

第 1 段階試験管内試験の実施について

1. 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。

2. 「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（第3回及び第4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12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、詳細は添付資料参照）

(2) これら12物質及び平成24年度に実施するとしていた2物質の合計14物質を対象とし、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1物質：計1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（抗甲状腺ホルモン作用）

1物質：2,4,6-トリブロモフェノール

② 信頼性評価第2回において対象とした1物質：計6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：フェノバルビタール

*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）

1物質：フェノバルビタール

*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）

1物質：フェノバルビタール

*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（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）

1物質：フェノバルビタール

③ 信頼性評価第3回において対象とした7物質：計20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：アラクロール、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸、テトラブロモビスフェノール A、りん酸トリフェニル

*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)

3物質：2,4-ジクロロフェノキシ酢酸、テトラブロモビスフェノール A、モリネート

*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)

4物質：アクリルアミド、ナフタレン、モリネート、モリネート

*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：アクリルアミド、アラクロール、テトラブロモビスフェノール A、りん酸トリフェニル

*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 (甲状腺ホルモン作用)

2物質：アラクロール、テトラブロモビスフェノール A

*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)

3物質：アラクロール、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸、テトラブロモビスフェノール A

④ 信頼性評価第4回において対象とした5物質：計17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)

5物質：アトラジン、2,6-ジ-*tert*-ブチル-4-メチルフェノール、1-ナフトール、4-*tert*-ペンチルフェノール、メソミル

*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)

2物質：アトラジン、メソミル

*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)

1物質：アトラジン

*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)

5物質：アトラジン、2,6-ジ-*tert*-ブチル-4-メチルフェノール、1-ナフトール、4-*tert*-ペンチルフェノール、メソミル

*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 (甲状腺ホルモン作用)

1物質：アトラジン

*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)

2物質：アトラジン、1-ナフトール

*ミジンコ脱皮ホルモン受容体レポーター遺伝子試験（脱皮ホルモン作用）
1 物質：アトラジン

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3回							
アクリルアミド	—	—	(○P)	(○P)	—	—	—
アラクロール	◎P ◎N (○P)	◎N	—	(○P)	(○P)	(○P)	—
2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D)	◎N ○P (○N)	◎N	◎P ◎N (○P)	—	—	◎P (○P)	—
テトラブロモビスフェノー ル A	◎P ◎N (○P) (○N)	◎P ◎N	◎N	◎N (○P)	◎P ◎N (○P)	◎P (○P)	—
ナフタレン	◎N	◎N	(○P)	—	—	—	—
モリネート	—	(○P)	(○P)	(○P) (○N)	—	—	—
りん酸トリフェニル	(○P)	—	—	(○P)	—	—	—
信頼性評価第4回							
アトラジン	◎N (○P)	◎P ◎N ○P (○P)	◎P (○P)	◎P (○P) (○N)	(○P)	(○P)	(○P)
2,6-ジ- <i>tert</i> -ブチル-4-メチル フェノール(BHT)	◎P	◎N	—	◎P	—	—	—
1-ナフトール	(○P)	—	—	(○P)	◎N (○N)	◎P	—
4- <i>tert</i> -ペンチルフェノール	◎P ○P (○P)	◎N	—	(○P)	—	—	—
メソミル	◎P ◎N	◎P ◎N	—	◎N (○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							
2,4,6-トリブロモフェノール	■N	ND	—	—	—	○	—
信頼性評価第2回							
フェノバルビタール	○	○	○	○	○	○	—
信頼性評価第3回							
アクリルアミド	—	—	○	○	—	—	—
アラクロール	○	■N	—	○	○	○	—
2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-D)	○	■N	○	—	—	○	—
テトラブロモビスフェノールA	○	○	■N	○	○	○	—
ナフタレン	■N	■N	○	—	—	—	—
モリネート	—	○	○	○	—	—	—
りん酸トリフェニル	○	—	—	○	—	—	—
信頼性評価第4回							
アトラジン	○	○	○	○	○	○	○
2,6-ジ- <i>tert</i> -ブチル-4-メチルフェノール(BHT)	○	■N	—	○	—	—	—
1-ナフトール	○	—	—	○	■N	○	—
4- <i>tert</i> -ペンチルフェノール	○	■N	—	○	—	—	—
メソミル	○	○	—	○	—	—	—
合計44試験	10	5	6	11	4	7	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。

「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3回（平成22及び23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）アクリルアミド

- ・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、アンド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。

（2）アラクロール

- ・エストロゲン作用については、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。
- ・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。
- ・抗エストロゲン作用については、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。
- ・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または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し、どちらの作用であるかを確認する。

（3）2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-D)

- ・エストロゲン作用については、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、作用が認められなかった知見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。
- ・アンドロゲン作用については、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、疫学的調査結果から、アンドロゲン様作用が類推される知見が得られている。
- ・抗甲状腺ホルモン作用については、試験管内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、抗甲状腺ホルモン様作用が認められた知見が得られている。

(4) テトラプロモビスフェノール A

- ・エストロゲン作用については、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または抗アンドロゲン様作用が類推された知見が得られている。また、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が認められなかった知見が得られている。
- ・抗エストロゲン作用については、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。
- ・アンドロゲン作用については、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。
- ・抗アンドロゲン作用については、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が、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。
- ・甲状腺ホルモン作用については、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、甲状腺ホルモン様作用が認められた知見が得られている。
- ・抗甲状腺ホルモン作用については、試験管内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、抗甲状腺ホルモン様作用が認められた知見が得られている。

(5) ナフタレン

- ・エストロゲン作用及び抗エストロゲン作用については、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。
・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。

(6) モリネート

- ・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。
- ・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。なお、疫学的調査結果から、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。

(7) リン酸トリフェニル

- ・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。

2. 表1及び表2の作成の根拠とした報告

(1) アクリルアミド

① 生殖への影響

1) Wangら(2010)によって、アクリルアミド5、10mg/kg/dayを8週間連続経口投与した21日齢雄SDラットへの影響が検討されている。その結果として、10mg/kg/dayのばく露群で投与期間中の精巣上部尾部中精子数の低値、精細管中ライディッチ細胞数の高値、血清中テストステロン濃度の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用

2) Wooら(2007)によって、アクリルアミド21.5mg/kg/dayを5週間連続飲水投与した6週齢雄SDラットへの影響が検討されている。その結果として、摂餌量の低値、体重の低値、脳絶対重量の低値、肝臓絶対重量の低値、精巣相対重量の低値、脳相対重量の高値、精巣上部絶対重量の高値、坐骨神経の軸索変性重篤度(スコア、軸索変性率、軸索ミエリン化率)の高値、三叉神経の神経節細胞における中心性色質融解の重篤度スコアの高値、精巣障害の重篤度(生殖細胞剥離重篤度スコア、精細管変性率)の高値、精巣上部障害の重篤度(精巣上部管での細胞残片スコア)の高値、小脳のシナプトフィジン異常発現スコア(免疫抗体法で斑点として検出)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

3) Zenickら(1986)によって、アクリルアミド25、50、100ppm(飲水中濃度)を交配2週間前(80～90週齢)から妊娠、出産、離乳まで連続飲水投与した雌LEラットへの影響が検討されている。その結果として、50ppm以上のばく露群で14日齢雄新生仔体重の低値、21日齢雌新生仔体重の低値が認められたが、妊娠率、1日齢同腹新生仔数、1及び21日齢新生仔生存率には影響が認められ

なかった。

また、アクリルアミド 50、100ppm(飲水中濃度)を 13 週齢以上から最長 10 週間連続飲水投与した雄 LE ラットへの影響が検討されている。その結果として、投与期間中(投与開始 9 週間後)の交尾行動試験において、100ppm のばく露群で射精液中精子数の低値、マウント回数の高値、挿入回数の高値が認められた。投与終了後の非ばく露雌との交配試験において、100ppm のばく露群で妊孕率の低値、着床後胚消失率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、抗アンドロゲン様作用

4) Sakamoto と Hashimoto(1986)によって、アクリルアミド 0.3、0.6、0.9、1.2mM(=66、133、199、265mg/L 飲水中濃度)を 4 週間連続飲水投与した雄 ddY マウスへの影響が検討されている。その結果として、投与終了後の非ばく露雌との交配試験において、0.6 及び 0.9mM(=133 及び 199mg/L)のばく露群で精巣上体中精子数の高値(ただし、1.2mM(=265mg/L)群では低値)、0.9mM(=199mg/L)以上のばく露群で同腹胎仔数の低値が認められた。1.2mM(=265mg/L)のばく露群で妊孕率の低値、同腹吸収胚数の高値、形態異常精子率の高値が認められた。

また、アクリルアミド 1.2mM(=265mg/L 飲水中濃度)を 4 週間連続飲水投与した雄 ddY マウスへの影響が検討されている。その結果として、投与終了後の非ばく露雌との交配試験において、出産率の低値、同腹新生仔数の低値が認められた。

また、アクリルアミド飲水中濃度 1.2mM(=265mg/L)を 4 週間連続飲水投与した雌 ddY マウスへの影響が検討されている。その結果として、投与終了後の非ばく露雄との交配試験において、同腹吸収胚数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、抗アンドロゲン様作用

参考文献

Wang H, Huang P, Lie T, Li J, Hutz RJ, Li K and Shi F (2010) Reproductive toxicity of acrylamide-treated male rats. *Reproductive Toxicology*, 29 (2), 225-230.(①本文中の作用の区分 1)報告の番号を示す。以下同じ。)

Woo GH, Shibutani M, Kuroiwa K, Lee KY, Takahashi M, Inoue K, Fujimoto H and Hirose M (2007) Lack of preventive effects of dietary fibers or chlorophyllin against acrylamide toxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 45 (8), 1507-1515.(①2))

Zenick H, Hope E and Smith MK (1986) Reproductive toxicity associated with acrylamide treatment in male and female rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 17 (4), 457-472.(①3))

Sakamoto J and Hashimoto K (1986) Reproductive toxicity of acrylamide and related compounds in mice effects on fertility and sperm morphology. *Archives of Toxicology*, 59 (4), 201-205.(①4))

(2) アラクロール

① エストロゲン作用

1) Burow ら(1999)によって、アラクロール $1\mu\text{M}(=270\mu\text{g/L})$ に 18 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、アラクロールは、ルシフェラーゼの発現を誘導した。また、この発現誘導は抗エストロゲン剤 ICI 182780 100nM によって阻害された。

また、アラクロール $1\mu\text{M}(=270\mu\text{g/L})$ に 5 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、アラクロールは、エストロゲン応答性 Bcl-2 の発現を誘導した。また、この発現誘導は ICI 182780 100nM によって阻害された。

2) Klotz ら(1996)によって、アラクロール 0.1、1、 $10\mu\text{M}(=27、270、2,698\mu\text{g/L})$ に over night ばく露した酵母 BJ2407 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、アラクロールは、 $1\mu\text{M}(=270\mu\text{g/L})$ 以上の濃度で β ガラクトシダーゼの発現を誘導した。

また、アラクロール $1\mu\text{M}(=270\mu\text{g/L})$ に 18 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、アラクロールは、ルシフェラーゼの発現を誘導した。また、この発現誘導は 5-ヒドロキシタモキシフェン(濃度不明)によって阻害された。

3) Petit ら(1997)によって、アラクロール $100\mu\text{M}(=27\text{mg/L})$ までの濃度に 4 時間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ(プロモータ領域にニジマス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)が検討されているが、アラクロールは、 β ガラクトシダーゼの発現を誘導しなかった。

また、アラクロール $100\mu\text{M}(=27\text{mg/L})$ までの濃度に 48 時間ばく露した雄ニジマス肝臓細胞によるビテロゲニンアッセイが検討されているが、アラクロールは、ビテロゲニン発現を誘導しなかった。

② 抗エストロゲン作用

1) Petit ら(1997)によって、アラクロールについて、ニジマス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が、アラクロールは、 $100\mu\text{M}(=27\text{mg/L})$ までの濃度においても 17β エストラジオール 20nM による結合を阻害しなかった。

③ 生態影響

1) Yi ら(2007)によって、アラクロール 1、4、16、63、250、 $500\mu\text{g/L}$ (設定値)に 60 日間ばく露した幼若雄キンギョ (*Carassius auratus*)への影響が検討されている。その結果として、 $1\mu\text{g/L}$ 以上のば

く露区で生殖腺指数の低値、血漿中テストステロン濃度の低値、血漿中 17β -エストラジオール濃度の高値、1、4、16、63、500 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で肝臓中グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ活性の高値(250 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で低値)、1 $\mu\text{g/L}$ のばく露区のみで肝臓中 UDP グルクロノシルトランスフェラーゼ活性の高値(4、16、63、250、500 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で低値)、4、16、250、500 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で肝臓指数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、エストロゲン様作用

④ 甲状腺影響

1) Wilson ら(1996)によって、アラクロール 126mg/kg/day を 28 日間混餌投与した雄 LE ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中サイロキシン濃度の低値、肝臓絶対重量の高値、肝臓中 UDP グルクロニルトランスフェラーゼ活性の高値、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、びまん性甲状腺濾胞細胞肥大発生率の高値が認められたが、甲状腺絶対重量、血清中トリヨードサイロニン濃度には影響は認められなかった。

示唆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

参考文献

Burow ME, Tang Y, Collins-Burow BM, Krajewski S, Reed JC, McLachlan JA and Beckman BS (1999) Effects of environmental estrogens on tumor necrosis factor alpha-mediated apoptosis in MCF-7 cells. *Carcinogenesis*, 20 (11), 2057-2061.(①1))

Klotz DM, Beckman BS, Hill SM, McLachlan JA, Walters MR and Arnold SF (1996) Identification of environmental chemicals with estrogenic activity using a combination of *in vitro* assays. *Environmental Health Perspectives*, 104 (10), 1084-1089.(①2))

Petit F, Le Goff P, Cravedi JP, Valotaire Y and Pakdel F (1997) Two complementary bioassays for screening the estrogenic potency of xenobiotics: Recombinant yeast for trout estrogen receptor and trout hepatocyte cultures. *Journal of Molecular Endocrinology*, 19 (3), 321-335.(①3)、②1))

Yi XH, Liu HH, Lu YT, Tao J, Ding H, Zhang M and Jiang W (2007) Altered serum levels of sex steroids and biotransformation enzyme activities by long-term alachlor exposure in crucian carp (*Carassius auratus*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 79 (3), 283-287.(③1))

Wilson AG, Thake DC, Heydens WE, Brewster DW and Hotz KJ (1996) Mode of action of thyroid tumor formation in the male Long-Evans rat administered high doses of alachlor. *Fundamental and Applied Toxicology*, 33 (1), 16-23.(④1))

(3) 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-D)

① エストロゲン作用

1) Lin と Garry(2000)によって、2,4-D 100~10,000 μ M(=22.1~2,210mg/L)に 7 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、2,4-D は、細胞増殖を誘導しなかった。

2) Petit ら(1997)によって、2,4-D 0.01~100 μ M(=2.2~22,104 μ g/L)に 4 時間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ(プロモータ領域にニジマス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、2,4-D は、 β ガラクトシダーゼの発現を誘導しなかった。

また、2,4-D 0.01~100 μ M(=2.2~22,104 μ g/L)に 48 時間ばく露した雄ニジマス肝臓細胞によるビテロゲニンアッセイが検討されている。その結果として、2,4-D は、ビテロゲニンの発現を誘導しなかった。

② 抗エストロゲン作用

1) Petit ら(1997)によって、ニジマスエストロゲン受容体を用いた結合阻害試験(17 β エストラジオール 20nM 共存下)が検討されている。その結果として、2,4-D は、100 μ M(=22,104 μ g/L)までの濃度においても結合を阻害しなかった。

③ アンドロゲン作用

1) Kim ら(2005)によって、2,4-D 0.0000001~10 μ M(=0.000022~2,210 μ g/L)に 24 時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 22Rv1 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、2,4-D は、0.01 及び 0.1 μ M(=2.2 及び 22.1 μ g/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、2,4-D 0.0000001~10 μ M(=0.000022~2,210 μ g/L)に 24 時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 22Rv1 による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、2,4-D は、細胞増殖を誘導しなかった。

また、ヒトアンドロゲン受容体を用いた結合阻害試験(ジヒドロテストステロン 5nM 共存下)が検討されている。その結果として、2,4-D は、IC₅₀ 値約 0.5 μ M(=111 μ g/L)の濃度において結合を阻害した。

また、2,4-D 0.0000001~10 μ M(=0.000022~2,210 μ g/L)に 24 時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 22Rv1 による細胞増殖阻害試験(ジヒドロテストステロン 10nM 共存下)が検討されている。その結果として、2,4-D は、細胞増殖阻害を誘導しなかった。

④ 抗甲状腺ホルモン作用

1) van den Berg ら(1991)によって、2,4-D について、ヒトトランスサイレチンを用いた結合阻害試験(非標識サイロキシンの IC₅₀ 値 0.04μM が検出可能な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、2,4-D は、IC_{71~100} 値 100μM(=22,104μg/L)の濃度において結合を阻害した。

