

**化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告の信頼性評価
の実施結果について(令和元年度実施分)(案)**

I. 平成30年度に実施した文献情報に基づく影響評価(信頼性評価)について

平成30年度に信頼性評価を実施する対象として選定した9物質のうち、表1に記載された4物質について令和元年度に信頼性評価を実施した(表2参照)。

表1 令和元年度に信頼性評価を実施した4物質

	物質名	選定年度	信頼性評価の実施年度
1	安息香酸ベンジル	平成30年度	令和元年度
2	パロキセチン	平成30年度	令和元年度
3	ジクロフェナク	平成30年度	令和元年度
4	アミオダロン	平成30年度	令和元年度

表2 平成30年度に信頼性評価の対象として選定した9物質

名称	主な用途	選定根拠となった調査区分の記号†
報告済		
<i>p</i> -ニトロフェノール	医薬・農薬中間体 ³⁾	1
クロチアニジン	農薬(殺虫剤) ³⁾	2
チオファネートメチル*	農薬(殺菌剤) ²⁾	1
ジフェノコナゾール*	農薬(殺虫剤) ²⁾	2
セルトラリン	医薬品(抗うつ剤) ¹⁾	1
今回報告		
安息香酸ベンジル	香料(化粧品, 食品), 医薬原料, 可塑剤, 溶剤 ³⁾	1
パロキセチン	医薬品(抗うつ剤) ¹⁾	1
ジクロフェナク	医薬品(鎮痛剤・抗炎症剤) ¹⁾	1
アミオダロン	医薬品(抗不整脈剤) ⁴⁾	3

* 化管法第一種指定化学物質

- 1) 環境省環境保健部環境安全課、化学物質環境実態調査－化学物質と環境
(<http://www.env.go.jp/chemi/kurohon/index.html>)
- 2) 環境省、PRTR インフォメーション広場 資料編 資料1.対象化学物質一覧
(http://www.env.go.jp/chemi/prtr/result/gaiyo_H28/6_shiryo_1.pdf)
- 3) 化学工業日報社、16918の化学商品(2018)及びバックナンバー
- 4) 環境ホルモン学会 第32回講演会テキスト「化学物質と甲状腺機能への影響」(2018/6/22)

† 選定根拠となった調査区分の記号

1. 化学物質環境実態調査
2. 農薬残留対策総合調査
3. 専門家から提案された物質

このほか、平成 30 年度に信頼性評価を実施する対象として臭化メチル(別名:プロモメタン)も選定したが、本物質はオゾン層保護法の特定物質(特定フロン)であり、我が国の削減スケジュールでは 2005 年 1 月 1 日以降の生産量及び消費量をゼロとしていることから、現時点で使用実態が認められない物質と考えられるため、対象外とした。

II. 令和元年度に実施した文献情報に基づく影響評価(信頼性評価)の結果について

令和元年度に信頼性評価を実施した 4 物質について、その評価結果及び信頼性の認められた文献情報から示唆された作用について物質ごとに表 3 に示した。

1. 信頼性評価の実施

令和元年度に実施した 4 物質の化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告の信頼性評価について、化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告の信頼性評価作業班会議(第 1 回:令和元年 6 月 10 日開催、第 2 回:令和元年 8 月 30 日開催、非公開)において評価を実施し、信頼性評価のまとめと今後の対応案について検討を行った。(信頼性評価の結果は別添参照)

2. 令和元年度に実施した 4 物質の信頼性評価のまとめ

(1)内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る 4 物質

*安息香酸ベンジル:動物試験の報告において、アンジオテンシン II 阻害作用、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、アンジオテンシン II 阻害作用を示すことが示唆された。

*パロキセチン:動物試験の報告において、アロマターゼ活性阻害作用、視床下部一下垂体—副腎皮質軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストラジオール産生促進作用、プロゲステロン産生促進作用、テストステロン産生阻害作用、アロマターゼ活性阻害作用を示すこと、疫学的調査において、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用を示すことが示唆された。

*ジクロフェナク:動物試験の報告において、エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用、アンドロゲン代謝阻害、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告にお

いて、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、副腎皮質ホルモン作用、抗副腎皮質ホルモン作用を示すこと、疫学的調査において、抗甲状腺ホルモン様作用、甲状腺ホルモン結合蛋白に対する競合的阻害作用を示すことが示唆された。

*アミオダロン：動物試験の報告において、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、甲状腺ホルモン合成への影響、サイロキシンからトリヨードサイロニンへの変換障害による甲状腺機能低下作用を示すこと、試験管内試験の報告において、抗エストロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用を示すこと、疫学的調査において、抗アンドロゲン様作用、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用を示すことが示唆された。

