

第 1 段階試験管内試験の実施について (案)

1. 第 1 段階試験管内試験について

第 1 段階試験管内試験として採用するレポータージーン試験としては、複数種類の受容体サブタイプごとに開発されており、これらの中から今回試験対象とする受容体サブタイプを選択する必要がある。

○エストロゲン様作用及び抗エストロゲン様作用

第 2 段階試験 (開発中のメダカ多世代試験を想定) で用いるメダカの受容体を使用するメダカエストロゲン受容体 α 、 $\beta 1$ 、 $\beta 2$ レポータージーン試験

○アンドロゲン様作用及び抗アンドロゲン様作用

第 2 段階試験 (開発中のメダカ多世代試験を想定) で用いるメダカの受容体を使用するメダカアンドロゲン受容体 α 、 β レポータージーン試験

○甲状腺ホルモン様作用及び抗甲状腺ホルモン様作用

第 2 段階試験 (アフリカツメガエル変態アッセイ (TG231) を想定) で用いるカエル類の受容体を使用するニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体 α 、 β レポータージーン試験

○脱皮ホルモン様作用

第 2 段階試験 (オオミジンコ繁殖毒性試験 (TG211 ANNEX7)) で用いるオオミジンコの受容体を使用するミジンコ脱皮ホルモン受容体レポータージーン試験

2. 試験対象とする受容体サブタイプの選択

○メダカエストロゲン受容体レポータージーン試験

→メダカエストロゲン受容体 α レポータージーン試験を採用する。

根拠: α 受容体は、当該試験において反応性がよく既存知見においても実施例が多いため。

○メダカアンドロゲン受容体レポータージーン試験

→メダカアンドロゲン受容体 β レポータージーン試験を採用する。

根拠: β 受容体は、当該試験において反応性がよく、ほ乳類の受容体と構造が非常

に類似しているため。

○ニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体レポータージーン試験

→ニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体 β レポータージーン試験を採用する。

根拠： β 受容体は、当該試験において反応性がよく、ほ乳類においても作用が認められているため。

各レポータージーン試験法で採用する受容体を選択した根拠について添付資料 1 に示した。

3. 実施する試験管内試験の選定の考え方

既存知見をもとに、以下の手順で第 1 段階試験管内試験として実施する試験を検討する。

(1) 試験管内試験の実施に当たりの考え方

* 既存知見として得られた試験管内試験において、今回実施する試験と同等の試験*が実施されていると認められた場合は、試験管内試験を実施しない。

* 同等の試験とは、今回実施する試験管内試験と同一の動物種の受容体を用いたレポータージーン試験をいう。

* 単一の作用メカニズムが推定できない動物試験によって作用が類推される際は、エストロゲン様作用と抗アンドロゲン様作用が区別できない場合や、同様に抗エストロゲン様作用とアンドロゲン様作用は区別できない場合があるため、想定される総ての試験管内試験を実施し、どちらの作用であるかを確認する。

* 既存知見において、作用が認められた知見と認められなかった知見の双方が得られた作用については、いずれであるかを確認するため、試験管内試験を実施する。

(2) 既存知見から示唆される作用の確認

以下の分類区分に従い、既存知見を整理する。

◎：試験管内試験により示唆される作用（P：作用が認められた、N：作用が認められなかった）

◎*：今回実施するレポータージーン試験と同等のレポータージーン試験により示唆される作用（P：作用が認められた、N：作用が認められなかった）

○：単一の作用メカニズムが推定可能な動物試験により示唆される作用（P：作用が認められた、N：作用が認められなかった）

(○)：単一の作用メカニズムが推定できない動物試験により類推される作用（P：作用が認められた、N：作用が認められなかった）

—：既存知見なし

(3) 実施する試験管内試験の整理

(1) の考え方にに基づき、実施する試験管内試験を以下のとおり整理する。

○：既存知見では不十分であり、試験管内試験を実施する。

△：既存知見では不十分であるが、動物試験の結果から類推される作用であり、試験管内試験を実施する優先度は低い。

■：既存知見（試験管内試験）で十分であるため、試験管内試験を実施しない（P：作用が認められた N：作用が認められなかった）。

—：既存知見がなく、現時点では試験管内試験を実施しない。

□：試験管内試験では確認できない作用であり、生物試験により確認する。

4. 「試験対象となり得る物質」と判断された物質について実施する試験管内試験

(1) 過去2回にわたる信頼性評価により「試験対象となり得る物質」と判断された18物質について、既存知見から示唆される作用を整理した。（表1、詳細は添付資料2参照）

(2) これらの物質を対象として、第1段階試験管内試験として実施する試験を整理した。（表2）

① 信頼性評価第1回において対象とした7物質：計14試験

*メダカエストロゲン受容体 α レポータージーン試験（エストロゲン作用）

4物質：2,4-トルエンジアミン、*p*-ジクロロベンゼン、*N,N*-ジメチルホルムアミド、ヒドラジン

*メダカエストロゲン受容体 α レポータージーン試験（抗エストロゲン作用）

4物質：2,4,6-トリブロモフェノール、*p*-ジクロロベンゼン、ヒドラジン、フェンチオン

*メダカアンドロゲン受容体 β レポータージーン試験（アンドロゲン作用）

2物質：ヒドラジン、フェンチオン

*メダカアンドロゲン受容体 β レポータージーン試験（抗アンドロゲン作用）

4物質：2,4-トルエンジアミン、*p*-ジクロロベンゼン、*N,N*-ジメチルホルムアミド、ヒドラジン

② 信頼性評価第1回において対象とした2物質：計2試験

*メダカエストロゲン受容体 α レポータージーン試験（エストロゲン作用）

1物質：エストロン

*メダカアンドロゲン受容体 β レポータージーン試験（抗アンドロゲン作用）

1物質：フェンチオン

③ 信頼性評価第2回において対象とした11物質：計35試験

*メダカエストロゲン受容体 α レポータージーン試験（エストロゲン作用）

6物質：カルバリル、カルボフラン、ジクロロブロモメタン、ダイアジノン、フェノバルビタール、ペルフルオロオクタン酸

*メダカエストロゲン受容体 α レポータージーン試験（抗エストロゲン作用）

8物質：カルバリル、シアナジン、ジクロルボス、ジクロロブロモメタン、ダイアジノン、フェニトイン、フェノバルビタール、ペルフルオロオクタン酸

*メダカアンドロゲン受容体 β レポータージーン試験（アンドロゲン作用）

6物質：ジクロロブロモメタン、ダイアジノン、フェニトイン、フェニトロチオン、フェノバルビタール、ペルフルオロオクタン酸

*メダカアンドロゲン受容体 β レポータージーン試験（抗アンドロゲン作用）

9物質：カルバリル、カルボフラン、ジウロン、ジクロルボス、ジクロロブロモメタン、ダイアジノン、フェニトロチオン、フェノバルビタール、ペルフルオロオクタン酸

*ニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体 β レポータージーン試験（甲状腺ホルモン作用）

1物質：フェノバルビタール

*ニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体 β レポータージーン試験（抗甲状腺ホルモン作用）

4物質：カルバリル、フェニトイン、フェノバルビタール、ペルフルオロオクタン酸

*ミジンコ脱皮ホルモン受容体レポータージーン試験（脱皮ホルモン作用）

1物質：カルバリル

表 1 既存知見から示唆される作用

	検出可能な作用						
	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
信頼性評価第1回							
エストロン	◎P ○P (○P)	—	—	(○P)	—	—	—
2,4,6-トリブロモフェノール	◎N	◎P ◎N	—	—	—	◎P	—
2,4-トルエンジアミン	(○P)	—	—	(○P)	—	—	—
<i>p</i> -ジクロロベンゼン	◎P ○P ○N	○P (○P)	—	(○P)	—	—	—
<i>N,N</i> -ジメチルホルムアミド	(○P)	(○N)	(○N)	(○P) (○N)	—	—	—
ヒドラジン	(○P)	(○P)	(○P)	(○P)	—	—	—
フェンチオン	—	(○P)	(○P)	◎P ○P	—	—	—

◎：試験管内試験により示唆される作用（P：作用が認められた、N：作用が認められなかった）

◎*：今回実施するレポータージーン試験と同等のレポータージーン試験により示唆される作用（同上）

○：単一の作用メカニズムが推定可能な動物試験により示唆される作用（同上）

(○)：単一の作用メカニズムが推定できない動物試験により類推される作用（同上）

—：既存知見なし

表1 既存知見から示唆される作用（続き）

	検出可能な作用						
	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
信頼性評価第2回							
カルバリル	◎P ◎N (OP) (ON)	◎P ◎N (ON)	—	◎N (OP)	◎N	◎P	(OP)
カルボフラン	(OP)	—	—	(OP)	—	—	—
シアナジン	—	◎P	—	—	—	—	—
ジウロン	◎N	◎P	—	◎P (ON)	—	◎N	—
ジクロルボス	◎N (OP)	—	◎N	◎P ◎N (OP)	—	—	—
ジクロプロモメタン	(OP)	(OP)	(OP)	(OP)	—	—	—
ダイアジノン	◎P (OP)	(OP)	(OP)	(OP)	—	—	—
フェニトイン	—	◎P (OP)	◎P	—	—	◎P (OP)	—
フェニトロチオン	—	—	◎P	◎P OP	—	—	—
フェノバルビタール	(OP)	◎P (OP)	(OP)	(OP)	(OP)	(OP)	—
ペルフルオロオクタン酸	◎P OP (OP)	(OP)	(OP)	◎P (OP)	—	◎P (OP)	—

◎：試験管内試験により示唆される作用（P：作用が認められた、N：作用が認められなかった）

◎*：今回実施するレポーター遺伝子試験と同等のレポーター遺伝子試験により示唆される作用（同上）

○：単一の作用メカニズムが推定可能な動物試験により示唆される作用（同上）

(○)：単一の作用メカニズムが推定できない動物試験により類推される作用（同上）

—：既存知見なし

表2 第1段階試験群として実施する試験管内試験

	検出可能な作用						
	メダカエストロゲン受容体α レポーター遺伝子試験		メダカアンドロゲン受容体β レポーター遺伝子試験		ニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体β レポーター遺伝子試験		ミジンコ脱皮ホルモン受容体レポーター遺伝子試験
	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
信頼性評価第1回							
エストロン	○*	—	—	△	—	—	—
2,4,6-トリプロモフェノール	■N	○	—	—	—	□	—
2,4-トルエンジアミン	○	—	—	○	—	—	—
p-ジクロロベンゼン	○	○	—	○	—	—	—
N,N-ジメチルホルムアミド	○	—	—	○	—	—	—
ヒドラジン	○	○	○	○	—	—	—
フェンチオン	—	○	○	○*	—	—	—
合計 14 試験（平成 22 年度に実施済）	4	4	2	4	0	0	0
合計 2 試験*（平成 23 年度に実施予定）	1	0	0	1	0	0	0

○：既存知見では不十分であり、試験管内試験を実施する。

△：既存知見では不十分であるが、動物試験結果から類推される作用であり、試験管内試験を実施する優先度は低い。

■：既存知見（試験管内試験）で十分であるため、試験管内試験を実施しない（P：作用が認められた N：作用が認められなかった）。

—：既存知見がなく、現時点では試験管内試験を実施しない。

□：試験管内試験では確認できない作用であり、生物試験により確認する。

表2 第1段階試験群として実施する試験管内試験（続き）

	検出可能な作用						
	メダカエストロゲン受容体α レポーター遺伝子試験		メダカアンドロゲン受容体β レポーター遺伝子試験		ニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体β レポーター遺伝子試験		ミジンコ脱皮ホルモン受容体レポーター遺伝子試験
	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
信頼性評価第2回							
カルバリル	○	○	—	○	■N	○	○
カルボフラン	○	—	—	○	—	—	—
シアナジン	—	○	—	—	—	—	—
ジウロン	■N	○	—	○	—	■N	—
ジクロルボス	■N	—	■N	○	—	—	—
ジクロロプロモメタン	○	○	○	○	—	—	—
ダイアジノン	○	○	○	○	—	—	—
フェニトイン	—	○	○	—	—	○	—
フェニトロチオン	—	—	○	○	—	—	—
フェノバルビタール	○	○	○	○	○	○	—
ペルフルオロオクタン酸	○	○	○	○	—	○	—
合計 35 試験	6	8	6	9	1	4	1

○：既存知見では不十分であり、試験管内試験を実施する。

△：既存知見では不十分であるが、動物試験結果から類推される作用であり、試験管内試験を実施する優先度は低い。

■：既存知見（試験管内試験）で十分であるため、試験管内試験を実施しない（P：作用が認められた N：作用が認められなかった）。

—：既存知見がなく、現時点では試験管内試験を実施しない。

□：試験管内試験では確認できない作用であり、生物試験により確認する。

各レポーター遺伝子試験法で採用する受容体サブタイプを選択した根拠について

○メダカエストロゲン受容体レポーター遺伝子試験

→メダカエストロゲン受容体 α レポーター遺伝子試験を採用する。

根拠： α 受容体は、当該試験において反応性がよく既存知見においても実施例が多いため。

メダカエストロゲン受容体 α レポーター遺伝子試験については、平成20年度日英共同研究において、SPEED'98でメダカに対するエストロゲン様作用が確認されているビスフェノールA (BPA)、ノニルフェノール (NP) 及びオクチルフェノール (OP) について試験を実施している。その結果、それぞれについて転写活性が認められ(図1)、E2に対する相対活性 (Relative potential) は、0.08、0.49 及び 0.50%であった。

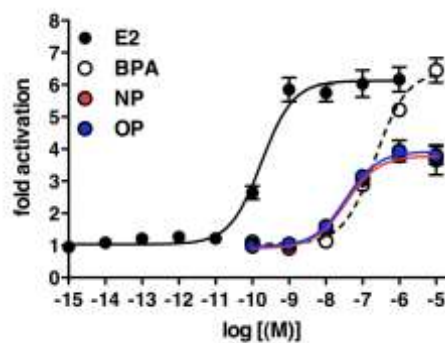


図1 メダカ ER α の各種リガンドに対する転写活性
(平成20年度日英共同研究成果報告より引用)

メダカエストロゲン受容体の3種類(ER α 、ER β 1、ER β 2)のうち、どれが最も機能しているのかについては、確定まで至っていない。キンギョではER α がビテロゲニン産生などに重要であるとする論文¹⁾が出ている。ER β 1は物質によっては反応しないことがわかっており、また、ER β 2のノックダウンは生殖腺分化に影響することもわかってきている。(井口ら、未発表)

1) Nelson, E.R. *et al.* (2010) Functional Significance of Nuclear Estrogen Receptor Subtypes in the Liver of Goldfish. *Endocrinology*, 151(4), 1668-1676.

