濃度でヒトトランスサイレチンによる対標識サイロキシン結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 0.62 μ M(=153 μ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。(13972)(Δ OP)

(9)甲状腺ペルオキシダーゼへの影響(甲状腺ホルモン合成阻害作用)

①Paul ら(2014)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.0001~100 μ M(=0.0246~24,600 μ g/L)の濃度で雄 LE ラット甲状腺由来ミクロソームへの影響が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 0.16 μ M(=39.4 μ g/L)で濃度依存的な TPO 活性(グアイアコールを基質とする)の阻害が認められた。(10812)(Δ OP)

②Schmutzler ら(2007)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.0001~10 μ M(=0.0246~2,460 μ g/L)の濃度でヒト甲状腺ペルオキシダーゼ(TPO)への影響が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 0.45 μ M(=111 μ g/L)で濃度依存的な TPO 活性(グアイアコールを基質とする)の阻害が認められた。なお、この阻害活性は、過酸化水素 10 μ M 共存条件下で消失し、よう素イオン 10 μ M 共存条件下で回復した。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.1、1、10、100 μ M(=24.6、246、2,460、24,600 μ g/L)の濃度に5日間ばく露したラット甲状腺細胞 FRTL-5 への影響が検討されているが、よう素イオン取り込み率には影響は認められなかった。(10858)(\times -)

③Song ら(2011)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 1 μ M(=246 μ g/L)の濃度でヒト甲状腺ペルオキシダーゼ(TPO、ヒト甲状腺がん細胞 FTC-238/TPO に遺伝子導入し大量発現)への影響が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 0.16 μ M(=39.4 μ g/L)で濃度依存的な TPO 活性(グアイアコールを基質とする)の阻害が認められた。(10842)(Δ OP)

(10)ステロイド合成経路への影響

①Kim ら(2011)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 30 μ M(=7、380 μ g/L)の濃度にはく露(300 μ M 8Br-cAMP 共存下)したマウスライディッヒ細胞 MA-10 への影響(mRNA 相対発現量は8時間、ホルモン産生量は36時間後)が検討されている。その結果として、プロゲステロン産生量、精巣中 P450c17 mRNA 相対発現量、精巣中 P450scc mRNA 相対発現量の低値、StAR mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 30 μ M(=7、380 μ g/L)の濃度にはく露(30nM トリヨードサイロニン及び 300 μ M 8Br-cAMP 共存下)したマウスライディッヒ細胞 MA-10 への影響

(mRNA 相対発現量は 8 時間、ホルモン産生量は 36 時間後)が検討されている。その結果として、プロゲステロン産生量、テストステロン産生量、精巣中 P450c17 mRNA 相対発現量、精巣中 P450scc mRNA 相対発現量の低値、StAR mRNA 相対発現量、 3β ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ mRNA 相対発現量の高値が認められた。(13977)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：ステロイド合成経路への影響

※参考 (11)免疫影響(今回評価対象としなかった文献)

- ①Rachon^ら(2006)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.1、1、10 μ M(=0.246、24.6、246、2,460 μ g/L)の濃度に 48 時間ばく露した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、インターフェロン産生量比(インターフェロン- γ 対インターフェロン-10)の低値が認められた。なお、インターフェロン γ 産生量、インターロイキン-10 産生量には影響は認められなかった。(13982)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

(12)疫学的調査

- ①Bae^ら(2016)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン(BP-2)について、米国ミシガン州及びテキサス州の 16 郡にて 2005 年から 2009 年にかけて 2 ヶ月以内に妊娠予定の夫婦 501 組(夫平均年齢 31.4 \pm 4.6 歳、妻平均年齢 29.6 \pm 3.7 歳、夫尿中 BP-2 検出率は夫婦共に 28%、最終的に単一児を出産)を対象に、夫婦のベンゾフェノン系紫外線吸収剤ばく露と出生時性比 SSR (secondary sex ratio)との関連性について検討されている。その結果として、修正ポアソン回帰モデル分析 (n=205)にて、尿中 BP-2 濃度の第 1 三分位群との比較において、妻の第 2 三分位群の SSR 補正リスク比の低値、夫の第 3 三分位群の SSR 補正リスク比の低値が認められた。(13971)(O?)

想定される作用メカニズム：不明

- ②Buck Louis^ら(2016)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン(BP-2)について、米国ミシガン州及びテキサス州の 16 郡にて 2005 年から 2009 年にかけて 2 ヶ月以内に妊娠予定の夫婦 501 組(このうち妊娠 347 組の夫平均年齢 31.6 \pm 4.6 歳、妻平均年齢 29.8 \pm 3.9 歳。非妊娠 54 組の夫平均年齢 32.4 \pm 5.3 歳、妻平均年齢 30.6 \pm 4.3 歳)を対象に、夫婦の化学物質ばく露と受胎確率 (fecundability)との関連性について検討されている。その結果として、Cox モデリングにて、尿中 BP-2 濃度が 75%未満の群との比較において、75%パーセンタイル値以上の群の夫の fecundability 補正オッズ比の低値が認められた。なお、妻の fecundability 補正オッズ比には影響は認められた。(13970)(O?)

想定される作用メカニズム：不明

- ③Buck Louis^ら(2014)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン(BP-2)について、米国ミシガン州及びテキサス州の 16 郡にて 2005 年から 2009 年にかけて 2 ヶ月以内に妊娠予定の夫婦 501 組(夫平均年齢 29.0 歳、妻平均年齢 31.0 歳、夫尿中 BP-2 検出率は夫婦共に 28%)を対象に、夫婦のベンゾフェノン系紫外線吸収剤ばく露と受胎確率(fecundability)との関連性について検討されている。その結果として、尿中 BP-2 濃度が 75%未満の群との比較において、75%パーセンタイ

ル値以上の群の夫の fecundability 補正オッズ比の低値が認められた。なお、妻の fecundability 補正オッズ比には影響は認められなかった。(13973)(○?)

想定される作用メカニズム：不明

④Kunisue ら(2012)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノンについて、米国ユタ州 Salt Lake 市及びカリフォルニア州 San Francisco 市において、2007年から2009年にかけてにかけて、Operative Cohort として医療機関にて腹腔鏡検査又は開腹手術を予定する女性 473名(18~44歳、子宮内膜症発生率 190/625)を対象に、夫婦のベンゾフェノン系紫外線吸収剤ばく露と子宮内膜症発生率との関連性について検討されている。その結果として、Population Cohort (Operative Cohort の matched cohort)として医療機関 50 マイル圏内に居住する女性 127名(子宮内膜症発生率 14/283)との比較が検討されたが、BP-2 については検出率が 5.6%と低く、他変数ロジスティック回帰分析による子宮内膜症発生率の補正オッズ比の分析対象外とされた。(13976)(×-)

想定される作用メカニズム：不明

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、視床下部-下垂体-甲状腺軸への作用、ステロイドホルモン合成経路への影響を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、甲状腺ペルオキシダーゼへの影響、ステロイド合成経路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 2 に示した。

表 2 信頼性評価のまとめ

物質名：2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン (別名：ベンゾフェノン-2)

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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(1) 生態影響	エストロゲン様作用、視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用	①Weisbrod ら(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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との 関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に 関する試験対象物質として 選定する根拠としての 評価 ³⁾	
	エストロゲン様作用、 視床下部一下垂体— 生殖腺軸への作用	②Haselman ら(2016)	○	○P	○
	視床下部一下垂体— 甲状腺軸への作用	③Thienpont ら(2011)	△	○P	○
	エストロゲン様作用	④Kunz と Fent (2009)	○	○P	○
(2) 生殖 影響	ステロイドホルモン 合成経路への影響	①Kim ら(2011)	△	○P	○
(3) 甲 状 腺影響影 響	視床下部一下垂体— 甲状腺軸への作用	①Schmutzler ら (2007)	×	—	×
(4)エストロゲン作用		①Schlecht ら(2006)	△	○P	○
		②Koda ら(2005)	○	○P	○
		③Yamasaki ら (2003a)	○	○P	○
		④Seidlová-Wuttke ら (2005)評価未実施			
		⑤Yamasaki ら (2003b)	△	○P	○
		⑥Schlecht ら(2004)	△	○P	○
		⑦Ohta ら(2012)	○	○P	○
		⑧Matsumoto ら (2005)	○	○P	○
		⑨Suzuki ら(2005)	△	○P	○
		⑩Molina-Molina ら (2008)	△	○P	○
(5)抗エストロゲン作用		①Yamasaki ら (2003a)	○	○P	○
		②Yamasaki ら (2003b)	△	○P	○
		③Ohta ら(2012)	○	○P	○
		④Matsumoto ら (2005)	○	○P	○
		⑤Molina-Molina ら (2008)	△	○P	○
(6)アンドロゲン作用		①Yamasaki ら (2003b)	△	○N	×
		②Suzuki ら(2005)	△	○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 ¹⁾	内分泌かく 乱作用との 関連の有無 ²⁾	内分泌かく 乱作用に関 する試験対 象物質とし て選定する 根拠として の評価 ³⁾
	③Molina-Molina ら (2008)	△	○N	×
(7)抗アンドロゲン作用	①Yamasaki ら (2003b)	△	○N	×
	②Molina-Molina ら (2008)	△	○P	○
	③Suzuki ら(2005)	△	○P	○
(8)抗甲状腺ホルモン作用	①Zhang ら(2015)	△	○P	○
(9)甲状腺ペルオキシダーゼへの 影響(甲状腺ホルモン合成阻害作 用)	①Paul ら(2014)	△	○P	○
	② Schmutzler ら (2007)	×	—	×
	③Song ら(2011)	△	○P	○
(10)ステロイド合成経路への影響	①Kim ら(2011)	△	○P	○
(11)免疫影響	①Rachoń ら(2006) 評価未実施			
(12)疫学的調査	①Bae ら(2016)	○	?	—
	②Buck Louis ら (2016)	○	?	—
	③Buck Louis ら (2014)	○	?	—
	④Kunisue ら(2012)	×	—	×
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、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、ステロイドホルモン合成経路への影響を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、甲状腺ペルオキシダーゼへの影響、ステロイド合成経路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

- 13980: Weisbrod CJ, Kunz PY, Zenker AK and Fent K (2007) Effects of the UV filter benzophenone-2 on reproduction in fish. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 225 (3), 255-266.
- 14145: Haselman JT, Sakurai M, Watanabe N, Goto Y, Onishi Y, Ito Y, Onoda Y, Kosian PA, Korte JJ, Johnson RD, Iguchi T and Degitz SJ (2016) Development of the Larval Amphibian Growth and Development Assay: Effects of benzophenone-2 exposure in *Xenopus laevis* from embryo to juvenile. *Journal of Applied Toxicology*, 36 (12), 1651-1661.
- 13657: Thienpont B, Tingaud-Sequeira A, Prats E, Barata C, Babin PJ and Raldua D (2011) Zebrafish eleutheroembryos provide a suitable vertebrate model for screening chemicals that impair thyroid hormone synthesis. *Environmental Science & Technology*, 45 (17), 7525-7532.
- 13978: Kunz PY and Fent K (2009) Estrogenic activity of ternary UV filter mixtures in fish (*Pimephales promelas*) - an analysis with nonlinear isobolograms. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 234 (1), 77-88.
- 13977: Kim Y, Ryu JC, Choi HS and Lee K (2011) Effect of 2,2',4,4'-tetrahydroxybenzophenone (BP2) on steroidogenesis in testicular Leydig cells. *Toxicology*, 288 (1-3), 18-26.
- 10858: Schmutzler C, Bacinski A, Gotthardt I, Huhne K, Ambrugger P, Klammer H, Schlecht C, Hoang-Vu C, Gruters A, Wuttke W, Jarry H and Kohrle J (2007) The ultraviolet filter benzophenone 2 interferes with the thyroid hormone axis in rats and is a potent *in vitro* inhibitor of human recombinant thyroid peroxidase. *Endocrinology*, 148 (6), 2835-2844.
- 13983: Schlecht C, Klammer H, Wuttke W and Jarry H (2006) A dose-response study on the estrogenic activity of benzophenone-2 on various endpoints in the serum, pituitary and uterus of female rats. *Archives of Toxicology*, 80 (10), 656-661.
- 13985: Koda T, Umezu T, Kamata R, Morohoshi K, Ohta T and Morita M (2005) Uterotrophic effects of benzophenone derivatives and a *p*-hydroxybenzoate used in ultraviolet screens. *Environmental Research*, 98 (1), 40-45.
- 13990: Yamasaki K, Takeyoshi M, Yakabe Y, Sawaki M and Takatsuki M (2003a) Comparison of the reporter gene assay for ER-alpha antagonists with the immature rat uterotrophic assay of 10 chemicals. *Toxicology Letters*, 142 (1-2), 119-131.

- 5602: Seidlová-Wuttke D, Jarry H, Christoffel J, Rimoldi G and Wuttke W (2005) Effects of bisphenol-A (BPA), dibutylphtalate (DBP), benzophenone-2 (BP2), procymidone (Proc), and linurone (Lin) on fat tissue, a variety of hormones and metabolic parameters: a 3 months comparison with effects of estradiol (E2) in ovariectomized (ovx) rats. *Toxicology*, 213 (1-2), 13-24.
- 5714: Yamasaki K, Takeyoshi M, Sawaki M, Imatanaka N, Shinoda K and Takatsuki M (2003b) Immature rat uterotrophic assay of 18 chemicals and Hershberger assay of 30 chemicals. *Toxicology*, 183 (1-3), 93-115.
- 13987: Schlecht C, Klammer H, Jarry H and Wuttke W (2004) Effects of estradiol, benzophenone-2 and benzophenone-3 on the expression pattern of the estrogen receptors (ER) alpha and beta, the estrogen receptor-related receptor 1 (ERR1) and the aryl hydrocarbon receptor (AhR) in adult ovariectomized rats. *Toxicology*, 205 (1-2), 123-130.
- 13269: Ohta R, Takagi A, Ohmukai H, Marumo H, Ono A, Matsushima Y, Inoue T, Ono H and Kanno J (2012) Ovariectomized mouse uterotrophic assay of 36 chemicals. *Journal of Toxicological Sciences*, 37 (5), 879-889.
- 13984: Matsumoto H, Adachi S and Suzuki Y (2005) [Estrogenic activity of ultraviolet absorbers and the related compounds]. *Yakugaku Zasshi. Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 125 (8), 643-652.
- 13986: Suzuki T, Kitamura S, Khota R, Sugihara K, Fujimoto N and Ohta S (2005) Estrogenic and antiandrogenic activities of 17 benzophenone derivatives used as UV stabilizers and sunscreens. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 203 (1), 9-17.
- 13979: Molina-Molina JM, Escande A, Pillon A, Gomez E, Pakdel F, Cavallès V, Olea N, Ait-Aïssa S and Balaguer P (2008) Profiling of benzophenone derivatives using fish and human estrogen receptor-specific *in vitro* bioassays. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 232 (3), 384-395.
- 13972: Zhang J, Kamstra JH, Ghorbanzadeh M, Weiss JM, Hamers T and Andersson PL (2015) *In Silico* Approach To Identify Potential Thyroid Hormone Disruptors among Currently Known Dust Contaminants and Their Metabolites. *Environmental Science & Technology*, 49 (16), 10099-10107.
- 10812: Paul KB, Hedge JM, Rotroff DM, Hornung MW, Crofton KM and Simmons SO (2014) Development of a thyroperoxidase inhibition assay for high-throughput screening. *Chemical Research in Toxicology*, 27 (3), 387-399.