(2)現時点では試験対象物質としない物質

今回は得られなかった。

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

	名称	示唆された作用						
		エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモン	抗甲状腺ホルモン	脱皮ホルモン
1	安息香酸ベンジル	○	—	—	—	—	—	—
2	パロキセチン	—	○	—	○	○	○	—
3	ジクロフェナク	○	○	○	○	○	○	—
4	アミオダロン	—	○	—	○	○	○	—
合計	15 試験	2	3	1	3	3	3	0

○：既存知見から示唆された作用

—：試験管内試験を実施しない作用

I. 安息香酸ベンジル

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

安息香酸ベンジルの内分泌かく乱作用に関連する報告として、血管系への影響、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、腎臓上皮細胞への影響の有無及び疫学的調査に関する報告がある。

(1)血管系への影響

①Ohno ら(2008)によって、安息香酸ベンジル 2、100mg/kg を6週齢にて単回経口投与(更に30分後にアンジオテンシン II 100µg/kg を腹腔内投与)した雄 Std:ddY マウスへの影響(34分後)が検討されている。その結果として、2 mg/kg 以上のばく露群で収縮期血圧の低値が認められた。(14585)(評価結果の略号：△○P)

想定される作用メカニズム：アンジオテンシン II 阻害作用

(2)エストロゲン作用

①Charles と Darbre (2009)によって、安息香酸ベンジル 50µM(=10,600µg/L)の濃度に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、細胞増殖誘導が認められた。なお、この影響は、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182,780 0.1µM 共存下で消失した。

また、安息香酸ベンジル 100µM(=21,200µg/L)の濃度に24時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、エストロゲン応答遺伝子 *pS2* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、安息香酸ベンジル 80、100、400、500、600、800µM(=17,000、21,200、84,800、106,000、127,200、169,600µg/L)の濃度に24時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 (ヒトエストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、400µM(=84,800µg/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。(14584)(評価結果の略号：○○P)

※参考 エストロゲン作用(今回評価対象としなかった文献)

②Hashimoto ら(2003)によって、安息香酸ベンジル 0.001、0.01、0.1、1、10、100µM(=0.212、2.12、21.2、212、2,120、21,200µg/L)の濃度に144時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験が検討されているが、細胞増殖誘導は認められなかった。(14588)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

③Nomura ら(2006)によって、安息香酸ベンジル 0.41、1.23、3.70、11.1、33.3、100µM(=87、262、785、2,360、7,070、21,200µg/L)の濃度にばく露(日数の記載は見当たらない)したカエル肝臓一次培養細胞への影響が検討されているが、ピテロゲニン産生誘導は認められなかった。(14587)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

(3)抗エストロゲン作用

- ①Charles と Darbre (2009)によって、安息香酸ベンジル 10、100 μ M(=2,120、21,200 μ g/L)の濃度に 7日間ばく露(17 β エストラジオール 10nM 共存下)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、細胞増殖誘導の阻害は認められなかった。(14584)(○○N)

(4)腎臓上皮細胞への影響

- ①Ohno ら(2008)によって、安息香酸ベンジル 10,000、30,000、100,000 μ g/L の濃度に 24 時間ばく露したヒト胎児由腎臓上皮細胞 mAT1a(HA)/293T への影響が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 107.200 μ g/L の濃度でカルシウムイオン取り込み阻害が認められた。なお、細胞生存率には影響は認められなかった。(14585)(△○P)
想定される作用メカニズム：アンジオテンシン阻害作用

※参考 (5)疫学的調査(今回評価対象としなかった文献)

- ①Mytton ら(2007)によって、安息香酸ベンジルについて、タイ国 Mae Sot 地域において 1993 年 1 月から 2006 年 4 月にかけて、ばく露群として安息香酸ローション(BBL: Benzyl Benzoate Lotion、政府機関 SMRU: Shoklo Malaria research Unit が疥癬予防のため配布)を使用した妊娠女性 444 名及び非ばく露群として 1,776 名(matched control)を対象に、安息香酸ベンジルばく露と出産との関連性について検討されているが、ばく露群と非ばく露群との相対リスク比において、流産率、死産率、先天奇形児出生率、新生児死亡率、早産率、妊娠期間、出生時体重、Neurological Optimality Score に有意差は検出されなかった。(14586)
評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

2. 総合的判断(案)

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

対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、動物試験の報告において、アンジオテンシン II 阻害作用、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、アンジオテンシン II 阻害作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 1 に示した。