○メダカアンドロゲン受容体レポーター遺伝子試験

→メダカアンドロゲン受容体 β レポーター遺伝子試験を採用する。

根拠： β 受容体は、当該試験において反応性がよく、ほ乳類の受容体と構造が非常に類似しているため。

メダカアンドロゲン受容体 β レポータージーン試験については、平成22年度日英共同研究において、アンドロゲン作用を物質について試験を実施し、11ケトテストステロン(11KT：魚類の主要なアンドロゲン)、テストステロン(T)、ジヒドロテストステロン(DHT：哺乳類での強アンドロゲン)、メチルテストステロン(MT；合成アンドロゲン)、トレンボロン(合成アンドロゲン)に対して、転写活性が認められている(図2)。なお、AR α 、AR β 両受容体ともに、MTに対する感受性は他のホルモン等よりも高く、また感受性はAR β で若干高いことが示唆された。

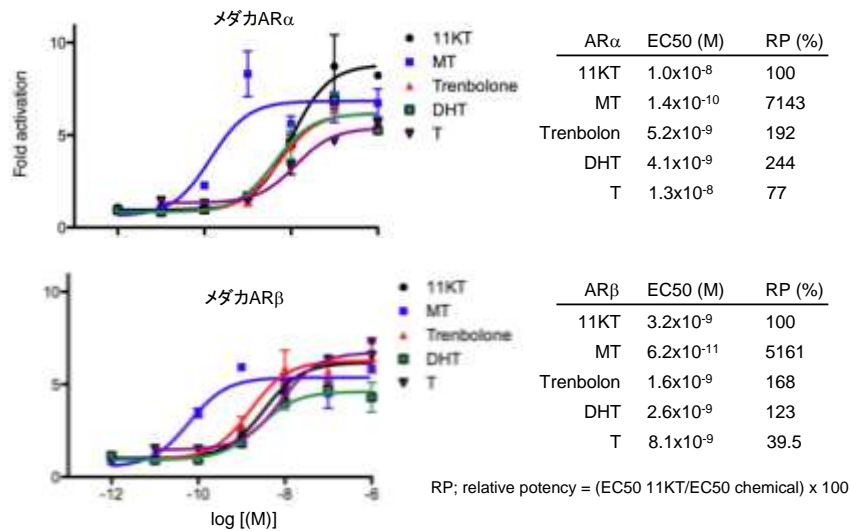


図2 メダカAR α およびAR β の各種アンドロゲン物質に対する転写活性
(平成22年度日英共同研究での成果)

アンドロゲン受容体については、アンドロゲン受容体の進化の研究²⁾からAR β はほ乳動物のARとも近く、魚類ではAR α が後で遺伝子重複によりできたと考えられている。

2)Ogino, Y. *et al.* (2009) Evolutional History and Functional Characterization of Androgen Receptor Genes in Jawed Vertebrates. *Endocrinology*, 150(12), 5415-5427.

○ニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体レポータージーン試験

→ニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体 β レポータージーン試験を採用する。

根拠： β 受容体は、当該試験において反応性がよく、ほ乳類においても作用が認められているため。

レポータージーンアッセイでは、ニシツメガエル(トロピカリス)、メダカのTR α 、TR β ともに、内在性の甲状腺ホルモンT3、T4に対して、いずれもT3がより

強い作用を持つことが見られ、さらに濃度依存的なレポーター活性が確認できた(図10)。

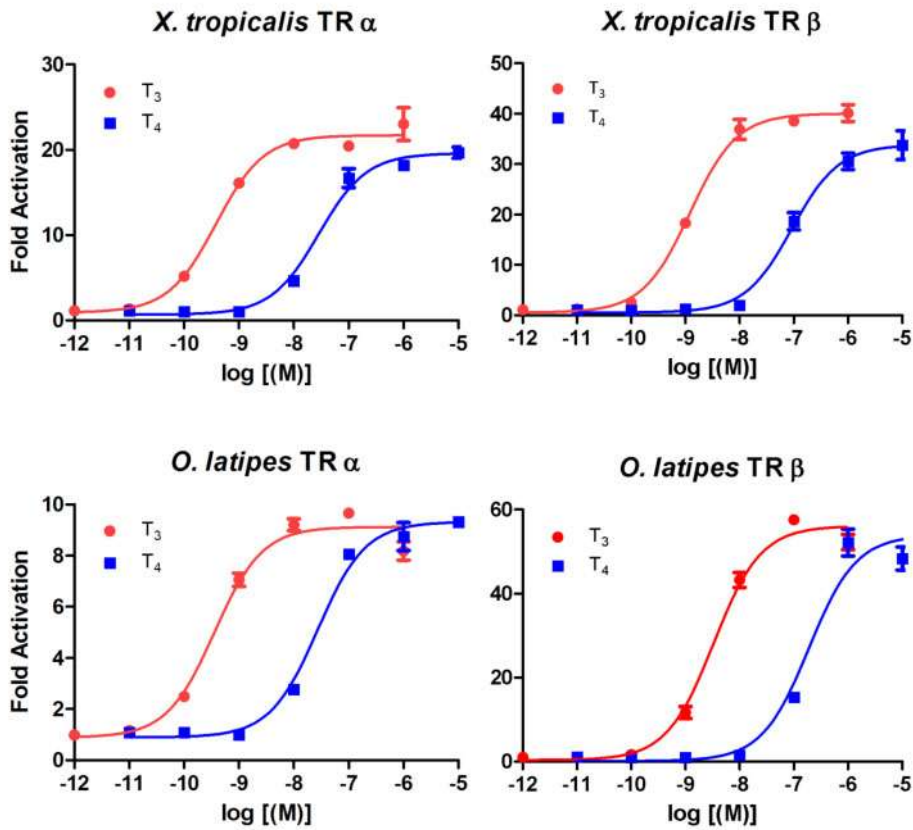


図10. トロピカリス、メダカ甲状腺ホルモン受容体の甲状腺ホルモンに対するレポーター活性

発生の途上で TR β 遺伝子の高発現が起こることが知られており、カエルでは TR β が主に働いているのであろうと考えられている^{3,4)}。哺乳動物でも甲状腺ホルモンの作用では TR β が主な受容体である⁵⁾。

- 3) Yaoita, Y. and Brown, D. (1990) A correlation of thyroid hormone receptor gene expression with amphibian metamorphosis. *Gene & Development*, 4, 1917-1924.
- 4) Ranjan, M. *et al.* (1994) Transcriptional Repression of *Xenopus* TR β Gene is Mediated by a Thyroid Hormone Response Element Located near the Start Site. *The Journal of Biological Chemistry*, 269(40), 24699-24705.
- 5) OECD (2006) Detailed Review Paper on Thyroid Hormone Disruption Assays. OECD Environmental, Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment No.57.

「第1段階試験管内試験として実施する試験（案）」の検討に用いた報告について

「第1段階試験管内試験として実施する試験（案）」の検討に当たっては、これまでに行った信頼性評価により「試験対象物質となり得る物質」と判断された物質について、信頼性評価において参照した化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告を再度確認した上で、表1及び表2を作成した。

I. 信頼性評価第1回（平成20年度に実施）により「試験対象物質となり得る物質」と判断された物質（7物質）

1. 既存知見から示唆される作用と、第1段階試験群の実施に関する考え方

（1）エストロン

- ・エストロゲン様作用については、試験管内試験結果及び単一の作用メカニズムが推定可能な動物試験結果が得られているが、今回実施する試験管内試験とは同等の試験ではないため、試験管内試験を平成23年度に実施する。
- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果からエストロゲン様作用または抗アンドロゲン様作用が類推されたが、抗アンドロゲン様作用については、試験管内試験を実施する優先度は低いと考えられた。

（2）2,4,6-トリブロモフェノール

- ・エストロゲン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められなかった知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。
- ・抗エストロゲン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められた知見及び作用が認められなかった知見の相反する知見が得られているため、試験管内試験を実施する。
- ・抗甲状腺ホルモン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められた知見が得られているが、今回実施する試験管内試験では確認できない作用であり、生物試験により確認する。

（3）2,4-トルエンジアミン

- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果からエストロゲン様作用または抗アンドロゲン様作用が類推されたため、試験管内試験を実施し、どちらの作用であるかを確認する。

(4) *p*-ジクロロベンゼン

- ・エストロゲン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められた知見が得られているが、単一の作用メカニズムが推定可能な動物試験結果から、作用が認められた知見及び作用が認められなかった知見の相反する知見が得られているため、試験管内試験を実施する。
- ・抗エストロゲン様作用については、単一の作用メカニズムが推定可能な動物試験結果及び単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果から、作用が認められた知見が得られているが、確認のため試験管内試験を実施する。
- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果から抗アンドロゲン様作用が類推されたため、試験管内試験を実施する。

(5) *N,N*-ジメチルホルムアミド

- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果からエストロゲン様作用または抗アンドロゲン様作用が類推されたため、試験管内試験を実施し、どちらの作用であるかを確認する。
- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果からエストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用及び抗アンドロゲン様作用が認められなかった知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。
- ・抗アンドロゲン様作用については、単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果から、作用が認められた知見及び作用が認められなかった知見の相反する知見が得られているため、試験管内試験を実施する。

(6) ヒドラジン

- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果からエストロゲン様作用または抗アンドロゲン様作用が類推されたため、試験管内試験を実施し、どちらの作用であるかを確認する。
- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果から抗エストロゲン様作用またはアンドロゲン様作用が類推されたため、試験管内試験を実施し、どちらの作用であるかを確認する。

(7) フェンチオン

- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果から抗エストロゲン様作用またはアンドロゲン様作用が類推されたため、試験管内試験を実施し、どちらの作用であるかを確認する。
- ・抗アンドロゲン様作用については、試験管内試験結果及び単一の作用メカニズムが推定可能な動物試験結果が得られているが、今回実施する試験管内試験とは同等の試験ではないため、試験管内試験を平成 23 年度に実施する。

2. 表1及び表2の作成の根拠とした報告

(1) エストロン

① エストロゲン様作用

1) van den Belt ら(2004)によって、エストロンについて、MVLN アッセイ(プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答配列をもつレポーターを遺伝子導入したヒト乳がん細胞MCF-7による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、エストロンは、EC₅₀ 値 0.078nM(=21ng/L)の濃度において、ルシフェラーゼの発現を誘導した。

また、エストロンについて、YES スクリーン(ヒトエストロゲン受容体を恒常発現するエストロゲン応答性酵母によるβ-ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、エストロンは、EC₅₀ 値 0.390nM(=105ng/L)の濃度において、β-ガラクトシダーゼの発現を誘導した。

② 生態影響

1) Panter ら(1998)によって、エストロン 9.9、31.8、99.3、317.7、992.7ng/L に 21 日間ばく露された成熟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、31.8ng/L 以上のばく露区で血漿中ビテロゲニン濃度の高値、317.7ng/L のばく露区で生殖腺相対重量の低値が認められた。

示唆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

2) Routledge ら(1998)によって、エストロン 6.25、12.5、25、50、100ng/L に 21 日間ばく露された成熟雄ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響が検討されている。その結果として、100ng/L のばく露区で血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：エストロゲン様作用

③ 発達影響

1) Holland と Roy(1995)によって、エストロン 11mg/rat を最長 21 日間埋設皮下投与された幼若雌 Noble ラットへの影響が検討されている。その結果として、投与期間中の乳腺細胞分化度の高値、乳腺細胞の G1 細胞数の高値、乳腺細胞の S 細胞数の高値、上皮細胞数の高値、発情期にある個体の割合の高値、子宮相対重量の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：エストロゲン様作用

参考文献

Holland MB and Roy D (1995) Estrone-induced cell proliferation and differentiation in the mammary gland of the female Noble rat. *Carcinogenesis*, 6 (8), 1955-1961. (③本文中の作用の区分 1)報告の番号を示す。以下同じ。)

Panter GH, Thompson RS and Sumpter JP (1998) Adverse reproductive effects in male fathead minnows (*Pimephales promelas*) exposed to environmentally relevant concentrations of the natural oestrogens, oestradiol and oestrone. *Aquatic Toxicology*, 42, 243-253. (②1)

Routledge EJ, Sheahan D, Desbrow C, Brighty GC, Waldock M and Sumpter JP (1998)