⑤ 生態影響

1) Xie ら(2005)によって、2,4-D 1.64、16.4、164、1,640μg/L(設定値)に 7 日間ばく露した幼若ニジマス(*Oncorhynchus mykiss* とと思われる)への影響が検討されている。その結果として、164μg/L 以上のばく露区で血漿中ピテログ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

2) Crain ら(1999)によって、2,4-D 0.014、0.14、1.4、14ppm(胚中濃度)を単回投与した 21 期胚(性分化期に相当)ミシシッピワニ(*Alligator mississippiensis*)への影響が検討されている。その結果として、孵化温度 33°C(100%の性比で雄として孵化する温度)においても 30°C(100%の性比で雌として孵化する温度)においても、10 日齢の性索直径、性比、ミューラー管円柱上皮細胞の高さ、髄質縮退度、肝臓中アロマターゼ活性、性腺-副腎-中腎複合体中のアロマターゼ活性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：視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用

⑥ 発達影響

1) Stürtz ら(2008)によって、2,4-D 15、25、50mg/kg/day を出産後 1 日目から 7 日目まで連続混餌投与した 3 ヶ月齢雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、15mg/kg/day 以上のばく露群で血清中プロラクチン濃度の低値、脳中セロトニン濃度の低値、脳中 5-ヒドロキシインドール酢酸濃度の低値、仔動物をなめる行動(licking) 示す個体率の低値、仔動物の肛門性腺突起間部位をなめる行動(licking) 示す個体率の低値、巢中に戻された仔動物数の低値、脳中ホモバニリン酸濃度の高値、仔動物取り戻し行動(retrieval) 潜時及び所要時間の高値、巢を離れる行動を示す個体率及び巢外滞在時間の高値、うずくまり行動(crouching) 潜時の高値が認められた。25mg/kg/day 以上のばく露群で脳中ドーパミン濃度の高値、脳中 3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸濃度の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：視床下部-下垂体-隆起漏斗部への作用

2) Bortolozzi ら(2003)によって、2,4-D 70mg/kg/day を妊娠 16 日目から出産後 23 日目まで雌 Wistar ラットに連続混餌投与、更に離乳後から 90 日齢まで混餌投与した雌雄仔動物の脳内生体アミン濃度への影響が検討されている。その結果として、雌雄の前頭前皮質中ドーパミン濃度の低値、3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸濃度の低値、ホモバニリン酸濃度の低値、セロトニン濃度の高値、雄の線条体中セロトニン濃度の高値、5-ヒドロキシインドール-3-酢酸濃度の高値、雌の線条体中ドーパミン濃度の高値、3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸濃度の高値、セロトニン濃度の高値、5-ヒドロキシインドール-3-酢酸濃度の高値、雄の中脳(黒質と腹側被蓋野を除く)の 3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸濃度の低値、セロトニン濃度の高値、雌の中脳(黒質と腹側被蓋野を除く)中ドーパミン濃度の

低値、3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸濃度の低値、セロトニン濃度の高値、5-ヒドロキシインドール-3-酢酸濃度の高値、雌雄の腹側被蓋野中ドーパミン濃度の低値、3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸濃度の低値、ホモバニリン酸濃度の低値、雌雄の小脳ノルアドレナリン濃度の低値、ドーパミン濃度の低値、3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸濃度の低値、セロトニン濃度の高値、雌雄の側坐核中3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸濃度の高値、ホモバニリン酸濃度の高値、雌雄の黒質中ノルアドレナリン濃度の高値、ドーパミン濃度の高値、セロト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：ペプチドホルモン作用

⑦ 甲状腺影響

1) Charles ら(1996)によって、2,4-D 1、15、100、300mg/kg/day を13週間連続混餌投与した雄 F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、15mg/kg/day 以上のばく露群で腎臓相対重量の高値、100mg/kg/day 以上のばく露群で体重の低値、血清中サイロキシン濃度の低値、血小板濃度の低値、肝臓相対重量の高値、甲状腺相対重量の高値、300mg/kg/day のばく露群で精巣相対重量の低値、血清中トリヨードサイロニン濃度の低値、赤血球濃度の低値、ヘモグロビン濃度の低値、副腎皮質肥大個体発生率の高値、肝中葉細胞腫大個体発生率の高値が認められた。

また、2,4-D 1、15、100、300mg/kg/day を13週間連続混餌投与した雌 F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で腎臓相対重量の高値、副腎皮質が肥大した個体発生率の高値、血清中サイロキシン濃度の低値、トリヨードサイロニン濃度の低値、血小板濃度の低値、300mg/kg/day のばく露群で体重の低値、赤血球濃度の低値、ヘモグロビン濃度の低値、肝臓相対重量の高値、甲状腺相対重量の高値、肝中葉細胞腫大個体発生率の高値、白内障個体発生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) Rawlings ら(1998)によって、2,4-D 10mg/kg/day を週3回43日間経口投与した1~4年雌 Polypay ヤギ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が認められたが、血清中黄体形成ホルモン、インシュリン及びコルチゾール濃度、卵管内上皮嚢胞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：抗甲状腺ホルモン様作用

⑧ 疫学的調査

1) Garry ら(2001)によって、2,4-D について、米国 Minnesota 州にて(実施年記載なし)ばく露群(4月15日から7月15日にかけて年間5日以上散布作業に従事した男性24名、平均年齢 39.1 ± 2.9 歳)及び非ばく露群(散布作業に従事していない男性15名、平均年齢 42.1 ± 2.3 歳)の尿中ホルモン濃度への影響が検討されている。その結果として、ばく露群の散布期尿中2,4-D濃度には、散布期の血中黄体形成ホルモン濃度、非散布期の血中総テストステロン濃度、Tリンパ球のV(D)J転位複数回発生率とに正の関連性が認められた。

示唆される作用メカニズム：視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用

2) Schreinemachers(2010)によって、2,4-D について、米国 Minnesota 州、Montana 州、North Dakota

州、South Dakota 州にて 1988 年から 1994 年にかけて健常者(うつ血性疾患、心臓発作、糖尿病、甲状腺疾患、紅斑性狼瘡、がんの病歴者を除く男女 727 名、年齢 20~59 歳。このうち、尿中 2,4-D 検出者 102 名、平均年齢 34.7 歳。尿中 2,4-D 不検出者 625 名、平均年齢 35.6 歳)への影響が検討されている。その結果として、2,4-D ばく露(尿中 2,4-D の検出)には、血清中 HDL コレステロール濃度とに負の関連性、血清中サイロキシン濃度とに負の相関性、尿中クレアチニン濃度とに正の関連性が認められた。

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

- Lin N and Garry VF (2000) *In vitro* studies of cellular and molecular developmental toxicity of adjuvants, herbicides, and fungicides commonly used in Red River Valley, Minnesota. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 60 (6), 423-439.(①1)
- Petit F, P Le Goff, JP Cravedi, Y Valotaire and F Pakdel (1997) Two complementary bioassays for screening the estrogenic potency of xenobiotics: Recombinant yeast for trout estrogen receptor and trout hepatocyte cultures. *Journal of Molecular Endocrinology*, 19 (3), 321-335.(①2)、②1)
- Kim HJ, Park YI and Dong MS (2005) Effects of 2,4-D and DCP on the DHT-induced androgenic action in human prostate cancer cells. *Toxicological Sciences*, 88 (1), 52-59.(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)
- Xie L, Thrippleton K, Irwin MA, Siemering GS, Mekebri A, Crane D, Berry K and Schlenk D (2005) Evaluation of estrogenic activities of aquatic herbicides and surfactants using an rainbow trout vitellogenin assay. *Toxicological Sciences*, 391-398.(⑤1)
- Crain DA, Spiteri ID and Guillette LJ Jr (1999) The functional and structural observations of the neonatal reproductive system of alligators exposed *in ovo* to atrazine, 2,4-D, or estradiol. *Toxicology and Industrial Health*, 15 (1-2), 180-185.(⑤2)
- Stürtz N, Deis RP, Jahn GA, Duffard R and Evangelista de Duffard AM (2008) Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on rat maternal behavior. *Toxicology*, 247 (2-3), 73-79.(⑥1)
- Bortolozzi A, Duffard R and de Duffard AM (2003) Asymmetrical development of the monoamine systems in 2,4-dichlorophenoxyacetic acid treated rats. *Neurotoxicology*, 24 (1), 149-157.(⑥2)

Charles JM, Cunny HC, Wilson RD and Bus JS (1996) Comparative subchronic studies on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, amine, and ester in rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 33 (2), 161-165.(⑦1))

Rawlings NC, Cook SJ and Waldbillig D (1998) Effects of the pesticides carbofuran, chlorpyrifos, dimethoate, lindane, triallate, trifluralin, 2,4-D, and pentachlorophenol on the metabolic endocrine and reproductive endocrine system in ewes. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 54 (1), 21-36.(⑦2))

Garry VF, Tarone RE, Kirsch IR, Abdallah JM, Lombardi DP, Long LK, Burroughs BL, Barr DB and Kesner JS (2001) Biomarker correlations of urinary 2,4-D levels in foresters: genomic instability and endocrine disruption. *Environ Health Perspectives*, 109 (5), 495-500.(⑧1))

Schreinemachers DM (2010) Perturbation of lipids and glucose metabolism associated with previous 2,4-D exposure: a cross-sectional study of NHANES III data, 1988-1994. *Environmental Health*, 9:11.(⑧2))

(4) テトラブロモビスフェノール A

① エストロゲン作用

1) Kitamura ら(2005a)によって、テトラブロモビスフェノール A 20、100、300、500mg/kg/day を 8 週齢から 3 日間腹腔内投与した処置(4 週齢時に卵巣摘出)雌 B6C3F1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、20mg/kg/day 以上のばく露群で子宮相対重量の高値が認められた。

また、テトラブロモビスフェノール A 0.001、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.54、5.4、54、544、5,439 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、テトラブロモビスフェノール A は、1 μ M(=544 μ g/L)以上の濃度において、また EC₅₀ 値 19 μ M(=10,334 μ g/L)の濃度においてルシフェラーゼの発現を誘導した。

2) Kitamura ら(2002)によって、テトラブロモビスフェノール A 0.1、1、10、100 μ M(=54、544、5,439、54,388 μ g/L)に 1 週間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 MtT/E-2 への影響が検討されている。その結果として、テトラブロモビスフェノール A は、1 μ M(=544 μ g/L)以上の濃度において細胞増殖を誘導した。

3) Körner ら(1998)によって、1~50 μ M(=545~27,194 μ g/L)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、テトラブロモビスフェノール A は、20 μ M(=10.9mg/L)の濃度においてルシフェラーゼの発現を誘導した。

- 4) Olsen ら(2003)によって、テトラブロモビスフェノール A 0.1~30 μ M(=54~16,316 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が検討されている。その結果として、テトラブロモビスフェノール A は、EC₅₀ 値 25 μ M(=13.6mg/L)の濃度において細胞増殖を誘導した。
また、テトラブロモビスフェノール A 30 μ M(=16.3mg/L)に 3 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 のエストロゲン誘導性蛋白質発現量への影響が検討されている。その結果として、テトラブロモビスフェノール A は、pS2 蛋白質及びプロゲステロン受容体の発現を誘導した。
- 5) Hamers ら(2006)によって、テトラブロモビスフェノール A 12.5 μ M(=6.8mg/L)までの濃度に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D によるレポーターアッセイ(プロモータ領域に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)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現を誘導しなかった。
- 6) Li ら(2010)によって、テトラブロモビスフェノール A 100 μ M(=54mg/L) までの濃度に 2 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)が検討されているが、テトラブロモビスフェノール A は、 β ガラクトシダーゼの発現を誘導しなかった。

② 抗エストロゲン作用

- 1) Kitamura ら(2005a)によって、テトラブロモビスフェノール A 0.1、1、10 μ M(=54、544、5,439 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、テトラブロモビスフェノール A は、10 μ M(=5,439 μ g/L)の濃度において 17 β エストラジオール 0.1nM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害した。
- 2) Kitamura ら(2002)によって、テトラブロモビスフェノール A について、エストロゲン感受性ラット下垂体腫瘍細胞 MtT/E-2 サイトゾル中の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、テトラブロモビスフェノール A は、IC₅₀ 値約 10 μ M(=5.4mg/L)の濃度において 17 β エストラジオール 0.5nM による結合を阻害した。
- 3) Hamers ら(2006)によって、テトラブロモビスフェノール A 12.5 μ M(=6.8mg/L)までの濃度に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D によるレポーターアッセイ(プロモータ領域に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)が検討されているが、テトラブロモビスフェノール A は、17 β エストラジオール 6pM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害しなかった。
- 4) Li ら(2010)によって、テトラブロモビスフェノール A 100 μ M(=54mg/L) までの濃度に 2 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)が検討されているが、テトラブロモビスフェノール A は、17 β エストラジオール 0.2nM による β ガラクトシダーゼ発現誘導を阻害しなかった。

③ アンドロゲン作用

1) Li ら(2010)によって、テトラブロモビスフェノール A 100 μ M(=54mg/L) までの濃度に 2 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)が検討されているが、テトラブロモビスフェノール A は、 β ガラクトシダーゼ発現を誘導しなかった。

④ 抗アンドロゲン作用

1) Kitamura ら(2005a)によって、テトラブロモビスフェノール A 10 μ M(=5.4mg/L)までの濃度に 24 時間ばく露したマウス線維芽細胞 NIH3T3 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)が検討されているが、テトラブロモビスフェノール A は、 5α ジヒドロテストステロン 0.01nM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害しなかった。

2) Hamers ら(2006)によって、テトラブロモビスフェノール A 10 μ M(=5.4mg/L)までの濃度に 24 時間ばく露したヒト骨芽細胞 U-2 OS によるレポーターアッセイ(プロモータ領域に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)が検討されているが、テトラブロモビスフェノール A は、 5α ジヒドロテストステロン 164pM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害しなかった。

3) Li ら(2010)によって、テトラブロモビスフェノール A 100 μ M(=54mg/L)までの濃度に 2 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)が検討されているが、テトラブロモビスフェノール A は、ジヒドロテストステロン 50nM による β ガラクトシダーゼ発現誘導を阻害しなかった。

⑤ プロゲステロン作用

1) Li ら(2010)によって、テトラブロモビスフェノール A 100 μ M(=54mg/L) までの濃度に 2 時間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ(プロモータ領域にプロゲステロ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)が検討されているが、テトラブロモビスフェノール A は、 β ガラクトシダーゼの発現を誘導しなかった。

⑥ 抗プロゲステロン作用

1) Li ら(2010)によって、テトラブロモビスフェノール A 100 μ M(=54mg/L) までの濃度に 2 時間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ(プロモータ領域にプロゲステロ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、テトラブロモビスフェノール A は、IC₂₀ 値 0.078 μ M(=42 μ g/L)の濃度においてプロゲステロン 1nM による β ガラクトシダーゼ発現誘導を阻害した。

2) Hamers ら(2006)によって、テトラブロモビスフェノール A 10 μ M(=5.4mg/L)までの濃度に 24 時間ばく露したヒト骨芽細胞 U-2 OS によるレポーターアッセイ(プロモータ領域にプロゲステロ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

れているが、テトラブロモビスフェノール A は、メドロキシプロゲステロン酢酸エステル 98pM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害しなかった。

⑦ 甲状腺ホルモン作用

- 1) Kudo ら(2006)によって、テトラブロモビスフェノール A 0.01、0.1、1 μ M(=5.4、54、544 μ g/L)に 24 時間ばく露したアフリカツメガエル細胞 XL58-TRE-Luc によるレポーターアッセイ(プロモータ領域に甲状腺ホルモ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、テトラブロモビスフェノール A は、0.1 μ M(=54 μ g/L)以上の濃度においてルシフェラーゼ発現を誘導した。
- 2) Kitamura ら(2002)によって、テトラブロモビスフェノール A 0.01、0.1、1、10、100 μ M(=5.4、54、544、5,439、54,388 μ g/L)に 2 日間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 GH3 への影響が検討されている。その結果として、テトラブロモビスフェノール A は、1 μ M(=544 μ g/L)以上の濃度において成長ホルモン分泌を誘導した。
また、テトラブロモビスフェノール A 0.01、0.1、1、10、100 μ M(=5.4、54、544、5,439、54,388 μ g/L)に 1 週間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 GH3 への影響が検討されている。その結果として、テトラブロモビスフェノール A は、1 μ M(=544 μ g/L)以上の濃度において細胞増殖を誘導した。
- 3) Shiizaki ら(2005)によって、テトラブロモビスフェノール A 0.001~100 μ M(=0.5~54,388 μ g/L 設定値)に 16 時間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ(プロモータ領域に甲状腺ホルモン受容体 TR α 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、テトラブロモビスフェノール A は、1 μ M(=544 μ g/L)以上の濃度においてルシフェラーゼ発現を誘導した(ただし、5 μ M 以上の濃度区では顕著な細胞毒性が認められた)。
また、テトラブロモビスフェノール A 0.001~100 μ M(=0.5~54,388 μ g/L 設定値)に 16 時間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ(プロモータ領域に甲状腺ホルモン受容体 TR 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、テトラブロモビスフェノール A は、1 μ M(=544 μ g/L)以上の濃度においてルシフェラーゼ発現を誘導した(ただし、5 μ M 以上の濃度区では顕著な細胞毒性が認められた)。
- 4) Kitamura ら(2005a)によって、テトラブロモビスフェノール A 0.01、0.1、1、10 μ M(=5.4、54、544、5,439 μ g/L)に 48 時間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 GH3 への影響が検討されている。その結果として、テトラブロモビスフェノール A は、10 μ M(=5,439 μ g/L)の濃度において成長ホルモン分泌を誘導した。
- 5) Ghisari と Bonfeld-Jorgensen(2005)によって、テトラブロモビスフェノール A に 6 日間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 GH3 への影響が検討されている(実施した試験濃度範囲についての記載はなかった)。その結果として、テトラブロモビスフェノール A は、10 μ M(=5.4mg/L)の濃度において細胞増殖を誘導した。
- 6) Jugan ら(2007)によって、テトラブロモビスフェノール A 10、20、40、60、80、100 μ M(=5.4、10.9、22、33、44、54mg/L 設定値)の濃度に 16 時間ばく露したラット副腎髄質褐色細胞 PC12 によるレポーターアッセイ(プロモータ領域に甲状腺ホルモン受容体 TR α 1 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、テトラブロモビスフェノール A は、 $10\mu\text{M}(=5.4\text{mg/L})$ 以上の濃度においてルシフェラーゼ発現を誘導した(ただし、用量相関性は $60\mu\text{M}$ まで認められ、 $100\mu\text{M}$ ではむしろ発現抑制が認められた)。