表1 信頼性評価のまとめ

物質名：安息香酸ベンジル

区分		著者	作業班会議における信頼性評価結果		
			報告結果(Results)を証 するために必要である 『材料と方法(Materials and Methods)』に関する 記載の有無及びその評 価 ¹⁾	内分泌かく乱 作用との関連 の有無 ²⁾	内分泌かく乱 作用に関する 試験対象物質 として選定す る根拠として の評価 ³⁾
(1)血管系への影響	アンジオテンシン II 阻害作用	①Ohno ら(2008)	△	○P	○
(2)エストロゲン作用		①Charles と Darbre (2009)	○	○P	○
		②Hashimoto ら (2003) 評価未実施			
		③Nomura ら(2006) 評価未実施			
(3)抗エストロゲン作用		①Charles と Darbre (2009)	○	○N	×
(4)腎臓上皮細胞への影響	アンジオテンシン II 阻害作用	①Ohno ら(2008)	△	○P	○
(6)疫学的調査		①Mytton ら(2007) 評価未実施			
今後の対応案	動物試験の報告において、アンジオテンシン II 阻害作用、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、アンジオテンシン I 受容体を介するアンジオテンシン II 阻害作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。				

- 1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない
 2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない
 3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

参考文献

- 14585: Ohno O, Ye M, Koyama T, Yazawa K, Mura E, Matsumoto H, Ichino T, Yamada K, Nakamura K, Ohno T, Yamaguchi K, Ishida J, Fukamizu A and Uemura D (2008) Inhibitory effects of benzyl benzoate and its derivatives on angiotensin II-induced hypertension. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16 (16), 7843-7852.
- 14584: Charles AK and Darbre PD (2009) Oestrogenic activity of benzyl salicylate, benzyl benzoate and butylphenylmethylpropional (Lilial) in MCF7 human breast cancer cells *in vitro*. *Journal of Applied Toxicology*, 29 (5), 422-434.
- 14588: Hashimoto Y, Kawaguchi M, Miyazaki K and Nakamura M (2003) Estrogenic activity of tissue conditioners *in vitro*. *Dental Materials*, 19 (4), 341-346.
- 14587: Nomura Y, Mitsui N, Bhawal UK, Sawajiri M, Tooi O, Takahashi T and Okazaki M (2006) Estrogenic activity of phthalate esters by *in vitro* VTG assay using primary-cultured *Xenopus* hepatocytes. *Dental Materials Journal*, 25 (3), 533-537.

14586: Mytton OT, McGready R, Lee SJ, Roberts CH, Ashley EA, Carrara VI, Thwai KL, Jay MP, Wiangambun T, Singhasivanon P and Nosten F (2007) Safety of benzyl benzoate lotion and permethrin in pregnancy: A retrospective matched cohort study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 114 (5), 582-587.

II. パロキセチン

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

パロキセチンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、生殖影響、脳内ホルモン濃度への影響、行動影響、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、神経細胞への影響、副腎皮質がん細胞への影響、アロマターゼ活性阻害作用の有無及び疫学的調査に関する報告がある。

(1)生態影響

②Henryら(2004)によって、パロキセチン(配合錠剤からの抽出、再結晶による精製、Sigma-Aldrich製標品との比較により同定、99.88%) 40、90、220、440、880 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度、アミン換算と思われる)に24時間未満齢から7～8日間ばく露したニセネコゼミジンコ(*Ceriodaphnia dubia*)への影響が検討されている。その結果として、440 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で総出産仔数、出産回数、生存率の低値が認められた。なお、初出産に至るまでの所要日数には影響は認められなかった。(14466)(評価結果の略号：△?)

想定される作用メカニズム：不明

※参考 生態影響(今回評価対象としなかった文献)

①Fongら(2017)によって、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、Smithkline-Beecham) 3.75、37.5、375 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に1時間ばく露した海生巻貝オリレヨフバイ属の一種(旧 *Ilyanassa obsoleta*、現 *Tritia obsoleta*)への影響が検討されている。その結果として、37.5 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で起き上がり行動試験における脚部固定まで所要時間の遅延が認められた。なお、この影響は2時間ばく露後の私見においては認められなかった。(14426)

評価未実施の理由：試験生物の入手先が野外であり、試験開始前ばく露の可能性が否定できない報告のため。評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