Identification of estrogenic chemicals in STW. effluent. 2: *In vivo* responses in trout and roach. Environmental Science and Technology, 32 (11), 1559-1565. (②2))

van den Belt K, Berckmans P, Vangenechten C, Verheyen R and Witters H (2004) Comparative study on the *in vitro/in vivo* estrogenic potencies of 17beta-estradiol, estrone, 17alpha-ethynylestradiol and nonylphenol. Aquatic Toxicology, 66 (2), 183-195. (① 1)

(2) 2,4,6-トリブロモフェノール

① エストロゲン様作用及び抗エストロゲン様作用

1) Hamers ら(2006)によって、2,4,6-トリブロモフェノールについて、ヒトエストラジオールスルホトランスフェラーゼへの影響が検討されている。その結果として、2,4,6-トリブロモフェノールは、IC₅₀ 値 0.27µM(=89µg/L)の濃度において、17β-エストラジオールを基質とするヒトエストラジオールスルホトランスフェラーゼ活性を阻害した。

また、2,4,6-トリブロモフェノールについて、ER-CALUX アッセイ(プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答配列をもつレポーターを遺伝子導入したヒト乳がん細胞 T47D による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、2,4,6-トリブロモフェノールは、IC₅₀ 値 8.3µM(=2,746µg/L)の濃度において、抗エストロゲン様作用が認められた。

2) Olsen ら(2002)によって、2,4,6-トリブロモフェノールについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、2,4,6-トリブロモフェノールは、0.1、1、10、100µM(=33、331、3,308、33,080µg/L)の濃度において、細胞増殖誘導に影響を及ぼさなかった。また、30µM(=9,924µg/L)の濃度において、細胞増殖誘導(17β-エストラジオール 30pM 共存下)、エストロゲン応答性分泌蛋白質 pS2 発現量、ヒトエストロゲン受容体発現量、ヒトプロゲステロン受容体発現量に影響を及ぼさなかった。

また、2,4,6-トリブロモフェノールについて、ヒトエストロゲン受容体競合結合試験(17β-エストラジオール 3nM 共存下)が検討されている。その結果として、2,4,6-トリブロモフェノールは、1µM(=331µg/L)の濃度において、IC₅₀ 値を示さなかった。

② 抗甲状腺ホルモン様作用

1) Hamers ら(2006)によって、2,4,6-トリブロモフェノールについて、ヒトトランスサイレチンへの結合阻害試験が検討されている。その結果として、2,4,6-トリブロモフェノールは、IC₅₀ 値 4.8nM(=1.6µg/L)の濃度において、サイロキシンのヒトトランスサイレチンへの結合を阻害した。

参考文献

Hamers T, Kamstra JH, Sonneveld E, Murk AJ, Kester MH, Andersson PL, Legler J and Brouwer A (2006) *In vitro* profiling of the endocrine-disrupting potency of brominated flame retardants. Toxicological Sciences, 92 (1), 157-173. (①1)、(②1))

Olsen CM, Meussen-Elholm ET, Holme JA and Hongslo JK (2002) Brominated phenols: Characterization of estrogen-like activity in the human breast cancer cell-line MCF-7. Toxicology Letters, 129 (1-2), 55-63. (①2))

(3) 2,4-トルエンジアミン

① 生殖への影響

1) Thysen ら(1985a)によって、2,4-トルエンジアミン 100、300 ppm(餌中濃度)を 10 週間混餌投与された成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、300ppm の投与群で交尾率の低値、妊孕率の低値が認められた。

示唆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

2) Thysen ら(1985b)によって、2,4-トルエンジアミン 100、300 ppm(餌中濃度)を 10 週間混餌投与された成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、300ppm の投与群で血清中黄体形成ホルモン濃度の高値、血清中テストステロン濃度の低値、精巣上体絶対重量の低値、精囊絶対重量の低値、最終投与 11 週間後の精巣絶対重量の低値、精巣上体絶対重量の低値、精巣上体尾部中精子数の低値が認められた。

示唆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

3) Varma ら(1988)によって、2,4-トルエンジアミン 300、600 ppm(餌中濃度)を 10 週間混餌投与された成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、300ppm 以上の投与群で血清中アンドロゲン結合蛋白質濃度の高値、精巣中アンドロゲン結合蛋白質濃度の高値、投与期間中の精巣絶対及び相対重量の高値、投与期間中の精細管液容量の高値、精巣上体尾部中アンドロゲン結合蛋白質濃度の低値、精巣上体尾部中精子数の低値、精巣上体絶対及び相対重量の低値が認められた。

示唆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

参考文献

- Thysen B, Varma SK and Bloch E (1985a) Reproductive toxicity of 2,4-toluenediamine in the rat. 1. Effect on male fertility. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 16 (6), 753-761. (①1))
- Thysen B, Bloch E and Varma SK (1985b) Reproductive toxicity of 2,4-toluenediamine in the rat. 2. Spermatogenic and hormonal effects. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 16 (6), 763-769. (①2))
- Varma SK, Bloch E, Gondos B, Rossi V, Gunsalus GL and Thysen B (1988) Reproductive toxicity of 2,4-toluenediamine in the rat. 3. Effects on androgen-binding protein levels, selected seminiferous tubule characteristics, and spermatogenesis. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 25 (4), 435-451. (①3))

(4) *p*-ジクロロベンゼン

① エストロゲン様作用

1) Versonnen ら(2003)によって、*p*-ジクロロベンゼンについて、YES スクリーン(ヒトエストロゲン受容体を恒常発現するエストロゲン応答性酵母による β -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、*p*-ジクロロベンゼンは、 5×10^{-6} M(=735 μ g/L)の濃度におい

て、 β -ガラクトシダーゼの発現を誘導した。

② 生態影響

1) Versonnen ら(2003)によって、*p*-ジクロロベンゼン 1、3.2、10、32mg/L に 14 日間ばく露された成熟雌雄ゼブラフィッシュの影響が検討されている。その結果として、10 mg/L 以上のばく露区で雌雄生殖腺相対重量の低値、32mg/L のばく露区で雌血中ビテロゲン濃度の高値が認められた。雄血中ビテロゲン濃度には影響は認められなかった。

示唆される作用メカニズム：エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用

③ 生殖への影響

1) Takahashi ら(2007)によって、*p*-ジクロロベンゼン 22、67mg/kg/day を 19~22 日齢から 3 日間皮下投与された未成熟雌 ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、22mg/kg/day の投与群で子宮絶対及び相対重量の低値が認められた。

また、*p*-ジクロロベンゼン 22、67、200mg/kg/day を 19~22 日齢から 3 日間皮下投与された未成熟雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、22mg/kg/day の投与群で卵巣絶対及び相対重量の低値、67mg/kg/day の投与群で子宮絶対重量の低値が認められた。

また、*p*-ジクロロベンゼン 67、200、600mg/kg/day を 19~22 日齢から 3 日間皮下投与された未成熟雌 ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、67mg/kg/day の投与群で子宮絶対及び相対重量の低値が認められた。

また、*p*-ジクロロベンゼン 400、800mg/kg/day を 19~22 日齢から 3 日間皮下投与された未成熟雌 ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、800mg/kg/day の投与群で子宮絶対及び相対重量、卵巣相対重量の低値が認められた。

また、*p*-ジクロロベンゼン 800mg/kg/day を 19~22 日齢から 3 日間皮下投与された未成熟雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、子宮相対重量の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用

参考文献

Takahashi O, Oishi S, Yoneyama M, Ogata A and Kamimura H (2007) Antiestrogenic effect of paradichlorobenzene in immature mice and rats. Archives of Toxicology, 81 (7), 505-517. (③1))

Versonnen BJ, Arijs K, Verslycke T, Lema W and Janssen CR (2003) *In vitro* and *in vivo* estrogenicity and toxicity of *o*-, *m*-, and *p*-dichlorobenzene. Environmental Toxicology and Chemistry, 22 (2), 329-335. (①1)、(②1))

(5) *N,N*-ジメチルホルムアミド

① 生殖への影響

1) Fail ら(1997 及び 1998)によって、*N,N*-ジメチルホルムアミド 1,000、4,000、7,000ppm を

11 週齡(交配 1 週間前)から 29 週間飲水投与された雌雄 F₀ Swiss CD-1 マウス、更に 22 日齡から 119 日齡まで飲水投与された雌雄 F₁(74 日齡にて交配)への影響が検討されている。その結果として、1,000ppm 以上の投与群で F₀ 雄の右精巣尾部絶対重量の低値、精巣中精子細胞数の低値、F₁ 雄の精囊絶対重量の低値、F₂ 新生仔体重の低値、4,000ppm 以上の投与群で右卵巣絶対重量の高値、F₁ 雌の妊娠から出産までの所要日数の遅延、最終出産における出産率の低値、投与期間中の出産回数、同腹生存 F₁ 新生仔数の低値、F₁ 新生仔生存率の低値、F₁ 新生仔体重の低値、最終出産における F₁ 新生仔 2~21 日齡生存率の低値、F₁ 親動物出産率の低値、F₂ 同腹生存新生仔数の低値、F₂ 新生仔生存率の低値が認められた。7,000ppm の投与群で F₁ 雄の精巣上体尾部中精子数の高値、発情周期において発情後期・発情間期が占める割合の高値、発情前期及び発情期が占める割合の高値、F₁ 雌の発情周期の所要日数の遅延、F₀ 親動物の初出産率の低値、F₀ 雄の前立腺絶対重量の低値が認められた。

示唆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

2) Hurtt ら(1992)によって、*N,N*-ジメチルホルムアミド 30、100、500ppm に 13 ヶ月間(日毎 6 時間、週 5 日)吸入ばく露された成熟雌雄カニクイザルへの影響が検討されている。その結果として、体重、血液学的検査、血清の化学分析、尿の化学分析、雄の精液分泌容量、精子運動性、精子数、形態異常精子率、雌の性周期、臓器絶対重量及び相対重量、組織病理学的検査には影響が認められなかった。

示唆される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用

参考文献

Fail PA, George JD, Grizzle TB and Heindel JJ (1997) Reproductive toxicology.

N,N-dimethylformamide, Environmental Health Perspectives, 105 (suppl 1), 305-307. (①1)

Fail PA, George JD, Grizzle TB and Heindel JJ (1998) Formamide and dimethylformamide:

Reproductive assessment by continuous breeding in mice. Reproductive Toxicology, 12 (3), 317-332. (①1)

Hurtt ME, Placke ME, Killinger JM, Singer AW and Kennedy GL Jr (1992) 13-week inhalation toxicity study of dimethylformamide (DMF) in cynomolgus monkeys. Fundamental and Applied Toxicology, 18 (4), 596-601. (①2)

(6) ヒドラジン

① 生殖への影響

1) Vernot ら(1985)によって、ヒドラジン 0.25、1.0、5.0ppm に 1 年間(日毎 6 時間)吸入ばく露された幼若雄 Golden Syrian ハムスターへの影響が検討されている。その結果として、0.25ppm 以上のばく露区で肝臓アミロイド沈着症発生率の高値、ヘモジデリン沈着症発生率の高値、胆管過形成発生率の高値、リンパ節リンパ節炎発生率の高値、腎臓糸球体アミロイド沈着症発生率の高値、無機塩沈積発生率の高値、甲状腺アミロイド沈着症発生率の高値、副腎アミロイド沈着症

発生率の高値、1.0ppm 以上のばく露区で脾臓アミロイド沈着症発生率の高値、精巣老化性萎縮発生率の高値、5.0ppm のばく露区で精巣精子形成不全発生率の高値、副腎縮退発生率の高値が認められた。

また、ヒドラジン 0.25、1.0、5.0ppm に1年間(日毎6時間)吸入ばく露された幼若雌 F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、5.0ppm のばく露区で卵巣萎縮発生率の高値、子宮内膜症発生率の高値、卵管炎発生率の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用

参考文献

Vernot EH, MacEwen JD, Bruner RH, Haun CC, Kinkead ER, Prentice DE and Hall A (1985) Long-term inhalation toxicity of hydrazine. *Fundamental and Applied Toxicology*, 5 (6), 1050-1064. (①1)

(7) フェンチオン

① 抗アンドロゲン様作用

1) Kitamura ら(2003)によって、フェンチオンについて、形質転換マウス線維芽細胞 NIH3T3 によるレポーター試験が検討されている。その結果として、フェンチオンは、1 μ M(=278 μ g/L)の濃度において、0.0001 μ M ジヒドロテストステロンによるルシフェラーゼ発現誘導を阻害した。

② 生態影響

1) Kling(1981)によって、フェンチオン 7mg/L に14日間に24時間×5回ばく露された成熟雌淡水産カワスズメ属の一種 *Tilapia leucosticta* への影響が検討されている。その結果として、卵巣相対重量の低値、変性卵による卵巣閉鎖、段階6成熟卵母細胞の消失、段階3~4未成熟卵母細胞の胚吸収、卵胞上皮細胞の腫大が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用

③ 生殖への影響

1) Kitamura ら(2003)によって、フェンチオン 25、50 mg/kg/day を7日間皮下投与された幼若雄 Wistar ラットへの Hershberger 試験(精巣摘出处置後、テストステロンプロピオネート 500 μ g/kg/day をフェンチオンと同時投与)が検討されている。その結果として、25 mg/kg/day 以上のばく露群で前立腺相対重量の低値、精嚢相対重量の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

参考文献

Kitamura S, Suzuki T, Ohta S and Fujimoto N (2003) Antiandrogenic activity and metabolism of the organophosphorus pesticide fenthion and related compounds. *Environmental Health Perspectives*, 111 (4), 503-508. (①1)、(③1)