- 10842: Song M, Kim YJ, Song MK, Choi HS, Park YK and Ryu JC (2011) Identification of classifiers for increase or decrease of thyroid peroxidase activity in the FTC-238/hTPO recombinant cell line. *Environmental Science & Technology*, 45 (18), 7906-7914.
- 13982: Rachoń D, Rimoldi G and Wuttke W (2006) *In vitro* effects of benzophenone-2 and octyl-methoxycinnamate on the production of interferon-gamma and interleukin-10 by murine splenocytes. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 28 (3), 501-510.
- 13971: Bae J, Kim S, Kannan K and Buck Louis GM (2016) Couples' urinary concentrations of benzophenone-type ultraviolet filters and the secondary sex ratio. *Science of the Total Environment*, 543 (Pt A), 28-36.
- 13970: Buck Louis GM, Barr DB, Kannan K, Chen Z, Kim S and Sundaram R (2016) Paternal exposures to environmental chemicals and time-to-pregnancy: overview of results from the LIFE study. *Andrology*, 4 (4), 639-647.
- 13973: Buck Louis GM, Kannan K, Sapra KJ, Maisog J and Sundaram R (2014) Urinary concentrations of benzophenone-type ultraviolet radiation filters and couples' fecundity. *American Journal of Epidemiology*, 180 (12), 1168-1175.
- 13976: Kunisue T, Chen Z, Buck Louis GM, Sundaram R, Hediger ML, Sun L and Kannan K (2012) Urinary concentrations of benzophenone-type UV filters in U.S. women and their association with endometriosis. *Environmental Science & Technology*, 46 (8), 4624-4632.

Ⅲ. フタル酸ジ-*n*-オクチル

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

フタル酸ジ-*n*-オク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、生殖影響、発達影響、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用の有無及び疫学的調査に関する報告がある。

※参考 (1)生態影響(今回評価対象としなかった文献)

①Liu ら(2009)によって、フタル酸ジ-*n*-オクチル 20、200、1,000、5,000、10,000、20,000µg/L(設定濃度)に受精卵から最長 96 時間ばく露したフクトコブシ亜種(*Haliotis diversicolor supertexta*)への影響が検討されている。その結果として、200µg/L 以上のばく露区で変態(Metamorphosis Stage)率の低値、5,000µg/L 以上のばく露区で正常胞胚(Blastula Stage)到達率の低値が認められた。なお、付着ベリジャー幼生(Late Veliger Stage)到達率、細胞分裂(Multi-cell Stage)到達率には影響は認められなかった。(13078)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

(2)生殖影響

③Heindel ら(1989)によって、フタル酸ジ-*n*-オクチル 12,500、25,000、50,000ppm(餌中濃度)を 11 週齢から 98 日間(投与開始 7 日後から同居)混餌投与した F₀雌雄 CD-1 Swiss マウスへの影響が検討されているが、出産回数、同腹生存仔数、産仔生存率、生存仔体重には影響は認められなかった。

更に、フタル酸ジ-*n*-オクチル 50,000ppm(餌中濃度、最高用量群のみ試験継続)を 95±10 日齢まで混餌投与した F₁雄 CD-1 Swiss マウス(上記 F₀ペアの 5 回目出産による新生仔、離乳前も哺乳によるばく露あり)への影響が検討されている。その結果として、精囊絶対重量の低値、肝臓絶対重量の高値が認められた。なお、体重、腎臓絶対重量、右精巣絶対重量、右精巣上体絶対重量、右精巣上体尾絶対重量、前立腺絶対重量、精巣上体尾中精子濃度、運動精子率、形態異常精子率には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジ-*n*-オクチル 50,000ppm(餌中濃度、最高用量群のみ試験継続)を 95±10 日齢まで混餌投与した F₁雌 CD-1 Swiss マウス(上記 F₀ペアの 5 回目出産による新生仔、離乳前も哺乳によるばく露あり)への影響が検討されている。その結果として、肝臓絶対重量、腎臓絶対重量の高値が認められた。なお、体重、発情周期所要日数には影響は認められなかった。(2641)(評価結果の略号：○?)

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)

①Poon ら(1997)によって、フタル酸ジ-*n*-オクチル 0、5、50、500、5,000ppm(餌中濃度 0.4、3.5、36.8、350.1、3,450mg/kg/day に相当、最高濃度群の推定投与量が小さい理由については説明なし)を幼若期から 13 週間混餌投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、5,000ppm のばく露群で肝臓中エトキシレゾルフィン-*O*-デエチラーゼ比活性の高値が認められた

が、体重、肝臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、精巣絶対及び相対重量、肝臓中アミノピリジン-*N*-デメチラーゼ比活性、肝臓中アニリンヒドロキシラーゼ比活性には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジ-*n*-オクチル 0、5、50、500、5,000ppm (餌中濃度 0.4、4.1、40.8、402.9、4,110mg/kg/day に相当、最高濃度群の推定投与量が小さい理由については説明なし)を幼若期から 13 週間混餌投与した雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、5,000ppm のばく露群で肝臓中エトキシレゾルフィン-*O*-デエチラーゼ比活性の高値が認められたが、体重、肝臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、肝臓中アミノピリジン-*N*-デメチラーゼ比活性、肝臓中アニリンヒドロキシラーゼ比活性には影響は認められなかった。(2217)

評価未実施の理由：内分泌かく乱作用と関連すると考えられた評価項目について、影響が認められなかった報告のため

②Mann ら(1985)によって、フタル酸ジ-*n*-オクチル 20,000ppm (餌中濃度)を約 5 週齢から 21 日間混餌投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、肝臓絶対重量の高値が認められたが、体重、摂餌量、精巣絶対重量には影響は認められなかった。(2336)

評価未実施の理由：内分泌かく乱作用と関連すると考えられた評価項目について、影響が認められなかった報告のため

※参考 (3)発達影響(今回評価対象としなかった文献)

①Saillenfait ら(2011)によって、フタル酸ジ-*n*-オクチル 250、500、1,000mg/kg/day を妊娠 6 日目から妊娠 20 日目まで経口投与した SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、250mg/kg/day 以上のばく露群で胎仔骨格変化(第 14 過剰肋骨出現、骨化遅延等)発生率の高値(骨格奇形率には影響なし)、500mg/kg/day のばく露群で雌胎仔体重の高値(雄胎仔には影響なし)、1,000mg/kg/day のばく露群で母動物肝臓絶対及び相対重量の高値が認められた。なお、母動物体重、母動物増加体重、母動物摂餌量、妊娠子宮重量、同腹着床数、同腹生存胎仔数、胎仔性比、胎仔肛門生殖突起間距離(絶対値及び体重補正值)、胎仔外表奇形及び変化率、胎仔内臓奇形及び変化率には影響は認められなかった。(13248)

評価未実施の理由：内分泌かく乱作用と関連すると考えられた評価項目について、影響が認められなかった報告のため

(4)甲状腺ホルモン作用

①Shi ら(2012)によって、フタル酸ジ-*n*-オクチル 0.001、0.01、0.1、1、10、100 μ M(=0.391、3.91、39.1、391、3,910、39,100 μ 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線維芽細胞 CV-1 (甲状腺受容体 β のリガンド結合ドメインを発現)によるレポーターアッセイ(ヒト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。(14012)(〇〇N)

(5)抗甲状腺ホルモン作用

①Shi ら(2012)によって、フタル酸ジ-*n*-オクチル 0.001、0.01、0.1、1、10、100 μ M(=0.391、3.91、39.1、391、3,910、39,100 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(トリヨードサイロニン 5 nM 共存下)したアフリカミドリザル腎臓線維芽細胞 CV-1 (甲状腺受容体 β のリガンド結合ドメインを発現)によるレポーターアッセイ(ヒト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 μ M(=391 μ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(14012)(○○P)

(6)疫学的調査

①Buck Louis ら(2016)によって、フタル酸ジ-*n*-オクチルについて、米国ミシガン州及びテキサス州の 16 郡にて 2005 年から 2009 年にかけて 2 ヶ月以内に妊娠予定の夫婦 501 組(このうち妊娠 347 組の夫平均年齢 31.6 \pm 4.6 歳、妻平均年齢 29.8 \pm 3.9 歳。非妊娠 54 組の夫平均年齢 32.4 \pm 5.3 歳、妻平均年齢 30.6 \pm 4.3 歳)を対象に、夫婦の化学物質ばく露と受胎確率(fecundability)との関連性について検討されている。その結果として、Cox モデリングにて、尿中 MOP*濃度が 75%未満の群との比較において、75%パーセンタイル値以上の群の妻の fecundability 補正オッズ比の高値が認められた。なお、夫の fecundability 補正オッズ比には影響は認められなかった。(13970)(○?)

*MOP:フタル酸モノ-*n*-オクチルはフタル酸ジ-*n*-オクチルの代謝物に相当
想定される作用メカニズム:不明

②Meeker と Ferguson (2011)によって、フタル酸ジ-*n*-オクチルについて、米国にて 2007 年から 2008 年にかけて(12 歳以上の国民 2,035 名を対象とした NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey)、12 歳から 19 歳の男性 185 名、女性 170 名(尿中 MCP**幾何平均濃度 3.01 μ g/L、血清中総サイロキシン算術平均濃度 7.6 μ g/mL、血清中遊離サイロキシン幾何平均濃度 0.8ng/dL、血清中総トリヨードサイロニン算術平均濃度 129ng/dL、血清中遊離トリヨードサイロニン幾何平均濃度 3.6pg/mL、血清中甲状腺刺激ホルモン幾何平均濃度 1.4uIU/mL、血清中サイログロブリン幾何平均濃度 8.1ng/mL)を対象に、尿中フタル酸エステル類代謝物と血清中甲状腺関連ホルモン類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、尿中 MCPP 濃度との多変数線形回帰分析において、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とに負の相関性が認められた。なお、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、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中サイログロブリン濃度には相関性は認められなかった。

また、20 歳以上の男性 737 名、女性 668 名(尿中 MCPP 幾何平均濃度 2.42 μ g/L、血清中総サイロキシン算術平均濃度 7.7 μ g/mL、血清中遊離サイロキシン幾何平均濃度 0.8ng/dL、血清中総トリヨードサイロニン算術平均濃度 113ng/dL、血清中遊離トリヨードサイロニン幾何平均濃度 3.2pg/mL、血清中甲状腺刺激ホルモン幾何平均濃度 1.6uIU/mL、血清中サイログロブリン幾何平均濃度 10.2ng/mL)を対象に、尿中フタル酸エステル類代謝物と血清中甲状腺関連ホルモン類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、尿中 MCPP 濃度との多変数線形回帰分析において、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度とに負の相関性が認められた。なお、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、血清中甲状

腺刺激ホルモン濃度、血清中サイログロブリン濃度には相関性は認められなかった。(14013)(〇〇P)

****MCP**P:フタル酸モノ(3-カルボキシプロピル)はフタル酸ジ-*n*-オクチル及びフタル酸ジブチルの代謝物に相当

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

※参考 疫学的調査(今回評価対象としなかった文献)

③Stelmach ら(2015)によって、フタル酸ジ-*n*-オクチルについて、ポーランドにて 2007 年以降の妊娠について(Polish Mother and Child Cohort、出生児が 23～30 ヶ月齢に達するまで検査)、妊娠女性 147 名(出生児がアトピー性皮膚炎発症 18 名、出生児が食物アレルギー発症 44 名)を対象に、出生前フタル酸エステル類ばく露と小児のアトピー性皮膚炎及び食物アレルギーとの関連性について検討されているが、尿中 MOP 濃度とのロジスティック回帰分析において、出生児のアトピー性皮膚炎及び食物アレルギー発症補正オッズ比には影響は認められなかった。(14008)

***MOP**:フタル酸モノ-*n*-オクチルはフタル酸ジ-*n*-オクチルの代謝物に相当

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

2. 総合的判断(案)

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

試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、試験管内試験の報告において、抗甲状腺ホルモン作用を示すこと、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 3 に示した。

表 3 信頼性評価のまとめ

物質名：フタル酸ジ-*n*-オクチル

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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(1)生態影響	①Liu ら(2009) 評価未実施			
(2)生殖影響	①Poon ら(1997) 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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
	②Mannら(1985)評価未実施			
	③Heindelら(1989)	○	?	—
(3)発達影響	①Saillenfaitら(2011)評価未実施			
(4)甲状腺ホルモン作用	①Shiら(2012)	○	○N	×
(5)抗甲状腺ホルモン作用	①Shiら(2012)	○	○P	○
(6)疫学的調査	①Buck Louisら(2016)	○	?	—
	視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用 ②MeekerとFerguson(2011)	○	○P	○
	③Stelmachら(2015)評価未実施			
今後の対応案	試験管内試験の報告において、抗甲状腺ホルモン作用を示すこと、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

13078: Liu Y, Guan Y, Yang Z, Cai Z, Mizuno T, Tsuno H, Zhu W and Zhang X (2009) Toxicity of seven phthalate esters to embryonic development of the abalone *Haliotis diversicolor supertexta*. *Ecotoxicology*, 18 (3), 293-303.

2217: Poon R, Lecavalier P, Mueller R, Valli VE, Procter BG and Chu I (1997) Subchronic oral toxicity of di-*n*-octyl phthalate and di(2-Ethylhexyl) phthalate in the rat. *Food and Chemical Toxicology*, 35 (2), 225-239.

- 2336: Mann AH, Price SC, Mitchell FE, Grasso P, Hinton RH and Bridges JW (1985) Comparison of the short-term effects of di(2-ethylhexyl) phthalate, di(*n*-hexyl) phthalate, and di(*n*-octyl) phthalate in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 77 (1), 116-132.
- 2641: Heindel JJ, Gulati DK, Mounce RC, Russell SR and Lamb JC 4th (1989) Reproductive toxicity of three phthalic acid esters in a continuous breeding protocol. *Fundamental and Applied Toxicology*, 12 (3), 508-518.
- 13248: Saillenfait AM, Roudot AC, Gallissot F and Sabaté JP (2011) Prenatal developmental toxicity studies on di-*n*-heptyl and di-*n*-octyl phthalates in Sprague-Dawley rats. *Reproductive Toxicology*, 32 (3), 268-276.
- 14012: Shi W, Hu X, Zhang F, Hu G, Hao Y, Zhang X, Liu H, Wei S, Wang X, Giesy JP and Yu H (2012) Occurrence of thyroid hormone activities in drinking water from eastern China: contributions of phthalate esters. *Environmental Science & Technology*, 46 (3), 1811-1818.
- 13970: Buck Louis GM, Barr DB, Kannan K, Chen Z, Kim S and Sundaram R (2016) Paternal exposures to environmental chemicals and time-to-pregnancy: overview of results from the LIFE study. *Andrology*, 4 (4), 639-647.
- 14013: Meeker JD and Ferguson KK (2011) Relationship between urinary phthalate and bisphenol A concentrations and serum thyroid measures in U.S. adults and adolescents from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2007-2008. *Environmental Health Perspectives*, 119 (10), 1396-1402.
- 14008: Stelmach I, Majak P, Jerzynska J, Podlecka D, Stelmach W, Polańska K, Ligocka D and Hanke W (2015) The effect of prenatal exposure to phthalates on food allergy and early eczema in inner-city children. *Allergy and Asthma Proceedings*, 36 (4), 72-78.