③Fongら(1998)によって、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、Smithkline-Beecham) 3.20、32.9、145、329、1,450、3,290、14,500、32,900 $\mu\text{g/L}$ (=0.01、0.1、0.5、1、5、10、50、100 μM)(設定濃度、アミン換算)に3時間ばく露したマメシジミ科の一種 fingernail clam (*Sphaerium striatinum*)への影響が検討されている。その結果として、3,290 $\mu\text{g/L}$ (=10 μM)のばく露区で、産卵数の高値が認められた。(14511)

評価未実施の理由：試験生物の入手先が野外であり、試験開始前ばく露の可能性が否定できない報告のため

(2)生殖影響

①Mosら(1999)によって、パロキセチン1、3、10 mg/kg を単回経口投与した雄 Wistar ラット (sexually active)への影響(投与60分後の性行動)が検討されている。その結果として、10 mg/kg のばく露群で性行動(マウント、挿入、射精)頻度の低値が認められた。なお、試験開始からマウント又は挿入に至るまでの所要時間、射精に至るまでのマウント回数、射精に至るまでの挿入回数、射

精に至るまでのマウント及び挿入回数、初マウント又は挿入から射精に至るまでの所要時間、射精から次のマウント又は挿入に至るまでの所要時間、交尾係数(射精を伴う挿入回数/(マウント及び挿入回数))には影響は認められなかった。

また、パロキセチン 1、3、10mg/kg を単回経口投与した雄 Wistar ラット(sexually naive)への影響(投与 60 分後の性行動)が検討されているが、試験開始からマウント又は挿入に至るまでの所要時間、射精に至るまでのマウント回数、射精に至るまでの挿入回数、射精に至るまでのマウント及び挿入回数、初マウント又は挿入から射精に至るまでの所要時間、射精から次のマウント又は挿入に至るまでの所要時間、交尾係数(射精を伴う挿入回数/(マウント及び挿入回数)、性行動(マウント、挿入、射精)頻度には影響は認められなかった。(14474)(×)

本試験結果の解釈にあたっては、製品の入手先及び純度の記載がない点に注意を要すると判断された。

想定される作用メカニズム：不明

- ②Zha ら(2017)によって、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、Ark Pharma) 10mg/kg/day を 3 週齢から 12 週間飲水投与した雌 C57BL/6 マウスへの影響が検討されている。その結果として、血漿中 17β-エストラジオール濃度、卵巣中 *Cyp19a1* mRNA 相対発現量、卵巣中 *Cyp19a1* 蛋白質相対発現量、褐色脂肪組織中油滴数の低値、体重、生殖腺中脂肪組織重量、鼠径部中脂肪組織重量、後腹膜中脂肪組織重量、生殖腺白色脂肪組織中脂肪細胞粒径、グルコース耐性試験(夜間 16 時間絶食後グルコース 2 g/kg を腹腔内投与から 120 分間)における血中グルコース濃度及び曲線下面積(AUC)、インスリン耐性試験(6 時間絶食後インスリン 0.75 ユニット g/kg を腹腔内投与から 120 分間)における血中グルコース濃度及び曲線下面積(AUC)の高値が認められた。なお、体重当たり摂餌量、体重当たり飲水量、褐色脂肪組織重量には影響は認められなかった。(14479)(△○P)
- 想定される作用メカニズム：アロマトラーゼ活性阻害

※参考 生殖影響(今回評価対象としなかった文献)

- ③Gaukler ら(2015)によって、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、Paxil®, GlaxoSmithKline) 22.5mg/kg/day を交配前(雄は 5 日前、雌は 8 日前)から 28 週間(出産 4 回に相当)混餌投与した雌雄マウス(野生型)への影響が検討されている。その結果として、雌雄仔動物体重(28 日齢)、父動物体重(28 週間後)、同腹雄仔動物数(父動物当)、父動物のテリトリー確保行動成功率の低値、母動物の総産仔数の高値、交配から初出産に至るまでの所要日数の遅延が認められた。なお、母動物体重(28 週間後)、雌雄雄動物生存率には影響は認められなかった。(14483)
- 評価未実施の理由：評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

(3)脳内ホルモン濃度への影響

- ①Pinna ら(2003)によって、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、Sigma) 5 mg/kg/day を 14 日間腹腔内投与した成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、扁桃中ミエリン分画中トリヨードサイロニン濃度の高値が認められた。なお、扁桃体磨砕物中トリヨードサイロニン濃度、扁桃体核分画中トリヨードサイロニン濃度、扁桃体ミトコンドリア分画中トリヨードサ

イロニン濃度、扁桃体シナプトソーム分画中トリヨードサイロニン濃度、扁桃体ミクロソーム分画
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。(14500)(×一)