また、テトラブロモビスフェノール A $100\mu\text{M}(=54\text{mg/L}$ 設定値)の濃度に 16 時間ばく露したラット副腎髄質褐色細胞 PC12 によるレポーターアッセイ(プロモータ領域に甲状腺ホルモン受容体 $\text{TR}\alpha 1$ 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)が検討されているが、テトラブロモビスフェノール A は、ルシフェラーゼ発現を誘導しなかった。

- 7) Kitamura ら(2005b)によって、テトラブロモビスフェノール A $100\mu\text{M}(=54\text{mg/L})$ までの濃度に 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(プロモータ領域に甲状腺ホルモン受容体 $\text{TR}\alpha$ 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)が検討されているが、テトラブロモビスフェノール A は、ルシフェラーゼ発現を誘導しなかった。

また、テトラブロモビスフェノール A $100\mu\text{M}(=54\text{mg/L})$ までの濃度に 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(プロモータ領域に甲状腺ホルモン受容体 $\text{TR}\beta$ 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)が検討されているが、テトラブロモビスフェノール A は、ルシフェラーゼ発現を誘導しなかった。

- 8) Sun ら(2009)によって、テトラブロモビスフェノール A 1、10、25、 $50\mu\text{M}(=544、5,439、13,597、27,194\mu\text{g/L}$ 設定値)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(プロモータ領域に甲状腺ホルモン受容体 $\text{TR}\beta$ 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)が検討されているが、テトラブロモビスフェノール A は、ルシフェラーゼ発現を誘導しなかった。

⑧ 抗甲状腺ホルモン作用

- 1) Kudo ら(2006)によって、アフリカツメガエルのトランスサイレチンを用いた結合阻害試験が検討されている。その結果として、テトラブロモビスフェノール A は、 IC_{50} 値 $0.00307\mu\text{M}(=1.7\mu\text{g/L})$ の濃度においてトリヨードサイロニン 0.1nM による結合を阻害した。

また、アフリカツメガエルのサイロキシン受容体リガンド結合ドメインを用いた結合阻害試験が検討されている。その結果として、テトラブロモビスフェノール A は、 IC_{50} 値約 $1\mu\text{M}(=544\mu\text{g/L})$ の濃度においてトリヨードサイロニン 0.1nM による結合を阻害した。

また、テトラブロモビスフェノール A $0.01、0.1、1\mu\text{M}(=5.4、54、544\mu\text{g/L})$ に 24 時間ばく露したアフリカツメガエル細胞 XL58-TRE-Luc によるレポーターアッセイ(プロモータ領域に甲状腺ホルモ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、テトラブロモビスフェノール A は、 $0.1\mu\text{M}(=54\mu\text{g/L})$ 以上の濃度においてトリヨードサイロニン 2nM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害した。

- 2) Meerts ら(2000)によって、ヒトのトランスサイレチンを用いた結合阻害試験が検討されている。その結果として、テトラブロモビスフェノール A は、 IC_{50} 値 $0.0077\mu\text{M}(=4.2\mu\text{g/L})$ の濃度においてサイロキシン 55nM による結合を阻害した。

- 3) Hamers ら(2006)によって、ヒトトランスサイレチンを用いた結合阻害試験が検討されている。その結果として、テトラブロモビスフェノール A は、 IC_{50} 値 $0.031\mu M (=16.86028\mu g/L)$ の濃度においてサイロキシシン $55nM$ による結合を阻害した。
- また、テトラブロモビスフェノール A $0.5\mu M (=272\mu g/L)$ に 96 時間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 GH3 への影響が検討されている。その結果として、テトラブロモビスフェノール A は、トリヨードサイロニン $250pM$ による細胞増殖を阻害した。
- 4) Kitamura ら(2002)によって、テトラブロモビスフェノール A について、エストロゲン感受性ラット下垂体腫瘍細胞 MtT/E-2 サイトゾル中の甲状腺ホルモ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、テトラブロモビスフェノール A は、 IC_{50} 値約 $1\mu M (=544\mu g/L)$ の濃度においてトリヨードサイロニン $3nM$ による結合を阻害した。
- また、テトラブロモビスフェノール A $10, 100\mu M (=5.4, 54mg/L)$ に 2 日間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 GH3 への影響が検討されているが、テトラブロモビスフェノール A は、トリヨードサイロニン $0.1nM$ による成長ホルモン分泌誘導を阻害しなかった。
- また、テトラブロモビスフェノール A $10, 100\mu M (=5.4, 54mg/L)$ に 1 週間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 GH3 への影響が検討されているが、テトラブロモビスフェノール A は、トリヨードサイロニン $0.1nM$ による細胞増殖誘導を阻害しなかった。
- 5) Kitamura ら(2005b)によって、テトラブロモビスフェノール A $3.1, 6.3, 13, 25, 50, 100\mu M (=1.7, 3.4, 7.1, 13.6, 27.2, 54mg/L$ 設定値)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(プロモータ領域に甲状腺ホルモン受容体 $TR\alpha$ 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、テトラブロモビスフェノール A は、 $3.1\mu M (=1.7mg/L)$ 以上の濃度においてトリヨードサイロニン $10nM$ によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害した。
- また、テトラブロモビスフェノール A $3.1, 6.3, 13, 25, 50, 100\mu M (=1.7, 3.4, 7.1, 13.6, 27.2, 54\mu g/L$ 設定値)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(プロモータ領域に甲状腺ホルモン受容体 $TR\beta$ 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、テトラブロモビスフェノール A は、 $25\mu M (=13.6mg/L)$ 以上の濃度においてトリヨードサイロニン $10nM$ によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害した。
- また、テトラブロモビスフェノール A について、エストロゲン感受性ラット下垂体腫瘍細胞 MtT/E-2 サイトゾル中の甲状腺ホルモ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、テトラブロモビスフェノール A は、 IC_{50} 値 $3.5\mu M (=1.9mg/L)$ の濃度においてトリヨードサイロニン $3nM$ による結合を阻害した。
- 6) Jugan ら(2007)によって、テトラブロモビスフェノール A $10, 20, 40, 60, 80, 100\mu M (=5.4, 10.9, 21.8, 32.6, 43.5, 54mg/L$ 設定値)の濃度に 16 時間ばく露したラット副腎髄質褐色細胞 PC12 によるレポーターアッセイ(プロモータ領域に甲状腺ホルモン受容体 $TR\alpha 1$ 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、テトラブロモビスフェノール A は、 $20\mu M (=10.9mg/L)$ 以上の濃度及び IC_{50} 値約 $50\mu M (=27.2mg/L)$

の濃度においてトリヨードサイロニン 0.3nM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害した。

また、テトラブロモビスフェノール A 100 μ M(=54mg/L 設定値)の濃度に 16 時間ばく露したラット副腎髄質褐色細胞 PC12 によるレポーターアッセイ(プロモータ領域に甲状腺ホルモン受容体 TR α 1 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、テトラブロモビスフェノール A は、トリヨードサイロニン 1nM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害した。

- 7) Sun ら(2009)によって、テトラブロモビスフェノール A 1、10、25、50 μ M (=544、5,439、13,597、27,194 μ g/L 設定値)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(プロモータ領域に甲状腺ホルモン受容体 TR 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、テトラブロモビスフェノール A は、25 μ M(=13,597 μ g/L)以上の濃度及び IC₅₀ 値 29.5 μ M(=16,044 μ g/L)の濃度においてトリヨードサイロニン 10nM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害した。

⑨ エストラジオール代謝への影響

- 1) Hamers ら(2006)によって、ヒト 17 β -エストラジオール・スルホトランスフェラーゼ活性への影響が検討されている。その結果として、テトラブロモビスフェノール A は、IC₅₀ 値 0.016 μ M(=8.7 μ g/L)の濃度において 17 β -エストラジオール代謝阻害が認められた。
- 2) Jurgella ら(2006)によって、テトラブロモビスフェノール A 100 μ M(=54mg/L)に 1 時間ばく露したレイクトラウト(*Salvelinus namaycush*)腎臓への影響が検討されている。その結果として、17 β -エストラジオール代謝阻害が認められた。

また、テトラブロモビスフェノール A 100 μ M(=54mg/L)に 1 時間ばく露したレイクトラウト肝臓への影響が検討されている。その結果として、17 β -エストラジオール代謝阻害が認められた。

⑩ 芳香族炭化水素受容体への影響

- 1) Hamers ら(2006)によって、テトラブロモビスフェノール A 10 μ M(=5.4mg/L)までの濃度に 24 時間ばく露したラット肝がん細胞 H4IIE によるレポーターアッセイ(プロモータ領域に芳香族炭化水素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)が検討されているが、テトラブロモビスフェノール A は、ルシフェラーゼ発現を誘導しなかった。

また、テトラブロモビスフェノール A 10 μ M(=5.4mg/L)までの濃度に 24 時間ばく露したラット肝がん細胞 H4IIE によるレポーターアッセイ(プロモータ領域に芳香族炭化水素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)が検討されているが、テトラブロモビスフェノール A は、10 μ M(=5.4mg/L)までの濃度において 2,3,7,8-テトラクロロダイベンゾ-*p*-ダイオキシン 15pM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害しなかった。

⑪ 生態影響

- 1) Veldhoen ら(2006)によって、テトラブロモビスフェノール A 0.01、0.1 μ M (=5.4、54 μ g/L 設定値)にステージ 30~31 幼生期に 48 時間ばく露したタイヘイヨウコーラスアマガエル(*Pseudacris*

regilla)の甲状腺ホルモン応答性配列発現への影響が検討されている。その結果として、単独ばく露条件において、0.01 μ M(=5.4 μ g/L)以上のばく露区で脳中増殖細胞核抗原 PCNA mRNA 発現量の高値、0.01 μ M(=5.4 μ g/L)のばく露区のみで尾中増殖細胞核抗原 PCNA mRNA 発現量の低値、脳中ゼラチナーゼ gel B mRNA 発現量の高値、0.1 μ M(=54 μ g/L)のばく露区で尾中甲状腺ホルモン受容体 TR α mRNA 発現量の高値が認められた。一方、10nM トリヨードサイロニン共存下では、0.01 μ M(=5.4 μ g/L)のばく露区で尾中ゼラチナーゼ gel B mRNA 発現量の高値、0.1 μ M(=54 μ g/L)のばく露区で尾中増殖細胞核抗原 PCNA mRNA 発現量の低値、脳中甲状腺ホルモン受容体 TR α mRNA 発現量の高値が認められた。

また、テトラブロモビスフェノール A 0.01、0.1 μ M(=5.4、54 μ g/L 設定値)にステージ 30~31 幼生期に 96 時間ばく露したタイヘイヨウコーラスアマガエル(*Pseudacris regilla*)への影響が検討されている。その結果として、10nM トリヨードサイロニン共存下で、0.01 μ M(=5.4 μ g/L)のばく露区のみで尾筋肉面積の低値が認められたが、尾鰭面積、体長、尾長には影響は認められなかった。一方、単独ばく露条件では、尾筋肉面積、尾鰭面積、体長、尾長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：甲状腺ホルモン様作用

- 2) Kuiper ら(2007a)によって、テトラブロモビスフェノール A 0.13、1.36、11.02、27.46、114.74、193.47 μ g/L(実測値)に 683 日齢から 105 日間ばく露したカレイ科魚(*Platichthys flesus*)への影響が検討されている。その結果として、11.02 μ g/L の濃度区において血漿中サイロキシン濃度(雌雄の区別なし)の高値が認められたが、雌雄血漿中ビテロゲニン濃度、血漿中トリヨードサイロニン濃度(雌雄の区別なし)、雌雄マイクローム中アロマターゼ活性、マイクローム中 EROD 活性(雌雄の区別なし)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：甲状腺ホルモン様作用

- 3) Kuiper ら(2007b)によって、テトラブロモビスフェノール A 0.023、0.047、0.094、0.188、0.375、0.75、1.5 μ M(=13、26、51、102、204、408、816 μ g/L 設定値)に 30 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、0.047 μ M(=26 μ g/L)以上のばく露区で一回当産卵数の低値が認められた。

また、このゼブラフィッシュがばく露 21~30 日目の間に産卵した受精卵への影響が検討されている。その結果として、0.023、0.047、0.094、0.188、1.5 μ M(=13、26、51、102、816 μ g/L)のばく露区で孵化率の低値、1.5 μ M(=816 μ g/L)のばく露区で孵化後 7 日間生存率の低値、雄性比の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用

- 4) Kitamura ら(2005b)によって、テトラブロモビスフェノール A 0.01、0.1、1 μ M(=5.4、54、544 μ g/L、設定値)にステージ 10 幼生から 9 日間ばく露したツチガエル(*Rana rugosa*)への影響が検討されている。その結果として、1 μ M(=544 μ g/L)のばく露区でトリヨードサイロニン 50nM(ばく露 5~6 日目)による短尾化の阻害(尾長の高値)が認められた。一方、単独ばく露条件においては、尾長に影響は認められなかった。

示唆される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

- 5) Jagnytsch ら(2006)によって、テトラブロモビスフェノール A 100、250、500 μ g/L(設定値)にス

ステージ 51 幼生から 72 時間トリヨードサイロニン 0.1nM 共存下ばく露したアフリカツメガエル (*Xenopus laevis*)の甲状腺ホルモン応答性配列発現への影響が検討されている。その結果として、100µg/L 以上のばく露区でロイシンジッパー型蛋白質 b/ZIP mRNA 発現量の低値、甲状腺ホルモン受容体 TRβ mRNA 発現量の低値が認められた。一方、単独ばく露条件においては、これらの mRNA 発現量には影響は認められなかった。

また、テトラブロモビスフェノール A 2.5、25、250、500µg/L(設定値)にステージ 51 幼生から 21 日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、500µg/L の濃度区において発達の遅延(ステージ数の低値)、後脚長の低値が認められた。

また、テトラブロモビスフェノール A 500µg/L(設定値)にステージ 57 幼生から 72 時間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されているが、発達ステージ数、後脚長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：抗甲状腺ホルモン様作用

6) Berg ら(2001)によって、テトラブロモビスフェノール A 15µg/g(卵内濃度)を産卵後 3 日目に単回卵黄内投与したニホンウズラ(*Coturnix japonica*)胚(産卵 15 日後)への影響が検討されているが、胚死亡率、ミューラー管異常を有する雌胎仔発生率、精巣卵を有する雄胎仔発生率には影響は認められなかった。

また、テトラブロモビスフェノール A 15µg/g(卵内濃度)を産卵後 4 日目に単回卵黄内投与したニワトリ(*Gallus gallus domesticus*)胚(産卵 19 日後)への影響が検討されているが、胚死亡率、ミューラー管異常を有する雌胎仔発生率、精巣卵を有する雄胎仔発生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