IV. イプロジオン

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

イプロジオンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、生殖細胞への影響、副腎皮質がん細胞への影響及び芳香族炭化水素受容体への影響の有無に関する報告がある。

(1)生殖影響

①Blystone ら(2007)によって、イプロジオン(Sigma-Aldrich、97%) 50、100、200mg/kg/day を23日齢から51日齢まで経口投与した雄SDラットへの影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/day以上のばく露群で血清中テストステロン濃度の低値、50、200mg/kg/dayのばく露群で血清中アルドステロン濃度の低値、100mg/kg/day以上のばく露群で精巣中テストステロン濃度、血清中17 α ヒドロキシプロゲステロン濃度、血清中アンドロステンジオン濃度の低値、包皮分離開始及び完成日の遅延、200mg/kg/dayのばく露群で精囊絶対重量、両精巣上体絶対重量、精巣中プロゲステロン濃度の低値、肝臓絶対重量、両副腎絶対重量の高値が認められた。なお、体重、増加体重、両精巣絶対重量、両腎臓絶対重量、陰茎絶対重量、腹側前立腺絶対重量、精囊絶対重量、肛門挙筋+球海綿体筋絶対重量、両カウパー腺絶対重量、血清中プロゲステロン濃度、精巣中17 α ヒドロキシプロゲステロン濃度、精巣中アンドロステンジオン濃度には影響は認められなかった。(7846)(評価結果の略号：○○P)

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、アンドロゲン生成抑制作用

(2)アンドロゲン作用

①Blystone ら(2009)によって、イプロジオン(Sigma-Aldrich、97%) 1、3、10、30、100、300 μ M(=330、991、3,300、9,910、33,000、99,100 μ g/L)の濃度に20時間ばく露したマウス乳腺がん細胞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)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。なお、300 μ M(=99,100 μ g/L)の濃度区では細胞生存率の低値が認められた。(14101)(○○N)

②Blystone ら(2007)によって、イプロジオン(Sigma-Aldrich、97%) 0.0001～10 μ M(=0.033～3,300 μ g/L)の濃度に20時間ばく露したマウス乳腺がん細胞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)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。(7846)(Δ ○N)

(3)抗アンドロゲン作用

①Blystone ら(2009)によって、イプロジオン(Sigma-Aldrich、97%) 50、100、200mg/kg/day を49日齢から10～11日間経口投与(及びテストステロンプロピオネート100 μ g/dayを皮下投与)した雄

SD ラット(42 日齢で精巣摘出处置)への影響(Hershberger 試験)が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で肛門挙筋+球海綿体筋絶対重量の低値、肝臓絶対重量の高値、200mg/kg/day のばく露群で腹側前立腺絶対重量の低値、両副腎絶対重量の高値が認められた。なお、体重、増加体重、両腎臓絶対重量、陰茎絶対重量、精囊絶対重量、カウパー腺絶対重量、血清中テストステロン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度には影響は認められなかった。

また、イプロジオン(Sigma-Aldrich、97%) 1、3、10、30、100、300 μ M(=330、991、3,300、9,910、33,000、99,100 μ g/L)の濃度に 20 時間ばく露(5 α -ジヒドロテストステロン 0.1nM 共存下)したマウス乳腺がん細胞 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、3 μ M(=991 μ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害、300 μ M(=99,100 μ g/L)の濃度区で細胞生存率の低値が認められた。

また、イプロジオン(Sigma-Aldrich、97%) 1~200 μ M(=330~66,000 μ g/L)の濃度に 2 時間ばく露(標識アンドロゲン受容体アゴニスト R1881 0.5nM 共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 COS-1 (ヒトアンドロゲン受容体を発現)による結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 86.0 μ M(=28,300 μ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。(14101)(Δ OP)

② Blystone ら(2007)によって、イプロジオン(Sigma-Aldrich、97%) 0.0001~10 μ M(=0.033~3,300 μ g/L)の濃度に 20 時間ばく露(5 α -ジヒドロテストステロン 100nM 共存下)したマウス乳腺がん細胞 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)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導の阻害は認められなかった。(7846)(Δ ON)

(4)生殖細胞への影響

① Pisani ら(2016)によって、イプロジオン(Sigma-Aldrich、ref. 36132、lot SZE6222X、99.0%) 0.05、0.5 μ M(=16.5、165 μ g/L)の濃度に 21 日間ばく露した精細管中生殖細胞(22~23 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、0.05 μ M(=16.5 μ g/L)の濃度区で RNA 相対発現量の変動(総 RNA 中 1,248 遺伝子の低値、2,840 遺伝子の高値)、0.5 μ M(=165 μ g/L)の濃度区で RNA 相対発現量の変動(総 RNA 中 4,182 遺伝子の低値、2,097 遺伝子の高値)が認められた。

また、イプロジオン 0.05 μ M(=16.5 μ g/L)の濃度に最長 21 日間ばく露した精細管中生殖細胞(22~23 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、一次精母細胞の減数分裂前期に占める合糸期の率(7 日間)、一次精母細胞の減数分裂前期に占める複糸期の率(14 日間)、一次精母細胞の減数分裂前期に占める太糸期の率(7 日間)の低値、一次精母細胞の減数分裂前期に占める形態異常率(7、14 日間)、FUCO (α -L-fucosidase、ヒト生殖に関与)蛋白質相対発現量(21 日間)、PEBP1 (phosphatidyl ethanolamine binding protein I、精子発達に関与)蛋白質相対発現量(21 日間)の高値が認められた。なお、APOE (名称の記載がないが apolipoprotein E と思われる、コレステロール及び脂質の輸送に関与)蛋白質相対発現量、CLUS (clusterin、精子形成に関与)蛋白質相対発現量、LG3BP (galectin-3 binding protein、精子形成に関与)蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。(14097)(\circ OP)

想定される作用メカニズム：精母細胞成熟阻害

- ② Kugathas ら(2016)によって、イプロジオン(Sigma-Aldrich、97%) 0.001～100 μ M(=0.033～33,000 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した幼若マウス由来セルトリ細胞 SC5 への影響が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 25.1 μ M(=8,320 μ g/L)で濃度依存的なプロスタグランジン D2 産生の阻害が認められた。(13837)(○OP)

想定される作用メカニズム：プロスタグランジン D2 産生阻害

(5)ステロイド産生への影響

- ① Prutner ら(2013)によって、イプロジオン(Dr. Ehrenstorfer、97.5～99.5%) 0.1、0.3、1、3、10、30、100 μ M(=33、99、330、990、3,300、9,900、33,000 μ g/L)の濃度に 24 時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、100 μ M(=33,000 μ g/L)の濃度区でエストロン産生量の高値(有意差検定なし)が認められた。(14099)(△OP)

想定される作用メカニズム：エストロン産生促進

(6)芳香族炭化水素受容体への影響

- ① Ferraris ら(2005)によって、イプロジオン(Dr. Ehrenstorfer、入手可能な最高純度) 400 μ M(=132,000 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したニジマス肝臓一次培養細胞への影響が検討されている。その結果として、CYP1A3 mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、この影響はプロテインキナーゼ阻害剤であるゲニステイン及びスタウロスポリンによって阻害された。(14102)(○OP)

想定される作用メカニズム：芳香族炭化水素受容体経路の活性化作用

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、抗アンドロゲン様作用、アンドロゲン生成抑制作用を示すこと、試験管内試験の報告において、抗アンドロゲン作用、生殖細胞への影響、ステロイド産生への影響、芳香族炭化水素受容体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 4 に示した。

表4 信頼性評価のまとめ

物質名：イプロジオン

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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(1)生殖影響	抗アンドロゲン様作用、アンドロゲン生成抑制作用	①Blystone ら(2007)	○	○P	○
(2)アンドロゲン作用		①Blystone ら(2009)	△	○N	×
		②Blystone ら(2007)	△	○N	×
(3)抗アンドロゲン作用		①Blystone ら(2009)	△	○P	○
		②Blystone ら(2007)	△	○N	×
(4)生殖細胞への影響	精母細胞成熟阻害	①Pisani ら(2016)	○	○P	○
	プロスタグランジン D2 産生阻害	②Kugathas ら(2016)	○	○P	○
(5)ステロイド産生への影響	エストロン産生促進	①Prutner ら(2013)	△	○P	○
(6)芳香族炭化水素受容体への影響	芳香族炭化水素受容体経路の活性化作用	①Ferraris ら(2005)	○	○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、アンドロゲン生成抑制作用を示すこと、試験管内試験の報告において、抗アンドロゲン作用、生殖細胞への影響、ステロイド産生への影響、芳香族炭化水素受容体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

7846: Blystone CR, Lambright CS, Furr J, Wilson VS and Gray LE, Jr. (2007) Iprodione delays male rat pubertal development, reduces serum testosterone levels, and decreases *ex vivo* testicular testosterone production. Toxicology Letters, 174 (1-3), 74-81.

- 14101: Blystone CR, Lambright CS, Cardon MC, Furr J, Rider CV, Hartig PC, Wilson VS and Gray LE, Jr. (2009) Cumulative and antagonistic effects of a mixture of the antiandrogens vinclozolin and iprodione in the pubertal male rat. *Toxicological Sciences*, 111 (1), 179-188.
- 14097: Pisani C, Voisin S, Arafah K, Durand P, Perrard MP, Guichaoua MR, Bulet P and Prat O (2016) *Ex vivo* assessment of testicular toxicity induced by carbendazim and iprodione, alone or in a mixture. *ALTEX*, 33 (4), 393-413.
- 13837: Kugathas S, Audouze K, Ermler S, Orton F, Rosivatz E, Scholze M and Kortenkamp A (2016) Effects of Common Pesticides on Prostaglandin D2 (PGD2) Inhibition in SC5 Mouse Sertoli Cells, Evidence of Binding at the COX-2 Active Site, and Implications for Endocrine Disruption. *Environmental Health Perspectives*, 124 (4), 452-459.
- 14099: Prutner W, Nicken P, Haunhorst E, Hamscher G and Steinberg P (2013) Effects of single pesticides and binary pesticide mixtures on estrone production in H295R cells. *Archives of Toxicology*, 87 (12), 2201-2214.
- 14102: Ferraris M, Flora A, Chiesara E, Fornasari D, Lucchetti H, Marabini L, Frigerio S and Radice S (2005) Molecular mechanism of the aryl hydrocarbon receptor activation by the fungicide iprodione in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Aquatic Toxicology*, 72 (3), 209-220.

V. *N,N*-ジメチルアセトアミド

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

N,N-ジメチルアセトアミドの内分泌かく乱作用に関連する報告として、発達影響の有無に関する報告がある。

※参考 (1)発達影響(今回評価対象としなかった文献)

①Johannsen ら(1987)によって、*N,N*-ジメチルアセトアミド 65、160、400mg/kg/day に、妊娠 6 日目から 19 日まで 7 日間経口投与した CD 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、400mg/kg/day のばく露群で母動物増加体重、胎仔体重の低値、着床後消失同腹胚数、胎仔総奇形数の高値が認められた。なお、同腹生存胎仔数、同腹着床数、同腹黄体数には影響は認められなかった。(13926)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

②Klimisch ら(2000)によって、*N,N*-ジメチルアセトアミド 57±0.3、199.5±3、570±17ppm(チャンバー内空气中測定濃度)に妊娠 1 日目から 19 日目まで(日毎 6 時間)吸入ばく露した Himalayan 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、57ppm 以上のばく露群で胎仔体重、胎盤重量の低値、570ppm のばく露群で胎仔柔組織変化率、胎仔骨格変化率の低値が認められた。なお、母動物子宮絶対重量、同腹黄体数、同腹着床数、同腹生存胎仔数、同腹死亡胚数、着床後胚消失率、胎仔性比、胎仔外表奇形率、胎仔骨格奇形率、胎仔柔組織奇形率には影響は認められなかった。(13923)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

③Wang ら(1989)によって、*N,N*-ジメチルアセトアミド 40±2、116±8、386±19ppm(チャンバー内空气中測定濃度)に 43 日間(日毎 6 時間/週 5 日)吸入ばく露後、更に 69 日間(日毎 6 時間/週 7 日、この期間中に非ばく露雌と交配)した雄 SD ラットへの影響(非ばく露雌については妊娠 29 日目)が検討されている。その結果として、116ppm 以上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。なお、体重、精巣絶対及び相対重量、同腹生存胎仔数、同腹胎仔体重、同腹吸収胚数、同腹着床数、同腹黄体数には影響は認められなかった。(13925)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

④Solomon ら(1991)によって、*N,N*-ジメチルアセトアミド 32±4、100±11、282±29ppm(チャンバー内空气中測定濃度)に妊娠 6 日目から妊娠 15 日目まで(日毎 6 時間)吸入ばく露した CD 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、282ppm のばく露群で胎仔体重の低値が認められた。なお、母動物体重、母動物肝臓絶対及び相対重量、同腹黄体数、同腹着床部位数、同腹吸収胚数、同腹生存胎仔数、胎仔外表奇形及び変化率、胎仔内臓奇形及び変化率、胎仔骨格奇形及び変化率には影響は認められなかった。(13924)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

⑤Ferenz ら(1986)によって、*N,N*-ジメチルアセトアミド 31.1±4.86、101±13.4、291±29.9ppm(チャンバー内空气中測定濃度)に 10 週間(日毎 6 時間/週 5 日)吸入ばく露後、更に 7～8 週間(日毎 6 時間

1週7日、この期間中に交配、妊娠、哺育)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、291ppmのばく露群で雌雄肝臓相対重量、21日齢雌雄仔動物肝臓相対重量の高値が認められた。なお、父動物精巣重量、母動物卵巣重量、交尾率、妊娠率、妊孕率、妊娠期間、生存新生仔出産率、4日齢新生仔生存率、21日齢新生仔生存率には影響は認められなかった。(13927) 評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

⑥Okudaら(2006)によって、*N,N*-ジメチルアセトアミド 101.8±2.7、297.6±3.8、447.0±5.0、594.2±6.5ppm(チャンバー内空气中測定濃度)に妊娠6日目から妊娠19日目まで(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、297.6ppm以上のばく露群で雌雄胎仔体重の低値、母動物肝臓相対重量の高値、447.0ppm以上のばく露群で母動物体重の低値、小葉中心性肝臓細胞腫脹発生率、胎仔内臓奇形率、胎仔骨格奇形率高値、594.2ppmのばく露群で同腹生存雄胎仔数の低値、胎仔外表奇形率の高値が認められた。なお、同腹着床数、同腹死亡着床数には影響は認められなかった。(13921)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

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5に示した。

表5 信頼性評価のまとめ

物質名：*N,N*-ジメチルアセトアミド

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(1)発達影響	①Johannsenら(1987) 評価未実施			
	②Klimischら(2000) 評価未実施			
	③Wangら(1989) 評価未実施			
	④Solomonら(1991) 評価未実施			
	⑤Ferenzら(1986) 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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
	⑥Okudaら(2006) 評価未実施			
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としない。			

- 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

- 13926: Johannsen FR, Levinskas GJ and Schardein JL (1987) Teratogenic response of dimethylacetamide in rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 9 (3), 550-556.
- 13923: Klimisch HJ and Hellwig J (2000) Developmental toxicity of dimethylacetamide in rabbits following inhalation exposure. *Human and Experimental Toxicology*, 19 (12), 676-683.
- 13925: Wang GM, Kier LD and Pounds GW (1989) Male fertility study on *N,N*-dimethylacetamide administered by the inhalation route to Sprague-Dawley rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 27 (3), 297-305.
- 13924: Solomon HM, Ferenz RL, Kennedy GL, Jr. and Staples RE (1991) Developmental toxicity of dimethylacetamide by inhalation in the rat. *Fundamental and Applied Toxicology*, 16 (3), 414-422.
- 13927: Ferenz RL and Kennedy GL, Jr. (1986) Reproduction study of dimethylacetamide following inhalation in the rat. *Fundamental and Applied Toxicology*, 7 (1), 132-137.
- 13921: Okuda H, Takeuchi T, Senoh H, Arito H, Nagano K, Yamamoto S and Matsushima T (2006)

Developmental toxicity induced by inhalation exposure of pregnant rats to *N,N*-dimethylacetamide.
J Occup Health, 48 (3), 154-160.