想定される作用メカニズム：不明

本試験結果の解釈にあたっては、助剤にメチルセルロース（内分泌かく乱作用や神経毒性が疑われて
おり、詳細については調査中）を使用している点に注意を要すると判断された。

③Nechmadら(2003)によって、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、Unipharm) 10mg/kg/day
を9日間腹腔内投与した雄 RCI マウスへの影響が検討されている。その結果として、大脳皮質中
5 α -ジヒドロprogesterone濃度、視床下部中 5 α -ジヒドロprogesterone濃度、血清中アロprogesterone
濃度の高値が認められた。なお、血清中 5 α -ジヒドロprogesterone濃度、嗅球中 5 α -ジヒ
ドロprogesterone濃度、大脳皮質中アロprogesterone濃度、嗅球中アロprogesterone濃度、
視床下部中アロprogesterone濃度には影響は認められなかった。

また、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、Unipharm) 10mg/kg/day を21日間腹腔内
投与した雄 RCI マウスへの影響が検討されている。その結果として、大脳皮質中 5 α -ジヒドロpro
gesterone濃度、視床下部中 5 α -ジヒドロprogesterone濃度、大脳皮質中アロprogesterone濃
度、嗅球中アロprogesterone濃度、視床下部中アロprogesterone濃度の高値が認められた。な
お、血清中 5 α -ジヒドロprogesterone濃度、嗅球中 5 α -ジヒドロprogesterone濃度、血清中アロ
progesterone濃度には影響は認められなかった。(14501)(×一)

想定される作用メカニズム：神経毒性

※参考 脳内ホルモン濃度への影響(今回評価対象としなかった文献)

②Connorら(2000)によって、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、Smithkline-Beecham)
7.5mg/kg/day を24日間腹腔内投与した成熟雄 SD ラットへの影響(23、24日目投与の5、1時間
後に15、5分間の強制遊泳試験実施し、強制遊泳試験終了45分後に剖検)が検討されている。その
結果として、前頭皮質中 5-ヒドロキシインドール酢酸濃度、扁桃体中 5-ヒドロキシインドール酢酸
濃度、前頭皮質中 5-ヒドロキシインドール酢酸/セロトニン濃度比、扁桃体中 5-ヒドロキシイン
ドール酢酸/セロトニン濃度比の低値が認められた。なお、前頭皮質中セロトニン濃度、扁桃体中セ
ロトニン濃度、血清中コルチコステロン濃度、強制遊泳試験における無動時間には影響は認められ
なかった。

また、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、Smithkline-Beecham) 7.5mg/kg/day を24
日間腹腔内投与した成熟雄 SD ラットへの影響(強制遊泳試験を実施せず最終投与から1時間50分
後に剖検)が検討されている。その結果として、前頭皮質中 5-ヒドロキシインドール酢酸濃度、扁桃
体中 5-ヒドロキシインドール酢酸濃度、前頭皮質中 5-ヒドロキシインドール酢酸/セロトニン濃
度比、扁桃体中 5-ヒドロキシインドール酢酸/セロトニン濃度比の低値が認められた。なお、前頭皮
質中セロトニン濃度、扁桃体中セロトニン濃度、血清中コルチコステロン濃度には影響は認められ
なかった。(14509)

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

(4)行動影響

② Scharf ら(2013)によって、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、Seroxat®、GlaxoSmithKline) 20mg/kg/day を 28 日齢から 4 週間飲水投与した雄 CD1 マウス(投与開始から 5 週間の social stress paradigm 処置)への影響(投与終了から 1 週間後)が検討されている。その結果として、血漿中コルチコステロン濃度、副腎相対重量の低値、回復期間中体重増加率の高値が認められた。なお、胸腺相対重量、海馬 CA1 部位中グルココルチコイド受容体 *GR*mRNA 相対発現量、海馬 CA1 部位中ミネラルコルチコイド受容体 *MR*mRNA 相対発現量、視床下部室傍核中グルココルチコイド受容体 *GR* mRNA 相対発現量、視床下部室傍核中副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン *CRH* mRNA 相対発現量、視床下部室傍核中アルギニンバソプレッシン *AVP* mRNA 相対発現量、オープンフィールド試験における移動距離、高架式十字迷路試験におけるオープンアーム滞在時間率、高架式十字迷路試験における社会性行動時間率、高架式十字迷路試験における無動時間率には影響は認められなかった。