Kling D (1981) Total atresia of the ovaries of *Tilapia leucosticta* (Cichlidae) after intoxication with the insecticide Lebaycid. *Experientia*, 37 (1), 73-74. (21)

II. 信頼性評価第2回（平成21及び22年度に実施）により「試験対象物質となり得る物質」と判断された物質（11物質）

1. 既存知見から示唆される作用と、第1段階試験群の実施に関する考え方

（1）カルバリル

- ・エストロゲン様作用については、試験管内試験結果及び単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果から、作用が認められた知見及び作用が認められなかった知見の相反する知見が得られているため、試験管内試験を実施する。
- ・抗エストロゲン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められた知見及び作用が認められなかった知見の相反する知見が得られているため、試験管内試験を実施する。なお、単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果からエストロゲン様作用及び抗エストロゲン様作用が認められなかった知見が得られている。
- ・抗アンドロゲン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められなかった知見及び単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果並びに疫学的調査結果から、作用が認められた知見の相反する知見が得られているため、試験管内試験を実施する。
- ・甲状腺ホルモン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められなかった十分な知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。
- ・抗甲状腺ホルモン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められた十分な知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。
- ・脱皮ホルモン様作用については、単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果から、作用が認められた知見が得られているが、今回実施する試験管内試験では確認できない作用であり、生物試験により確認する。

（2）カルボフラン

- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果からエストロゲン様作用または抗アンドロゲン様作用が類推されたため、試験管内試験を実施し、どちらの作用であるかを確認する。

（3）シアナジン

- ・抗エストロゲン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められた十分な知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。

（4）ジウロン

- ・エストロゲン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められなかった知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。

- ・抗エストロゲン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められた十分な知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。
- ・抗アンドロゲン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められた十分な知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。なお、単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果から抗アンドロゲン様作用が認められなかった知見が得られている。
- ・抗甲状腺ホルモン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められなかった知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。

(5) ジクロロボス

- ・エストロゲン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められなかった十分な知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。なお、単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果からエストロゲン様作用または抗アンドロゲン様作用が認められなかった知見が得られている。
- ・アンドロゲン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められなかった十分な知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。
- ・抗アンドロゲン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められた知見及び作用が認められなかった知見の相反する知見が得られているため、試験管内試験を実施する。

(6) ジクロロプロモメタン

- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果からエストロゲン様作用または抗アンドロゲン様作用が類推されたため、試験管内試験を実施し、どちらの作用であるかを確認する。
- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果から抗エストロゲン様作用またはアンドロゲン様作用が類推されたため、試験管内試験を実施し、どちらの作用であるかを確認する。

(7) ダイアジノン

- ・エストロゲン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められた十分な知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。
- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果及び疫学的調査結果からエストロゲン様作用または抗アンドロゲン様作用が類推されたため、抗アンドロゲン様作用について試験管内試験を実施し、確認する。
- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果から抗エストロゲン様作用またはアンドロゲン様作用が類推されたため、試験管内試験を実施し、どちらの作用であるかを確認する。

(8) フェニトイン

- ・抗エストロゲン様作用については、試験管内試験結果及び単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果から、作用が認められた知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。
- ・アンドロゲン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められた知見が得られているが、今回実施する試験と同等の結果が得られているとは認められなかったため、試験管内試験を実施する。
- ・抗甲状腺ホルモン様作用については、試験管内試験結果及び単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果から、作用が認められた知見が得られているが、今回実施する試験管内試験では確認できない作用であり、生物試験により確認する。

(9) フェニトロチオン

- ・アンドロゲン様作用については、試験管内試験結果から、作用が認められた十分な知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。
- ・抗アンドロゲン様作用については、試験管内試験結果及び単一の作用メカニズムが推定可能な動物試験結果から、作用が認められた十分な知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。

(10) フェノバルビタール

- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果及び疫学的調査結果からエストロゲン様作用または抗アンドロゲン様作用が類推されたため、試験管内試験を実施し、どちらの作用であるかを確認する。
- ・抗エストロゲン様作用については、試験管内試験結果及び単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果から、作用が認められた知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。
- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果からアンドロゲン様作用が類推されたため、試験管内試験を実施する。
- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果から甲状腺ホルモン様作用が類推されたため、試験管内試験を実施する。
- ・単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果及び疫学的調査結果から抗甲状腺ホルモン様作用が類推されたため、試験管内試験を実施する。

(11) ペルフルオロオクタン酸

- ・エストロゲン様作用については、試験管内試験結果及び単一の作用メカニズムが推定可能な動物試験結果から、作用が認められた知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。なお、単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果からエストロゲン様作用及び抗アンドロゲン様作用が認められた知見が得ら

れている。

- 単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果から抗エストロゲン様作用またはアンドロゲン様作用が類推されたため、試験管内試験を実施し、どちらの作用であるかを確認する。
- 抗アンドロゲン様作用については、試験管内試験結果及び疫学的調査結果から、作用が認められた知見が得られているため、試験管内試験を実施しない。
- 抗甲状腺ホルモン様作用については、試験管内試験結果及び単一の作用メカニズムが推定できない動物試験結果から、作用が認められた知見が得られているが、今回実施する試験管内試験では確認できない作用であり、生物試験により確認する。

2. 表1及び表2の作成の根拠とした報告

(1) カルバリル

① エストロゲン様作用及び抗エストロゲン様作用

1) Klotz ら(1997)によって、カルバリルについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 を用いたレポーターアッセイ(プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有する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、カルバリルは、0.1 μ M(=20 μ g/L)の濃度においてルシフェラーゼの発現を誘導し、0.1 μ M(=20 μ g/L)の濃度において 17 β -エストラジオール 0.5nM によるルシフェラーゼの発現を阻害した。

また、Ishikawa 子宮内膜がん細胞を用いたレポーターアッセイにおいては、0.1 μ M(=20 μ g/L)の濃度において 17 β -エストラジオール 1nM によるルシフェラーゼの発現を阻害したが、0.1 μ M(=20 μ g/L)の濃度においてルシフェラーゼの発現を誘導しなかった。

また、カルバリルについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 エストロゲン受容体への結合阻害試験が検討されている。その結果として、カルバリルは、1、10 μ M(=201、2,012 μ g/L)の濃度において 17 β -エストラジオール 0.5nM の受容体結合を阻害した。

2) Blair ら(2000)によって、カルバリルについて、SD ラット子宮細胞エストロゲン受容体への結合阻害試験が検討されている。その結果として、カルバリルは、1~1,000 μ M(=201~201,228 μ g/L)の濃度において 17 β -エストラジオール 1nM の受容体結合に対し IC₅₀ 値を示さなかった。

② 抗アンドロゲン様作用

1) Schein ら(1979)によって、カルバリルについて、Swiss-Webster マウス前立腺細胞アンドロゲン受容体への結合阻害試験が検討されている。その結果として、カルバリルは、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.2、20、201、2,012 μ g/L)の濃度において 5 α -ジヒドロテストステロン 1nM の受容体結合に対し IC₅₀ 値を示さなかった。

③ 甲状腺ホルモン様作用及び抗甲状腺ホルモン様作用

1) Sun ら(2008)によって、カルバリルについて、ヒト肝がん細胞 HepG2 を用いたレポーター

アッセイ(リガンド結合領域に甲状腺ホルモン受容体 β 応答性配列を有する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、カルバリルは、 IC_{50} 値 $84\mu M (=16,903\mu g/L)$ の濃度においてトリヨードサイロニン $5nM$ によるルシフェラーゼの発現を阻害したが、 10 、 50 、 $100\mu M (=2,012$ 、 $10,061$ 、 $20,123\mu g/L)$ の濃度においてルシフェラーゼの発現を誘導しなかった。

④ 生態影響

1) Hanazato と Dodson(1995)によって、カルバリル 5 、 $10\mu g/L$ に孵化 24 時間未満令から 9 令までばく露(高溶存酸素条件)されたミジンコ(*Daphnia pulex*)への影響が検討されている。その結果として、 $5\mu g/L$ 以上のばく露区で成熟個体に達するまでの所要日数の遅延、初回産卵における卵数の低値、成熟個体の体長の低値、成熟個体の成長速度の低値が認められた。

また、カルバリル 5 、 $10\mu g/L$ に孵化 24 時間未満令から 9 令までばく露(低溶存酸素条件)されたミジンコ(*Daphnia pulex*)への影響が検討されている。その結果として、 $10\mu g/L$ のばく露区で成長速度の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：脱皮ホルモン様作用

2) Lillie(1973)によって、カルバリル 250 、 $500ppm$ (餌中濃度)を 32 週齢から 36 週間混餌投与された雌 White Leghorn ニワトリへの影響が検討されている。その結果として、 $250ppm$ 以上のばく露群で体重の低値、 $500ppm$ ばく露群で 4 週齢仔動物の体重の低値(成長遅延)が認められたが、日毎産卵率、卵重量、卵比重、日毎摂餌量、受精率、受精卵の孵化率、胚の外観異常率には影響は認められなかった。

示唆される作用メカニズム：エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用

⑤ 生殖影響

1) Shtenberg と Rybakova (1968)によって、カルバリル 7 、 14 、 $70mg/kg/day$ を 1 年間経口投与された雌雄ラットへの影響が検討されている。その結果として、 $7mg/kg/day$ 以上のばく露群で精子運動性の低値、 $14mg/kg/day$ 以上のばく露群で体重の低値、血液中アセチルコリンエステラーゼ活性の低値、発情間期の長期化による性周期の遅延、 $70mg/kg/day$ のばく露群で甲状腺のよう素取り込み速度の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

⑥ 雄性生殖影響

1) Pant ら(1996)によって、カルバリル 25 、 50 、 $100mg/kg/day$ を 60 日間(週 5 日)経口投与された成熟雄 Druckerly ラットへの影響が検討されている。その結果として、 $50mg/kg/day$ 以上のばく露群で運動精子率の低値、精巣上体中精子数の低値、奇形精子率の高値が認められた。

また、カルバリル 25 、 50 、 $100mg/kg/day$ を 60 日間(週 5 日)経口投与された幼若雄 Druckerly ラットへの影響が検討されている。その結果として、 $50mg/kg/day$ 以上のばく露群で運動精子率の低値、精巣上体中精子数の低値、奇形精子率の高値が認められた。

示唆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

2) Pantら(1995)によって、カルバリル 50、100mg/kg/day を 90 日間(週 5 日)経口投与された成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上のばく露群で運動精子率の低値、精巣上体中精子数の低値、奇形精子率の高値、精巣中ラクテートデヒドロゲナーゼ活性の高値、精巣中 γ -グルタミルトランススぺプチダーゼ活性の高値、100mg/kg/day のばく露群で精巣中グルコース-6 リン酸デヒドロゲナーゼ活性の低値、精巣中ソルビトールデヒドロゲナーゼ活性の低値、体重の低値が認められた。

示唆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

⑦ 疫学的調査

1) Meekerら(2004)によって、カルバリルについて、米国ボストン市 Massachusetts General Hospital にて 2000 年 1 月から 2003 年 4 月にかけて不妊症診断に訪れた女性の配偶者(男性 272 名)への影響が検討されている。その結果として、尿中 1-ナフトール(カルバリル分解物に相当)濃度のロジスティック回帰分析(三分位間)において、精子濃度($p=0.01$)及び精子運動率($p=0.01$)とに負の相関(低濃度三分位と中及び高濃度三分位間)が認められ、1-ナフトール(カルバリル分解物に相当)濃度の多変数線形回帰分析(三分位間)において精子運動率($p=0.03$)及び精子直線速度($p=0.02$)とに負の相関が認められた。

示唆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

2) Meekerら(2006b)によって、カルバリルについて、米国ボストン市 Massachusetts General Hospital にて 2000 年 1 月から 2003 年 4 月にかけて不妊症診断に訪れた女性の配偶者(男性 268 名)への影響が検討されている。その結果として、尿中 1-ナフトール(カルバリル分解物に相当)濃度の多変数線形回帰分析(五分位間)において血清中テストステロン濃度とに負の相関(補正回帰係数-24.31、95%信頼区間-43.3~-5.21)が認められた。

示唆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

参考文献

Blair RM, Fang H, Branham WS, Hass BS, Dial SL, Moland CL, Tong W, Shi L, Perkins R and Sheehan DM (2000) The estrogen receptor relative binding affinities of 188 natural and xenochemicals: Structural diversity of ligands. *Toxicological Sciences*, 54 (1), 138-153. (①本文中の作用の区分 2)報告の番号を示す。以下同じ。)

Hanazato T and Dodson SI (1995) Synergistic effects of low oxygen concentration, predator kairomone, and a pesticide on the cladoceran *Daphnia pulex*. *Limnology and Oceanography*, 40 (4), 700-709. (④1)

Klotz DM, Arnold SF and McLachlan JA (1997) Inhibition of 17 beta-estradiol and progesterone activity in human breast and endometrial cancer cells by carbamate insecticides. *Life Sciences*, 60 (17), 1467-1475. (①1)

Lillie RJ (1973) Studies on the reproductive performance and progeny performance of caged White Leghorns fed malathion and carbaryl. *Poultry Science*, 52 (1), 266-272. (④2)

Meeker JD, Ryan L, Barr DB, Herrick RF, Bennett DH, Bravo R and Hauser R (2004) The

relationship of urinary metabolites of carbaryl/naphthalene and chlorpyrifos with human semen quality. *Environmental Health Perspectives*, 112 (17), 1665-1670. (⑦1)