VI. アセフェート

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

アセフェート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、エストロゲン作用及びプロゲステロン作用の有無に関する報告がある。

(1)生殖影響

①Farag ら(2000)によって、アセフェート(USEPA、Lot-127-125A、98%) 7、14、28mg/kg/day を約 12 週齢から 4 週間(週 5 日)経口投与した雄 CD-1 マウスへの影響(ばく露後、非ばく露雌との交配し妊娠 14 日目)が検討されている。その結果として、14mg/kg/day 以上のばく露群で妊孕率の低値、28mg/kg/day のばく露群で交尾率、同腹着床部位数、同腹生存胎仔数の低値、同腹初期胚吸収率の高値が認められた。なお、同腹後期胚吸収率には影響は認められなかった。

また、アセフェート(USEPA、Lot-127-125A、98%) 7、14、28mg/kg/day を約 12 週齢から 4 週間(週 5 日)経口投与した雄 CD-1 マウスへの影響(交配終了後の雄について試験)が検討されている。その結果として、14mg/kg/day 以上のばく露群で精巣絶対及び相対重量、精巣中精細胞濃度、精巣上体中精子濃度、運動精子率の低値、28mg/kg/day のばく露群で脳中アセチルコリンコリンエステラーゼ比活性、筋肉中アセチルコリンコリンエステラーゼ比活性の低値が認められた。なお、体重、精巣上体絶対及び相対重量、脳絶対及び相対重量、形態異常精子率には影響は認められなかった。(13832)(評価結果の略号：○?)

想定される作用メカニズム：不明

※参考 (2)発達影響(今回評価対象としなかった文献)

①Farag ら(2000)によってアセフェート(USEPA、Lot-127-125A、98%) 7、14、28mg/kg/day を妊娠 6 日目から妊娠 15 日目まで経口投与した CD-1 マウスへの影響(妊娠 18 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脳絶対及び相対重量の低値、28mg/kg/day のばく露群で母動物体重、母動物胎盤絶対重量、同腹生存胎仔数、胎仔体重の低値、母動物肝臓絶対及び相対重量、母動物腎臓相対重量、母動物脾臓相対重量、母動物心臓相対重量、同腹死亡胎仔数、同腹初期胚吸収率、同腹胎仔外表変化率、同腹胎仔骨格変化率の高値が認められた。なお、母動物日毎摂餌量、同腹後期胚吸収率、胎仔性比、同腹胎仔内臓変化率には影響は認められなかった。(13833)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

②Chen ら(2014)によって、アセフェート(Sigma、97%) 50mg/kg/day を妊娠 7.5 日目から妊娠 11.5 日目まで皮下投与した ICR マウスへの影響(妊娠 16 日目に胎仔脳新皮質の未分化型前駆細胞について試験)が検討されているが、Mitotic Index (全細胞数に占める有糸分裂細胞数の割合)、Cleavage plane の方向分布率(horizontal、0-30°)、Cleavage plane の方向分布率(oblique、30-60°)、Cleavage plane の方向分布率(vertical、60-90°)には影響は認められなかった。(13823)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

※参考 (3)エストロゲン作用(今回評価対象としなかった文献)

①Chakraborty ら(2011)によって、アセフェート(Dr. Ehrenstorfer) 0.00001～1 μM(=0.00183～183μg/L)の濃度に 44 時間ばく露したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (メダカエストロゲン受容体 α、β1 又は β2 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。(8984)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

(4)プロゲステロン作用

①Ghodageri と Katti (2013)によって、アセフェート(SWAL、活性成分重量濃度 75w/w%) 1,000、5,000、10,000、15,000、20,000μg/L(設定濃度)に 24 時間ばく露したヌマガエル科の一種(*Euphlyctis cyanolyctis*)の成熟卵胞への影響が検討されている。その結果として、5,000μg/L 以上のばく露区で卵核胞崩壊(GVBD: germinal vesicle breakdown)率の高値が認められた。(8752)(〇〇P)

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、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 6 に示した。

表 6 信頼性評価のまとめ

物質名：アセフェート

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(1)生殖影響	①Farag ら(2000)	○	?	—
(2)発達影響	①Farag ら(2000) 評価未実施			
	②Chen ら(2014) 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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(3)エストロゲン作用	①Chakrabortyら(2011)評価未実施			
(4)プロゲステロン作用	①GhodageriとKatti(2013)	○	○P	○
今後の対応案	試験管内試験の報告において、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

13832: Farag AT, Eweidah MH and El-Okazy AM (2000) Reproductive toxicology of acephate in male mice. *Reproductive Toxicology*, 14 (5), 457-462.

13833: Farag AT, Eweidah MH, Tayel SM and El-Sebae AH (2000) Developmental toxicity of acephate by gavage in mice. *Reproductive Toxicology*, 14 (3), 241-245.

13823: Chen XP, Chen WF and Wang DW (2014) Prenatal organophosphates exposure alternates the cleavage plane orientation of apical neural progenitor in developing neocortex. *PLOS ONE*, 9 (4), e95343.

8984: 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.

8752: Ghodageri MG and Katti P (2013) *In vitro* induction/inhibition of germinal vesicle breakdown (GVBD) in frog (*Euphlyctis cyanophlyctis*) oocytes by endocrine active compounds.

Drug and Chemical Toxicology, 36 (2), 217-223.

Ⅶ. ポリ(オキシエチレン)＝ノニルフェニルエーテル類(別名：ノニルフェノールエトキシレート)

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ポリ(オキシエチレン)＝ノニルフェニルエーテル類(別名：ノニルフェノールエトキシレート)の内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響及び魚類精巣細胞への影響の有無に関する報告がある。

(1)生態影響

①Nichols ら(2001)によって、ノニルフェノールエトキシレート(Solfonic N-95、CAS 9016-45-9、Huntsman。HPLC 面積比は、NP 0.14%、NP1EO 0.12%、NP2EO 0.32%、NP3EO 0.95%、NP4EO 1.72%、NP5EO 3.69%、NP6EO 7.27%、NP7EO 9.90%、NP8EO 10.53%、NP9EO 10.73%、NP10EO 10.45%、NP11EO 9.38%、NP12EO 8.47%、NP13EO 7.64%、NP14EO 5.97%、NP15EO 5.42%、NP16EO 4.61%、NP17EO 2.71%) 0.65±0.01、2.1±0.27、7.9±0.25µg/L(測定濃度)に 42 日間ばく露した雌雄成熟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、0.65µg/L のばく露区で、雄血漿中 17β-エストラジオール濃度の高値が認められた。なお、産卵数、雌雄血漿中ビテロゲニン濃度、雌雄血漿中テストステロン濃度、雌雄血漿中 17β-エストラジオール/テストステロン濃度比には影響は認められなかった。(5493)(評価結果の略号：○○N)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

④Balch と Metcalfe (2006)によって、ノニルフェノールエトキシレート(NP1EO、Huntsman Corporation、実験室的に合成した高純度品) 10、30、100、300µg/L(設定濃度)に孵化 1 日後から 100 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、300µg/L のばく露区で、雌雄第二次性徴を併せ持つ個体率の高値が認められた。なお、生存率、体重、体長、表現型雄における間性出現率には影響は認められなかった。

また、ノニルフェノールエトキシレート(NP4EO、Surfonic® N40、Huntsman Specialty Chemicals、分析によると 1EO～12EO 混合物) 10、30、100、300、1,000µg/L(設定濃度)に孵化 1 日後から 100 日間ばく露したメダカ(*O. latipes*)への影響が検討されているが、生存率、体重、体長、雌雄第二次性徴を併せ持つ個体率、表現型雄における間性出現率には影響は認められなかった。

また、ノニルフェノールエトキシレート(NP9EO、Surfonic® N95、Huntsman Specialty Chemicals Corporation、分析によると 1EO～12EO 混合物) 10、30、100、300、1,000µg/L(設定濃度)に孵化 1 日後から 100 日間ばく露したメダカ(*O. latipes*)への影響が検討されているが、生存率、体重、体長、雌雄第二次性徴を併せ持つ個体率、表現型雄における間性出現率には影響は認められなかった。(7497)(○○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用

⑤Le Gac ら(20011)によって、ノニルフェノールエトキシレート(Nonylphenol diethoxylate、Igepal® CO-210、Aldrich、組成は NP1EO 80%及び NP2EO 20%) 450、1,800nmol/L(設定濃度)に 13 ヶ月齢から 21 日間ばく露した雄ニジマス(学名の記載なし)への影響が検討されている。その結果として、1,800nmol/L のばく露区で、ばく露期間終了から 4.5 週間後の生殖腺体指数の低値(精巣発達遅延も

伴う)、ばく露期間終了後の血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

また、ノニルフェノールエトキシレート(Nonylphenol diethoxylate, Igepal® CO-210, Aldrich、組成は NP1EO 80%及び NP2EO 20%) 450、1,800nmol/L(設定濃度)に幼若齢から9日間ばく露した雄ニジマスへの影響が検討されている。その結果として、1,800nmol/Lのばく露区で、ばく露期間終了後の血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。(5307)(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用

※参考 生態影響(今回評価対象としなかった文献)

②Hu ら(20141)によって、ノニルフェノールエトキシレート(NP10EO、Aladdin Reagent、99.0%) 21.1、42.1、84.2、168、337µg/L(設定濃度)に12時間未満齢から全個体死亡までばく露したタマミジンコ(*Moina macrocopa*)への影響が検討されている。その結果として、21.2µg/L以上のばく露区で体長の低値、42.1µg/L以上のばく露区で第5回目の出産における産仔数、総産仔数の低値、84.2µg/L以上のばく露区で生存率(ばく露開始5日後)の低値、337µg/Lのばく露区で出産回数の低値が認められた。(14026)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

③Oliveira-Filho ら(20091)によって、ノニルフェノールエトキシレート(NPE9.5、BASF、99.0%) 10、100、1,000µg/L(設定濃度)に3ヶ月齢から8週間ばく露したヒラマキガイ科の一種(*Biomphalaria tenagophila*) F₀ への影響が検討されている。その結果として、100µg/L以上のばく露区で総産卵数、総産卵容積の低値、1,000µg/Lのばく露区で産卵(F₁)胚奇形率の高値が認められた。なお、産卵(F₁)死亡率、産卵(F₁)孵化率には影響は認められなかった。

更に、ノニルフェノールエトキシレート(NPE9.5、BASF、99.0%) 10、100、1,000µg/L(設定濃度)に3ヶ月齢から8週間ばく露したヒラマキガイ科の一種(*B. tenagophila*) F₁ (上記F₀の産卵から孵化)への影響が検討されている。その結果として、100µg/L以上のばく露区で産卵(F₂)孵化率の低値、1,000µg/Lのばく露区で総産卵容積の低値、総産卵数の低値(10µg/L区では高値)、産卵(F₂)胚奇形率の高値が認められた。なお、産卵(F₂)死亡率には影響は認められなかった。(14029)

評価未実施の理由：有意な結果が得られた評価項目が一般毒性と考えられたため

⑥Miles-Richardson ら(19991)によって、ノニルフェノールエトキシレート(Solfonic N-95、Huntsman、組成はエトキシレート重合度7~10を主成分とする混合物であり重合度9オリゴマーの組成比が最も高く10.73%) 0.15、0.43、1.45、5.5µg/L(設定濃度)に42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、雌雄生存率、雄第二性徴(nuptial tubercle 直径)、雄第二性徴(fat pad 厚)、雄精巢の組織病理学的損傷重篤度スコア、雌卵巣の卵胞ステージ、雌雄の肉眼的又は素機器病理学的以上所見率には影響は認められなかった。(902)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

(2)魚類精巢細胞への影響

①Le Gac ら(2001)によって、ノニルフェノールエトキシレート(Nonylphenol polyethoxylate, Igepal®

Co-720、Aldrich) 1、10 μ M の濃度に3～4.5日間(更に標識チミジン共存下+24時間)ばく露した成熟段階 II-IV ニジマス精巣由来生殖細胞への影響が検討されている。その結果として、10 μ M の濃度区で細胞増殖率(基底状態又はインスリン様生長因子 IGF-1 共存下)の低値が認められた。

また、ノニルフェノールエトキシレート(Nonylphenol diethoxylate, Igepal® CO-210, Aldrich、組成は NP1EO 80%及び NP2EO 20%) 1、10、30 μ M の濃度に3～4.5日間(更に標識チミジン共存下+24時間)ばく露した成熟段階 II-IV ニジマス精巣由来生殖細胞への影響が検討されている。その結果として、30 μ M の濃度区で細胞増殖率(基底状態又はインスリン様生長因子 IGF-1 共存下)の低値が認められた。(5307)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：精巣由来生殖細胞におけるインスリン様生長因子受容能力のかく乱

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を示すこと、試験管内試験の報告において、魚類精巣細胞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7に示した。

表7 信頼性評価のまとめ

物質名：ポリ(オキシエチレン)=ノニルフェニルエーテル類 (別名：ノニルフェノールエトキシレート)

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(1)生態影響	エストロゲン作用	①Nichols ら(2001)	○	○N	×
		②Hu ら(2014) 評価未実施			
		③Oliveira-Filho ら(2009)評価未実施			
	エストロゲン様作用	④Balch と Metcalfe (2006)	○	○P	○
	エストロゲン様作用	⑤Le Gac ら(2001)	Δ	○P	○
		⑥Miles-Richardson ら(1999)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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(2)魚類精巢細胞への影響	精巢由来生殖細胞におけるインスリン様生長因子受容能力のかく乱	①Le Gac ら(2001)	△	○P	○
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を示すこと、試験管内試験の報告において、魚類精巢細胞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

- 5493: Nichols KM, Snyder EM, Snyder SA, Pierens SL, Miles-Richardson SR and Giesy JP (2001) Effects of nonylphenol ethoxylate exposure on reproductive output and bioindicators of environmental estrogen exposure in fathead minnows *Pimephales promelas*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20 (3), 510-522.
- 14026: Hu XL, Sun ZW, Wang JJ, An M and Duan SS (2014) Sublethal toxic effects of nonylphenol ethoxylate and nonylphenol to *Moina macrocopa*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 93 (2), 204-208.
- 14029: Oliveira-Filho EC, Grisolia CK and Paumgartten FJ (2009) Trans-generation study of the effects of nonylphenol ethoxylate on the reproduction of the snail *Biomphalaria tenagophila*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72 (2), 458-465.
- 7497: Balch G and Metcalfe C (2006) Developmental effects in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to nonylphenol ethoxylates and their degradation products. *Chemosphere*, 62 (8),

1214-1223.