また、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、Seroxat®、GlaxoSmithKline) 20mg/kg/day を 28 日齢から 4 週間飲水投与した雄 CD1 マウス(投与開始から 7 週間の social stress paradigm 処置)への影響(投与終了から 3 週間+12 ヶ月後)が検討されている。その結果として、体重増加率の低値が認められた。なお、血漿中コルチコステロン濃度、副腎相対重量、海馬 CA1 部位中グルココルチコイド受容体 *GR* mRNA 相対発現量、海馬(CA1、CA2、CA3 部位)中ミネラルコルチコイド受容体 *MR* mRNA 相対発現量、視床下部室傍核中グルココルチコイド受容体 *GR* mRNA 相対発現量、視床下部室傍核中副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン *CRH* mRNA 相対発現量、視床下部室傍核中アルギニンバソプレッシン *AVP* mRNA 相対発現量、高架式十字迷路試験におけるオープンアーム滞在時間率、高架式十字迷路試験における社会性行動時間率、高架式十字迷路試験における無動時間率には影響は認められなかった。(14487)(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体—副腎皮質軸への作用

※参考 行動影響(今回評価対象としなかった文献)

① Vorhees ら(2011)によって、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、Suzhou ChonTech PharmaChem Tecnnology) 3、10、17mg/kg/day を 33 日齢から最長 62 日齢まで経口投与した雄 SD ラットへの影響(57 日齢から一連の行動試験開始)が検討されている。その結果として、17mg/kg/day のばく露群で体重(62 日齢)、高架式十字迷路試験における穴覗き込み行動(head-dip) 回数の低値が認められた。なお、高架式十字迷路試験におけるオープンアーム滞在時間、高架式十字迷路試験におけるオープンアーム侵入回数、高架式十字迷路試験におけるオープンアーム侵入潜時、聴覚性驚愕反応試験における驚愕強度、強制遊泳試験における無動時間、血漿中コルチコステロン濃度には影響は認められなかった。

また、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、Suzhou ChonTech PharmaChem Tecnnology) 3、10、17mg/kg/day を 33 日齢から 62 日齢まで経口投与した雄 SD ラットへの影響(57 日齢から一連の行動試験開始)が検討されているが、体重(62 日齢)、高架式十字迷路試験におけるオープンアーム滞在時間、高架式十字迷路試験におけるオープンアーム侵入回数、高架式十字迷路試験にお

るオープンアーム侵入潜時、高架式十字迷路試験における穴覗き込み行動(head-dip)回数、聴覚性驚愕反応試験における驚愕強度、強制遊泳試験における無動時間、血漿中コルチコステロン濃度には影響は認められなかった。(14492)

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

(5)エストロゲン作用

①Popら(2015)によって、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、LGC Standard) 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3 μM (=3.29、9.88、32.9、98.8、329、988 $\mu\text{g/L}$)の濃度に24時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D-KBluc (ヒトエストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。(14431)(Δ ○N)

本試験結果の解釈にあたっては、17 β エストラジオール共存条件下でのエストロゲン作用の可能性が排除できないと判断された。

(6)抗エストロゲン作用

①Popら(2015)によって、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、LGC Standard) 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3 μM (=3.29、9.88、32.9、98.8、329、988 $\mu\text{g/L}$)の濃度(17 β エストラジオール 30pM 共存下)に24時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D-KBluc (ヒトエストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導の阻害は認められなかった。(14431)(Δ ○N)

※参考 (7)神経細胞への影響(今回評価対象としなかった文献)

①Pengら(2013)によって、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、Sigma-Aldrich) 1、5、10 μM (=329、1,647、3,290 $\mu\text{g/L}$)の濃度にばく露(全般7日間ばく露を思われる)したラット神経幹細胞(SDラット胚期14.5~16.5日目海馬由来)への影響が検討されている(予備試験では20、50 μM 区についても検討しているが細胞生存率、細胞径の低値が認められる濃度範囲であった)。その結果として、1、5 μM (=329、1,647 $\mu\text{g/L}$)の濃度区で細胞生存率、細胞直径、細胞増殖率、アポトーシス抑制蛋白質 Bcl-2 相対発現量、リン酸化細胞外シグナル調節キナーゼ pERK1/2 蛋白質相対発現量の高値、5 μM (=1,647 $\mu\text{g/L}$)以上の濃度区でオリゴデンドロサイト特異的ホスホジエステラーゼ CNPase 蛋白質相対発現量の低値、5 μM (=1,647 $\mu\text{g/L}$)の濃度区で神経細胞特異的チューブリン Tuj 蛋白質相対発現量、脳由来神経栄養因子 BDNF 蛋白質相対発現量、pERK1/2 / ERK1/2 蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、グリア線維性酸性蛋白質 GFAP 相対発現量、細胞外シグナル調節キナーゼ ERK1/2 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。(14488)