⑫ 甲状腺影響

1) Saegusa ら(2009)によって、テトラブロモビスフェノール A 100、1,000、10,000ppm(餌中濃度)を妊娠 10 日目から出産後 20 日目まで混餌投与した SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、100 及び 1,000ppm のばく露群で 20 週齢雄仔動物の血清中トリヨードサイロニン濃度の低値、10,000ppm のばく露群で出産後 9~20 日目の母動物増加体重の高値が認められたが、20 週齢雄仔動物の血清中サイロキシン濃度、甲状腺刺激ホルモン濃度、11 週齢雄仔動物の血清中、トリヨードサイロニン濃度サイロキシン濃度、甲状腺刺激ホルモン濃度、母動物の摂餌量、妊娠期間、母動物体重、母動物甲状腺相対重量、母動物甲状腺のびまん性濾胞細胞腫大の重篤度、着床部位数、生存新生仔数、雄新生仔率、1 日齢雌雄新生仔体重、1 日齢雌雄新生仔肛門生殖突起間距離、20 日齢雌雄新生仔体重、20 日齢雄新生仔の肝臓、腎臓、脳、脾臓、胸腺、副腎、精巣、精巣上体相対重量、20 日齢雌新生仔の肝臓、腎臓、脳、脾臓、胸腺、副腎、卵巣、子宮相対重量、雄仔動物の包皮分離日、雌仔動物の膈開口日、雌仔動物の 8~11 週齢にかけての性周期回数、11 週齢雄仔動物の脳の組織病理学的検査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：抗甲状腺ホルモン様作用

参考文献

- Kitamura S, Suzuki T, Sanoh S, Kohta R, Jinno N, Sugihara K, Yoshihara S, Fujimoto N, Watanabe H and Ohta S (2005a) Comparative study of the endocrine-disrupting activity of bisphenol A and 19 related compounds. *Toxicological Sciences*, 84 (2), 249-259.(①1)、②1)、④1)、⑦4))
- Kitamura S, Jinno N, Ohta S, Kuroki H and Fujimoto N (2002) Thyroid hormonal activity of the flame retardants tetrabromobisphenol A and tetrachlorobisphenol A. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 293 (1), 554-559.(①2)、②2)、⑦2)、⑧4))
- Körner W, Hanf V, Schuller W, Bartsch H, Zwirner M and Hagenmaier H (1988) Validation and application of a rapid *in vitro* assay for assessing the estrogenic potency of halogenated phenolic chemicals. *Chemosphere*, 37 (9-12), 2395-2407.(①3))
- Olsen CM, Meussen-Elholm ET, Samuelsen M, Holme JA and Hongslo JK (2003) Effects of the environmental oestrogens bisphenol A, tetrachlorobisphenol A, tetrabromobisphenol A, 4-hydroxybiphenyl and 4,4'-dihydroxybiphenyl on oestrogen receptor binding, cell proliferation and regulation of oestrogen sensitive proteins in the human breast cancer cell line MCF-7. *Pharmacology and Toxicology*, 92 (4), 180-188.(①4))
- 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*, 157-173.(①5)、②3)、④2)、⑥2)、⑧3)、⑨1)、⑩1))
- Li J, Ma M and Wang Z (2010) *In vitro* profiling of endocrine disrupting effects of phenols. *Toxicology in Vitro*, 24 (1), 201-207.(①6)、②4)、③1)、④3)、⑤1)、⑥1))
- Kudo Y, Yamauchi K, Fukazawa H and Terao Y (2006) *In vitro* and *in vivo* analysis of the thyroid system-disrupting activities of brominated phenolic and phenol compounds in *Xenopus laevis*. *Toxicological Sciences*, 92 (1), 87-95.(⑦1)、⑧1))
- Shiizaki K, Asai S, Ebata S, Kawanishi M and Yagi T (2010) Establishment of yeast reporter assay systems to detect ligands of thyroid hormone receptors alpha and beta. *Toxicology in Vitro*, 24 (2), 638-644.(⑦3))
- Ghisari M and Bonefeld-Jorgensen EC (2005) Impact of environmental chemicals on the thyroid hormone function in pituitary rat GH3 cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 244 (1-2), 31-41.(⑦5))

- Jugan ML, Lévy-Bimbot M, Pomérance M, Tamisier-Karolak S, Blondeau JP and Lévi Y (2007) A new bioluminescent cellular assay to measure the transcriptional effects of chemicals that modulate the alpha-1 thyroid hormone receptor. *Toxicology in Vitro*, 21 (6), 1197-1205.(⑦6)、⑧6))
- Kitamura S, Kato T, Iida M, Jinno N, Suzuki T, Ohta S, Fujimoto N, Hanada H, Kashiwagi K and Kashiwagi A (2005b) Anti-thyroid hormonal activity of tetrabromobisphenol A, a flame retardant, and related compounds: Affinity to the mammalian thyroid hormone receptor, and effect on tadpole metamorphosis. *Life Sciences*, 76 (14), 1589-1601.(⑦7)、⑧5)、⑩4))
- Sun H, Shen OX, Wang XR, Zhou L, Zhen SQ and Chen XD (2009) Anti-thyroid hormone activity of bisphenol A, tetrabromobisphenol A and tetrachlorobisphenol A in an improved reporter gene assay. *Toxicology in Vitro*, 23 (5), 950-954.(⑦8)、⑧7))
- Meerts IA, van Zanden JJ, Luijckx EA, van Leeuwen-Bol I, Marsh G, Jakobsson E, Bergman A and Brouwer A (2000) Potent competitive interactions of some brominated flame retardants and related compounds with human transthyretin *in vitro*. *Toxicological Sciences*, 56 (1), 95-104.(⑧2))
- Jurgella GF, Marwah A, Malison JA, Peterson R and Barry TP (2006) Effects of xenobiotics and steroids on renal and hepatic estrogen metabolism in lake trout. *General and Comparative Endocrinology*, 148 (2), 273-281.(⑨2))
- Veldhoen N, Boggs A, Walzak K and Helbing CC (2006) Exposure to tetrabromobisphenol-A alters TH-associated gene expression and tadpole metamorphosis in the Pacific tree frog *Pseudacris regilla*. *Aquatic Toxicology*, 78 (3), 292-302.(⑩1))
- Kuiper RV, Cantón RF, Leonards PE, Jenssen BM, Dubbeldam M, Wester PW, van den Berg M, Vos JG and Vethaak AD (2007a) Long-term exposure of European flounder (*Platichthys flesus*) to the flame-retardants tetrabromobisphenol A (TBBPA) and hexabromocyclododecane (HBCD). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67 (3), 349-360.(⑩2))
- Kuiper RV, van den Brandhof EJ, Leonards PE, van der Ven LT, Wester PW and Vos JG (2007b) Toxicity of tetrabromobisphenol A (TBBPA) in zebrafish (*Danio rerio*) in a partial life-cycle test. *Archives of Toxicology*, 81 (1), 1-9.(⑩3))
- Jagnytsch O, Opitz R, Lutz I and Kloas W (2006) Effects of tetrabromobisphenol A on larval development and thyroid hormone-regulated biomarkers of the amphibian *Xenopus laevis*.

Environmental Research, 101 (3), 340-348.(⑩5))

Berg C, Halldin K and Brunström B (2001) Effects of bisphenol A and tetrabromobisphenol A on sex organ development in quail and chicken embryos. Environmental Toxicology and Chemistry, 20 (12), 2836-2840.(⑩6))

Saegusa Y, Fujimoto H, Woo GH, Inoue K, Takahashi M, Mitsumori K, Hirose M, Nishikawa A and Shibutani M (2009) Developmental toxicity of brominated flame retardants, tetrabromobisphenol A and 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane, in rat offspring after maternal exposure from mid-gestation through lactation. Reproductive Toxicology, 28 (4), 456-467.(⑫1))

(5) ナフタレン

① エストロゲン作用

1) Tran ら(1996)によって、ナフタレン 1 μ M(=128 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)が検討されているが、ナフタレンは、 β -ガラクトシダーゼ発現を誘導しなかった。

② 抗エストロゲン作用

1) Tran ら(1996)によって、ナフタレン 1 μ M(=128 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)が検討されているが、ナフタレンは、17 β -エストラジオール 0.5nM による β -ガラクトシダーゼ発現誘導を阻害しなかった。

③ 魚類精巣組織への影響

1) Evanson と van der Kraak (2001)によって、ナフタレン 0.1、1、10 μ M(=13、128、1,282 μ g/L)に 18 時間ばく露した成熟雄キンギョ (*Carassius auratus*)精巣組織への影響が検討されている。その結果として、0.1、1 μ M (=13、128 μ g/L)の濃度でサケ由来性腺刺激ホルモン誘導性テストステロン産生量の高値が認められた。

また、ナフタレン 1、10、100 μ M(=0.128、1.28、12.8mg/L)に 18 時間ばく露した成熟雄ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*)精巣組織への影響が検討されている。その結果として、100 μ M(=12.8mg/L)のばく露区でサケ由来性腺刺激ホルモン誘導性テストステロン産生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

参考文献

Tran DQ, Ide CF, McLachlan JA and Arnold SF (1996) The anti-estrogenic activity of selected polynuclear aromatic hydrocarbons in yeast expressing human estrogen receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 229 (1), 102-108.(①1)、②1)

Evanson M and van Der Kraak GJ (2001) Stimulatory effects of selected PAHs on testosterone production in goldfish and rainbow trout and possible mechanisms of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C, Toxicology and Pharmacology*, 130 (2), 29-58.(③1)

(6) モリネート

① 生殖影響

1) Ellis ら(1998)によって、モリネート 40mg/kg を単回経口投与した成熟(80~94 日齢以上)雄 SD ラットの精巣間質液中ホルモン濃度(6 時間後)への影響が検討されている。その結果として、テストステロン濃度の低値、アンドロステンジオン濃度の低値、プロゲステロン濃度の低値、17 α ヒドロキシプロゲステロン濃度の低値が認められた。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、その他の作用

2) Stoker ら(2005)によって、モリネート 50mg/kg/day を 21 日間経口投与した正常性周期(4 日間の発情周期を 5 回連続確認済)成熟(111 日齢以上)雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、正常性周期発生率の低値、性周期回数/回数の低値、異常性周期発生率の高値、発情期所要日数の遅延率の高値、発情期所要日数の高値、発情間期所要日数の遅延率の高値、Estrus ratio(発情期所要日数/性周期回数)の高値が認められた。

また、モリネート 50mg/kg/day を 25 日間経口投与した正常性周期(4 日間の発情周期を 5 回連続確認済)成熟(111 日齢以上)処置(投与 22 日目に両卵巣摘出及びエストラジオールベンゾエート含有シリコンゴム・カプセル皮下埋設)雌 SD ラットのホルモン濃度(最終投与から 0、1、3、6 時間後)への影響が検討されている。その結果として、3 時間後の血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、3 時間後のプロラクチン濃度の低値が認められたが、下垂体中黄体形成ホルモン濃度、下垂体中プロラクチン濃度には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用

② 疫学的調査

1) Tomenson ら(1999)によって、モリネートについて、米国 California 州 Richmond、Arkansas 州 North Little Rock、Alabama 州 Cold Creek にて 1980 年から 1982 年にかけてモリネートを配合又は製造する工場における男性作業従事者 272 名への影響が検討されている。その結果として、精液モニタリング時の推定モリネートばく露量(12.7~210.9($\mu\text{g}/\text{m}^3 \times \text{hours}$))と精液中の精子濃度、精子運動性スコア、正常精子率、血清中卵胞刺激ホルモン濃度とに関連性は認められなかった。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

参考文献

Ellis MK, Richardson AG, Foster JR, Smith FM, Widdowson PS, Farnworth MJ, Moore RB, Pitts MR and Wickramaratne GA (1998). The reproductive toxicity of molinate and metabolites to the male rat: Effects on testosterone and sperm morphology. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 151 (1), 22-32.(①1)

Stoker TE, Perreault SD, Bremser K, Marshall RS, Murr A and Cooper RL (2005) Acute exposure to molinate alters neuroendocrine control of ovulation in the rat. *Toxicological Sciences*, 84 (1), 38-48.(①2)

Tomenson JA, Taves DR, Cockett AT, McCusker J, Barraj L, Francis M, Pastoor TP, Wickramaratne GA and Northrop HL (1999) An assessment of fertility in male workers exposed to molinate. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 41 (9), 771-787. (②1)

(7) リン酸トリフェニル

① 疫学的調査

1) Meeker と Stapleton(2010)によって、リン酸トリフェニルについて、米国 Massachusetts 州にて 2002 年から 2007 年にかけて不妊のため Massachusetts General Hospital を訪れた男性(18～54 歳) 50 名への影響が検討されている。その結果として、ハウスダスト中リン酸トリフェニル濃度(検出率 98%、幾何平均濃度 7,400ng/g dust)の四分位範囲(25 パーセンタイル値 3,100 ng/g dust、50 パーセンタイル値 5,470 ng/g dust、75 パーセンタイル値 9,830 ng/g dust、100 パーセンタイル値 1,798,100ng/g dust)において、血清中プロラクチン濃度の高値傾向、精液中精子濃度の低値傾向が認められた。

想定される作用メカニズム：視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用

参考文献

Meeker JD and Stapleton HM (2010) House dust concentrations of organophosphate flame retardants in relation to hormone levels and semen quality parameters. *Environmental Health Perspectives*, 118 (3), 318-323.(①1)

II. 信頼性評価第4回（平成23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（5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) アトラジン

- ・エストロゲン作用については、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。
- ・抗エストロゲン作用については、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、抗エストロゲン様作用が認められた知見が得られている。
- ・アンドロゲン作用については、試験管内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アンドロゲン様作用が認められた知見が得られている。
- ・抗アンドロゲン作用については、試験管内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アンドロゲン様作用が認められた知見及び認められなかっ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甲状腺ホルモン様作用または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幼若ホルモ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。

(2) 2,6-ジ-*tert*-ブチル-4-メチルフェノール(別名: BHT)

- ・エストロゲン作用については、試験管内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、試験管内試験を実施する。
- ・抗エストロゲン作用については、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。
- ・抗アンドロゲン作用については、試験管内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、試験管内試験を実施する。

(3) 1-ナフトール

- ・疫学的調査結果から、エスト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。
- ・疫学的調査結果から、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。
- ・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疫学的調査結果から、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。
- ・抗甲状腺ホルモン作用については、試験管内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、試験管内試験を実施する。

(4) 4-*t*ペンチルフェノール

- ・エストロゲン作用については、試験管内試験結果、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) メソミル

- ・エストロゲン作用については、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。
- ・抗エストロゲン作用については、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。
- ・抗アンドロゲン作用については、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。

2. 表1及び表2の作成の根拠とした報告

(1) アトラジン

① エストロゲン作用

- 1) Okaら(2008)によって、アトラジン 12、37、111、333、1,000 μ g/Lの濃度に6日間ばく露した成熟雄アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)由来肝臓一次培養細胞のビテロゲニン産生への影響が検

討されているが、アトラジンは、ビテロゲニン産生を誘導しなかった。

2) Sanderson ら(2001)によって、アトラジン 0.3~30 μ M(=64.7~6,470 μ g/L)に 6 日間ばく露したコイ肝臓細胞のビテロゲニン産生への影響が検討されているが、アトラジンは、ビテロゲニン産生を誘導しなかった。

② 抗エストロゲン作用

1) Tran ら(1996)によって、アトラジン 0.207、0.414、2.075 μ M(=44.6、89.3、448 μ g/L)に 12 時間ばく露した酵母 DY150(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(エストロゲン応答性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、アトラジンは、0.414 μ M(=89.3 μ g/L)以上の濃度で 17 β エストラジオール 0.5nM による β ガラクトシダーゼ発現誘導を阻害した。また、アトラジンについて、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、アトラジンは、10 μ M(=21,600 μ g/L)の濃度で 17 β エストラジオール 2nM による結合を阻害した。

2) McMullin ら(2004)によって、アトラジンについて、SD ラット子宮サイトゾル中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、アトラジンは、見かけ Ki 値 20 μ M(=4,310 μ g/L)の濃度で 17 β エストラジオール 1nM による結合を阻害した。

また、アトラジンについて、ラットエストロゲン受容体 α 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、アトラジンは、見かけ Ki 値 200 μ M(=43,100 μ g/L)の濃度で 17 β エストラジオール 1nM による結合を阻害した。

3) Orton ら(2009)によって、アトラジン 0.49~1,000 μ M(=106~216,000 μ g/L)に 3~6 日間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答性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、アトラジンは、125 μ M(=27,000 μ g/L)以上の濃度で 17 β エストラジオール 0.25nM による β ガラクトシダーゼ発現誘導を阻害した。

4) Scippo ら(2004)によって、ヒトエストロゲン受容体 α 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、アトラジンは、IC₅₀ 値 358 μ M(=77,200 μ g/L)の濃度で 17 β エストラジオール 2nM による結合を阻害した。

5) Tennant ら(1994)によって、また、アトラジン 1、10、50、100、300mg/kg/day を 23 日齢から 2 日間経口投与した雌 SD ラット(投与 2 日目に 17 β エストラジオール 0.15 μ g/rat を皮下投与)への影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上のばく露群で子宮細胞増殖率の低値が認められた。

また、アトラジン 20、100、300mg/kg/day を卵巣摘出後 3 日間経口投与した成熟雌 SD ラット(投与 2 及び 3 日目に 17 β エストラジオール 2 μ g/rat を皮下投与)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、子宮絶対重量の低値が認められた。

また、アトラジン 50、300mg/kg/day を卵巣摘出後 2 日間経口投与した成熟雌 SD ラット(投与 2 及び 3 日目に 17 β エストラジオール 1 μ g/rat を皮下投与)への影響が検討されている。その結果として、300mg/kg/day のばく露群で子宮中プロゲステロン受容体相対発現量の低値が認められた。