5307: Le Gac F, Thomas JL, Mourot B and Loir M (2001) *In vivo* and *in vitro* effects of prochloraz and nonylphenol ethoxylates on trout spermatogenesis. *Aquatic Toxicology*, 53 (3-4), 187-200.

902: 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 Pt 2), S122-S137.

Ⅷ. ペンディメタリン

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ペンディメタリンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響の有無に関する報告がある。

(1)生殖影響

①Undeger ら(2010)によって、ペンディメタリン(Sigma-Aldrich) 150、225、300、600mg/kg/day に 20 日齢から 3 日間経口投与した雌 LE ラットへの影響が検討されている。その結果として、225mg/kg/day 以上のばく露群で子宮中アンドロゲン受容体 mRNA 相対発現量の低値、225mg/kg/day のばく露群で子宮中インシュリン様成長因子-I (IGF-1) mRNA 相対発現量の低値、300mg/kg/day 以上のばく露群で子宮絶対重量の高値、600mg/kg/day のばく露群で子宮相対重量、子宮中エストロゲン受容体 β mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、体重、子宮中エストロゲン受容体 α mRNA 相対発現量、子宮中プロゲステロン受容体 mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14094)(評価結果の略号：△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用

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、エストロゲン様作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 8 に示した。

表 8 信頼性評価のまとめ

物質名：ペンディメタリン

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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(1)生殖影響	エストロゲン様作用	①Undeger ら(2010)	△	○P	○
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

14094: Undeger U, Schlumpf M and Lichtensteiger W (2010) Effect of the herbicide pendimethalin on rat uterine weight and gene expression and *in silico* receptor binding analysis. Food and Chemical Toxicology, 48 (2), 502-508.

Ⅸ. クラリスロマイシン

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

クラリスロマイシンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、ステロイド代謝酵素への影響の有無に関する報告がある。

(1)ステロイド代謝酵素への影響

- ①Akiyoshi ら(2013)によって、クラリスロマイシン 0.1、0.3、1、5、20 μ M(=150、748、2,240、7,480、37,400 μ g/L)の濃度で CYP3A4.1 によるテストステロン 6 β 水酸化酵素比活性への影響が検討されている。その結果として、Ki 値 0.793 μ M(=593 μ g/L)の濃度でテストステロン 6 β 水酸化の阻害が認められた。(13895)(評価結果の略号： Δ OP)
 想定される作用メカニズム：テストステロンの代謝阻害

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、試験管内試験の報告において、ステロイド代謝酵素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9に示した。

表9 信頼性評価のまとめ

物質名：クラリスロマイシン

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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(1)ステロイド代謝酵素への影響	テストステロンの代謝阻害	①Akiyoshi ら(2013)	Δ	OP	○
今後の対応案		試験管内試験の報告において、ステロイド代謝酵素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、 Δ ：一部記載が不十分である、 \times ：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

13895: Akiyoshi T, Ito M, Murase S, Miyazaki M, Guengerich FP, Nakamura K, Yamamoto K and Ohtani H (2013) Mechanism-based inhibition profiles of erythromycin and clarithromycin with cytochrome P450 3A4 genetic variants. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 28 (5), 411-415.

X. クリンダマイシン

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

クリンダマイシンの内分泌かく乱作用に関連する報告は、得られなかった。

X I. ロキシスロマイシン

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ロキシスロマイシンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、免疫影響、抗アンドロゲン作用、ステロイド代謝酵素への影響、カリウムイオンチャンネルへの影響の有無及び疫学的調査に関する報告がある。

(1) 免疫影響

- ① Yamamoto ら(2001)によって、ロキシスロマイシン 2.5mg/kg/day を 14 日間経口投与した雄 BALB/c マウス(入手時 5 週齢)への影響(最終投与 1 時間後に試験)が検討されている。その結果として、血漿中コルチコステロン濃度の高値が認められた。なお、この影響はキーホールリンペットヘモシアニンの腹腔内投与による感作化によって一層顕著であった。(14079)(評価結果の略号：△○P)
想定される作用メカニズム：副腎皮質ホルモン生成活性上昇、視床下部—下垂体—副腎軸への作用

(2) 抗アンドロゲン作用

- ① Inui ら(2004)らによって、ロキシスロマイシン 1,000、5,000µg/L の濃度に 48 時間ばく露(アンドロゲン受容体アゴニスト R1881 1 nM 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、5,000µg/L の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(14076)(△○P)
- ② Inui ら(2001)らによって、ロキシスロマイシン 1,000、5,000µg/L の濃度に 24 時間ばく露(アンドロゲン受容体アゴニスト R1881 1 nM 共存下)したヒト皮膚線維芽細胞(アンドロゲン受容体及びアンドロゲン受容体コアクチベータ ARA55 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、5,000µg/L の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。
- また、ロキシスロマイシン 500、1,000、5,000µg/L の濃度に 24 時間ばく露(アンドロゲン受容体アゴニスト R1881 1 nM 共存下)したヒト皮膚線維芽細胞(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の阻害は認められなかった。(14078)(△○P)

(3) ステロイド代謝酵素への影響

- ① Fisher ら(1990)によって、ロキシスロマイシン 0.5mmole/kg/day(=419mg/kg/day)を 5 日間経口投与した雄 SD ラットへの影響(最終投与から 2 時間後)が検討されている。その結果として、肝臓ミクロソーム 2/4-ヒドロキシラーゼ比活性(17β-エストラジオールを基質とする)の低値、ミクロソーム蛋白質中チトクローム P450(非複合体)濃度の高値が認められた。なお、肝臓相対重量、肝臓中ミクロソーム蛋白質濃度には影響は認められなかった。(14084)(△○P)
想定される作用メカニズム：エストラジオールの代謝阻害

②Yamazaki ら(1996)によって、ロキシスロマイシン 30 μ M(=25,100 μ g/L)の濃度でヒト肝臓ミクロソームによるテストステロン 6 β 水酸化酵素比活性への影響が検討されている。その結果として、テストステロン 6 β 水酸化の阻害が認められた。

なお、ロキシスロマイシン 30 μ M(=22,000 μ g/L)の濃度でヒト CYP3A4 又は CYP3A5 モノオキシゲナーゼ再構築発現系によるテストステロン 6 β 水酸化酵素比活性への影響が検討されているが、テストステロン 6 β 水酸化の阻害は認められなかった。(13890)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：テストステロンの代謝阻害

※参考 (4)カリウムイオンチャンネルへの影響(今回評価対象としなかった文献)

①Han ら(2013)によって、ロキシスロマイシン 0.1~1,000 μ M(=83.7~837,000 μ g/L)の濃度にはく露したヒト胎児腎臓細胞 293HEK (hERG*を一過的発現)への影響が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 55.8 μ M(=46,700 μ g/L)の濃度で hERG 電位の低値が認められた。

また、ロキシスロマイシン 1、10、100 μ M(=837、8,370、83,700 μ g/L)の濃度にはく露したヒト胎児腎臓細胞 293HEK (hERG*を一過的発現)への影響が検討されている。その結果として、1 μ M(=837 μ g/L)以上の濃度で細胞表面における hERG 発現量(36~48 時間)の低値が認められた。(14070)

* hERG (human Ether-a-go-go Related Gene)はカリウムイオンチャンネル Kv11.1 遺伝子を示す。
評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

※参考 (5)疫学的調査(今回評価対象としなかった文献)

①Chun ら(2006)によって、ロキシスロマイシンについて、韓国にて 1999 年から 2004 年にかけてに
かけて、ばく露群としてロキシスロマイシンを摂取した妊婦 17 名(平均年齢 31.1 歳、平均摂取量
300mg/kg/day、平均ばく露期間 4.0 日、平均妊娠期間 39.2 週間)及び非ばく露群として妊婦 170 名
(平均年齢 31.1 歳、平均妊娠期間 39.4 週間)を対象に、妊娠初期ロキシスロマイシンばく露と出産
アウトカムとの関連性について検討されている。その結果として、ばく露群と非ばく露群との比較
において、妊娠期間、新生児体重、異常出産率には差は認められなかった。(14073)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

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、視床下部一下垂体一副腎軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、抗アンドロゲン作用、ステロイド代謝酵素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 11 に示した。

表 11 信頼性評価のまとめ

物質名：ロキシスロマイシン

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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(1)免疫影響	副腎皮質ホルモン生成活性上昇、視床下部—下垂体—副腎軸への作用	①Yamamoto ら(2001)	△	○P	○
(2)抗アンドロゲン作用		①Inui ら(2004)	△	○P	○
		②Inui ら(2001)	△	○P	○
(3)ステロイド代謝酵素への影響	エストラジオールの代謝阻害	①Fisher ら(1990)	△	○P	○
	テストステロンの代謝阻害	②Yamazaki ら(1996)	△	○P	○
(4)カリウムイオンチャンネルへの影響		①Han ら(2013) 評価未実施			
(5)疫学的調査		①Chun ら(2006) 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—副腎軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、抗アンドロゲン作用、ステロイド代謝酵素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

14079: Yamamoto S, Asano K, Shimane T, Hisamitsu T and Suzaki H (2001) Enhancement of endogenous corticosterone levels by a macrolide antibiotic, roxithromycin in mice. Life Sciences, 69 (10), 1115-1121.

14076: Inui S, Nakao T and Itami S (2004) Modulation of androgen receptor transcriptional

activity by anti-acne reagents. *Journal of Dermatological Science*, 36 (2), 97-101.

14078: Inui S, Nakajima T, Fukuzato Y, Fujimoto N, Chang C, Yoshikawa K and Itami S (2001) Potential anti-androgenic activity of roxithromycin in skin. *Journal of Dermatological Science*, 27 (2), 147-151.

14084: Fisher D, Labbe G, Berson A, Tinel M, Loeper J, Larrey D and Pessayre D (1990) Inhibition of rat liver estrogen 2/4-hydroxylase activity by troleandomycin: comparison with erythromycin and roxithromycin. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 254 (3), 1120-1127.

13890: Yamazaki H, Urano T, Hiroki S and Shimada T (1996) Effects of erythromycin and roxithromycin on oxidation of testosterone and nifedipine catalyzed by CYP3A4 in human liver microsomes. *Journal of Toxicological Sciences*, 21 (4), 215-226.

14070: Han SN, Yang SH, Zhang Y, Duan YY, Sun XY, Chen Q, Fan TL, Ye ZK, Huang CZ, Hu XJ, Zhang Z and Zhang LR (2013) Blockage of hERG current and the disruption of trafficking as induced by roxithromycin. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 91 (12), 1112-1118.

14073: Chun JY, Han JY, Ahn HK, Choi JS, Koong MK, Nava-Ocampo AA and Koren G (2006) Fetal outcome following roxithromycin exposure in early pregnancy. *Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 19 (3), 189-192.

XII. スルファピリジン

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

スルファピリジンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響の有無に関する報告がある。

(1) 生殖影響

①Pholpramool ら(1991)によって、スルファピリジン 150、250、450mg/kg/day を5週間経口投与した成熟雄 Fischer ラットへの影響が検討されている。その結果として、150、450mg/kg/day のばく露群で妊孕率(ばく露後に非ばく露雌と交配試験し交配終了8~10日後の胎仔数/黄体数)の低値が認められた。(13948)(評価結果の略号：○?)

想定される作用メカニズム：不明

②Chaturapanich ら(1999)によって、スルファピリジン 450mg/kg と標識チミジンを精巣内注射後に単回経口投与した成熟雄 Wistar ラットへの影響(精巣上体各部位の精子への標識率を投与46日後に測定)が検討されている。その結果として、精巣上体尾近位での標識率の低値、精巣上体尾遠位での標識率の高値が認められた。なお、精巣上体管初期分節(initial segment)、精巣上体頭、精巣上体体又は輸精管での標識率には影響は認められなかった。

また、スルファピリジン 450mg/kg と標識チミジンを精巣内注射後に単回経口投与した成熟雄 Wistar ラットへの影響(精巣上体各部位の精子への標識率を投与49日後に測定)が検討されている。その結果として、精巣上体尾遠位での標識率の低値、輸精管での標識率の高値が認められた。なお、精巣上体管初期分節(initial segment)、精巣上体頭、精巣上体体又は精巣上体尾近位での標識率には影響は認められなかった。

また、スルファピリジン 450mg/kg と標識チミジンを精巣内注射後に単回経口投与した成熟雄 Wistar ラットへの影響(精巣上体各部位の精子への標識率を投与52日後に測定)が検討されている。その結果として、精巣上体尾近位での標識率の低値、精巣上体尾遠位での標識率の高値が認められた。なお、精巣上体管初期分節(initial segment)、精巣上体頭、精巣上体体又は輸精管での標識率には影響は認められなかった。(13941)(○?)

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)

③Weissenberg ら(1991)によって、スルファピリジン 770mg/kg/day を60日間経口投与した成熟雄 Golden ハムスターへの影響(ばく露に非ばく露雌と交配試験)が検討されている。その結果として、同腹新生仔数の低値が認められた。(13951)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

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 12 に示した。

表 12 信頼性評価のまとめ

物質名：スルファピリジン

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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(1)生殖影響	①Pholpramool ら (1991)	○	?	—
	②Chaturapanich ら (1999)	○	?	—
	③Weissenberg ら (1991) 評価未実施			
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としない。			

- 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

13948: Pholpramool C, Ruchirawat S, Verawatnapakul V, Paovalo C and Lewin LM (1991) Structural requirements of some sulphonamides that possess an antifertility activity in male rats. *Journal of Reproduction and Fertility*, 92 (1), 169-178.