Meeker JD, Ryan L, Barr DB and Hauser R (2006) Exposure to nonpersistent insecticides and male reproductive hormones. *Epidemiology*, 17 (1), 61-68. (⑦2)

Pant N, Srivastava SC, Prasad AK, Shankar R and Srivastava SP (1995) Effects of carbaryl on the rat's male reproductive system. *Veterinary and Human Toxicology*, 37 (5), 421-425. (⑥2)

Pant N, Shankar R and Srivastava SP (1996) Spermatotoxic effects of carbaryl in rats. *Human and Experimental Toxicology*, 15 (9), 736-738. (⑥1)

Schein LG, Donovan MP, Thomas JA and Felice PR (1979) Effects of pesticides on ³H-dihydrotestosterone binding to cytosol proteins from various tissues of the mouse. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 3 (1-2), 461-470. (②1)

Shtenberg AI and Rybakova MN (1968) Effect of carbaryl on the neuroendocrine system of rats. *Food and Cosmetics Toxicology*, 6 (4), 461-467. (⑤1)

Sun H, Shen OX, Xu XL, Song L and Wang XR (2008) Carbaryl, 1-naphthol and 2-naphthol inhibit the beta-1 thyroid hormone receptor-mediated transcription *in vitro*. *Toxicology*, 249 (2-3), 238-242. (③1)

(2) カルボフラン

① 生殖影響

1) Pant ら(1995)によって、カルボフラン 0.1、0.2、0.4、0.8mg/kg/day を 60 日間(週 5 日)経口投与された幼若雄 *Druckrey* ラットへの影響が検討されている。その結果として、0.2mg/kg/day 以上のばく露群で精巣上体中総精子数の低値、精巣上体中運動精子率の低値、精巣上体中精子総奇形率の高値、精巣上体絶対及び相対重量の低値、精囊絶対及び相対重量の低値、腹側前立腺絶対及び相対重量の低値、凝固腺絶対及び相対重量の低値、精巣中グルコース-6-P デヒドロゲナーゼ活性の低値、精巣中ソルビトールデヒドロゲナーゼ活性の低値、精巣中γ-グルタミルトランスぺプチダーゼ活性の高値、精巣中乳酸デヒドロゲナーゼ活性の高値、0.4mg/kg/day 以上のばく露群で精巣相対重量の低値が認められた。

示唆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

2) Pant ら(1997)によって、カルボフラン 0.2、0.4mg/kg/day を出産日から離乳日まで 21 日間経口投与された雌 *Druckrey* ラットの 90 日齢雄仔動物への影響が検討されている。その結果として、0.4mg/kg/day のばく露群で精巣上体中総精子数の低値、精巣上体中運動精子率の低値、精巣上体中精子総奇形率の高値、精巣中ソルビトールデヒドロゲナーゼ活性の低値、精巣中乳酸デヒドロゲナーゼ及びγ-グルタミルトランスぺプチダーゼ活性の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用

参考文献

Pant N, Prasad AK, Srivastava SC, Shankar R and Srivastava SP (1995) Effect of oral

administration of carbofuran on male reproductive system of rat. *Human and Experimental Toxicology*, 14 (11), 889-894.(①1))

Pant N, Shankar R and Srivastava SP (1997) *In utero* and lactational exposure of carbofuran to rats: Effect on testes and sperm. *Human and Experimental Toxicology*, 16 (5), 267-272.(①2))

(3) シアナジン

① 抗エストロゲン様作用

1) Tran ら(1996)によって、 17β エストラジオール 2nM 共存下のシアナジンについて、ヒトエストロゲン受容体を用いた結合阻害試験が検討されている。その結果として、シアナジンは、10、100 μ M(=2,407、24,070 μ g/L)の濃度において結合を阻害した。

また、 17β エストラジオール 0.5nM 共存下のシアナジン 0.207、0.414、2.075、10 μ M(=50、100、499、2,407 μ g/L)に 12 時間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ(プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた β ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、シアナジンは、0.414 μ M(=100 μ g/L)以上の濃度において β ガラクトシダーゼの発現誘導を阻害した。

参考文献

Tran DQ, Kow KY, McLachlan JA and Arnold SF (1996) The inhibition of estrogen receptor-mediated responses by chloro-*S*-triazine-derived compounds is dependent on estradiol concentration in yeast. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 227 (1), 140-146.(①1))

(4) ジウロン

① エストロゲン様作用

1) Vinggaard ら(1999)によって、ジウロン 0.001、0.1、1、10 μ M(=0.23、23、233、2,331 μ g/L)に 9 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(E-Screen アッセイ)が検討されている。その結果として、ジウロンは、細胞増殖を誘導しなかった。

② 抗エストロゲン様作用

1) Orton ら(2009)によって、 17β エストラジオール 0.25nM 共存下のジウロン 0.008～15.6 μ M(=1.9～3,636 μ g/L)に 3～6 日間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ(プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた β ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、ジウロンは、0.98～31.3 μ M(=228～7,296 μ g/L)の濃度において β ガラクトシダーゼの発現誘導を阻害した。

③ 抗アンドロゲン様作用

1) Orton ら(2009)によって、テストステロン 2.5nM 共存下のジウロン 0.008～15.6 μ M(=1.9～3,636 μ g/L)に 3～6 日間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ(プロモータ領域にヒトア

ンドロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた β -ガラクトシダーゼ発現誘導が検討されている。その結果として、ジウロンは、15.6~31.3 μ M(=3,636~7,296 μ g/L)の濃度において β -ガラクトシダーゼの発現誘導を阻害した。

また、ジウロン 6.25、62.5 μ M(=1,457、14,569 μ g/L)に 20 時間ばく露したアフリカツメガエル卵母細胞への影響が検討されている。その結果として、62.5 μ M(=14,569 μ g/L)の濃度においてヒト絨毛性ゴナドトロピン刺激性テストステロン産生濃度の低値、ヒト絨毛性ゴナドトロピン刺激性排卵率の低値が認められた。

④ 抗甲状腺ホルモン様作用

1) Van den Berg ら(1991)によって、ジウロンについて、サイロキシン受容体を用いた結合阻害試験(非標識サイロキシンのIC₅₀値0.04 μ Mが検出できる濃度の標識サイロキシン共存下)が検討されている。その結果として、ジウロンは、100 μ M(=23,310 μ g/L)の濃度においても結合を阻害しなかった。

⑤ 生殖影響

1) Fernandes ら(2007)によって、ジウロン 125、250mg/kg/day を 30 日間経口投与した成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、125mg/kg/day 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。しかし、体重、精巣絶対及び相対重量、精巣上体絶対及び相対重量、輸精管絶対及び相対重量、腹側精囊絶対及び相対重量、精細管絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、血漿中テストステロン濃度、精巣中精子日毎産生数、尾部精巣上体中精子数、頭部及び胴部精巣上体中精子数、尾部精巣上体中精子通過時間、頭部及び胴部精巣上体中精子通過時間、性行動試験(初回マウント潜時、初回挿入潜時、初回射精に至るまでの挿入回数、初回射精潜時、初回射精後の挿入潜時、初回射精後の挿入回数、射精回数)には影響が認められなかった。

示唆される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

参考文献

- Fernandes GS, Arena AC, Fernandez CD, Mercadante A, Barbisan LF and Kempinas WG (2007) Reproductive effects in male rats exposed to diuron. *Reproductive Toxicology*, 23 (1), 106-112.(⑤1))
- Orton F, Lutz I, Kloas W and Routledge EJ (2009) Endocrine disrupting effects of herbicides and pentachlorophenol: *In vitro* and *in vivo* evidence. *Environmental Science and Technology*, 15, 43 (6), 2144-2150.(②1)、③1))
- Van den Berg KJ, van Raaij JA, Bragt PC and Notten WRF (1991) Interactions of halogenated industrial chemicals with transthyretin and effects on thyroid hormone levels *in vivo*. *Archives of toxicology*, 65 (1), 15-19.(④1))
- Vinggaard AM, Breinholt V and Larsen JC (1999) Screening of selected pesticides for oestrogen receptor activation *in vitro*. *Food Additives and Contaminants*, 116 (12), 533-542.(①1))

(5) ジクロルボス

① エストロゲン様作用

1) Andersen ら(2002)によって、ジクロルボス 0.01~50 μ M(=2.2~11,049 μ g/L)に 6 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験(E-Screen アッセイ)が検討されている。その結果として、ジクロルボスは、細胞増殖を誘導しなかった。

また、ジクロルボス 0.01~50 μ M(=2.2~11,049 μ g/L)に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 によるレポーターアッセイ(プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有する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、ジクロルボスは、ルシフェラーゼの発現を誘導しなかった。

② アンドロゲン様作用

1) Andersen ら(2002)によって、ジクロルボス 0.01~50 μ M(=2.2~11,049 μ g/L)に 24 時間ばく露したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 によるレポーターアッセイ(プロモータ領域にヒトアンドロゲン受容体応答性配列を有する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、ジクロルボスは、ルシフェラーゼの発現を誘導しなかった。

③ 抗アンドロゲン様作用

1) Andersen ら(2002)によって、メチルトレンボロン 0.1nM 共存下のジクロルボス 0.01~50 μ M(=2.2~11,049 μ g/L)に 24 時間ばく露したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 によるレポーターアッセイ(プロモータ領域にヒトアンドロゲン受容体応答性配列を有する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、ジクロルボスは、20 μ M(=4,420 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼの発現を阻害した。

2) Xu ら(2008)によって、5 α -ジヒドロテストステロン 1nM 共存下のジクロルボス 0.1、1、10 μ M(=22、221、2,210 μ g/L)に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 によるレポーターアッセイ(プロモータ領域にヒトアンドロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた β -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、ジクロルボスは、 β -ガラクトシダーゼの発現を阻害しなかった。

④ 雄性生殖影響

1) Okamura ら(2005)によって、ジクロルボス 1、2、4mg/kg/day を 9 週間連続(毎週 6 日)皮下投与した 10 週齢雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、1mg/kg/day 以上のばく露群で血漿中コリンエステラーゼ活性の低値、1、4mg/kg/day のばく露群で精巣上体尾中精子の運動精子率の低値、2mg/kg/day 以上のばく露群で赤血球中コリンエステラーゼ活性の低値、4mg/kg/day のばく露群で、体重の低値、肝臓絶対重量の低値、精巣上体相対重量の高値、左精巣相対重量の高値、左甲状腺絶対重量の高値が認められたが、血漿中テストステロン濃度には変化が認められなかった。

示唆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

参考文献

- Andersen HR, Vinggaard AM, Rasmussen TH, Gjermansen IM and Bonfeld-Jørgensen EC (2002) Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity *in vitro*. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 179 (1), 1-12.(①1)、②1)、③1))
- Okamura A, Kamijima M, Shibata E, Ohtani K, Takagi K, Ueyama J, Watanabe Y, Omura M, Wang H, Ichihara G, Kondo T and Nakajima T (2005) A comprehensive evaluation of the testicular toxicity of dichlorvos in Wistar rats. *Toxicology*, 213 (1-2), 129-137.(④1))
- Xu LC, Liu L, Ren XM, Zhang MR, Cong N, Xu AQ and Shao JH (2008) Evaluation of androgen receptor transcriptional activities of some pesticides *in vitro*. *Toxicology*, 243 (1-2) 59-65.(③2))

(6) ジクロロブロモメタン

① 生殖影響

1) Christian ら(2002)によって、ジクロロブロモメタン 50、150、450ppm(4.1~12.6、11.6~40.2、29.5~109.0mg/kg/day に相当)を交配 70 日前から交配 106~118 日後まで飲水投与された雌雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、50、150ppm の投与群で父動物の精子細胞密度の低値、150ppm 以上の投与群で新生仔雌の膈開口日の遅延、新生仔雄の包皮分離日の遅延、450ppm の投与群で母動物の体重の低値、母動物の脳相対重量の高値、肝臓相対重量の高値、左腎臓絶対及び相対重量の高値、右腎臓相対重量の高値、21 日齢新生仔の体重の低値、脳絶対及び相対重量の低値、脾臓絶対重量の低値、胸腺絶対重量の低値が認められた。

また、この親動物から誕生及び離乳後、更に 64 日間飲水投与された F₁ 雌雄 SD ラット仔動物への影響が検討されている。その結果として、50ppm 以上の投与群で雄雌仔動物の交配までの所要日数の遅延、4 日齢 F₂ 新生仔の生存率の低値、50ppm の投与群で雄仔動物の精囊液絶対重量の低値、150ppm 以上の投与群で雄仔動物の体重の低値、雌仔動物の左卵巢絶対重量の低値、胸腺絶対重量の低値、450ppm 投与群で雄仔動物の左右精巣相対重量の高値、精囊絶対及び相対重量の高値、脳相対重量の高値、雌仔動物の体重の低値、脾臓絶対及び相対重量の低値、雌仔動物の左右腎臓絶対重量の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用

参考文献

- Christian MS, York RG, Hoberman AM, Fisher LC and Brown WR (2002) Oral (drinking water) two-generation reproductive toxicity study of bromodichloromethane (BDCM) in rats. *International Journal of Toxicology*, 21 (2), 115-146.(①1))

(7) ダイアジノン

① エストロゲン様作用

1) Manabe ら(2006)によって、ダイアジノンについて、ラット下垂体がん細胞 MtT/Se を用いた細胞増殖試験が検討されている。その結果として、ダイアジノンは、REC₁₀ 値(17β-エストラジオール 1,000μM が示す活性の 10%に相当する活性を示す濃度)97μM(=30mg/L)の濃度において細胞増殖を誘導した。