6) Cooper ら(2000)によって、アトラジン 50、100、200、300mg/kg/day を 3 日間経口投与した成熟雌 LE ラット(卵巣摘出处置前に正常性周期を確認。卵巣摘出及び 17 β エストラジオールベンゾエート埋設処置 3 日後 12:00 に投与開始)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黄体形成ホルモン濃度(最終投与 1 及び 3 時間後)、血清中プロラクチン濃度(最終投与 0、1 及び 3 時間後)、下垂体中プロラクチン濃度(最終投与 6 時間後)の低値が認められた。

また、アトラジン 75、150、300mg/kg/day を卵巣摘出後 21 日間経口投与した成熟雌 LE ラット(卵巣摘出処置前に正常性周期を確認。最終投与日 13:00 に 17 β エストラジオールベンゾエート埋設処置、投与開始から 24 日後の 15:00 に試験)への影響が検討されている。その結果として、75mg/kg/day 以上のばく露群で血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、下垂体中プロラクチン濃度の高値、150mg/kg/day のばく露群で血清中プロラクチン濃度の低値が認められた。

また、アトラジン 50、100、200、300mg/kg/day を 3 日間経口投与した成熟雌 SD ラット(卵巣摘出処置前に正常性周期を確認。卵巣摘出後、17 β エストラジオールベンゾエート埋設処置 3 日後 12:00 に投与開始)への影響が検討されている。その結果として、300mg/kg/day のばく露群で血清中プロラクチン濃度(最終投与 1、3 及び 6 時間後)の低値が認められた。

また、アトラジン 75、150、300mg/kg/day を卵巣摘出後 21 日間経口投与した成熟雌 SD ラット(卵巣摘出処置前に正常性周期を確認。最終投与日 13:00 に 17 β エストラジオールベンゾエート埋設処置、投与開始から 24 日後の 15:00 に試験)への影響が検討されている。その結果として、75mg/kg/day 以上のばく露群で下垂体中プロラクチン濃度の高値、150mg/kg/day のばく露群で血清中プロラクチン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値が認められた。

7) Oka ら(2008)によって、アトラジン 1,000 μ g/L までの濃度に 6 日間ばく露した成熟雄アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)由来肝臓一次培養細胞のビテロゲニン産生への影響が検討されているが、アトラジンは、17 β エストラジオール 5nM によるビテロゲニン産生誘導を阻害しなかった。

8) Sanderson ら(2001)によって、アトラジン 0.3~30 μ M(=64.7~6,470 μ g/L)に 6 日間ばく露したコイ肝臓細胞のビテロゲニン産生への影響が検討されているが、アトラジンは、17 β エストラジオール 100nM によるビテロゲニン産生を阻害しなかった。

9) Danzo (1997)によって、ウサギ子宮サイトゾル中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が、アトラジンは、100 μ M(=21,600 μ g/L)の濃度で 17 β エストラジオール 7nM による結合を阻害しなかった。

③ アンドロゲン作用

1) Orton ら(2009)によって、アトラジン 0.49~1,000 μ M(=106~216,000 μ g/L)に 3~6 日間ばく露した酵母(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答性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、アトラジンは、3.9~31.3 μ M(=841~6,750 μ g/L)の濃度で β ガラクトシダーゼ発現を誘導した。

④ 抗アンドロゲン作用

1) Kniewald ら(1995)によって、アトラジン 0.465、0.928、1.392 μ M(=100、200、300 μ g/L)に 3 時間ばく露したラット前立腺組織によるテストステロン代謝への影響が検討されている。その結果として、0.465 μ M(=100 μ g/L)以上の濃度で 5 α ジヒドロテストステロン産生量の低値、0.465 μ M(=100 μ g/L)の濃度で 5 α アンドロスタン-3,17-ジオン産生量の高値、1.392 μ M(=300 μ g/L)の濃度でアンドロスト-4-エン-3,17-ジオン産生量の高値が認められた。

2) Danzo (1997)によって、SD ラット前立腺サイトゾル中アンドロゲン受容体を用いた結合阻害試験が検討されている。その結果として、アトラジンは、100 μ M(=21,600 μ g/L)の濃度で 5 α ジヒドロテストステロン 7nM による結合を阻害した。

また、SD ラット前立腺サイトゾル中アンドロゲン結合蛋白質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、アトラジンは、100 μ M(=21,600 μ g/L)の濃度で 5 α ジヒドロテストステロン 7nM による結合を阻害した。

3) Orton ら(2009)によって、アトラジン 0.49~1,000 μ M(=106~216,000 μ g/L)に 3~6 日間ばく露した酵母(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答性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、アトラジンは、125~1,000 μ M(=27,000~216,000 μ g/L)の濃度でテストステロン 2.5nM による β ガラクトシダーゼ発現誘導を阻害した。

4) Friedmann (2002)によって、アトラジン 232 μ M(=50,000 μ g/L)に 3 時間ばく露したラット精巣ラットライディヒ培養細胞への影響が検討されている。その結果として、テストステロン産生量(黄体形成ホルモン共存下)の低値が認められた。

⑤ 抗プロゲステロン作用

1) Thomas と Sweatman (2008)によって、アトランティッククローカー卵母細胞細胞膜プロゲステロン受容体を用いた結合阻害試験が検討されている。その結果として、アトラジンは、1 μ M(=216 μ g/L)以上の濃度又は IC₅₀ 値 10 μ M(=2,160 μ g/L)の濃度において 17,20 β -21-トリヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン 5nM による結合を阻害した。

また、アトラジン 1、10、25、50 μ M(=216、2,160、5,390、10,800 μ g/L)に 12 時間ばく露したアトランティッククローカー卵母細胞(ヒト絨毛性ゴナドトロピン投与 8~11 時間後)への影響が検討されている。その結果として、10 μ M(=2,160 μ g/L)以上の濃度で成熟(17,20 β -21-トリヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン 87nM 共存下)の遅延が認められた。

2) Scippo ら(2004)によって、ヒトプロゲステロン受容体を用いた結合阻害試験が検討されているが、アトラジンは、0.001~1,000 μ M (=0.216~216,000 μ g/L)の濃度でプロゲステロン 50nM による結合を阻害しなかった。

⑥ アロマターゼに及ぼす影響

1) Fan ら(2007)によって、アトラジン 0.1、1、10 μ M(=21.6、216、2,160 μ g/L)に 48 時間ばく露したヒト副腎がん細胞 H295R によるレポーターアッセイ(ステロイド産生因子 1 依存性アロマターゼプロモータ II 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、ア

トラジンは、0.1 μ M(=21.6 μ g/L)以上の濃度でルシフェラーゼ発現を誘導した。

また、アトラジン 10 μ M(=2,160 μ g/L)に 48 時間ばく露したヒト卵巣顆粒膜細胞 KGN によるレポーターアッセイ(ステロイド産生因子 1 依存性アロマターゼプロモータ II 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、アトラジンは、ルシフェラーゼ発現を誘導した。

2) Holloway ら(2008)によって、アトラジン 0.001、0.01、0.1、1、10、100 μ M(=0.216、2.16、21.6、216、2,160、21,600 μ g/L)に 24 時間ばく露したヒト卵巣顆粒層黄体細胞への影響が検討されている。その結果として、0.1 μ M(=21.6 μ g/L)及び 1 μ M(=216 μ g/L)の濃度でアロマターゼ活性の高値が認められた。

3) Sanderson ら(2000)によって、アトラジン 0.3、1、3、10、30 μ M(=64.7、216、647、2,160、6,470 μ g/L)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、0.3 μ M(=64.7 μ g/L)以上の濃度でアロマターゼ活性の高値が認められた。

また、アトラジン 30 μ M(=6,470 μ g/L)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、30 μ M(=6,470 μ g/L)の濃度でアロマターゼ(CYP19) mRNA 発現誘導が認められた。

4) Sanderson ら(2001)によって、アトラジン 0.3、1、3、10、30 μ M(=64.7、216、647、2,160、6,470 μ g/L)に 24 時間ばく露したヒト胎盤がん細胞 JEG-3 への影響が検討されている。その結果として、1 μ M(=216 μ g/L)以上の濃度でアロマターゼ活性の高値が認められた。

5) Laville ら(2006)によって、アトラジン 1、3、10 μ M(=216、647、2,160 μ g/L)に 24 時間ばく露したヒト胎盤がん細胞 JEG-3 への影響が検討されている。その結果として、10 μ M(=2,160 μ g/L)の濃度でアロマターゼ活性の高値が認められた。

6) Tinfo ら(2011)によって、アトラジン 1、10、30 μ M(=216、2,160、6,470 μ g/L)に 24 時間ばく露したラット子宮顆粒膜細胞への影響が検討されている。その結果として、10 μ M(=2,160 μ g/L)以上の濃度でアロマターゼ活性、17 β エストラジオール産生量、プロゲステロン産生量の高値が認められた。

また、アトラジン 1、10、30 μ M(=216、2,160、6,470 μ g/L)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、10 μ M(=2,160 μ g/L)以上の濃度で 17 β エストラジオール産生量、エストロン産生量、プロゲステロン産生量の高値が認められた。

想定される作用メカニズム：その他の作用（ホルモン生合成系への作用）

7) Benachour ら(2007)によって、ヒト腎臓胚細胞 293 由来アロマターゼ活性阻害試験が検討されている。その結果として、20 μ M(=4,310 μ g/L)の濃度でアロマターゼ活性を阻害した。

⑦ 卵母細胞に及ぼす影響

1) Orton ら(2009)によって、アトラジン 0.0625、0.625、6.25、62.5 μ M(=13.5、135、1,350、13,500 μ g/L)にヒト絨毛性ゴナドトロピン刺激ホルモン共存下 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、0.0625 μ M(=13.5 μ g/L)の濃度で排卵率の低値(6.25 μ M 区では有意な高値)、6.25 μ M(=1,350 μ g/L)の濃度でプロゲステロン産生濃度の高値、

62.5 μ M(=13,500 μ g/L)の濃度でテストステロン産生濃度の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：プロゲステロン及びテストステロン生合成系への影響

⑧ 生態影響

1) Hayes ら(2003)によって、アトラジン 0.1、25 μ g/L(設定値)に 2 日齢から尾完全消失までばく露したヒョウガエル(*Rana pipiens*)への影響が検討されている。その結果として、0.1 μ g/L 以上のばく露区において雄精巣発達不全発生率、雄精巣内卵巣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（アロマターゼの活性化等）、抗アンドロゲン様作用

2) Dodson ら(1999)によって、アトラジン 0.01、0.1、0.5、1、5、10、15、25、50、100、250、500 μ g/L(設定値)に 6 日間ばく露した卵をもつ成熟ミジンコ属の一種(*Daphnia pulicaria*)への影響が検討されている。その結果として、0.5 μ g/L 以上のばく露区で新生仔雄性比の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：幼若ホルモン様作用

3) Storrs-Méndez と Semlitsch (2009)によって、アトラジン 0.92 \pm 0.07、2.81 \pm 0.15、25.1 \pm 7.06 μ g/L(測定値)に Gosner stage 25(自由遊泳)から Gosner stage 42 以上(少なくとも一方の後肢出現)までばく露後、Gosner stage 46(尾の完全消失)まで非ばく露で継続飼育したハイイロアマガエル(*Hyla versicolor*)への影響が検討されている。その結果として、0.92、25.1 \pm 7.06 μ g/L のばく露区で変態完了時の雄性比の低値が認められた。

また、アトラジン 3.02 \pm 0.25、31.09 \pm 1.79 μ g/L(測定値)に Gosner stage 25(自由遊泳)から Gosner stage 42 以上(少なくとも一方の後肢出現)までばく露後、6 ヶ月齢まで非ばく露で継続飼育したアメリカヒキガエル(*Bufo americanus*)への影響が検討されている。その結果として、3.02 μ g/L のばく露区で幼若成体の雄性比の低値が認められた。

また、アトラジン 2.7 \pm 0.75、7.55 \pm 2.82、124.87 \pm 41.26 μ g/L(測定値)に Gosner stage 25(自由遊泳)から Gosner stage 42 以上(少なくとも一方の後肢出現)までばく露後、Gosner stage 46(尾の完全消失)まで非ばく露で継続飼育したアメリカヒキガエル(*Bufo americanus*)への影響が検討されている。その結果として、124.87 μ g/L のばく露区で変態完了時の雄性比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

4) Yang ら(2010)によって、アトラジン 3、10、33、100、333 μ g/L(設定値)に 28 日間ばく露した雌雄成熟レアミノー(*Gobiocypris rarus*)への影響が検討されている。その結果として、3 μ g/L 以上のばく露区で雌雄肝臓中ヒートショック蛋白質(hsp70 及び hsp90) mRNA 相対発現量の高値、10 μ g/L 以上のばく露区で雄肝臓中アンドロゲン受容体 mRNA 相対発現量の高値、33 μ g/L 以上のばく露区で雌肝臓中アンドロゲン受容体 mRNA 相対発現量、雌雄肝臓中エストロゲン受容体 mRNA 相対発現量の高値、100 μ g/L 以上のばく露区で雌肝臓相対重量の高値、333 μ g/L のばく露区で雄肝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：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

5) Tavera-Mendoza ら(2002)によって、アトラジン 18 μ g/L(測定値)に絶食条件にて NF Stage 56(性分化期)から 48 時間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、精巢体積、精巢中栄養細胞(nurse cell)数、一次精原細胞巢(spermatogonial cell nests)数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、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用

- 6) Carr ら(2003)によって、アトラジン 1.07 ± 0.02 、 10.31 ± 0.15 、 $19.53 \pm 0.21 \mu\text{g/L}$ (測定値)に 2 日齢から NF Stage 66(変態完了)までばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、 $19.53 \mu\text{g/L}$ のばく露区で遊泳異常率、間性出現率、不連続性腺出現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（アロマターゼの活性化等）、抗アンドロゲン様作用

- 7) Hecker ら(2005)によって、アトラジン 0.8 ± 0.11 、 24.6 ± 2.1 、 $258.6 \pm 29.1 \mu\text{g/L}$ (測定値)に 36 日間ばく露した成熟雄アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、 $258.6 \mu\text{g/L}$ のばく露区で血漿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：視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用

- 8) Palma ら(2009)によって、アトラジン 500、5,000、15,000 $\mu\text{g/L}$ (設定値)に 24 時間未満齢から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響が検討されている。その結果として、500 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で総産仔数の低値、15,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で 4 回目の脱皮に至るまでの所要日数の遅延が認められた。

示唆される作用メカニズム：脱皮ホルモン様作用

- 9) Spanò ら(2004)によって、アトラジン 102.8 ± 25.3 、 $859 \pm 142.5 \mu\text{g/L}$ (測定値)に 21 日間ばく露した雌雄成熟キンギョ(*Carassius auratus*)への影響が検討されている。その結果として、 $859 \mu\text{g/L}$ のばく露区で雄血漿中テストステロン濃度、雄血漿中 11-ケトテストステロン濃度の低値、雄血漿中 17β エストラジオール濃度の高値、雄血漿中 17β エストラジオール/テストステロン濃度比、雌卵巢中卵母細胞に占める閉鎖卵母細胞率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、アンドロゲン様作用

- 10) Nadzialek ら(2008)によって、アトラジン 98.2 ± 49.1 、 $961.45 \pm 231.5 \mu\text{g/L}$ (測定値)に 56 日間ばく露した幼若雌キンギョ(*Carassius auratus*)への影響が検討されている。その結果として、 $961.45 \mu\text{g/L}$ のばく露区において血漿中 11-ケト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：抗アンドロゲン様作用

- 11) Hecker ら(2005)によって、アトラジン 11.6、107 $\mu\text{g/L}$ (測定値)に 49 日間ばく露した成熟雄アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、 $11.6 \mu\text{g/L}$ のばく露区で精巢相対重量の低値が認められたが、精巢中精子数、血漿中テストステロン濃度、血漿中 17β エストラジオール濃度及び精巢中アロマターゼ比活性には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

⑨ 生殖への影響

- 1) Stoker ら(1999)によって、アトラジン 12.5、25、50、100 mg/kg/day を出産後 1 日目から 4 日間(9:00 と 16:00 の 2 回に分けて実施)経口投与した雌 Wistar ラットの 120 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、12.5mg/kg/day のばく露群で前立腺腹葉絶対重量の高値、25mg/kg/day 以上のばく露群で前立腺背葉での炎症(組織重量当ミエロペルオキシダーゼ活性 0.042unit/mg 超)発症率、前立腺背葉での炎症重篤度の高値、50 mg/kg/day 以上のばく露群で前立腺背葉での炎症(間質中単核性の病巣)重篤度、前立腺背葉での炎症(内腔中多形核性の病巣)重篤度の高値、50 mg/kg/day のばく露群で前立腺背葉中 DNA 総重量及び濃度の高値が認められた。

また、アトラジン 6.25、12.5、25、50mg/kg を出産 3 日目(8:00、投与前に仔動物と別離)に単回経口投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、12.5mg/kg 以上のばく露群で出産 3 日目(12:00 に仔動物との同居再開)の授乳行動誘導性母動物血清中プロラクチン濃度の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