13941: Chaturapanich G, Sujarit K and Pholpramool C (1999) Effects of sulphapyridine on sperm transport through the rat epididymis and contractility of the epididymal duct. *Journal of Reproduction and Fertility*, 117 (2), 199-205.

13951: Weissenberg R, Pholpramool C and Lewin LM (1991) Antifertility effects of sulfapyridine on male hamsters. *Andrologia*, 23 (4), 269-271.

XIII. スルファメトキサゾール

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

スルファメトキサゾールの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響の有無に関する報告がある。

(1) 生態影響

①Yan ら(2016)によって、スルファメトキサゾール 2、20、200 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に受精 14 日後から 150 日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(雌雄混合、ばく露終了前 3 週間は交配試験を実施)が検討されている。その結果として、2 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で全身中 EROD 活性、全身中 SOD 活性、全身中 CAT 活性の高値、200 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で F₁ 卵生存率、体重、肥満度、日毎産卵数、F₁ 卵孵化率の低値、F₁ 卵奇形率の高値が認められた。なお、体長、心拍数には影響は認められなかった。(13952)(評価結果の略号：○×)

想定される作用メカニズム：一般毒性

②Madureira ら(2011)によって、スルファメトキサゾール 533 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 21 日間ばく露した成熟雌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、雄精巢の組織学的検査(各ステージの生殖細胞が示す相対体積)において精子が占める率の低値が認められた。なお、雌雄の生殖腺体指数、雌卵巢の組織学的検査(各ステージの生殖細胞が示す相対体積)には影響は認められなかった。(13956)(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用

※参考 生態影響(今回評価対象としなかった文献)

③Melvin ら(2014)によって、スルファメトキサゾール 10、100 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に Gosner Stage 26 幼生から 21 日間ばく露したチャスジヌマチガエル Australian striped marsh frog (*Limnodynastes peronii*)への影響が検討されているが、ばく露 21 日後の Gosner Stage、体長(snout-vent length)には影響は認められなかった。(13954)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

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 13 に示した。

表 13 信頼性評価のまとめ

物質名：スルファメトキサゾール

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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(1)生態影響	一般毒性	①Yan ら(2016)	○	×	×
	エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用	②Madureira ら(2011)	△	○	○
		③Melvin ら(2014) 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、抗アンドロゲン様作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

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

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

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

参考文献

13952: Yan Z, Lu G, Ye Q and Liu J (2016) Long-term effects of antibiotics, norfloxacin, and sulfamethoxazole, in a partial life-cycle study with zebrafish (*Danio rerio*): effects on growth, development, and reproduction. Environmental Science and Pollution Research International. 23, 18222-18228.

13956: Madureira TV, Rocha MJ, Cruzeiro C, Galante MH, Monteiro RA and Rocha E (2011) The toxicity potential of pharmaceuticals found in the Douro River estuary (Portugal): assessing impacts on gonadal maturation with a histopathological and stereological study of zebrafish ovary and testis after sub-acute exposures. Aquatic Toxicology, 105 (3-4), 292-299.

13954: Melvin SD, Cameron MC and Lanctot CM (2014) Individual and mixture toxicity of

pharmaceuticals naproxen, carbamazepine, and sulfamethoxazole to Australian striped marsh frog tadpoles (*Limnodynastes peronii*). Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A, 77 (6), 337-345.

XIV. *n*-ヘキササン

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

n-ヘキササンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響及び発達影響の有無に関する報告がある。

(1) 生殖影響

①Liu ら(2012)によって、*n*-ヘキササン 3.0、15.1、75.8ppm(チャンバー内空气中設定濃度と思われる)に2ヶ月齢から5週間(週7日、日毎4時間)吸入ばく露した雌 ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、3.0ppm 以上のばく露群で総排卵数、血清中プロゲステロン濃度の低値、15.1ppm 以上のばく露群で卵胞発達において成熟卵胞が占める割合の低値、排卵死亡率、卵巣顆粒膜細胞のアポトーシス率の高値、75.8ppm のばく露群で体重、発情周期において発情間期が占める割合、卵胞発達において一次又は二次卵胞が占める割合の低値、卵胞発達において原始卵胞が占める割合、卵胞発達において黄体又は白体が占める割合、卵胞発達において閉塞卵胞が占める割合の高値が認められた。なお、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中 17 β -エストラジオール濃度には影響は認められなかった。(13143)(評価結果の略号： Δ OP)

想定される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用

③Li ら(2015)によって、*n*-ヘキササン 100、500、2,500、12,500ppm(チャンバー内空气中設定濃度)に妊娠1日目から20日目(日毎4時間)吸入ばく露したWistar ラットへの影響(仔動物雌について試験。21日齢で離乳後、36日齢から発情周期測定、56日齢で剖検)が検討されている。その結果として、100、500ppm のばく露群で卵巣顆粒細胞中 *Star* 遺伝子プロモータ領域における相対メチル化度の低値(12,500ppm 群では高値)、発情周期に占める発情前期の割合の高値、卵巣顆粒細胞のプロゲステロン産生能の高値(12,500ppm 群では高値)、卵巣顆粒細胞中 *Star* mRNA 相対発現量の高値(12,500ppm 群では低値)、500ppm のばく露群で卵巣顆粒細胞中 *Cyp11a1* 遺伝子プロモータ領域における相対メチル化度の低値(12,500ppm 群では高値)、卵巣顆粒細胞中 *Cyp17a1* 遺伝子プロモータ領域における相対メチル化度の低値(2,500、12,500ppm 群では高値)、卵巣顆粒細胞中 *Star* 蛋白質相対発現量、卵巣顆粒細胞中 *Cyp11a1* mRNA 及び蛋白質相対発現量の高値(12,500ppm 群では低値)、卵巣顆粒細胞中 *Cyp17a1* mRNA 及び蛋白質相対発現量の高値(2,500、12,500ppm 群では低値)、500、2,500ppm のばく露群で発情周期に占める発情期の割合の高値、2,500ppm 以上のばく露群で卵巣顆粒細胞の 17 β -エストラジオール産生能の低値、12,500ppm のばく露群で同腹新生仔数、発情周期に占める発情間期の割合、卵巣顆粒細胞中 *Hsd3b* mRNA 及び蛋白質相対発現量の低値、卵巣顆粒細胞中 *Hsd3b* 遺伝子プロモータ領域における相対メチル化度の高値が認められた。なお、体重、膈開口日、発情周期所要日数、発情周期に占める発情後期の割合には影響は認められなかった。(14017)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：低濃度群でのエストロゲン様作用、高濃度群での抗エストロゲン様作用

⑤de Martino ら(1987)によって、*n*-ヘキササン 5,000ppm(チャンバー内空气中設定濃度)に24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、精巣の組織病理学的検査における異常所見の重篤度スコアの高値(ばく露終了から 30 日後には回復)、精巣上体の組織病理学的検査における異常所見の重篤度スコアの高値(ばく露終了から 14 日後には回復)が認められた。

また、*n*-ヘキサシ 5,000ppm(チャンバー内空气中設定濃度)に 5～6 週間(週 6 日、日毎 16 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、精巣及び精巣上体の組織病理学的検査における異常所見の重篤度のスコアの高値(ばく露終了 29 週間後にも回復せず)が認められた。(14022)(○?)

想定される作用メカニズム：精子生成細胞に対する毒性作用

※参考 生殖影響(今回評価対象としなかった文献)

②Liu ら(2013)によって、*n*-ヘキサシ 5.7、22.5、90.9ppm(チャンバー内空气中設定濃度と思われる)に 7 日間(14 日齢からと思われる。日毎 8 時間)吸入ばく露した雌 ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、5.7ppm 以上のばく露群で卵胞死亡率(ばく露終了 0 時間後)の高値、5.7、90.9ppm のばく露群で卵核胞崩壊率(ばく露終了 24 時間後)の低値、22.5ppm 以上のばく露群で成熟卵胞の第一極体放出率(ばく露終了 0、24 時間後)の低値、卵胞死亡率(ばく露終了 24 時間後)の高値が認められた。(14018)

評価未実施の理由：有意な結果が得られた低用量における評価項目が一般毒性と考えられたため

④Li ら(2014)によって、*n*-ヘキサシ 500、2,500、12,500ppm(チャンバー内空气中設定濃度)に妊娠 1 日目から 20 日目(日毎 4 時間)吸入ばく露した Wistar ラットへの影響(仔動物雌について試験。21 日齢で離乳後、36 日齢から発情周期測定、56 日齢で剖検)が検討されている。その結果として、2,500ppm 以上のばく露群で、卵巣顆粒細胞中 *Hsd17b8* 遺伝子プロモータ領域における相対メチル化度、卵巣顆粒細胞中 *Cyp11a1* 遺伝子プロモータ領域における相対メチル化度の低値、卵巣顆粒細胞中 *Cyp17a1* 遺伝子プロモータ領域における相対メチル化度、卵巣顆粒細胞中 *Hsd3b1* 遺伝子プロモータ領域における相対メチル化度、卵巣顆粒細胞中 *Srd5a1* 遺伝子プロモータ領域における相対メチル化度の高値、12,500ppm のばく露群で同腹新生仔数、卵胞において二次卵胞が占める率の低値、卵胞において閉鎖卵胞が占める率の高値が認められた。なお、体重、新生仔雌性比、卵胞において始原卵胞、一次卵胞、成熟卵胞、黄体が占める率には影響は認められなかった。(14019)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

※参考 (2) 発達影響(今回評価対象としなかった文献)

①Bus ら(1979)によって、*n*-ヘキサシ 1,000ppm(チャンバー内空气中設定濃度)に妊娠 8 日目から妊娠 16 日目まで(日毎 6 時間)吸入ばく露した F344 ラットへの影響(妊娠 23 日目に自然出産)が検討されている。その結果として、仔動物体重(1～6 日齢同腹総仔)の低値が認められた。

また、*n*-ヘキサシ 1,000ppm(チャンバー内空气中設定濃度)に妊娠 8 日目から妊娠 16 日目まで(日毎 6 時間)吸入ばく露した F344 ラットへの影響(妊娠 22 日目に開腹)が検討されているが、同腹着床数、同腹胎仔数、胚吸収率、胎仔体重、胎仔外表における異常所見率、胎仔柔組織における異常所見率、胎仔骨格における以上所見率には影響は認められなかった。(13145)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

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、抗エストロゲン様作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 14 に示した。

表 14 信頼性評価のまとめ

物質名：*n*-ヘキサン

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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(1)生殖影響	抗エストロゲン様作用	①Liu ら(2012)	△	○P	○
		②Liu ら(2013) 評価未実施			
	低濃度群でのエストロゲン様作用、高濃度群での抗エストロゲン様作用	③Li ら(2015)	△	○P	○
		④Li ら(2014) 評価未実施			
	精子生成細胞に対する毒性作用	⑤de Martino ら(1987)	○	×	×
(2)発達影響	①Bus ら(1979) 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、抗エストロゲン様作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。				

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

2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：

内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない

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

参考文献

- 13143: Liu J, Huang HL, Pang F and Zhang WC (2012) The effect of *n*-hexane on the gonadotoxicity of female mice. *Biomedical and Environmental Sciences*, 25 (2), 189-196.
- 14018: Liu J, Huang L, Sun Y, Li YC, Zhu JL, Wang WX and Zhang WC (2013) *N*-hexane alters the maturation of oocytes and induces apoptosis in mice. *Biomedical and Environmental Sciences*, 26 (9), 735-741.
- 14017: Li H, Zhang C, Ni F, Guo S, Wang W, Liu J, Lu X, Huang H and Zhang W (2015) Gestational *n*-hexane inhalation alters the expression of genes related to ovarian hormone production and DNA methylation states in adult female F1 rat offspring. *Toxicology Letters*, 239 (3), 141-151.
- 14019: Li H, Liu J, Sun Y, Wang W, Weng S, Xiao S, Huang H and Zhang W (2014) *N*-hexane inhalation during pregnancy alters DNA promoter methylation in the ovarian granulosa cells of rat offspring. *Journal of Applied Toxicology*, 34 (8), 841-856.
- 14022: de Martino C, Malorni W, Amantini MC, Scorza Barcellona P and Frontali N (1987) Effects of respiratory treatment with *n*-hexane on rat testis morphology. I. A light microscopic study. *Experimental and Molecular Pathology*, 46 (2), 199-216.
- 13145: Bus JS, White EL, Tyl RW and Barrow CS (1979) Perinatal toxicity and metabolism of *n*-hexane in Fischer-344 rats after inhalation exposure during gestation. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 51 (2), 295-302.