2) Kojima ら(2005)によって、ダイアジノンについて、ヒト卵巣がん細胞 BG1 を用いたレポーターアッセイ(プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有する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、ダイアジノンは、REC₁₀ 値 460μM(=140mg/L)の濃度においてルシフェラーゼの発現を誘導した。

② 発達影響

1) Spyker と Avery(1977)によって、ダイアジノン 0.18、9.0mg/kg/day を受精日から出産日まで経口投与された Hybrid マウスへの影響が検討されている。その結果として、0.18mg/kg/day 以上のばく露群で妊娠期間中の母動物の体重増加量の低値、60 日齢仔動物の rod cling endurance 試験における行動時間の低値、70 日齢仔動物の inclined place 試験における落下耐久角度の低値、0.18mg/kg/day のばく露群で同腹産仔数の低値、よじ登り行動日の遅延、膣開口日及び包皮分離日の遅延、9.0mg/kg/day のばく露群で 1、2、3 週齢仔動物体重の低値、100 日齢仔動物の Lashley III 迷路試験における走行速度の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用

③ 疫学的調査

1) Swan ら(2003)によって、ダイアジノンについて、米国 Missouri 州 Columbia 市にて 1999 から 2001 年に妊娠が診療確認された妊婦の配偶者(202 名中、精子減少症例群 25 名、対照群 25 名)への影響が検討されている。その結果として、精子減少症例群では対照群との比較において尿中ダイアジノン代謝物濃度の高値が認められた。

また、ダイアジノンについて、米国 Minnesota 州 Minneapolis 市にて 1999 から 2001 年に妊娠が診療確認された妊婦の配偶者(215 名中、精子減少症例群 9 名、対照群 27 名)への影響が検討されている。その結果として、精子減少症例群では対照群との比較において尿中ダイアジノン代謝物濃度とに関連性は認められなかった。

示唆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

2) Swan(2006)によって、ダイアジノンについて、米国 Missouri 州 Columbia 市にて 1999 から 2001 年に妊娠が診療確認された妊婦の配偶者(21~24 歳、白人男性のうち精子減少症例群 25 名、対照群 25 名)への影響が検討されている。その結果として、精子減少症例群では対照群との比較において尿中ダイアジノン代謝物濃度の高値が認められた。

示唆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

参考文献

Kojima M, Fukunaga K, Sasaki M, Nakamura M, Tsuji M and Nishiyama T (2005) Evaluation of

estrogenic activities of pesticides using an *in vitro* reporter gene assay. International Journal of Environmental Health Research, 15 (4), 271-280.(①2))

Manabe M, Kanda S, Fukunaga K, Tsubura A and Nishiyama T (2006) Evaluation of the estrogenic activities of some pesticides and their combinations using MtT/Se cell proliferation assay. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 209 (5), 413-421.(①1))

Spyker JM and Avery DL (1977) Neurobehavioral effects of prenatal exposure to the organophosphate Diazinon in mice. Journal of Toxicology and Environmental Health, 3 (5-6), 989-1002.(②1))

Swan SH (2006) Semen quality in fertile US men in relation to geographical area and pesticide exposure. International Journal of Andrology, 29 (1), 62-68.(③2))

Swan SH, Kruse RL, Liu F, Barr DB, Drobnis EZ, Redmon JB, Wang C, Brazil C and Overstreet JW (2003) Semen quality in relation to biomarkers of pesticide exposure. Study for Future Families Research Group. Environmental Health Perspectives, 111 (12), 1478-1484.(③1))

(8) フェニトイン

① 抗エストロゲン様作用

1) Olsen ら(2004)によって、フェニトインについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 を用いた細胞増殖試験(E-Screen)が検討されている。その結果として、フェニトインは、100 μ M(=25mg/L)の濃度において 17 β -エストラジオール 30pM による細胞増殖誘導を阻害した。

② アンドロゲン様作用

1) Meyer ら(2009)によって、フェニトイン 50 μ M(=13mg/L)に 48 時間ばく露したラット褐色細胞腫細胞 PC-12 への影響が検討されている。その結果として、アンドロゲン受容体発現量の高値、チトクローム P450(CYP3A2)発現量の高値が認められた。

2) Gehlhaus ら(2007)によって、フェニトイン 10、100 μ M(=2.5、25mg/L)に 24~48 時間ばく露したマウス肝臓がん細胞 1c1c7 への影響が検討されている。その結果として、アンドロゲン受容体の mRNA 発現量の高値、チトクローム P450(CYP3A11)の mRNA 発現量の高値が認められた。

③ 抗甲状腺ホルモン様作用

1) Fleckman ら(1981)によって、フェニトイン 20、80、200、400 μ M(=5.0、20、50、101mg/L)に 1 時間ばく露したラット下垂体前葉培養細胞への影響が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 10 μ M(=2.5mg/L)の濃度でカリウムイオン誘導性甲状腺刺激ホルモン分泌量の低値、IC₅₀ 値 200 μ M(=50mg/L)の濃度で甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導性甲状腺刺激ホルモン分泌量の低値が認められた。

2) Lim ら(1996)によって、フェニトイン 25、50、100、200 μ M(=6.3、13、25、50mg/L)に 1 時間ばく露したラット下垂体前葉培養細胞への影響が検討されている。その結果として、50 μ M(=13mg/L)以上のばく露区でトリヨードサイロニン取り込み率の低値が認められた。

3) Davis ら(1986)によって、フェニトイン 50、100、150、200 μ M(=13、25、38、50mg/L)に 6 時間ばく露したラット下垂体前葉培養細胞への影響が検討されている。その結果として、50 μ M(=13mg/L)以上のばく露区で基底状態プロラクチン分泌量の低値、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導性プロラクチン分泌量の低値が認められた。

また、フェニトイン 50、150 μ M(=13、38mg/L)に 18 時間ばく露したラット下垂体前葉培養細胞への影響が検討されている。その結果として、50 μ M(=13mg/L)以上のばく露区で基底状態プロラクチン分泌量の低値、mRNA 発現量の低値、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導性成長ホルモン mRNA 発現量の低値が認められた。

4) Franklyn ら(1985)によって、フェニトイン 50、100、150、200 μ M(=13、25、38、50mg/L)に 6 時間ばく露したラット下垂体前葉培養細胞への影響が検討されている。その結果として、50 μ M(=13mg/L)以上のばく露区で甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導性甲状腺刺激ホルモン分泌量の低値が認められた。

また、フェニトイン 50、100、150、200 μ M(=13、25、38、50mg/L)に 1 時間ばく露したラット下垂体前葉培養細胞への影響が検討されている。その結果として、50 μ M(=13mg/L)以上のばく露区で核中へのトリヨードサイロニン取り込み率の低値が認められた。

④ 生殖影響

1) Tamura ら(2000)によって、排卵誘導処置(26 日齢にウマ絨毛性ゴナドトロピン皮下投与)後 52 時間後にフェニトイン 70、140mg/kg/day を単回腹腔投与された雌 Wistar Imamichi ラットへの影響が検討されている。その結果として、70mg/kg/day のばく露群で血清中卵巣刺激ホルモン濃度の高値、140mg/kg/day のばく露群で血清中 β エストラジオールの高値、血清中インヒビン濃度の高値、子宮絶対重量の高値、卵巣絶対重量の低値、排卵率の低値、排卵数の低値、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、血清中卵巣刺激ホルモン濃度の低値が認められた。

また、排卵誘導処置(26 日齢にウマ絨毛性ゴナドトロピン皮下投与)と同時にフェニトイン 140mg/kg/day を単回腹腔投与された雌 Wistar Imamichi ラットへの影響が検討されている。その結果として、子宮絶対重量の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用

⑤ 甲状腺影響

1) de Sandro ら(1991)によって、フェニトイン 25、100mg/kg/day を 7 日間経口投与された雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中サイロキシン濃度の低値、肝臓中 5'-デオナーゼ活性の低値、腎臓中 5'-デオナーゼ活性の高値が認められた。

また、フェニトイン 100mg/kg/day を 14 日間経口投与された雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、肝臓中 EROD(エトキシレゾルフィン-O-デエチラーゼ)比活性の高値、肝臓中 PROD(ペントキシレゾルフィン-O-デエチラーゼ)比活性の高値、肝臓中 UDPGT(UDP グルクロノシルトランスフェラーゼ)比活性の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

2) Schröder-van der Elst ら(1996)によって、フェニトイン 50mg/kg/day を 3 週間混餌投与さ

れた成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中総サイロキシン濃度の低値、血清中遊離サイロキシン濃度の低値、血清中総トリヨードサイロニン濃度の低値、脳中甲状腺ホルモン関連酵素(ID-II、ME)活性の低値、脳中甲状腺ホルモン関連酵素(α -GPD)活性の高値、肝臓中甲状腺ホルモン関連酵素(T4-UGT、T3-UGT1、 α -GPD、ME)活性の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

3) Theodoropoulos ら(1980)によって、フェニトイン 50mg/kg/day を 7 日間腹腔投与された成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中総サイロキシン濃度の低値、血清中遊離サイロキシン濃度の低値、血清中総トリヨードサイロニン濃度の低値、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度の低値、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導性血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値が認められた。

また、甲状腺摘出处置後にフェニトイン 50mg/kg/day を 7 日間腹腔投与された成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値、下垂体中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

参考文献

- Davis JR, Lynam TC, Franklyn JA, Docherty K and Sheppard MC (1986) Tri-iodothyronine and phenytoin reduce prolactin messenger RNA levels in cultured rat pituitary cells. *Journal of Endocrinology*, 109 (3), 359-364.(③3)
- De Sandro V, Chevrier M, Boddaert A, Melcion C, Cordier A and Richert L (1991) Comparison of the effects of propylthiouracil, amiodarone, diphenylhydantoin, phenobarbital, and 3-methylcholanthrene on hepatic and renal T4 metabolism and thyroid gland function in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 111 (2), 263-278.(⑤1)
- Fleckman A, Erlichman J, Schubart UK and Fleischer N (1981) Effect of trifluoperazine, D600, and phenytoin on depolarization- and thyrotropin-releasing hormone-induced thyrotropin release from rat pituitary tissue. *Endocrinology*, 108 (6), 2072-2077.(③1)
- Franklyn JA, Davis JR, Ramsden DB and Sheppard MC (1985) Phenytoin and thyroid hormone action. *Journal of Endocrinology*, 104 (2), 201-204.(③4)
- Gehlhaus M, Schmitt N, Volk B and Meyer RP (2007) Antiepileptic drugs affect neuronal androgen signaling via a cytochrome P450-dependent pathway. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 322 (2), 550-559.(②2)
- Lim CF, Loidl NM, Kennedy JA, Topliss DJ and Stockigt JR (1996) Drug effects on triiodothyronine uptake by rat anterior pituitary cells *in vitro*. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 104 (2), 151-157.(③2)
- Meyer RP, Gehlhaus M, Schwab R, Bürck C, Knoth R and Hagemeyer CE (2009) Concordant up-regulation of cytochrome P450 Cyp3a11, testosterone oxidation and androgen receptor expression in mouse brain after xenobiotic treatment. *Journal of Neurochemistry*, 109 (2), 670-681.(②1)

Olsen CM, Meussen-Elholm ET, Røste LS and Taubøll E (2004) Antiepileptic drugs inhibit cell growth in the human breast cancer cell line MCF7. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 213 (2), 173-179.(①1))

Schröder-van der Elst JP, van der Heide D, van der Bent C, Kaptein E, Visser TJ and DiStefano JJ 3rd (1996) Effects of 5, 5'-diphenylhydantoin on the thyroid status in rats. *European Journal of Endocrinology*, 134 (2), 221-224.(⑤2))

Tamura K, Abe Y and Kogo H (2000) Phenytoin inhibits both the first ovulation and uterine development in gonadotropin-primed immature rats. *European Journal of Pharmacology*, 398 (2), 317-322.(④1))

Theodoropoulos T, Fang SL, Azizi F, Ingbar SH, Vagenakis AG and Braverman LE (1980) Effect of diphenylhydantoin on hypothalamic-pituitary-thyroid function in the rat. *American Journal of Physiology*, 239 (6), E468- E473.(⑤3))

(9) フェニトロチオン

① アンドロゲン様作用及び抗アンドロゲン様作用

1) Jolly ら(2009)によって、フェニトロチオンについて、雌イトヨ腎臓細胞におけるスピギン発現誘導が検討されている。その結果として、フェニトロチオンは、0.000001、0.0001、0.01、1 μ M(=0.00028、0.028、2.8、277 μ g/L)の濃度において5 α -ジヒドロテストステロン 10nM によるスピギンの発現を阻害した。

2) Tamura ら(2001)によって、フェニトロチオンについて、ヒト肝がん細胞 HepG2 を用いたレポーターアッセイ(プロモータ領域にヒトアンドロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、フェニトロチオンは、0.1 μ M(=28 μ g/L)の濃度においてルシフェラーゼの発現を誘導し、K_B 値 0.0218 μ M(=6.0 μ g/L)の濃度において5 α -ジヒドロテストステロン 100nM によるルシフェラーゼの発現を阻害した。

② 生態影響

1) Jolly ら(2009)によって、フェニトロチオン 5、10、25、60、120、240 μ g/L に 21 日間ばく露(5 α -ジヒドロテストステロン 5 μ g/L を同時ばく露)された成熟雌イトヨ(*Gasterosteus aculeatus*)への影響が検討されている。その結果として、10 μ g/L 以上のばく露区でスピギン濃度(体重当)の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