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

②Okugawaら(1999)によって、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、SmithKline Beecham Pharmaceuticals) 0.1、1 μM (=32.9、329 $\mu\text{g/L}$)の濃度に培養8~11日から14日間ばく露したラッ

ト神経一次培養細胞(Wistar ラット胚期 18~19 日目海馬由来)への影響が検討されている。その結果として、0.1 μ M(=3.29 μ g/L)以上の濃度区でグルココルチコイド受容体 *GR* mRNA 相対発現量の高値が認められた。(14510)

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

(8)副腎皮質がん細胞への影響

①Jacobsen ら(2015)によって、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、TRC) 0.1、1、3.14、10 μ M(=32.9、329、1,030、3,290 μ g/L)の濃度に 48 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、1 μ M(=329 μ g/L)以上の濃度区で 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、10 μ M(=3,290 μ g/L)の濃度区でテストステロン産生量の低値が認められた。(14432)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：エストラジオール産生促進作用、プロゲステロン産生促進作用、テストステロン産生阻害作用

②Hansen ら(2017)によって、パロキセチン 0.03、0.1、0.2、0.3、1、2、3、10 μ M(=9.89、32.9、65.9、98.9、329、659、989、3,290 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト副腎皮質がん細胞 H295R への影響が検討されている(予備試験では 15、20 μ M 区についても検討しているが 48 時間細胞生存率の低値が認められる濃度範囲であった)。その結果として、10 μ M(=3,290 μ g/L)の濃度区で CYP17 リアーゼ比活性の低値、CYP19 比活性の高値が認められた。なお、CYP17 ヒドロキシラーゼ比活性、CYP21 比活性には影響は認められなかった。(14423)(\times -)

想定される作用メカニズム：CYP19 アロマターゼ活性促進作用

本試験結果の解釈にあたっては、製品の入手先及び純度の記載がない点に注意を要すると判断された。

(9)アロマターゼ活性阻害作用

①Jacobsen ら(2015)によって、パロキセチン(塩酸塩 1/2 水和物と思われる、TRC) 1 ~1,000 μ M(=329 ~329,000 μ g/L)の濃度でヒトアロマターゼ(CYP19)への影響が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値(GC-MS 法による) 68.5 μ M(=22,600 μ g/L)又は IC₅₀ 値(蛍光法による) 142 μ M(=46,800 μ g/L)の濃度でアロマターゼ活性への阻害が認められた。(14432)(Δ OP)

(10)疫学的調査

①Mørch ら(2017)によって、パロキセチンについて、デンマークにて 2000 年から 2011 年にかけて、症例群として Danish Cancer Registry において卵巣がん登録された女性(年齢 30~84 歳、4,103 名、内パロキセチン服用者 34 名)及び対照群として非発症女性(aged-matched、58,706 名、内パロキセチン服用者 583 名)を対象に、抗うつ剤ばく露と上皮性卵巣がん発症との関連性について検討されている。その結果として、ロジスティック回帰による症例群と対照群との比較において、卵巣がん発生リスク補正オッズ比の低値が認められた(リスク増加は認められなかった)。(14478)(\circ ?)

想定される作用メカニズム：不明

④Steingartら(2003)によって、パロキセチンについて、カナダ Ontario 州にて 1996 年 6 月から 1998 年 5 月にかけて、症例群として Ontario Cancer Registry に登録の乳がん患者(年齢 25~74 歳、3,133 名、内パロキセチン服用者 51 名)及び対照群として非発症者(5 歳群毎の諸変量頻度を一致、3,062 名、内パロキセチン服用者 34 名)を対象に、選択的セロトニン再取り込み阻害薬ばく露と乳がん発症率について検討されている。その結果として、多変量ロジスティック回帰による症例群と対照群との比較において、乳がん発症リスクの年齢補正オッズ比及び多変量補正オッズ比の高値が認められた。(14468)(○?)