2) Stocker ら(2000)によって、アトラジン 12.5、25、50、100、150、200mg/kg/day を 23 日齢から 31 日間経口投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、12.5、25、100、150 及び 200mg/kg/day のばく露群で包皮分離日の遅延、50mg/kg/day 以上のばく露群で腹側前立腺絶対及び相対重量の低値、200mg/kg/day のばく露群で体重、精囊(凝固腺を含む)絶対及び相対重量の低値、血清中 17 β -エストラジオール濃度、血清中エストロン濃度、血清中トリヨードサイロキシン濃度の高値が認められた。

また、アトラジン 200mg/kg/day を 23 日齢から 23 日間経口投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、精巣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：視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

3) Laws ら(2000)によって、アトラジン 12.5、25、50、100、200mg/kg/day を 22 日齢から 20 日間経口投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、12.5 及び 100mg/kg/day のばく露群で下垂体絶対及び相対重量の低値、50mg/kg/day 以上のばく露群で膣開口日の遅延、200 mg/kg/day のばく露群で体重、増加体重、肝臓絶対重量、腎臓絶対重量、副腎絶対重量、卵巣絶対重量、子宮絶対重量の低値が認められた。

また、アトラジン 12.5、25、50、100、200mg/kg/day を 22 日齢から 128 日間経口投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で正常性周期が初完了するまでの日齢の遅延、正常性周期回数(膣開口日以後 15 日間)の低値が認められた。

また、アトラジン 200mg/kg/day を 22 日齢から 20 日間経口投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、体重、増加体重、腎臓絶対重量、下垂体絶対重量、卵巣絶対重量、子宮絶対重量の低値、膣開口日の遅延が認められた。

また、アトラジン 200mg/kg/day を pair-feed 条件(対照群の摂餌量を投与群と同等に制限)にて 22 日齢から 20 日間経口投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、腎臓絶対重量、下垂体絶対重量、卵巣絶対重量、子宮絶対重量の低値、膣開口日の遅延が認められた。

示唆される作用メカニズム：視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

4) McMullin ら(2004)によって、アトラジン 30、100、300mg/kg/day を 5 日間(午前 9:00 から 10:00

にかけて実施)経口投与(及び両卵巣摘出後、投与 2 日目から 3 日間投与と同時に 17 β -エストラジオールベンゾエート 0.1mg/kg/day を皮下注射、投与 5 日目の 10:30 から 11:00 にかけてにプロゲステロン 2mg/rat を皮下注射処置)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、30mg/kg/day 以上のばく露群でエストロゲン及びプロゲステロン誘導性血清中黄体ホルモン最大濃度の低値、300mg/kg/day のばく露群でエストロゲン及びプロゲステロン誘導性血清中黄体ホルモンサージの抑制が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用

5) Ashby ら(2002)によって、アトラジン 10、30、100mg/kg/day を 21~22 日齢から 46 日齢まで経口投与した雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、30mg/kg/day 以上のばく露群で陰開口日の遅延が認められた。

また、アトラジン 10、30、100mg/kg/day を 21~22 日齢から 46 日齢まで経口投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、30mg/kg/day 以上のばく露群で体重の低値、100mg/kg/day のばく露群で陰開口日の遅延が認められた。

また、アトラジン 10、30、100mg/kg/day を 21~22 日齢から 30 日齢まで経口投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day のばく露群で体重、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：視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用

6) Eldridge ら(1999)によって、アトラジン 2.5、5、40、200mg/kg/day を 7~8 週齢から 6 週間経口投与した雌 SD ラット(投与前に正常性周期を確認)の投与期間中発情周期への影響が検討されている。その結果として、40mg/kg/day 以上のばく露群で体重、発情周期が正常な個体数の低値、発情間期が 4 日以上に遅延した個体数の高値、200mg/kg/day のばく露群で摂餌量、発情期総日数の低値、発情間期総日数の高値が認められた。

また、アトラジン 25、50、400ppm(餌中濃度)を 8~9 週齢から 25~26 週間混餌投与した雌 SD ラット(投与前に正常性周期を確認)の投与期間中発情周期への影響が検討されている。その結果として、400ppm のばく露群で発情期総日数、体重の低値、発情間期総日数の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用

7) Cummings ら(2000)によって、アトラジン 50、100、200mg/kg/day を妊娠 1 日目から 8 日間(日中プロラクチンサージ前に相当する 14:00 に実施)経口投与した雌 LE ラット(投与前に正常性周期を確認)への影響が検討されている。その結果として、50 及び 200mg/kg/day のばく露群で着床前胚吸収率の低値、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、200mg/kg/day のばく露群で増加体重の低値が認められた。

また、アトラジン 50、100、200mg/kg/day を妊娠 1 日目から 8 日間(日中プロラクチンサージ前に相当する 14:00 に実施)経口投与した雌 HLZ ラット(投与前に正常性周期を確認)への影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、着床後胚吸収率の高値、200mg/kg/day のばく露群で増加体重、子宮絶対重量、血清中プロゲステロン濃度の低値が認められた。

また、アトラジン 50、100、200mg/kg/day を妊娠 1 日目から 8 日間(日中プロラクチンサージ

前に相当する 14:00 に実施)経口投与した雌 SD ラット(投与前に正常性周期を確認)への影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で増加体重の低値、100mg/kg/day のばく露群で同腹着床数の低値、200mg/kg/day のばく露群で血清中 17 β -エストラジオール濃度の高値が認められた。

また、アトラジン 50、100、200mg/kg/day を妊娠 1 日目から 8 日間(日中プロラクチンサージ前に相当する 14:00 に実施)経口投与した雌 F344 ラット(投与前に正常性周期を確認)への影響が検討されているが、増加体重、子宮絶対重量、卵巣絶対重量、着床前胚吸収率、着床後胚吸収率、受精率、全胚吸収妊娠率、同腹着床数、血清中 17 β -エストラジオール濃度、血清中プロゲステロン濃度、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、アトラジン 50、100、200mg/kg/day を妊娠 1 日目から 8 日間(夜間プロラクチンサージ前に相当する 2:00 に実施)経口投与した雌 LE ラット(投与前に正常性周期を確認)への影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上のばく露群で増加体重、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値が認められた。

また、アトラジン 50、100、200mg/kg/day を妊娠 1 日目から 8 日間(夜間プロラクチンサージ前に相当する 2:00 に実施)経口投与した雌 HLZ ラット(投与前に正常性周期を確認)への影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上のばく露群で増加体重、卵巣絶対重量の低値、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中プロゲステロン濃度の低値、着床後胚吸収率の高値、200mg/kg/day のばく露群で同腹着床数の低値が認められた。

また、アトラジン 50、100、200mg/kg/day を妊娠 1 日目から 8 日間(夜間プロラクチンサージ前に相当する 2:00 に実施)経口投与した雌 F344 ラット(投与前に正常性周期を確認)への影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で増加体重、子宮絶対重量の低値、着床前胚吸収率の高値、100mg/kg/day のばく露群で同腹着床数の低値、200mg/kg/day のばく露群で血清中黄体形成ホルモン濃度の低値が認められた。

また、アトラジン 50、100、200mg/kg/day を妊娠 1 日目から 8 日間(夜間プロラクチンサージ前に相当する 2:00 に実施)経口投与した雌 SD ラット(投与前に正常性周期を確認)への影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で増加体重の低値が認められたが、子宮絶対重量、卵巣絶対重量、着床前胚吸収率、着床後胚吸収率、受精率、全胚吸収妊娠率、同腹着床数、血清中 17 β -エストラジオール濃度、血清中プロゲステロン濃度、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。

示唆される作用メカニズム：視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

8) Friedmann (2002)によって、アトラジン 50mg/kg/day を 46 日齢から 3 日間経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、精巣内液中テストステロン濃度、血清中テストステロン濃度の低値が認められた。

また、アトラジン 50mg/kg/day を 22 日齢から 27 日間経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、体重、精巣内液中テストステロン濃度、血清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：抗アンドロゲン様作用

9) Pogrmic ら(2009)によって、アトラジン 50、200mg/kg/day を 23 日齢から 28 日間経口投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上のばく露群で、精巣相対重量、精嚢相対重量、前立腺腹葉相対重量、ライディッチ細胞のヒト絨毛性腺刺激ホルモン誘導性アンドロゲン(テストステロン+ジヒドロテストステロン)産生能、ライディッチ細胞のヒト絨毛性腺刺激ホルモン誘導性 cAMP 産生能、ライディッチ細胞中黄体形成ホルモン受容体(LHR) mRNA 相対発現量、ライディッチ細胞中スカベンジャー受容体 B1 (SR-B1) mRNA 相対発現量、ライディッチ細胞中ステロイド産生急性調節蛋白質(stAR) mRNA 相対発現量、ライディッチ細胞中ステロイド産生因子 1 (SF-1) mRNA 相対発現量、ライディッチ細胞中ホスホジエステラーゼ 4B (PDE4B) mRNA 相対発現量、ライディッチ細胞中ステロイド 17 α -ヒドロキシラーゼ(CYP17A1) mRNA 相対発現量、ライディッチ細胞中 17 β -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ(17 β -HSD) mRNA 相対発現量の低値、副腎相対重量の高値、200mg/kg/day のばく露群で体重、前立腺背葉相対重量、血清中アンドロゲン(テストステロン+ジヒドロテストステロン)濃度、ライディッチ細胞中トランスロケータ蛋白質(TSPO) mRNA 相対発現量、ライディッチ細胞のヒト絨毛性腺刺激ホルモン誘導性プロゲステロン産生能の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

10) Rosenberg ら(2008)によって、アトラジン 1、10、50、75、100、200mg/kg/day を妊娠 14 日目から出産まで経口投与した SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上のばく露群で 60 日齢雄仔動物の血清中テストステロン濃度の低値、75mg/kg/day 以上のばく露群で妊娠 21 日目の母動物体重の低値、新生仔死亡率の高値、60 日齢雄仔動物の精巣中テストステロン濃度の低値、100mg/kg/day のばく露群で雄仔動物包皮分離日の遅延、21 日齢雄仔動物の肛門生殖突起間距離の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

11) Kniewald ら(1995)によって、アトラジン 60mg/kg/day を 90 日齢から 7 日間経口投与した雄 Fischer ラットの精巣組織におけるテストステロン代謝への影響が検討されている。その結果として、5 α -アンドロスタン-3 α ,17 β -ジオール産生量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

12) Kniewald ら(2000)によって、アトラジン 60、120mg/kg/day(週 2 回)を 90 日齢から 60 日間経口投与した雄 Fischer ラットへの影響が検討されている。その結果として、体重、下垂体相対重量、前立腺腹葉相対重量、精巣上体中精子数、精巣上体中運動精子率、精巣上体中蛋白質濃度の低値、セルトリ細胞当りの精子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

13) Cooper ら(1996)によって、アトラジン 75、150、300mg/kg/day を 90 日齢から 21 日間経口投与した雌 LE ラット(投与前に正常性周期を確認)の投与期間中の発情周期への影響が検討されている。その結果として、75mg/kg/day 以上のばく露群で正常性周期を示す個体率の低値、150mg/kg/day 以上のばく露群で体重増加率、性周期に占める発情期の低値、性周期に占める発情間期の高値、300mg/kg/day のばく露群で体重の低値が認められた。

また、アトラジン 75、150、300mg/kg/day を 90 日齢から 21 日間経口投与した雌 SD ラット(投

与前に正常性周期を確認)の投与期間中の発情周期への影響が検討されている。その結果として、150mg/kg/day 以上のばく露群で正常性周期を示す個体率の低値、性周期に発情間期の高値、300mg/kg/day のばく露群で体重の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：：視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

14) Eldridge ら(1994)によって、アトラジン 100、300mg/kg/day を 14～23 日間経口投与した雌 SD ラット(投与前に正常性周期を確認)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、卵巣絶対及び相対重量、子宮絶対及び相対重量、血清中 17 β -エストラジオール濃度、性周期に占める発情間期の低値、副腎絶対及び相対重量、膣上皮細胞角質化(cornified)係数、性周期に占める発情期の高値、性周期日数の遅延、300mg/kg/day のばく露群で膣上皮細胞有核(nucleated)係数、血清中プロゲステロン濃度の高値が認められた。

また、アトラジン 100、300mg/kg/day を 14～23 日間経口投与した雌 F344(投与前に正常性周期を確認)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、卵巣絶対及び相対重量、子宮絶対及び相対重量、膣上皮細胞角質化(cornified)係数の低値、副腎絶対及び相対重量の高値、300mg/kg/day のばく露群で性周期に占める発情期の低値が認められた。

示唆される作用メカニズム：視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

15) Rayner ら(2004)によって、アトラジン 100mg/kg/day を妊娠 15 日目から 5 日間経口投与した LE ラットが出産した雌仔動物への影響が検討されている。その結果として、体重(4 日齢)、乳腺スコア(4、22、33 及び 40 日齢)、乳腺細胞増殖活性(40 日齢)、乳腺アロマターゼ mRNA 相対発現量(33 日齢)、乳腺上皮増殖因子受容体 mRNA 相対発現量(33 日齢)、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度(58 日齢)の低値、下垂体絶対重量(58 日齢)の高値、膣開口日の遅延が認められた。

また、アトラジン 100mg/kg/day を妊娠 15 日目から 5 日間経口投与した LE ラットの出産後に実施した cross-foster 試験(母動物を非ばく露動物に交換し継続哺育)における雌仔動物への影響が検討されている。その結果として、乳腺スコア(4 及び 22 日齢)、乳腺細胞増殖活性(40 日齢)、乳腺上皮増殖因子受容体 mRNA 相対発現量(33 日齢)の低値、膣開口日の遅延が認められた。

また、アトラジン 100mg/kg/day を妊娠 15 日目から 5 日間経口投与した LE ラットの出産後に実施した cross-foster 試験(仔動物を非ばく露動物に交換し継続哺育)における雌仔動物への影響が検討されている。その結果として、乳腺スコア(4 及び 22 日齢)の低値が認められたが、体重、乳腺細胞増殖活性、乳腺アロマターゼ mRNA 相対発現量、乳腺上皮増殖因子受容体 mRNA 相対発現量、下垂体絶対重量、卵巣絶対重量、子宮絶対重量、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中プロラクチン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、膣開口日には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用、胎仔乳腺への直接影響

16) Rayner ら(2007)によって、アトラジン 100mg/kg/day を妊娠 15 日目から 5 日間経口投与した LE ラットが出産した雄仔動物への影響が検討されている。その結果として、左前立腺背葉中ミエロペルオキシダーゼ濃度(220 日齢)、血清中プロラクチン濃度(220 日齢)の低値、下垂体絶対重量(220 日齢)、前立腺背葉絶対重量(120 及び 220 日齢)、前立腺の異常発生率の高値(120 及び 220 日齢)、包皮分離日の遅延が認められた。

また、アトラジン 100mg/kg/day を妊娠 15 日目から 5 日間経口投与した LE ラットの出産後に実

施した cross-foster 試験(親動物を非ばく露動物に交換し継続哺育)における雄仔動物への影響が検討されている。その結果として、体重(120 日齢)、血清中プロラクチン濃度(220 日齢)の低値、下垂体絶対重量(220 日齢)、前立腺背葉絶対重量(220 日齢)の高値が認められた。

また、アトラジン 100mg/kg/day を妊娠 15 日目から 5 日間経口投与した LE ラットの出産後に実施した cross-foster 試験(仔動物を非ばく露動物に交換し継続哺育)における雄仔動物への影響が検討されている。その結果として、体重(120 日齢)、血清中プロラクチン濃度(220 日齢)の低値が認められたが、下垂体絶対重量、左精巣絶対重量、右精巣絶対重量、精囊絶対重量、前立腺背葉絶対重量、前立腺の異常発生率(剖検観察)、左前立腺背葉中ミエロペルオキシダーゼ濃度、血清中テストステロン濃度、血清中アンドロステンジオン濃度、血清中エストロン濃度、包皮分離日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：視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

17) Trentacoste ら(2001)によって、アトラジン 1、2.5、5、10、25、50、100、200mg/kg/day を 22 日齢から 26 日間経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で体重、前立腺腹葉絶対重量、精囊絶対重量、血清中テストステロン濃度、精巣中テストステロン濃度の低値、200mg/kg/day のばく露群で血清中黄体形成ホルモン濃度の低値が認められた。

また、アトラジン 100mg/kg/day を pair-feed 条件(対照群の摂餌量を投与群と同等に制限)にて 22 日齢から 26 日間経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されているが、体重、前立腺腹葉絶対重量、精囊絶対重量、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。