③ 生殖影響

1) Turner ら(2002)によって、フェニトロチオン 5、10、15、20、25mg/kg/day を妊娠 12 日目から 10 日間経口投与された雌ラットへの影響が検討されている。その結果として、20mg/kg/day 以上のばく露群で妊娠 12~21 日目母動物の増加体重の低値、20mg/kg/day のばく露群で 100

日齢雄仔動物の副腎相対重量の高値、25mg/kg/day のばく露群で同腹生存新生仔数の低値、新生仔生存率の低値、1日齢雄仔動物の肛門生殖突起間距離(体重補正相対値)の低値、13日齢雄仔の乳輪数の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

2) Tamura ら(2001)によって、フェニトロチオン 15、30mg/kg/day を7週齢から7日間経口投与された処置雄SDラット(4週齢で精巣摘出、フェニトロチオン経口投与と同時にテストステロンプロピオネート 50µg/rat/day を皮下投与)への影響(Hershberger 試験)が検討されている。その結果として、15mg/kg/day 以上のばく露群で体重増加量の低値、精嚢絶対及び相対重量の低値、肛門挙筋+球海綿体筋絶対及び相対重量の低値、腹側前立腺絶対及び相対重量の低値、自発運動量の低値、線条体中アセチルコリンエステラーゼ活性の低値、海馬中アセチルコリンエステラーゼ活性の低値、前頭葉中アセチルコリンエステラーゼ活性の低値、30mg/kg/day のばく露群で血液中アセチルコリンエステラーゼ活性の低値、体重の低値、肝臓絶対及び相対重量の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

参考文献

- Jolly C, Katsiadaki I, Morris S, Le Belle N, Dufour S, Mayer I and Pottinger TG, and Scott AP (2009) Detection of the anti-androgenic effect of endocrine disrupting environmental contaminants using *in vivo* and *in vitro* assays in the three-spined stickleback. *Aquatic toxicology*, 92 (4), 228-239.(①1)、②1)
- Tamura H, Maness SC, Reischmann K, Dorman DC, Gray LE and Gaido KW (2001) Androgen receptor antagonism by the organophosphate insecticide fenitrothion. *Toxicological Sciences*, 60 (1), 56-62.(①2)、③2))
- Turner KJ, Barlow NJ, Struve MF, Wallace DG, Gaido KW, Dorman DC and Foster PM (2002) Effects of *in utero* exposure to the organophosphate insecticide fenitrothion on androgen-dependent reproductive development in the CrI:CD(SD)BR rat. *Toxicological Sciences*, 68 (1), 174-183.(③1))

(10) フェノバルビタール

① 抗エストロゲン様作用

1) Olsen ら(2004)によって、フェノバルビタールについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 を用いた細胞増殖試験(E-Screen)が検討されている。その結果として、フェノバルビタールは、10、100µM(=2.3、23mg/L)の濃度において17β-エストラジオール 30pM による細胞増殖誘導を阻害した。

② 生殖影響

1) O'Connor ら(2002)によって、フェノバルビタール 5、25、50、100mg/kg/day を15日間経口投与された雄SDラットへの影響が検討されている。その結果として、5mg/kg/day 以上のば

く露群で甲状腺絶対重量の高値、血清中 5α -ジヒドロステロントリヨードサイロニン濃度の低値、25mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓絶対重量の高値、血清中甲状腺刺激ホルモンの高値、血清中サイロキシニン濃度の低値、50mg/kg/day 以上のばく露群で血清中プロラクチン濃度の低値、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、100mg/kg/day のばく露群で脾臓相対重量の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：甲状腺ホルモン様作用、抗甲状腺ホルモン様作用

2) Bonner(1994)によって、フェノバルビタール 20、40、60mg/kg/day を妊娠 9 日目から 6 日間皮下投与されたハムスターへの影響が検討されている。その結果として、20mg/kg/day 以上のばく露群で発情開始日の雄仔動物の副腎相対重量の低値、雌仔動物の発情開始日の遅延、雌仔動物の正常発情周期(4 日)発現率の低値、40mg/kg/day 以上のばく露群で発情開始日の雌仔動物の副腎相対重量の低値、雄仔動物の発情開始日の遅延、40mg/kg/day のばく露群で 4 日齢雄仔動物の巡回運動回数の低値、超音波発声行動回数の低値、60mg/kg/day のばく露群で発情開始日の雌仔動物の卵巣相対重量の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用

3) Wani ら(1996)によって、フェノバルビタール 40mg/kg/day を 1 日齢から 7 日間皮下投与された雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、65 及び 165 日齢での血清中テストステロン濃度(平均値及び極大値)の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：アンドロゲン様作用

4) Agrawal ら(1995)によって、フェノバルビタール 40mg/kg/day を 1 日齢から 7 日間皮下投与された SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、65、150 日齢雄の血清中テストステロン濃度(極大値)の低値、65 日齢雌の血清中成長ホルモン濃度(平均値及び極大値)の低値、4、8、65、135 及び 150 日齢雄の肝ミクロソーム中のヘキサバービタルヒドロシキラーゼの高値、5~175 日齢雄の体重の低値、30~180 日齢雄及び雌の睡眠時間の低値が認められた。

示唆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

5) Gupta ら(1982)によって、フェノバルビタール 40mg/kg/day を妊娠 17 日目から 4 日間投与(投与方法不明)された SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、1、3、21、120 日齢雄仔動物の精巣中テストステロン濃度の低値、脳中テストステロン濃度の低値、血清中テストステロン濃度の低値が認められた。

また、フェノバルビタール 40mg/kg/day を妊娠 17 日目から 3 日間投与(投与方法不明)された SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、出産 2 日前雄胎仔の脳及び血清中テストステロン濃度の低値が認められた。

また、フェノバルビタール 40mg/kg を妊娠 17 日目に単回投与(投与方法不明)された SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、出産 4 日前雄胎仔の脳中テストステロン濃度の低値が認められた。

示唆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

③ 甲状腺影響

1) Theodoropoulos と Zolman(1989)によって、フェノバルビタール 100mg/kg/day を 10 日間

腹腔投与された成熟 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中サイロキシン濃度の低値(雌雄混合)、血清中トリヨードサイロニン濃度の低値(雌雄混合)、低温ストレスによる甲状腺刺激ホルモン誘導濃度の低値(雌雄混合)が認められた。

また、フェノバルビタール 100mg/kg/day を 10 日間腹腔投与された成熟処置(甲状腺摘出)SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、雄及び雌の血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモンによる甲状腺刺激ホルモン誘導濃度の低値(雌雄混合)が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

2) Hood ら(1999)によって、フェノバルビタール 300、600、1,200、2,400ppm(餌中濃度)を 7 日間混餌投与された成熟雄 SD ラットの影響が検討されている。その結果として、300、1,200、2,400ppm のばく露群で血清中総トリヨードサイロニン濃度の低値、300、600、2,400ppm のばく露群で甲状腺濾胞細胞の細胞分裂率の高値、600ppm 以上のばく露群で血清中遊離サイロキシン濃度の低値、600ppm のばく露群で血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、1,200ppm 以上のばく露群で血清中総サイロキシン濃度の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

④ 疫学的調査

1) Tanaka ら(1987)によって、フェノバルビタールについて、兵庫県神戸市にて抗けいれん剤(フェノバルビタール他 6 種類)投与中のでんかん患者 287 名(男児 143 名、女児 144 名、平均年齢 11.1±5.4 歳)への影響が検討されている。その結果として、フェノバルビタール単独投与集団 63 名(A 群として投与継続期間 1~2 年 26 名、B 群として投与継続期間 3~5 年 14 名、C 群として投与継続期間 6~9 年 15 名、D 群として投与継続期間 10~年 8 名)と対照集団 26 名(抗けいれん剤投与を受けておらず甲状腺が健常なでんかん患者として男児 15 名、女児 11 名、平均年齢 9.1±4.0 歳)との比較において、C、D 群において血清中トリヨードサイロニン濃度の低値、B、C、D 群において血清中サイロキシン濃度の低値、A、B、C、D 群においてトリヨードサイロニン摂取率の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

2) Murialdo ら(1994)によって、フェノバルビタールについて、抗けいれん剤(フェノバルビタール、カルバマゼピン、フェニトインのいずれか)投与歴があり、5 年間以上発作のない男性でんかん患者 35 名(年齢 19~47 歳、平均年齢 25 歳)への影響が検討されている。その結果として、フェノバルビタール単独投与集団 18 名(PB-IGE 群として特発性全般てんかん患者 12 名、PB-PE 群として部分てんかん患者 6 名)と対照集団 37 名(健常男性、年齢 19~48 歳、平均年齢 26 歳)との比較において、PB-IGE 群及び PB-PE 群で血清中 Δ^4 アンドステンジオン濃度の高値、血清中テストステロン(遊離)濃度の低値、PB-PE 群で血清中性ホルモン結合グロブリン濃度の高値、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値が認められた。

示唆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

参考文献

- Agrawal AK, Pampori NA and Shapiro BH (1995) Neonatal phenobarbital-induced defects in age- and sex-specific growth hormone profiles regulating monooxygenases. *American Journal of Physiology*, 268 (3 part1), E439-E445.(②4)
- Bonner MJ (1994) Prenatal and neonatal pharmacologic stress on early behavior and sexual maturation in the hamster. *Journal of Clinical Pharmacology*, (6), 713-718.(②2)
- Gupta C, Yaffe SJ and Shapiro BH (1982) Prenatal exposure to phenobarbital permanently decreases testosterone and causes reproductive dysfunction. *Science*, 216 (4546), 640-642.(②5)
- Hood A, Hashmi R and Klaassen CD (1999) Effects of microsomal enzyme inducers on thyroid-follicular cell proliferation, hyperplasia, and hypertrophy. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 160 (2), 163-170.(③2)
- Murialdo G, Galimberti CA, Fonzi S, Manni R, Costelli P, Parodi C, Torre F, Solinas GP, Polleri A and Tartara A (1994) Sex hormones, gonadotropins and prolactin in male epileptic subjects in remission: Role of the epileptic syndrome and of antiepileptic drugs. *Neuropsychobiology*, 30 (1), 29-36.(④2)
- O'Connor JC, Frame SR and Ladics GS (2002) Evaluation of a 15-day screening assay using intact male rats for identifying steroid biosynthesis inhibitors and thyroid modulators. *Toxicological Sciences*, 69 (1), 79-91.(②1)
- Olsen CM, Meussen-Elholm ET, Røste LS and Taubøll E (2004) Antiepileptic drugs inhibit cell growth in the human breast cancer cell line MCF7. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 213 (2), 173-179.(①1)
- Tanaka K, Kodama S, Yokoyama S, Komatsu M, Konishi H, Momota K and Matsuo T (1987) Thyroid function in children with long-term anticonvulsant treatment. *Pediatric Neuroscience*, 13 (2), 90-94.(④1)
- Theodoropoulos TJ and Zolman JC (1989) Effects of phenobarbital on hypothalamic-pituitary-thyroid axis in the rat. *American Journal of the Medical Sciences*, 297 (4), 224-227.(③1)
- Wani JH, Agrawal AK and Shapiro BH (1996) Neonatal phenobarbital-induced persistent alterations in plasma testosterone profiles and testicular function. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 137 (2), 295-300. (②3)

(11) ペルフルオロオクタン酸

① エストロゲン様作用

- 1) Liu ら(1996a)によって、ペルフルオロオクタン酸 10、50 μ M(=4.1、21mg/L)に 3 日間ばく露された CD ラット精巣ライディッヒ細胞への影響が検討されている。その結果として、10 μ M(=4.1mg/L)以上の濃度において 17 β エストラジオール分泌量の高値が認められた。

② 抗アンドロゲン様作用

- 1) Liu ら(1996a)によって、ペルフルオロオクタン酸 10~10,000 μ M(=4.1~4,140mg/L)に 24

時間ばく露された CD ラット精巣ライディッチ細胞への影響が検討されている。その結果として、50 μ M(=21mg/L)以上の濃度(IC₅₀ 値 18 μ M(=7.5mg/L))においてヒト絨毛性性腺刺激ホルモン誘導性(21 時間後に添加)テストステロン分泌量の低値、100 μ M(=41mg/L)以上の濃度においてテストステロン分泌量の低値が認められた。

③ 抗甲状腺ホルモン様作用

1) Weiss ら(2009)によって、ペルフルオロオクタン酸について、ヒトトランスサイレチンへの結合阻害試験が検討されている。その結果として、ペルフルオロオクタン酸は、IC₅₀ 値 949nM(=0.4mg/L)の濃度においてサイロキシシン 55nM のトランスサイレチン結合を阻害した。

④ 生態影響

1) Oakes ら(2004)によって、ペルフルオロオクタン酸 0.3、1、30、100mg/L に 39 日間ばく露された雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、1mg/L 以上のばく露区で雌雄の血漿中テストステロン濃度の低値、雄血漿中 11-ケトテストステロン濃度の低値、1mg/L のばく露区で雄肝臓相対重量の高値、1、30mg/L のばく露区で雌肝臓中脂肪酸アシル-CoA オキシダーゼ比活性の低値、30mg/L 以上のばく露区で雌血漿 17 β -エストラジオール濃度の低値、初排卵に至るまでの所要日数の遅延、100mg/L のばく露区で雄肝臓中 TBARS(2-チオバルビタル酸反応物質)濃度の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用