XV. トルエンジイソシアネート

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

2,4-異性体を主成分とするトルエンジイソシアネートの内分泌かく乱作用に関連する報告として、発達影響、呼吸器官影響及び細胞内カルシウムイオン調節への影響の有無に関する報告がある。

2,6-異性体を主成分とするトルエンジイソシアネートの内分泌かく乱作用に関連する報告は、得られなかった。

※参考 (1) 発達影響(今回評価対象としなかった文献)

①Tylら(1999a)によって、トルエンジイソシアネート(CAS 26471-62-5、Dow Chemical、2,4:2,6-異性体比公称値 80:20、ただし測定値はこの比から乖離) 0.021±0.0018、0.12±0.017、0.48±0.038ppm(チャンバー内空气中測定濃度)に妊娠6日目から15日目まで(日毎6時間)吸入ばく露したSD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、0.021ppmのばく露群で母動物体重、同腹着床数、同腹生存着床数の低値(著者らは偶発的と解釈)、0.48ppmのばく露区で胎仔骨格奇形及び変化発生率の内 Cervical centrum 5骨化不全発生率の高値(総発生率には有意差なし)が認められた。なお、胎仔外表奇形及び変化発生率、胎仔内臓奇形及び変化発生率、妊娠子宮絶対重量、母動物補正体重(体重-妊娠子宮絶対重量)、母動物補正増加体重、母動物肝臓絶対及び相対重量、同腹黄体数、同腹着床部位数(総着床数)、同腹生存胎仔数、胎仔雄性比、雄及び雌胎仔体重には影響は認められなかった。(14043)

評価未実施の理由：有意な結果が得られた低用量における評価項目が一般毒性と考えられたため

②Tylら(1999b)によって、トルエンジイソシアネート(CAS 26471-62-5、Dow Chemical、99%、2,4:2,6-異性体比の公称値 80:20、ただし測定値は異なる) 0.020±0.003、0.079±0.009、0.29±0.023ppm(チャンバー内空气中測定濃度。各区の2,4:2,6-異性体比の測定値は63.4:36.6、69.2:30.8、75.0:25.0)に42日齢から10週間(週5日、日毎6時間)、3週間の交配期間(週7日、日毎6時間)及び妊娠0日目から出産後21日目まで(週7日、日毎6時間、ただし妊娠20日目から出産後4日目まではばく露中断)まで吸入ばく露したSDラットF₀への影響が検討されている。その結果として、0.29ppmのばく露群で父動物体重(ばく露98日後)の高値が認められた。なお、母動物体重、交尾率、妊娠率、妊孕率、出産率、新生仔生存率、離乳仔生存率、同腹新生仔数(0、1、4、7、14、21日齢)、同腹新生仔体重(0、1、4、7、14、21日齢)、同腹新生仔増加体重(0、1、4、7、14、21日齢)、同腹新生仔雄性比(0、1、4、7、14、21日齢)には影響は認められなかった。

更に、トルエンジイソシアネート(CAS 26471-62-5、Dow Chemical、99%、2,4:2,6-異性体比の公称値 80:20、ただし測定値は異なる) 0.020±0.003、0.079±0.009、0.29±0.023ppm(チャンバー内空气中測定濃度。各区の2,4:2,6-異性体比の測定値は63.4:36.6、69.2:30.8、75.0:25.0)に28日齢から28日齢から12週間(週5日、日毎6時間)、3週間の交配期間(週7日、日毎6時間)及び妊娠0日目から出産後21日目まで(週7日、日毎6時間、ただし妊娠20日目から出産後4日目まではばく露中断)まで吸入ばく露したSDラットF₁(上記F₀が出産)への影響が検討されている。その結果として、0.079ppm以上のばく露群で同腹新生仔体重(14日齢)、同腹新生仔増加体重(7日齢)の低

値、0.29ppm のばく露群で同腹新生仔増加体重(14 日齢)の低値が認められた。なお、父動物体重(ばく露 112 日後)、母動物体重、交尾率、妊娠率、妊孕率、出産率、新生仔生存率、離乳仔生存率、同腹新生仔数(0、1、4、7、14、21 日齢)、同腹新生仔雄性比(0、1、4、7、14、21 日齢)には影響は認められなかった。(14042)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

※参考 (2)呼吸器官影響(今回評価対象としなかった文献)

①Raulf ら(1995)によって、トルエンジイソシアネート(Merck、2,4:2,6-異性体比の公称値 80:20) 0.010、0.020、0.030ppm(チャンバー内空气中設定濃度)に 5 日間(日毎 2 時間)吸入ばく露した雌 Dunkin-Hartley モルモット(入手時体重 300~500g)への影響(ばく露終了から 1 時間後の気管支肺胞洗浄液について試験)が検討されている。その結果として、0.010ppm 以上のばく露区でペプチドロイコトリエン類(C4+D4+E4)濃度(蛋白質重量当)、ロイコトリエン B4 濃度(蛋白質重量当)の高値、0.010、0.020ppm のばく露群で回収細胞に占める好酸球率の高値、0.010ppm のばく露群で回収細胞に占めるマクロファージ率の低値が認められた。なお、回収細胞に占めるリンパ球率、回収細胞に占める好中球率、トロンボキサンチン B2 濃度(蛋白質重量当)、プロスタグランジン D2 濃度(蛋白質重量当)には影響は認められなかった。(14117)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

②Ban ら(1997)によって、トルエンジイソシアネート(Merck、2,4:2,6-異性体比の公称値 80:20) 0.999±0.009ppm(チャンバー内空气中測定濃度)に 5 日間(日毎 3 時間)吸入ばく露した雌 Dunkin-Hartley モルモット(入手時体重 300~350g)への影響(ばく露終了から 24、48 時間後の気管支肺胞洗浄液について試験)が検討されている。その結果として、総細胞数(48 時間後)、総細胞に占める樹状細胞比(48 時間後)の高値が認められた。なお、腫瘍壊死因子(TNF: Tumor Necrosis)- α 濃度濃度、インターロイキン-6 (IL-6)濃度には影響は認められなかった。

また、トルエンジイソシアネート(Merck、2,4:2,6-異性体比の公称値 80:20) 1.060±0.006ppm(チャンバー内空气中測定濃度)に 4 時間吸入ばく露した雌 Dunkin-Hartley モルモット(入手時体重 300~350g)への影響(ばく露終了から 24 時間、48 時間、5 日後の気管支肺胞洗浄液について試験)が検討されている。その結果として、総細胞数(5 日後)、総細胞に占める樹状細胞比(24 時間、48 時間、5 日後)の高値が認められた。なお、TNF- α 濃度、IL-6 濃度には影響は認められなかった。

また、トルエンジイソシアネート(Merck、2,4:2,6-異性体比の公称値 80:20) 1.076±0.031ppm(チャンバー内空气中測定濃度)に 2 日間(日毎 4 時間)吸入ばく露した雌 Dunkin-Hartley モルモット(入手時体重 300~350g)への影響(ばく露終了から 24 時間、48 時間、5 日後の気管支肺胞洗浄液について試験)が検討されている。その結果として、総細胞数(48 時間、5 日後)、総細胞に占める樹状細胞比(48 時間後)、IL-6 濃度(48 時間後)の高値が認められた。なお、TNF- α 濃度には影響は認められなかった。

また、トルエンジイソシアネート(Merck、2,4:2,6-異性体比の公称値 80:20) 2.962±0.071ppm(チャンバー内空气中測定濃度)に 1 時間吸入ばく露した雌 Dunkin-Hartley モルモット(入手時体重 300~350g)への影響(ばく露終了から 0 時間、24 時間、48 時間、5 日後の気管支肺胞洗浄液につい

て試験)が検討されている。その結果として、総細胞数(5日後)、総細胞に占める樹状細胞比(48時間後)、TNF- α 濃度(48時間後)の高値が認められた。なお、IL-6濃度には影響は認められなかった。

また、また、トルエンジイソシアネート(Merck、2,4:2,6-異性体比の公称値 80:20) 0.066 \pm 0.006、0.110 \pm 0.010ppm(チャンバー内空气中測定濃度)に 48 時間吸入ばく露した雌 Dunkin-Hartley モルモット(入手時体重 300~350g)への影響(ばく露終了から 0、24 時間後の気管支肺胞洗浄液について試験)が検討されているが、総細胞数、総細胞に占める樹状細胞比、TNF- α 濃度、IL-6 濃度には影響は認められなかった。(14053)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

- ③Sheppard ら(1988)によって、トルエンジイソシアネート(Aldrich、2,4:2,6-異性体比の公称値 80:20) 3.00 \pm 0.16ppm(チャンバー内空气中測定濃度)に 1 日間吸入ばく露した雄 Hartley モルモットへの影響(ばく露終了から 1 時間後にサブスタンス P を静脈内投与)が検討されている。その結果として、肺血管抵抗 200%増加に必要なサブスタンス P を投与量、気管中中性エンドペプチダーゼ比活性の低値が認められた。なお、食道中中性エンドペプチダーゼ比活性には影響は認められなかった。(14113)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

- ④Cibulas ら(1986)によって、トルエンジイソシアネート(Mobay Chemical、99.4%、2,4:2,6-異性体比の公称値 97.8:2.2) 3 ppm(チャンバー内空气中設定濃度)に 5 日間(日毎 4 時間)吸入ばく露吸入ばく露した雌 English short-hair モルモット(入手時体重 250~300g)への影響が検討されている。その結果として、比気道コンダクタンス 50%低下に要するヒスタミン濃度(ばく露終了 2、24 時間後)の低値、比気道コンダクタンス(ばく露終了 2、24、72 時間及び 1 週間後)、気道粘膜中細胞に占めるマスト細胞数(ばく露終了 1 週間後)、気道粘膜中細胞に占める多形核白血球数(ばく露終了 2、24 時間後)、気道粘膜中細胞に占める有糸分裂中上皮細胞数(ばく露終了 2、24、72 時間後)の高値が認められた。(14111)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

※参考 (3)細胞内カルシウムイオン調節への影響(今回評価対象としなかった文献)

- ①Liu ら(2006)によって、2,4-トルエンジイソシアネート(Sigma) 1、10、100、1,000 μ M(=174、1,740、17,400、174,000 μ g/L)の濃度にばく露したヒト神経芽腫細胞 SH-SY5Y への影響(ニコチン性アセチルコリン受容体リガンドであるエピバチジン 10 μ M 及び 2.2mM 細胞外カルシウムイオン共存下、300 秒間測定)が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 158 μ M(=27,500 μ g/L)の濃度で細胞質中カルシウムイオン濃度上昇の阻害が認められた。

また、2,4-トルエンジイソシアネート(Sigma) 1、10、100、1,000 μ M(=174、1,740、17,400、174,000 μ g/L)の濃度にばく露したラット副腎髄質褐色細胞腫 PC12 への影響(P2X プリン受容体リガンドである ATP 100 μ M 及び 2.2mM 細胞外カルシウムイオン共存下、200 秒間測定)が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 250 μ M(=43,600 μ g/L)の濃度で細胞質中カルシウムイオン濃度上昇の阻害が認められた。

また、2,4-トルエンジイソシアネート(Sigma) 1、10、100、1,000 μ M(=174、1,740、17,400、

174,000 $\mu\text{g/L}$)の濃度にはばく露したヒト乳腺腫細胞 HeLa への影響(ATP 受容体リガンドである ATP 100 μM 及び 2.2mM 細胞外カルシウムイオン共存下、300 秒間測定)が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 300 μM (=52,300 $\mu\text{g/L}$)の濃度で細胞質中カルシウムイオン濃度上昇の阻害が認められた。

また、2,4-トルエンジイソシアネート(Sigma) 1,000 μM (=174,000 $\mu\text{g/L}$)の濃度にはばく露したブタ副腎クロマフィン細胞への影響(ニコチン性アセチルコリン受容体リガンドであるエピバチジン 10 μM 共存下、10 分間)が検討されている。その結果として、エピネフリン、ノルエピネフリン産生量の低値が認められた。なお、2,4-トルエンジイソシアネート(Sigma) 1,000 μM (=174,000 $\mu\text{g/L}$)の濃度にはばく露したブタ副腎クロマフィン細胞への影響(GABA 受容体リガンドである GABA 100 μM 及び 2.2mM 細胞外カルシウムイオン共存下、300 秒間測定)が検討されているが、細胞質中カルシウムイオン濃度上昇率には影響は認められなかった。(14036)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

②Chiung ら(2005)によって、2,4-トルエンジイソシアネート(Sigma) 1、10、100、1,000 μM (=174、1,740、17,400、174,000 $\mu\text{g/L}$)の濃度にはばく露したヒト神経芽腫細胞 SH-SY5Y への影響(ニコチン性アセチルコリン受容体リガンドであるエピバチジン 10 μM 及び 2.2mM 細胞外カルシウムイオン共存下、測定時間については記載不明瞭)が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 158 μM (=27,500 $\mu\text{g/L}$)の濃度で細胞質中カルシウムイオン濃度上昇の阻害が認められた。

また、2,4-トルエンジイソシアネート(Sigma) 1、10、100、1,000 μM (=174、1,740、17,400、174,000 $\mu\text{g/L}$)の濃度にはばく露したブタ副腎クロマフィン細胞への影響への影響(ニコチン性アセチルコリン受容体リガンドである塩化 1,1-ジメチル-4-フェニルピペラジニウム 10 μM 及び細胞外カルシウムイオン 2.2mM 共存下、測定時間については記載不明瞭)が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 250 μM (=43,600 $\mu\text{g/L}$)の濃度で細胞質中カルシウムイオン濃度上昇の阻害が認められた。(14037)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

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 15 に示した。

表 15 信頼性評価のまとめ

物質名：トルエンジイソシアネート

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(1)発達影響	①Tyl ら(1999a) 評価未実施			
	②Tyl ら(1999b) 評価未実施			
(2)呼吸器官影響	①Raulf ら(1995) 評価未実施			
	②Ban ら(1997) 評価未実施			
	③Sheppard ら(1988) 評価未実施			
	④Cibulas ら(1986) 評価未実施			
(3)細胞内カルシウムイオン調節への影響	①Liu ら(2006) 評価未実施			
	②Chiung ら(2005) 評価未実施			
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としない。			

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

14043: Tyl RW, Fisher LC, Dodd DE, Pritts IM, Kubena MF, Losco PE, Troup CM, Lyon JP and Landry TD (1999a) Developmental toxicity evaluation of inhaled toluene diisocyanate vapor in CD rats. Toxicological Sciences, 52 (2), 248-257.

- 14042: Tyl RW, Neeper-Bradley TL, Fisher LC, Dodd DE, Pritts IM, Losco PE, Lyon JP and Landry TD (1999b) Two-generation reproductive toxicity study of inhaled toluene diisocyanate vapor in CD rats. *Toxicological Sciences*, 52 (2), 258-268.
- 14117: Raulf M, Tennie L, Marczynski B, Potthast J, Marek W and Baur X (1995) Cellular and mediator profile in bronchoalveolar lavage of guinea pigs after toluene diisocyanate (TDI) exposure. *Lung*, 173 (1), 57-68.
- 14053: Ban M, Hettich D, Goutet M and Bonnet P (1997) TDI inhalation in guinea-pigs involves migration of dendritic cells. *Toxicology Letters (Shannon)*, 93 (2-3), 185-194.
- 14113: Sheppard D, Thompson JE, Scypinski L, Dusser D, Nadel JA and Borson DB (1988) Toluene diisocyanate increases airway responsiveness to substance p and decreases airway neutral endopeptidase. *Journal of Clinical Investigation*, 81 (4), 1111-1115.
- 14111: Cibulas WJ, Murlas CG, Miller ML, Vinegar A, Schmidt DJ, McKay RT, Bernstein IL and Brooks SM (1986) Toluene diisocyanate-induced airway hyperreactivity and pathology in the guinea-pig. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 77 (6), 828-834.
- 14036: Liu PS, Chiung YM, Kao YY and Chen HT (2006) 2,4-Toluene diisocyanate suppressed the calcium signaling of ligand gated ion channel receptors. *Toxicology*, 219 (1-3), 167-174.
- 14037: Chiung YM, Kao YY, Chen HT and Liu PS (2005) Inhibition by 2,4-toluene diisocyanate of the calcium signaling of neuronal nicotinic acetylcholine receptors in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Journal of Biomedical Science*, 12 (3), 539-546.