示唆される作用メカニズム：視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

⑩ 発達影響

1) Belloni ら(2011)によって、アトラジン 0.001、0.1mg/kg/day を妊娠 14 日目から出産 21 日目まで経口投与した CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、0.001mg/kg/day 以上のばく露群で 16 日齢仔動物の新奇物質探索試験における嗅ぎ行動持続時間、60～65 日齢仔動物肝臓ミクロソーム中テストステロン 28-ヒドロキシラーゼ活性、60～65 日齢仔動物肝臓ミクロソーム中テストステロン 16 α -ヒドロキシラーゼ活性の高値、60～65 日齢仔動物肝臓ミクロソーム中テストステロン 16 α -ヒドロキシラーゼ活性の低値、0.001mg/kg/day のばく露群で 16 日齢仔動物(雌雄混合)のオープンフィールド試験における探索行動頻度、雄仔動物の社会的探索行動(31 日齢での生殖器嗅ぎ行動、追跡行動、社会的グルーミング行動)頻度の高値、0.1mg/kg/day のばく露群で雄仔動物精巣中総精子数(60～65 日齢)、雄仔動物精巣重量当精子数(60～65 日齢)の低値、雄仔動物の非社会的探索行動(31 日齢での探索行動、壁面立ち上り行動、嗅ぎ行動)頻度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) Fraites ら(2011)によって、アトラジン 1、5、20、100mg/kg/day を妊娠 14 日目から 8 日間経口投与した SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、5mg/kg/day 以上のばく露群で雄仔動物下垂体絶対重量(59 日齢)の低値、100mg/kg/day のばく露群で雄仔動物体重(0、4、46 及

び 59 日齢)、仔動物生存率(4 日齢)の低値が認められたが、着床部位数、生存新生仔数、新生仔雄性比、出産前胚死亡率、雄仔動物肛門生殖突起間距離(7、59 日齢)、雄仔動物血清中テストステロン濃度(59 日齢)、雄仔動物精巣間質液中テストステロン濃度(59 日齢)、雄仔動物血清中黄体形成ホルモン濃度(59 日齢)、雄仔動物精巣のテストステロン産生能(0、59 日齢)、雄仔動物左精巣絶対及び相対重量(59 日齢)、雄仔動物右精巣絶対及び相対重量(59 日齢)、雄仔動物両精巣絶対及び相対重量(59 日齢)、雄仔動物左精巣上体絶対及び相対重量(59 日齢)、雄仔動物精囊絶対及び相対重量(59 日齢)、雄仔動物前立腺腹葉絶対及び相対重量(59 日齢)、雄仔動物の取っ組み合い遊び(rough and tumble play)行動試験における行動持続時間及び頻度(30～33 日齢)、社会交流(social interaction)行動試験における肛門性器臭いかぎ行動頻度(30～33 日齢)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：抗アンドロゲン様作用

⑪ 甲状腺影響

1) Kornilovskaya ら(1996)によって、アトラジン 240mg/kg/day を 12 日間経口投与した雌 Wistar ラッへの影響が検討されている。その結果として、甲状腺濾胞周辺部マスト細胞の脱顆粒度の低値、甲状腺濾胞長、甲状腺濾胞幅、甲状腺間質マスト細胞の脱顆粒度の高値が認められた。

示唆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

参考文献

Oka T, Tooi O, Mitsui N, Miyahara M, Ohnishi Y, Takase M, Kashiwagi A, Shinkai T, Santo N and Iguchi T (2008) Effect of atrazine on metamorphosis and sexual differentiation in *Xenopus laevis*. *Aquatic Toxicology*, 87 (4), 215-226.(①本文中の作用の区分 1)報告の番号を示す。以下同じ。②7))

Sanderson JT, Letcher RJ, Heneweer M, Giesy JP and van den Berg M (2001) Effects of chloro-s-triazine herbicides and metabolites on aromatase activity in various human cell lines and on vitellogenin production in male carp hepatocytes. *Environmental Health Perspectives*, 109 (10), 1027-1031.(①2)、②8)、⑥4))

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.(②1))

McMullin TS, Andersen ME, Nagahara A, Lund TD, Pak T, Handa RJ and Hanneman WH (2004) Evidence that atrazine and diaminochlorotriazine inhibit the estrogen/progesterone induced surge of luteinizing hormone in female Sprague-Dawley rats without changing estrogen receptor action. *Toxicological Sciences*, 79 (2), 278-286.(②2)、⑨4))

- 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*, 43 (6), 2144-2150.(②3)、③1)、④3)、⑦1))
- Scippo ML, Argiris C, van de Weerd C, Muller M, Willemsen P, Martial J and Maghuin-Rogister G (2004) Recombinant human estrogen, androgen and progesterone receptors for detection of potential endocrine disruptors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378 (3), 664-669.(②4)、⑤1))
- Tennant MK, Hill DS, Eldridge JC, Wetzel LT, Breckenridge CB and Stevens JT (1994) Possible antiestrogenic properties of chloro-s-triazines in rat uterus. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 43 (2), 183-196.(②5))
- Cooper RL, Stoker TE, Tyrey L, Goldman JM and McElroy WK (2000) Atrazine disrupts the hypothalamic control of pituitary-ovarian function. *Toxicological Sciences*, 53 (2), 297-307.(②6))
- Danzo BJ (1997) Environmental xenobiotics may disrupt normal endocrine function by interfering with the binding of physiological ligands to steroid receptors and binding proteins. *Environmental Health Perspectives*, 105 (3), 294-301.(②9)、④2))
- Kniewald J, Osredecki V, Gojmerac T, Zechner V and Kniewald Z (1995) Effect of s-triazine compounds on testosterone metabolism in the rat prostate. *Journal of Applied Toxicology*, 15 (3), 215-218.(④1)、⑨11))
- Friedmann AS (2002) Atrazine inhibition of testosterone production in rat males following peripubertal exposure. *Reproductive Toxicology*, 16 (3), 275-279.(④4)、⑨8))
- Thomas P and Sweatman J (2008) Interference by atrazine and bisphenol-A with progestin binding to the ovarian progestin membrane receptor and induction of oocyte maturation in Atlantic croaker. *Marine Environmental Research*, 66 (1), 1-2.(⑤1))
- Fan W, Yanase T, Morinaga H, Gondo S, Okabe T, Nomura M, Hayes TB, Takayanagi R and Nawata H (2007) Herbicide atrazine activates SF-1 by direct affinity and concomitant co-activators recruitments to induce aromatase expression via promoter II. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 355 (4), 1012-1018.(⑥1))
- Holloway AC, Anger DA, Crankshaw DJ, Wu M and Foster WG (2008) Atrazine-induced changes in

- aromatase activity in estrogen sensitive target tissues. *Journal of Applied Toxicology*, 28 (3), 260-270.(62))
- Sanderson JT, Seinen W, Giesy JP and van den Berg M (2000) 2-Chloro-*s*-triazine herbicides induce aromatase (CYP19) activity in H295R human adrenocortical carcinoma cells: a novel mechanism for estrogenicity? *Toxicological Sciences*, 54 (1), 121-127.(63))
- Laville N, Balaguer P, Brion F, Hinfray N, Casellas C, Porcher JM and Ait-Aissa S (2006) Modulation of aromatase activity and mRNA by various selected pesticides in the human choriocarcinoma JEG-3 cell line. *Toxicology*, 228 (1), 98-108.(65))
- Tinfo NS, Hotchkiss MG, Buckalew AR, Zorrilla LM, Cooper RL and Laws SC (2011) Understanding the effects of atrazine on steroidogenesis in rat granulosa and H295R adrenal cortical carcinoma cells. *Reproductive Toxicology*, 31 (2), 184-193.(66))
- Benachour N, Moslemi S, Sipahutar H and Seralini GE (2007) Cytotoxic effects and aromatase inhibition by xenobiotic endocrine disrupters alone and in combination. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 222 (2), 129-140.(67))
- Hayes T, Haston K, Tsui M, Hoang A, Haeffele C and Vonk A (2003) Atrazine-induced hermaphroditism at 0.1 ppb in American leopard frogs (*Rana pipiens*): laboratory and field evidence. *Environmental Health Perspectives*, 111 (4), 568-575.(81))
- Dodson SI, Merritt CM, Shannahan JP and Shults CM (1999) Low exposure concentrations of atrazine increase male production in *Daphnia pulex*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18 (7), 1568-1573.(82))
- Storrs-Mendez SI and Semlitsch RD (2010) Intersex gonads in frogs: understanding the time course of natural development and role of endocrine disruptors. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 314 (1), 57-66.(83))
- Yang L, Zha J, Zhang X, Li W, Li Z and Wang Z (2010) Alterations in mRNA expression of steroid receptors and heat shock proteins in the liver of rare minnow (*Grobicypris rarus*) exposed to atrazine and *p,p'*-DDE. *Aquatic Toxicology*, 98 (4), 381-387.(84))
- Tavera-Mendoza L, Ruby S, Brousseau P, Fournier M, Cyr D and Marcogliese D (2002) Response of the amphibian tadpole (*Xenopus laevis*) to atrazine during sexual differentiation of the testis.

Environmental Toxicology and Chemistry, 21 (3), 527-531.(85))

Carr JA, Gentles A, Smith EE, Goleman WL, Urquidi LJ, Thuett K, Kendall RJ, Giesy JP, Gross TS, Solomon KR and van der Kraak G (2003) Response of larval *Xenopus laevis* to atrazine: assessment of growth, metamorphosis, and gonadal and laryngeal morphology. Environmental Toxicology and Chemistry, 22 (2), 396-405.(86))

Hecker M, Kim WJ, Park JW, Murphy MB, Villeneuve D, Coady KK, Jones PD, Solomon KR, van der Kraak G, Carr JA, Smith EE, du Preez L, Kendall RJ and Giesy JP (2005) Plasma concentrations of estradiol and testosterone, gonadal aromatase activity and ultrastructure of the testis in *Xenopus laevis* exposed to estradiol or atrazine. Aquatic Toxicology, 72 (4), 383-396.(87))

Palma P, Palma VL, Matos C, Fernandes RM, Bohn A, Soares AM and Barbosa IR (2009) Effects of atrazine and endosulfan sulphate on the ecdysteroid system of *Daphnia magna*. Chemosphere, 74 (5), 676-681.(88))

Spanò L, Tyler CR, van Aerle R, Devos P, Mandiki SN, Silvestre F, Thome JP and Kestemont P (2004) Effects of atrazine on sex steroid dynamics, plasma vitellogenin concentration and gonad development in adult goldfish (*Carassius auratus*). Aquatic Toxicology, 66 (4), 369-379.(89))

Nadzialek S, Spano L, Mandiki SN and Kestemont P (2008) High doses of atrazine do not disrupt activity and expression of aromatase in female gonads of juvenile goldfish (*Carassius auratus* L.). Ecotoxicology, 17 (6), 464-470.(90))

Hecker M, Park JW, Murphy MB, Jones PD, Solomon KR, van der Kraak G, Carr JA, Smith EE, du Preez L, Kendall RJ and Giesy JP (2005) Effects of atrazine on CYP19 gene expression and aromatase activity in testes and on plasma sex steroid concentrations of male African clawed frogs (*Xenopus laevis*). Toxicological Sciences, 86 (2), 273-280.(91))

Stoker TE, Robinette CL and Cooper RL (1999) Maternal exposure to atrazine during lactation suppresses suckling-induced prolactin release and results in prostatitis in the adult offspring. Toxicological Sciences, 52 (1), 68-79.(92))

Stoker TE, Laws SC, Guidici DL and Cooper RL (2000) The effect of atrazine on puberty in male wistar rats: an evaluation in the protocol for the assessment of pubertal development and thyroid function. Toxicological Sciences, 58 (1), 50-59.(93))

- Laws SC, Ferrell JM, Stoker TE, Schmid J and Cooper RL (2000) The effects of atrazine on female wistar rats: an evaluation of the protocol for assessing pubertal development and thyroid function. *Toxicological Sciences*, 58 (2), 366-376.(93))
- Ashby J, Tinwell H, Stevens J, Pastoor T and Breckenridge CB (2002) The effects of atrazine on the sexual maturation of female rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 35 (3), 468-473.(95))
- Eldridge JC, Wetzel LT and Tyrey L (1999) Estrous cycle patterns of Sprague-Dawley rats during acute and chronic atrazine administration. *Reproductive Toxicology*, 13 (6), 491-499.(96))
- Cummings AM, Rhodes BE and Cooper RL (2000) Effect of atrazine on implantation and early pregnancy in 4 strains of rats. *Toxicological Sciences*, 58 (1), 135-143.(97))
- Pogrmic K, Fa S, Dakic V, Kaisarevic S and Kovacevic R (2009) Atrazine oral exposure of peripubertal male rats downregulates steroidogenesis gene expression in Leydig cells. *Toxicological Sciences*, 111 (1), 189-197.(99))
- Rosenberg BG, Chen H, Folmer J, Liu J, Papadopoulos V and Zirkin BR (2008) Gestational exposure to atrazine: effects on the postnatal development of male offspring. *Journal of Andrology*, 29 (3), 304-311.(10))
- Kniewald J, Jakominic M, Tomljenovic A, Simic B, Romac P, Vranesic D and Kniewald Z (2000) Disorders of male rat reproductive tract under the influence of atrazine. *Journal of Applied Toxicology*, 20 (1), 61-68.(12))
- Cooper RL, Stoker TE, Goldman JM, Parrish MB and Tyrey L (1996) Effect of atrazine on ovarian function in the rat. *Reproductive Toxicology*, 10 (4), 257-264.(13))
- Eldridge JC, Fleenor-Heysler DG, Extrom PC, Wetzel LT, Breckenridge CB, Gillis JH, Luempert LG, 3rd and Stevens J (1994) Short-term effects of chlorotriazines on estrus in female Sprague-Dawley and Fischer 344 rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 43 (2), 155-167.(14))
- Rayner JL, Wood C and Fenton SE (2004) Exposure parameters necessary for delayed puberty and mammary gland development in Long-Evans rats exposed in utero to atrazine. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 195 (1), 23-34.(15))

Rayner JL, Enoch RR, Wolf DC and Fenton SE (2007) Atrazine-induced reproductive tract alterations after transplacental and/or lactational exposure in male Long-Evans rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 218 (3), 238-248.(©16))

Trentacoste SV, Friedmann AS, Youker RT, Breckenridge CB and Zirkin BR (2001) Atrazine effects on testosterone levels and androgen-dependent reproductive organs in peripubertal male rats. *Journal of Andrology*, 22 (1), 142-148.(©17))

Belloni V, Dessì-Fulgheri F, Zaccaroni M, Di Consiglio E, De Angelis G, Testai E, Santochirico M, Alleva E and Santucci D (2011) Early exposure to low doses of atrazine affects behavior in juvenile and adult CD1 mice. *Toxicology*, 279 (1-3), 19-26.(©11))

Fraites MJ, Narotsky MG, Best DS, Stoker TE, Davis LK, Goldman JM, Hotchkiss MG, Klinefelter GR, Kamel A, Qian Y, Podhorniak L and Cooper RL (2011) Gestational atrazine exposure: Effects on male reproductive development and metabolite distribution in the dam, fetus, and neonate. *Reproductive Toxicology*, 32 (1):52-63.(©2))

Kornilovskaya IN, Gorelaya MV, Usenko VS, Gerbilsky LV and Berezin VA (1996) Histological studies of atrazine toxicity on the thyroid gland in rats. *Biomedical and Environmental Sciences*, 9 (1), 60-66.(©1))

(2) 2,6-ジ-*tert*-ブチル-4-メチルフェノール(別名: BHT)

① エストロゲン作用

1) Wada ら(2004)によって、2,6-ジ-*tert*-ブチル-4-メチルフェノール(別名: BHT) 1、5、10、50、100 μ M(=0.22、1.1、2.2、11、22mg/L)に 24 時間ばく露したヒト腎臓線維芽細胞 293T(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(エストロゲン応答性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、2,6-ジ-*tert*-ブチル-4-メチルフェノール(別名: BHT)は、50 μ M(=11.0mg/L)以上の濃度で、ルシフェラーゼの発現を誘導した。

② 抗エストロゲン作用

1) Inoue ら(2002)によって、2,6-ジ-*tert*-ブチル-4-メチルフェノール(別名: BHT)について、ヒトエストロゲン受容体 α を用いた結合阻害試験が検討されているが、2,6-ジ-*tert*-ブチル-4-メチルフェノール(別名: BHT)は、0.00001~100 μ M(=0.0000022~22mg/L)の濃度で 17 β エストラジオールによる結合を阻害しなかった。

③ 抗アンドロゲン作用

1) Schrader と Cooke(2000)によって、2,6-ジ-*tert*-ブチル-4-メチルフェノール(別名: BHT) 0.1、1、10 μ M(=0.022、0.22、2.2mg/L)に 18 時間ばく露したヒト前立腺上皮がん細胞 PC-3(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(アンドロゲン応答性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、2,6-ジ-*tert*-ブチル-4-メチルフェノール(別名: BHT)は、IC₅₀ 値 5.7 μ M(=1.26mg/L)の濃度及び 10 μ M(=2.2mg/L)の濃度で 5 α -ジヒドロテストステロン 50pM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害した。