2) Wei ら(2007)によって、ペルフルオロオクタン酸 3、10、30mg/L に 9 ヶ月齢から 28 日間ばく露された雌雄レアミノー(*Gobiocypris rarus*)への影響が検討されている。その結果として、3mg/L 以上のばく露区で雌雄の肝臓ビテロゲニン遺伝子発現量の高値、雌肝臓ビテロゲニン濃度の高値、14 日後の雌肝臓エストロゲン受容体 β 遺伝子発現量の高値、3、10mg/L のばく露区で雄肝臓ビテロゲニン濃度の高値、10mg/L 以上のばく露区で 14 日後の雄肝臓エストロゲン受容体 β 遺伝子発現量の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：エストロゲン様作用

3) Tilton ら(2008)によって、ペルフルオロオクタン酸 5、50mg/kg/day を 6 ヶ月間(週 5 日)混餌投与された処置(10 週齢時にアフラトキシン B₁ 0.01ppm への 30 分間ばく露による発がんイニシエーション)ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)稚魚への影響が検討されている。その結果として、5mg/kg/day 以上のばく露群で投与 10 週間後の肝臓絶対重量の高値、50mg/kg/day のばく露群で投与 5 日後の血漿中ビテロゲニン濃度の高値、投与 6 ヶ月後の腫瘍発生率高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：エストロゲン様作用

⑤ 生殖影響

1) Butenhoff ら(2004)によって、ペルフルオロオクタン酸 1、3、10、30mg/kg/day を交配 70 日前から二世代にわたって経口投与された雌雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、3mg/kg/day 以上のばく露群で 109~120 日齢雌 F₁ 下垂体絶対重量の低値、30mg/kg/day

のばく露群で 21 日齢から交配までの雌 F₁ 発情周期回数の高値、雌 F₁ の膈開口日の遅延、雄 F₁ の包皮分離日の遅延が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用

⑥ 雄性生殖影響

1) Liu ら(1996b)によって、ペルフルオロオクタン酸 0.2、2、20、40mg/kg/day を 12 週齢から 14 日間経口投与された雄 CD ラットへの影響が検討されている。その結果として、2mg/kg/day 以上のばく露群で血清中 17 β エストラジオール濃度の高値、肝臓ミクロソーム中アロマターゼ活性の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：エストロゲン様作用

2) Cook ら(1992)によって、ペルフルオロオクタン酸 1、10、25、50mg/kg/day を 13 週齢から 14 日間経口投与された雄 CD ラットへの影響が検討されている。その結果として、10mg/kg/day 以上のばく露群で血清中 17 β エストラジオール濃度の高値、50mg/kg/day のばく露群で付随性腺絶対重量の低値、腹側精囊絶対重量の低値が認められた。

示唆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

3) Biegel ら(2001)によって、ペルフルオロオクタン酸 13.6mg/kg/day を 49 日齢から 21 ヶ月間(一部の試験において 24 ヶ月間)混餌投与された雄 CD ラットへの影響が検討されている。その結果として、肝臓相対重量の高値、肝臓 β 酸化酵素活性の高値、肝臓腺腫発生率の高値、ライディッヒ細胞過形成発生率の高値、ライディッヒ細胞腺腫発生率の高値、すい臓腺房細胞過形成発生率の高値、すい臓腺房細胞腺腫発生率の高値、すい臓細胞増殖係数の高値、24 ヶ月精巣絶対重量の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：アンドロゲン様作用

4) Biegel ら(1995)によって、ペルフルオロオクタン酸 25mg/kg/day を 12~13 週齢から 15 日間経口投与された雄 CD ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中 17 β エストラジオール濃度の高値、精巣間質内液中 17 β エストラジオール濃度の高値、精巣間質内液中形質転換増殖因子 α 濃度の高値、ライディッヒ細胞のヒト絨毛絨毛性腺刺激ホルモン誘導性テストステロン産生能の高値、肝臓アロマターゼ活性の高値、精巣間質内液中テストステロン濃度の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：エストロゲン様作用

⑦ 発達影響

1) White ら(2009)によって、ペルフルオロオクタン酸 5mg/kg/day を妊娠 15 日目から 2 日間経口投与された CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、29、32 日齢雌新生仔の乳腺スコアの低値が認められた。

また、ペルフルオロオクタン酸 3、5mg/kg/day を妊娠 1 日目から 17 日間経口投与された CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、3mg/kg/day 以上のばく露群で 22、42、63 日齢雌新生仔の乳腺スコアの低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用

2) White ら(2007)によって、ペルフルオロオクタン酸 5mg/kg/day を妊娠 12 日目から 6 日間経口投与された CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、20 日齢新生仔体重の低値、20 日齢雌新生仔の乳腺発達スコアの低値、出産 20 日後の母動物乳腺組織中のラクトトランスフェリン遺伝子発現量の低値、出産 10 日後の母動物乳腺組織中の α -ラクトアルブミン遺伝子発現量の低値が認められた。

また、ペルフルオロオクタン酸 5mg/kg/day を妊娠 8 日目から 10 日間経口投与された CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、出産 20 日目の新生仔体重の低値、出産 20 日目の雌新生仔の乳腺発達スコアの低値、出産 10 日目の母動物の乳腺発達スコアの低値、出産 10 日目の母動物乳腺組織中の β -カゼイン上皮細胞増殖因子(EGF)遺伝子発現量の高値、出産 20 日目の母動物乳腺組織中のラクトトランスフェリン遺伝子発現量の低値が認められた。

また、ペルフルオロオクタン酸 5mg/kg/day を妊娠 1 日目から 17 日間経口投与された CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、出産 20 日目の新生仔体重の低値、出産 20 日目の雌新生仔の乳腺発達スコアの低値、出産 10 日目の母動物の乳腺発達スコアの低値、出産 10 日目の母動物乳腺組織中の上皮細胞増殖因子(EGF)遺伝子発現量の高値、出産 20 日目の母動物乳腺組織中のラクトトランスフェリン遺伝子発現量の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用

3) Lau ら(2006)によって、ペルフルオロオクタン酸 1、3、5、10、20、40mg/kg/day を妊娠 1 日目から 17 日間経口投与された CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、1mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓絶対重量の高値、胎仔頭蓋冠骨の骨化度低下発生率の高値、胎仔の前頭骨拡張発生率の高値、胎仔の前肢基節骨の骨化部位数の低値、胎仔の後肢基節骨の骨化部位数の低値、雄新生仔の包皮分離日の遅延、3mg/kg/day 以上のばく露群で出産日の遅延、25 日齢新生仔の体重の低値、5mg/kg/day 以上のばく露群で全胚吸収発生率の高値、胎仔の尾部欠損発生率の高値、胎仔の肢部欠損発生率の高値、9 日齢新生仔の生存率の低値、新生仔の眼瞼開口日の遅延、雌新生仔の性周期開始日の遅延、10mg/kg/day 以上のばく露群で胎仔上後頭骨の骨化度低下発生率の高値、胎仔の小心症発生率の高値、20mg/kg/day 以上のばく露群で胎仔体重の低値、同腹生存胎仔数の低値、胸骨分節(胎仔の尾椎、中手骨、中足骨)の骨化部位数の低値、同腹生存胎仔の出産前死亡率の高値、舌骨非骨化発生率の高値、雌新生仔の膈開口日の遅延が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

⑧ 甲状腺影響

1) Butenhoff ら(2002)によって、ペルフルオロオクタン酸 3、10、20~30mg/kg/day を 3~9 年齢から 182 日間経口投与された雄カニクイザルへの影響が検討されている。その結果として、3mg/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、肝臓絶対重量の高値、3mg/kg/day のばく露群で肝臓中グルコース-6-ホスファターゼ比活性の低値、10mg/kg/day 以上のばく露群で血清中遊離サイロキシン濃度の低値、20~30mg/kg/day のばく露群で血清中総トリヨードサイロニン濃度の低値、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度の低値、肝臓中 DNA 濃度の低値、肝臓相対重量の高値、血液中トリグリセリド濃度の高値、肝臓中コハク酸デヒドロゲ

ナーゼシアン非感受性パルミトイル CoA 酸化酵素比活性の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

2) Martin ら(2007)によって、ペルフルオロオクタン酸 20mg/kg/day を 11 週齢から 5 日間経口投与された雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中コレステロール濃度の低値、血清中テストステロン濃度の低値、血清中総サイロキシニン濃度の低値、血清中総トリヨードサイロニン濃度の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、抗甲状腺ホルモン様作用

⑨ 疫学的調査

1) Joensen ら(2009)によって、ペルフルオロオクタン酸について、デンマークにて 2003 年にかけて一般集団から徴兵登録された男性(平均年齢 19 歳、105 名)への影響が検討されている。その結果として、血清中ペルフルオロアルキル化合物(ペルフルオロオクタン酸+ペルフルオロオクタンスルホン酸)濃度の高四分位群には低四分位群との比較において正常形態精子率の有意な低値($p < 0.037$)、総正常形態精子数の有意な低値($p < 0.030$)が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

参考文献

- Biegel LB, Liu RC, Hurtt ME and Cook JC (1995) Effects of ammonium perfluorooctanoate on Leydig cell function: *In vitro*, *in vivo*, and *ex vivo* studies. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 134 (1), 18-25. (⑥4))
- Biegel LB, Hurtt ME, Frame SR, O'Connor JC and Cook JC (2001) Mechanisms of extrahepatic tumor induction by peroxisome proliferators in male CD rats. *Toxicological Sciences*, 60 (1), 44-55. (⑥3))
- Butenhoff J, Costa G, Elcombe C, Farrar D, Hansen K, Iwai H, Jung R, Kennedy G Jr, Lieder P, Olsen G and Thomford P (2002) Toxicity of ammonium perfluorooctanoate in male cynomolgus monkeys after oral dosing for 6 months. *Toxicological Sciences*, 69 (1), 244-257. (⑧1))
- Butenhoff JL, Kennedy GL Jr, Frame SR, O'Connor JC and York RG (2004) The reproductive toxicology of ammonium perfluorooctanoate (APFO) in the rat. *Toxicology*, 196 (1-2), 95-116. (⑤1))
- Cook JC, Murray SM, Frame SR and Hurtt ME (1992) Induction of Leydig cell adenomas by ammonium perfluorooctanoate: A possible endocrine-related mechanism. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 113 (2), 209-217. (⑥2))
- Joensen UN, Bossi R, Leffers H, Jensen AA, Skakkebaek NE and Jørgensen N (2009) Do perfluoroalkyl compounds impair human semen quality? *Environmental Health Perspectives*, 117 (6), 923-927. (⑨1))
- Lau C, Thibodeaux JR, Hanson RG, Narotsky MG, Rogers JM, Lindstrom AB and Strynar MJ (2006) Effects of perfluorooctanoic acid exposure during pregnancy in the mouse. *Toxicological Sciences*, 90 (2), 510-518. (⑦3))
- Liu RC, Hahn C and Hurtt ME (1996a) The direct effect of hepatic peroxisome proliferators on rat

- Leydig cell function *in vitro*. *Fundamental and Applied Toxicology*, 30 (1), 102-108. (①1)、②1))
- Liu RC, Hurtt ME, Cook JC and Biegel LB (1996b) Effect of the peroxisome proliferator, ammonium perfluorooctanoate (C8), on hepatic aromatase activity in adult male Crl:CD BR (CD) rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 30 (2), 220-228. (⑥1))
- Martin MT, Brennan RJ, Hu W, Ayanoglu E, Lau C, Ren H, Wood CR, Corton JC, Kavlock RJ and Dix DJ (2007) Toxicogenomic study of triazole fungicides and perfluoroalkyl acids in rat livers predicts toxicity and categorizes chemicals based on mechanisms of toxicity. *Toxicological Sciences*, 97 (2), 595-613. (⑧2))
- Oakes KD, Sibley PK, Solomon KR, Mabury SA and Van der Kraak GJ (2004) Impact of perfluorooctanoic acid on fathead minnow (*Pimephales promelas*) fatty acyl-CoA oxidase activity, circulating steroids, and reproduction in outdoor microcosms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23 (8), 1912-1919. (④1))
- Tilton SC, Orner GA, Benninghoff AD, Carpenter HM, Hendricks JD, Pereira CB and Williams DE (2008) Genomic profiling reveals an alternate mechanism for hepatic tumor promotion by perfluorooctanoic acid in rainbow trout. *Environmental Health Perspectives*, 116 (8), 1047-1055. (④3))
- Wei Y, Dai J, Liu M, Wang J, Xu M, Zha J and Wang Z (2007) Estrogen-like properties of perfluorooctanoic acid as revealed by expressing hepatic estrogen-responsive genes in rare minnows (*Gobiocypris rarus*). *Environmental and Toxicological Chemistry*, 26 (11), 2440-2447. (④2))
- Weiss JM, Andersson PL, Lamoree MH, Leonards PE, van Leeuwen SP and Hamers T (2009) Competitive binding of poly- and perfluorinated compounds to the thyroid hormone transport protein transthyretin. *Toxicological Sciences*, 109 (2), 206-216. (③1))
- White SS, Calafat AM, Kuklanyik Z, Villanueva L, Zehr RD, Helfant L, Strynar MJ, Lindstrom AB, Thibodeaux JR, Wood C and Fenton SE (2007) Gestational PFOA exposure of mice is associated with altered mammary gland development in dams and female offspring. *Toxicological Sciences*, 96 (1), 133-144. (⑦2))
- White SS, Kato K, Jia LT, Basden BJ, Calafat AM, Hines EP, Stanko JP, Wolf CJ, Abbott BD and Fenton SE (2009) Effects of perfluorooctanoic acid on mouse mammary gland development and differentiation resulting from cross-foster and restricted gestational exposures. *Reproductive Toxicology*, 27 (3-4), 289-298. (⑦1))