XVI. リン酸トリス(2-クロロエチル)

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

リン酸トリス(2-クロロエチル)の内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、生殖影響、発達影響、発がん影響、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ステロイド産生影響の有無に関する報告がある。

(1) 生態影響

③ Fernie ら(2015)によって、リン酸トリス(2-クロロエチル) 0.02193mg/kg/day を1ヶ年齢から21日間混餌投与した成熟雄アメリカチョウゲンボウ(*Falco sparverius*)(野外採取)への影響が検討されている。その結果として、甲状腺濾胞上皮細胞厚の低値、甲状腺濾胞上皮細胞厚/甲状腺濾胞コロイド周長比、血漿中遊離トリヨードサイロニン濃度、血漿中遊離サイロキシン濃度の高値が認められた。なお、肝臓デオナーゼ(T4-ORD: T4-outer ring deionase)比活性、甲状腺濾胞コロイド面積には影響は認められなかった。(14091)(評価結果の略号: △○P)

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

※参考 生態影響(今回評価対象としなかった文献)

① Sun ら(2016)によって、リン酸トリス(2-クロロエチル) 50、250、1,250、6,250µg/L(設定濃度)に孵化後8時間(受精後10日)未満から96時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、250、1,250µg/Lのばく露区で全身中 *gfap* mRNA 相対発現量の高値、50µg/Lのばく露区で全身中 *gap43* mRNA 相対発現量の高値、6,250µg/Lのばく露区で全身中 *shha* mRNA 相対発現量、全身中 *syn2a* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、全身中 *ache* mRNA 相対発現量、全身中 *a1-tubulin* mRNA 相対発現量、全身中 *elavl3* mRNA 相対発現量、平均遊泳速度(連続可視光条件下)、平均遊泳速度(明暗光刺激条件下)には影響は認められなかった。

また、リン酸トリス(2-クロロエチル) 50、250、1,250、6,250µg/L(設定濃度)に受精後4時間未満から最長14日間ばく露したメダカ(*O. latipes*)への影響が検討されている。その結果として、1,250µg/L以上のばく露区で体長の低値が認められた。なお、孵化率、孵化までの所要日数、肉眼的異常発生率、心拍数(受精60時間後)には影響は認められなかった。(14086)

評価未実施の理由: 評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

② Dishaw ら(2014)によって、リン酸トリス(2-クロロエチル) 9.8、17.6、31.4、56、100µM(=2,800、5,020、8,960、16,000、28,500µg/L(設定濃度)に受精後0日目から受精後5日目までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(受精後6日目の午後に遊泳試験)が検討されている。その結果として、31.4、100µM(=8,960、28,500µg/L)のばく露区で暗所での遊泳活性の低値が認められた。なお、明所での遊泳活性、死亡率、奇形率、顕性毒性しきい値(死亡率又は奇形率の有意な高値を示す最低作用濃度)には影響は認められなかった。(14092)

評価未実施の理由: 評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

※参考 (2) 生殖影響(今回評価対象としなかった文献)

- ①Chen ら(2015)によって、りん酸トリス(2-クロロエチル) 100、300mg/kg/day を 35 日間混餌投与した雄 ICR マウス(入手時 4 週齢)への影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で体重、肝臓絶対重量、精巣中精細管数、精巣中 *StAR* mRNA 相対発現量、精巣中 *P450scc* mRNA 相対発現量、精巣中 *P450-17a* mRNA 相対発現量、精巣中 *3β-HSD* mRNA 相対発現量、肝臓中 *Gsta1* mRNA 相対発現量、肝臓中グルタチオン濃度の低値、肝臓中グルタチオンペルオキシダーゼ活性、肝臓中 *Sod2* mRNA 相対発現量、肝臓中 *Gpx1* mRNA 相対発現量の高値、100mg/kg/day のばく露群で肝臓中スーパーオキシドディスムターゼ活性の高値、300mg/kg/day のばく露群で精巣絶対重量、精巣中テストステロン濃度、精巣中 *LDL-R* mRNA 相対発現量、肝臓中グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ活性の低値、肝臓中カタラーゼ活性、肝臓中 *Sod1* mRNA 相対発現量、肝臓中 *Gpx2* mRNA 相対発現量、肝臓中 *Cat* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、精巣中 *SR-BI* mRNA 相対発現量、精巣中 *PBR* mRNA 相対発現量、精巣中 *17β-HSD* mRNA 相対発現量、肝臓中 MDA 濃度(過酸化脂質指標)には影響は認められなかった。(14089)
- 評価未実施の理由：有意な結果が得られた評価項目が一般毒性と考えられたため

※参考 (3) 発達影響(今回評価対象としなかった文献)

- ①Kawashima ら(1983)によって、りん酸トリス(2-クロロエチル) 50、100、200mg/kg/day を妊娠 7 日目から妊娠 15 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、200mg/kg/day のばく露群で母動物死亡率の高値が認められた。なお、母動物体重、母動物腎臓絶対及び相対重量、同腹黄体数、同腹着床数、着床率、同腹生存胎仔数、胎仔性比、雌雄胎仔体重、同腹死亡胚数、胎仔奇形発生率、胎仔骨格変化発生率には影響は認められなかった。
- 更に、上記ばく露後に自然分娩によって誕生した雌雄仔動物への影響が検討されている。その結果として、200mg/kg/day のばく露群で雄仔動物の自発行動試験における立ち上がり行動回数(6～7 週齢)の低値、雄仔動物の水迷路試験におけるゴール到達所要時間(6～7 週齢)の高値が認められた。なお、出産時着床部位数、新生仔生存率(0 日齢、4 週齢、10 週齢)、雌雄仔動物臓器(脳、下垂体、甲状腺、胸腺、心臓、肺、脾臓、肝臓、腎臓、副腎)絶対及び相対重量(10 週齢)、雄精巣絶対(10 週齢)及び相対重量(10 週齢)、雌卵巢絶対及び相対重量(10 週齢)、雌子宮絶対及び相対重量(10 週齢)には影響は認められなかった。(6558)
- 評価未実施の理由：有意な結果が得られた評価項目が一般毒性と考えられたため、また、評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

※参考 (4) 発がん影響

- ①Matthews ら(1993)によって、りん酸トリス(2-クロロエチル) 44、88mg/kg/day を 8～10 週齢から 103 週間(週 5 日)経口投与した雌 F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、88mg/kg/day のばく露群で腎臓過形成発生率、腎臓腺腫発生率、甲状腺腫又は上皮腫発生率、単核細胞白血病発生率、脳幹における病変(グリオーシス、出血、灰質化、壊疽、ヘモジデリン色素沈着)発生率、大脳における病変(グリオーシス、出血、灰質化、ヘモジデリン色素沈着)発生率の高値が

認められた。なお、脳橋における病変発生率には影響は認められなかった。

また、りん酸トリス(2-クロロエチル) 44、88mg/kg/day を8～10週齢から103週間(週5日)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、44mg/kg/day 以上のばく露群で単核細胞白血病発生率の高値、88mg/kg/day のばく露群で腎臓過形成発生率、腎臓腺腫発生率の高値が認められた。なお、脳幹における病変発生率、大脳における病変発生率、脳橋における病変発生率、甲状腺における病変発生率には影響は認められなかった。

また、りん酸トリス(2-クロロエチル) 175、350mg/kg/day を8～9週齢から103週間(週5日)経口投与した雌 B6C3F₁ マウスへの影響が検討されている。その結果として、175mg/kg/day 以上のばく露群で腎臓巨大核発生率の高値、350mg/kg/day のばく露群でハーダー腺腺腫又は上皮腫発生率の高値が認められた。

また、りん酸トリス(2-クロロエチル) 175、350mg/kg/day を8～9週齢から103週間(週5日)経口投与した雄 B6C3F₁ マウスへの影響が検討されている。その結果として、175mg/kg/day 以上のばく露群で腎臓巨大核発生率の高値が認められた。(6557)

評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

(5) エストロゲン作用

②Liu ら(2012)によって、りん酸トリス(2-クロロエチル) 10、100、1,000、10,000µg/L の濃度に72時間ばく露したヒト乳がん細胞 MVLN (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。(8830)(△○N)

※参考 エストロゲン作用

①Reers ら(2016)によって、りん酸トリス(2-クロロエチル) 0.01～20µM(=2.85～5,710µg/L)の濃度に24時間ばく露したヒト子宮内膜がん細胞 ECC-1 (エストロゲン受容体を発現)への影響が検討されているが、エストロゲン受容体応答遺伝子 *pS2* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14087)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

(6) 抗エストロゲン作用

②Liu ら(2012)によって、りん酸トリス(2-クロロエチル) 10、100、1,000、10,000µg/L の濃度に72時間ばく露(17β-エストラジオール 100nM 共存下)したヒト乳がん細胞 MVLN (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の阻害は認められなかった。(8830)(△○N)

※参考 抗エストロゲン作用

①Reers ら(2016)によって、りん酸トリス(2-クロロエチル) 0.01～20µM(=2.85～5,710µg/L)の濃度に

24 時間ばく露(17 β -エストラジオール共存下、共存濃度の記載不明瞭)したヒト子宮内膜がん細胞 ECC-1 (エストロゲン受容体を発現)への影響が検討されているが、エストロゲン受容体応答遺伝子 *pS2* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14087)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

※参考 (7) アンドロゲン作用

①Reers ら(2016)によって、りん酸トリス(2-クロロエチル) 0.01~20 μ M(=2.85~5,710 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト転位性前立腺がん細胞 LNCaP (アンドロゲン受容体を発現)への影響が検討されているが、アンドロゲン受容体応答遺伝子 *PSA (prostate specific antigen)* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14087)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

※参考 (8) 抗アンドロゲン作用

①Reers ら(2016)によって、りん酸トリス(2-クロロエチル) 0.01~20 μ M(=2.85~5,710 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(アンドロゲン受容体アゴニスト R1881 1nM 共存下)したヒト転位性前立腺がん細胞 LNCaP (アンドロゲン受容体を発現)への影響が検討されているが、アンドロゲン受容体応答遺伝子 *PSA (prostate specific antigen)* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14087)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

(9) ステロイド産生影響

①Liu ら(2012)によって、りん酸トリス(2-クロロエチル) 10、100、1,000、10,000 μ g/L の濃度に 48 時間ばく露したヒト副腎がん細胞 H295R への影響が検討されている。その結果として、100 μ g/L 以上の濃度区でエストラジオール産生量、エストラジオール/テストステロン産生量比の高値、100、10,000 μ g/L の濃度区でテストステロン産生量の高値、10,000 μ g/L の濃度区で *SULT1E1* mRNA 相対発現量、*SULT2A1* mRNA 相対発現量の低値、*CYP11A1* mRNA 相対発現量、*CYP11B2* mRNA 相対発現量、*CYP19A1* mRNA 相対発現量、*HSD3 β 2* mRNA 相対発現量の高値が認められた。(8830)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン合成・代謝系のかく乱

②Chen ら(2015)によって、りん酸トリス(2-クロロエチル) 100,000、300,000 μ g/L の濃度に 24 時間ばく露したマウスライディッヒ細胞 TM3 への影響が検討されている。その結果として、100,000 μ g/L 以上の濃度区でテストステロン産生量、*P450-17 α* mRNA 相対発現量、*17 β -HSD* mRNA 相対発現量の低値、300,000 μ g/L の濃度区で *P450scc* mRNA 相対発現量、精巣中 *3 β -HSD* mRNA 相対発現量の低値、細胞生存率、スーパーオキシドディスムターゼ活性、グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ活性、*Sod1* mRNA 相対発現量、*Sod2* mRNA 相対発現量、*Gpx1* mRNA 相対発現量、*Gpx2* mRNA 相対発現量、*Cat* mRNA 相対発現量、*Gsta1* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、グルタチオン濃度、カタラーゼ活性、グルタチオンペルオキシダーゼ活性、*SR-BI* mRNA 相対発現量、*LDL-R* mRNA 相対発現量、*PBR* 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。(14090)(〇〇P)

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン合成・代謝系のかく乱

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、視床下部一下垂体一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、ステロイド産生への影響が示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 16 に示した。

表 16 信頼性評価のまとめ

物質名：りん酸トリス(2-クロロエチル)

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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(1)生態影響	①Sun ら(2016) 評価未実施			
	②Dishaw ら(2014) 評価未実施			
	視床下部一下垂体一甲状腺軸への作用 ③Fernie ら(2015)	△	〇P	〇
(2)生殖影響	①Chen ら(2015) 評価未実施			
(3)発達影響	①Kawashima ら(1983) 評価未実施			
(4)発がん影響	①Matthews ら(1993) 評価未実施			
(5)エストロゲン作用	①Reers ら(2016) 評価未実施			
	②Liu ら(2012)	△	〇N	×
(6)抗エストロゲン作用	①Reers ら(2016) 評価未実施			
	②Liu ら(2012)	△	〇N	×
(7)アンドロゲン作用	①Reers ら(2016) 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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(8)抗アンドロゲン作用	①Reers ら(2016) 評価未実施				
(9)ステロイド産生影響	ステロイドホルモン合成・代謝系のかく乱	①Liu ら(2012)	△	○P	○
	ステロイドホルモン合成・代謝系のかく乱	②Chen ら(2015)	○	○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—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、ステロイド産生への影響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

14086: Sun L, Tan H, Peng T, Wang S, Xu W, Qian H, Jin Y and Fu Z (2016) Developmental neurotoxicity of organophosphate flame retardants in early life stages of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). Environmental Toxicology and Chemistry.

14092: Dishaw LV, Hunter DL, Padnos B, Padilla S and Stapleton HM (2014) Developmental exposure to organophosphate flame retardants elicits overt toxicity and alters behavior in early life stage zebrafish (*Danio rerio*). Toxicological Sciences, 142 (2), 445-454.

14091: Fernie KJ, Palace V, Peters LE, Basu N, Letcher RJ, Karouna-Renier NK, Schultz SL, Lazarus RS and Rattner BA (2015) Investigating endocrine and physiological parameters of captive American kestrels exposed by diet to selected organophosphate flame retardants. Environmental Science & Technology, 49 (12), 7448-7455.

- 14089: Chen G, Jin Y, Wu Y, Liu L and Fu Z (2015) Exposure of male mice to two kinds of organophosphate flame retardants (OPFRs) induced oxidative stress and endocrine disruption. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40 (1), 310-318.
- 6558: Kawashima K, Tanaka S, Nakaura S, Nagao S, Endo T, Onoda K, Takanaka A and Omori Y (1983) Effect of oral administration of tris(2-chloroethyl) phosphate to pregnant rats on prenatal and postnatal development. *Eisei Shikenjo Hokoku. Bulletin of National Institute of Hygienic Sciences* (101), 55-61.
- 6557: Matthews HB, Eustis SL and Haseman J (1993) Toxicity and carcinogenicity of chronic exposure to tris(2-chloroethyl)phosphate. *Fundamental and Applied Toxicology*, 20 (4), 477-485.
- 14087: Reers AR, Eng ML, Williams TD, Elliott JE, Cox ME and Beischlag TV (2016) The Flame-Retardant Tris(1,3-dichloro-2-propyl) Phosphate Represses Androgen Signaling in Human Prostate Cancer Cell Lines. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 30 (5), 249-257.
- 8830: Liu X, Ji K and Choi K (2012) Endocrine disruption potentials of organophosphate flame retardants and related mechanisms in H295R and MVLN cell lines and in zebrafish. *Aquatic Toxicology*, 114-115, 173-181.
- 14090: Chen G, Zhang S, Jin Y, Wu Y, Liu L, Qian H and Fu Z (2015) TPP and TCEP induce oxidative stress and alter steroidogenesis in TM3 Leydig cells. *Reproductive Toxicology*, 57, 100-110.