④ 哺乳類黄体細胞への影響

1) Carlson ら(1995)によって、2,6-ジ-*tert*-ブチル-4-メチルフェノール(別名: BHT) 9、23、34、45、57 μ M(=1.98、5.07、7.49、9.91、12.6mg/L)に 90 分間ばく露した偽妊娠 4 日目雌 Wistar ラット黄体細胞への影響が検討されている。その結果として、23 μ M(=5.07mg/L)以上の濃度でプロゲステロン分泌量の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム: プロゲステロン様作用

参考文献

Wada H, Tarumi H, Imazato S, Narimatsu M and Ebisu S (2004) *In vitro* estrogenicity of resin composites. *Journal of Dental Research*, 83 (3), 222-226.(①1)

Inoue K, Okumura H, Higuchi T, Oka H, Yoshimura Y and Nakazawa H (2002) Characterization of estrogenic compounds in medical polyvinyl chloride tubing by gas chromatography-mass spectrometry and estrogen receptor binding assay. *Clinica Chimica Acta*, 325 (1-2), 157-163.(②1)

Schrader TJ and Cooke GM (2000) Examination of selected food additives and organochlorine food contaminants for androgenic activity *in vitro*. *Toxicological Sciences*, 53 (2), 278-288.(③1)

Carlson JC, Sawada M, Boone DL and Stauffer JM (1995) Stimulation of progesterone secretion in dispersed cells of rat corpora lutea by antioxidants. *Steroids*, 60 (3), 272-276.(④1)

(3) 1-ナフトール

① 甲状腺ホルモン作用

1) Sun ら(2008)によって、1-ナフトール 10、50、100 μ M(=1.44、7.21、14.4mg/L)に 24 時間ばく露したヒト肝がん細胞 HepG2(甲状腺ホルモン受容体 *B* 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(プロモータ領域に甲状腺ホルモン応答性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、1-ナフトールは、ルシフェラーゼ発現を誘導しなかった。

② 抗甲状腺ホルモン作用

1) Sun ら(2008)によって、1-ナフトール 10、50、100 μ M(=1.44、7.21、14.4mg/L)に 24 時間ばく露したヒト肝がん細胞 HepG2(甲状腺ホルモン受容体 β 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(プロモータ領域に甲状腺ホルモン応答性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-ナフトールは、10 μ M(=1.44mg/L)以上の濃度及び IC₅₀ 値 76.2 μ M(=11.0 μ 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発現誘導を阻害した。

③ 疫学的調査

1) Han ら(2010)によって、1-ナフトールについて、中国 NIMU Infertile Study にて 2004 年から 2007 年にかけて Nanjing Medical University Hospital に不妊症診断に訪れた男性(642 名中、インフォームドコンセント等の条件を満たし配偶者の不妊症等を除外した 562 名。尿中 1-ナフトール補正幾何平均濃度 3.363 μ g/g クレアチニン)への影響が検討されている。その結果として、多変数線形回帰分析(三分位間)において尿中 1-ナフトール濃度と黄体形成ホルモン濃度異常(5IU/L 未満、30IU/L 以上)発生率とに正の相関が認められた。

示唆される作用メカニズム：視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用

2) Meeker ら(2007)によって、1-ナフトールについて、米国 Massachusetts 州 Boston 市の Massachusetts General Hospital にて 2000 年から 2003 年にかけて不妊症診断に訪れた男性(370 名中、尿サンプルを提出し避妊薬の投与歴のない 330 名。尿中 1-ナフトール検出状況は、検出率 99.7%、補正幾何平均濃度 3.38 μ g/L)への影響(尿中 1-ナフトール濃度との相関性、八分位間比較と思われる)が検討されている。その結果として、1-ナフトール/2-ナフトール濃度比が >2 となる群(175 名、主要ばく露源としてカルバリルが想定される)では、多変数線形回帰分析において運動精子率、血清中テストステロン濃度とに負の相関、多変数ロジスティック回帰分析において精子運動不全(運動精子率 50%未満)発生率とに正の相関が認められた。また、1-ナフトール/2-ナフトール濃度比が <2 となる群(96 名、主要ばく露源としてカルバリルの他、ナフトレンが想定される)では、多変数線形回帰分析において精子 DNA 損傷率とに正の相関が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

3) Meeker ら(2006a)によって、1-ナフトールについて、米国 Massachusetts 州 Boston 市の Massachusetts General Hospital にて 2000 年から 2003 年にかけて不妊症診断に訪れた女性の配偶者(262 名。尿中 1-ナフトール補正幾何平均濃度 3.01 μ g/L)への影響が検討されている。その結果として、多変数線形回帰分析(五分位間)において尿中 1-ナフトール濃度と血清中テストステロン濃度とに負の相関が認められた。

示唆される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

4) Meeker ら(2006b)によって、1-ナフトールについて、米国 Massachusetts 州 Boston 市の Massachusetts General Hospital にて 2000 年から 2003 年にかけて不妊症診断に訪れた女性の配偶者(301 名。尿中 1-ナフトール補正幾何平均濃度 2.22 μ g/L)への影響(尿中 1-ナフトール濃度と

血清中ホルモン濃度との相関性が検討されているが、多変数線形回帰分析(五分位間)において血清中遊離サイロキシン濃度、総トリヨードサイロニン濃度及び甲状腺刺激ホルモン濃度とには相関が認められなかった。

示唆される作用メカニズム：甲状腺ホルモン様作用

参考文献

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.(①1)、②1))

Han Y, Xia Y, Zhu P, Qiao S, Zhao R, Jin N, Wang S, Song L, Fu G and Wang X (2010) Reproductive hormones in relation to polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) metabolites among non-occupational exposure of males. Science of the Total Environment, 408 (4), 768-773.(③1))

Meeker JD, Barr DB, Serdar B, Rappaport SM and Hauser R (2007) Utility of urinary 1-naphthol and 2-naphthol levels to assess environmental carbaryl and naphthalene exposure in an epidemiology study. Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology, 17 (4), 314-320.(③2))

Meeker JD, Ryan L, Barr DB and Hauser R (2006a) Exposure to nonpersistent insecticides and male reproductive hormones. Epidemiology, 17 (1), 61-68.(③3))

Meeker JD, Barr DB and Hauser R (2006b) Thyroid hormones in relation to urinary metabolites of non-persistent insecticides in men of reproductive age. Reproductive Toxicology, 22 (3), 437-442.(③4))

(4) 4-*t*ペンチルフェノール

① エストロゲン作用

1) Smeets ら(1999)によって、4-*t*ペンチルフェノール 1、5、20、50、100 μ M(=0.164、0.821、3.28、8.21、16.4mg/L)の濃度に4日間ばく露した雄コイ(*Cyprinus carpio*)肝臓培養細胞によるビテロゲニンアッセイが検討されている。4-*t*ペンチルフェノールは、50 μ M(=8.21mg/L)以上の濃度でビテロゲニン発現を誘導した。

② 抗エストロゲン作用

1) Smeets ら(1999)によって、4-*t*ペンチルフェノール 1、5、20、50、100 μ M(=0.164、0.821、3.28、8.21、16.4mg/L)の濃度に4日間ばく露した雄コイ(*Cyprinus carpio*)肝臓培養細胞によるビテロゲ

ニンアッセイが検討されているが、4-*t*ペンチルフェノールは、100 μ M(=16.4mg/L)までの濃度で17 β エストラジオール 20nM によるビテロゲニン発現誘導を阻害しなかった。

③ 生態影響

1) Gimeno ら(1998a)によって、4-*t*ペンチルフェノール 32、100、320、1,000 μ g/L(設定値)に 210 日齢から 3 ヶ月間ばく露した成熟雄コイ(*Cyprinus carpio*)への影響が検討されている。その結果として、32 μ g/L 以上のばく露区で精巣小葉径の低値、32、100 及び 320 μ g/L のばく露区で生殖腺相対重量(生殖腺体指数)の低値、1,000 μ g/L のばく露区で精巣中精子濃度(スパマトクリット値)の低値、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

2) Gimeno ら(1998b)によって、4-*t*ペンチルフェノール 36 \pm 22、90 \pm 62、256 \pm 181 μ g/L(測定値)に 50 日齢から最長 110 日間ばく露した幼若雄コイ(*Cyprinus carpio*)への影響が検討されている。その結果として、36 μ g/L 以上のばく露区で精巣中始原生殖細胞数(80 日後)の低値、精巣中卵管発生率(90 日後)の高値、256 μ g/L のばく露区で血漿中ビテロゲニン濃度(110 日後)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) Panter ら(2010)によって、4-*t*ペンチルフェノール 48.0 \pm 1.3、173.0 \pm 1.8、569.6 \pm 6.6 μ g/L(測定値)に約 5 ヶ月から 21 日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、48.0 μ g/L 以上のばく露区で総産卵数、産卵回数(低値)、569.6 μ g/L のばく露区で雄血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

また、卵を回収し、非ばく露で F₁ が 90 日齢に達するまで飼育(非ばく露)すると 48.0 μ g/L のばく露区で雌雄肥満度、卵巣相対重量(雌生殖腺体指数)の低値、173.0 μ g/L のばく露区で精巣相対重量(雄生殖腺体指数)の低値、雄体重、雄体長、雄血漿中ビテロゲニン濃度、雌体重の高値、569.6 μ g/L のばく露区で雌体長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

4) Panter ら(2006)によって、4-*t*ペンチルフェノール 56.6 \pm 14.1、187.9 \pm 18.7、599.1 \pm 41.7 μ g/L(測定値)に受精後 24 時間以内から 107 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、56.6 μ g/L 以上のばく露区で雌肥満度の低値、187.9 μ g/L のばく露区で雌血漿中ビテロゲニン濃度の高値、599.1 μ g/L のばく露区で雄性比、雌生殖腺体指数(卵巣相対重量)の低値、雌雄性腺の腸間膜への結合箇所数の高値、孵化日の遅延が認められた。

示唆される作用メカニズム：視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用

5) Gimeno ら(1997)によって、4-*t*ペンチルフェノール 140 μ g/L(設定値)に 0 日齢から 110 日齢までばく露した雄コイ(*Cyprinus carpio*)への影響が検討されている。その結果として、精巣中始原生殖細胞数、精巣中輸精管発生率の低値、精巣中輸卵管発生率の高値が認められた。

また、4-*t*ペンチルフェノール 140 μ g/L(設定値)に 24 日齢から 110 日齢までばく露した雄コイ(*Cyprinus carpio*)への影響が検討されている。その結果として、精巣中始原生殖細胞数、精巣中輸精管発生率の低値、精巣中輸卵管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

6) Seki ら(2003)によって、4-*t*-ペンチルフェノール 51.1±10.9、100±9.9、224±11.0、402±6.2、931±6.3µg/L(測定値)に受精後12時間以内から60日齢までばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、224µg/L以上のばく露区で精巣発生率の低値、精巣卵発生率、卵巣発生率の高値、402µg/L以上のばく露区で雄性比の低値、931µg/Lのばく露区で体長、体重の低値、累積死亡率の高値が認められた。

また、上記雌雄を更に101日齢まで継続ばく露すると、51.1、224、402µg/Lのばく露区で雄肝臓中ビテロゲン濃度の高値、224µg/Lのばく露区で受精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

参考文献

- Smeets JM, van Holsteijn I, Giesy JP, Seinen W and van den Berg M (1999) Estrogenic potencies of several environmental pollutants, as determined by vitellogenin induction in a carp hepatocyte assay. *Toxicological Sciences*, 50 (2), 206-213.(①1)、②1)
- Gimeno S, Komen H, Jobling S, Sumpter J and Bowmer T (1998a) Demasculinisation of sexually mature male common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to 4-*tert*-pentylphenol during spermatogenesis. *Aquatic Toxicology*, 43 (2-3), 93-109.(③1)
- Gimeno S, Komen H, Gerritsen AG and Bowmer T (1998b) Feminisation of young males of the common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to 4-*tert*-pentylphenol during sexual differentiation. *Aquatic Toxicology*, 43 (2-3), 77-92.(③2)
- Panter GH, Hutchinson TH, Hurd KS, Bamforth J, Stanley RD, Wheeler JR and Tyler CR (2010) Effects of a weak oestrogenic active chemical (4-*tert*-pentylphenol) on pair-breeding and F1 development in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Aquatic Toxicology*, 97 (4), 314-323.(③3)
- Panter GH, Hutchinson TH, Hurd KS, Bamforth J, Stanley RD, Duffell S, Hargreaves A, Gimeno S and Tyler C (2006) Development of chronic tests for endocrine active chemicals. Part 1. An extended fish early-life stage test for oestrogenic active chemicals in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Aquatic Toxicology*, 77 (3), 279-290.(③4)
- Gimeno S, Komen H, Venderbosch PW and Bowmer T (1997) Disruption of sexual differentiation in genetic male common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to an alkylphenol during different life stages. *Environmental Science and Technology*, 31 (10), 2884-2890.(③5)

Seki M, Yokota H, Matsubara H, Maeda M, Tadokoro H and Kobayashi K (2003) Fish full life-cycle testing for the weak estrogen 4-*tert*-pentylphenol on medaka (*Oryzias latipes*). Environmental Toxicology and Chemistry, 22 (7), 1487-1496.(③6)

(5) メソミル

① エストロゲン作用

1) Klotz ら(1997)によって、メソミル 0.1 μ M(=16.2 μ g/L)の濃度に 18 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(エストロゲン応答性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、メソミルは、ルシフェラーゼの発現を誘導した。

また、メソミル 0.1 μ M(=16.2 μ g/L)の濃度に 18 時間ばく露した Ishikawa 子宮内膜がん細胞(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(エストロゲン応答性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を誘導しなかった。

2) Andersen ら(2002)によって、メソミル 0.01~50 μ M(=1.62~8,110 μ g/L)の濃度に 6 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験が検討されているが、細胞増殖を誘導しなかった。

また、メソミル 0.01~50 μ M(=1.62~8,110 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(エストロゲン応答性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を誘導しなかった。

② 抗エストロゲン作用

1) Klotz ら(1997)によって、メソミル 0.1 μ M(=16.2 μ g/L)の濃度に 18 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(エストロゲン応答性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、メソミルは、17 β -エストラジオール 0.5nM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害した。

また、メソミル 0.1 μ M(=16.2 μ g/L)の濃度に 18 時間ばく露した Ishikawa 子宮内膜がん細胞(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(エストロゲン応答性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、メソミルは、17 β -エストラジオール 1nM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害した。

また、メソミルについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 中の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、メソミルは、10 μ M(=1,620 μ g/L)の濃度で標識 17 β -エストラジオール 0.5nM による結合を阻害した。

2) Andersen ら(2002)によって、メソミル 0.01~50 μ M(=1.62~8,110 μ g/L)の濃度に 6 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖阻害試験が検討されているが、細胞増殖誘導を阻害しなかった。

また、メソミル 0.01~50 μ M(=1.62~8,110 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(エストロゲン応答性レポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、17 β -エストラジオール 10nM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害しなかった。

③ 抗アンドロゲン作用

1) Andersen ら(2002)によって、メソミル 0.01~50 μ M(=1.62~8,110 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-KI(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(アンドロゲン応答性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、メチルトリエノロン 0.1nM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害しなかった。

④ プロゲステロン作用

1) Klotz ら(1997)によって、メソミル 0.1 μ M(=16.2 μ g/L)の濃度に 18 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D(ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(プロゲステロン応答性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、メソミルは、ルシフェラーゼの発現を誘導した。

⑤ 抗プロゲステロン作用

1) Klotz ら(1997)によって、メソミル 0.1 μ M(=16.2 μ g/L)の濃度に 18 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D(ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(プロゲステロン応答性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、メソミルは、プロゲステロン(プロメゲストンと思われる) 1nM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害した。

また、メソミルについて、ヒト乳がん細胞 T47D 中のヒトプロゲステロン受容体を用いた結合阻害試験が検討されている。その結果として、メソミルは、1 μ M(=162 μ g/L)の濃度で標識プロメゲストン 1nM による結合を阻害した。

⑥ 生殖への影響

1) Shalaby ら(2011)によって、メソミル 0.5、1.0mg/kg/day を 17~19 週齢から 65 日間経口投与した SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、1.0mg/kg/day のばく露群で精巣絶対重量、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、精巣上体中精子数、運動精子率、血清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：抗アンドロゲン様作用

2) Mahgoub と El-Medany (2001)によって、メソミル 17mg/kg/day を 60 日間経口投与した雄 Wistar ラットの血清中ホルモン濃度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の低値、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、黄体形成ホルモン濃度及びプロラクチン濃度の高値が認められた。

示唆される作用メカニズム：坑アンドロゲン様作用

参考文献

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)、②1)、④1)、⑤1))

Andersen HR, Vinggaard AM, Rasmussen TH, Gjermansen IM and Bonfeld-Jorgensen 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.(①2)、②2)、③1))

Shalaby MA, El Z, H Y and Ziada RM (2010) Reproductive toxicity of methomyl insecticide in male rats and protective effect of folic acid. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (11), 3221-3226.(⑥1)

Mahgoub AA and El-Medany AH (2001) Evaluation of chronic exposure of the male rat reproductive system to the insecticide methomyl. *Pharmacological Research*, 44 (2), 73-80.(⑥2))