想定される作用メカニズム：不明

⑤Tanrikutら(2010)によって、米国 New York 州にて、パロキセチン 10~30mg/day を 5 週間投与した健常男性(35 名、平均年齢 33.9±11.1 歳)への影響(投与開始から 2、4、9 週間後の投与前との比較)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(4 週間後)、血清中 17β エストラジオール濃度(4 週間後)の低値、勃起機能不全重篤度(BSFI: Brief Sexual Function Inventory 問診)(4 週間後)、射精機能不全重篤度(BSFI: Brief Sexual Function Inventory 問診)(4 週間後)、精子中 DNA 断片化率(TUNEL スコア)(4 週間後)、精子中 DNA 断片化重篤度(TUNEL が 30%を超える男性率)(4 週間後)の高値が認められた。なお、精液容積(1、4、9 週間後)、精子濃度(1、4、9 週間後)、運動精子率(1、4、9 週間後)、正常形態精子率(1、4、9 週間後)、血清中卵巣刺激ホルモン濃度(4 週間後)、血清中黄体形成ホルモン濃度(4 週間後)、血清中プロラクチン濃度(4 週間後)には影響は認められなかった。(14493)(○○P)

想定される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用

⑥Weber-Hamannら(2009)によって、ドイツにて、パロキセチン 40mg/day を 35 日間投与したうつ病患者への影響(投与前との比較)が検討されている。その結果として、投薬応答性患者(男性 10 名、女性 17 名、平均年齢 58±16 歳)において、血清中総インスリン様成長因子-1 濃度の低値が認められたが、ボディマス指数、血清中遊離インスリン様成長因子-1 濃度(28 日)、血清中総インスリン様成長因子結合蛋白質-3 濃度には影響は認められなかった。また、投薬非応答性患者(男性 12 名、女性 4 名、平均年齢 57±14 歳)において、ボディマス指数の低値が認められたが、血清中総インスリン様成長因子-1 濃度、血清中遊離インスリン様成長因子-1 濃度(28 日)、血清中総インスリン様成長因子結合蛋白質-3 濃度には影響は認められなかった。(14495)(○?)

想定される作用メカニズム：不明

⑦Königら(2000)によって、ドイツにて、パロキセチン(Seroxat®) 20mg/day を 28 日間投与したうつ病患者(男性 10 名、女性 15 名、平均年齢 41±12.58 歳)への影響(投与前との比較)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。なお、血清中ヨリヨードサイロニン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度(基底状態)、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度(甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン処置後)には影響は認められなかった。(14506)(○○P)

想定される作用メカニズム：視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用

※参考 疫学的調査(今回評価対象としなかった文献)

②Wemakorら(2015)によって、パロキセチンについて、EUROCAT (European Surveillance of

Congenital Anomalies)が調査対象とした欧州 12 の国、都市又は地域にて 1995 年から 2009 年にかけて、症例群として先天性心疾患(CHD: Congenital Heart Disease)が認められた出産(12,876 件、母親の第 1 三半期におけるパロキセチン服用 31 件と思われる)及び対照群として CHD その他の先天異常が認められない出産(17,083 件、母親の第 1 三半期におけるパロキセチン服用は 27 件と思われる)を対象に、母親の選択的セロトニン再取り込み阻害薬ばく露と CHD 発症との関連性について検討されている。その結果として、症例群と対照群との比較において先天性心疾患発症リスク補正オッズ比の高値が認められた。(14481)

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

③Ban ら(2014)によって、パロキセチンについて、イギリスにて 1990 年から 2009 年にかけて、The Health Improve Network にて医療記録された単一児出産 343,127 件中、ばく露群として母親がうつ病と診断されパロキセチンのみを第 1 三半期に服用した出産 1,200 件、非うつ非ばく露群としてうつ病も抗うつ剤の服用も認められなかった出産 325,294 件、うつ非ばく露群として母親がうつ病と診断されたが抗うつ剤の服用は認められなかった出産 123,833 件を対象に、母親のうつ病及び抗うつ剤服用と医学的な処置が必要な先天異常(MCA: Major Congenital Anomaly)発症との関連性について検討されている。その結果として、多変量ロジスティック回帰によるばく露群と非うつ非ばく露群との比較において心臓系異常発症リスク補正オッズ比の高値が認められた。なお、総先天異常発症リスク、心臓系以外の各部位における異常発症リスクの補正オッズ比には有意差は認められなかった。

また、多変量ロジスティック回帰によるばく露群とうつ非ばく露群との比較において心臓系異常発症リスク補正オッズ比の高値が認められた。なお、総先天異常発症リスク、心臓系以外の各部位における異常発症リスクの補正オッズ比には有意差は認められなかった。(14485)

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

⑧Hinze-Selch ら(2000)によって、ドイツにて、パロキセチン 17~35mg/day(週平均値、治療上の理由で毎週増加)を 6 週間投与したうつ病患者(男性 6 名、女性 4 名、平均年齢 37±14 歳)への影響(投与前との比較)が検討されているが、体重、ボディマス指数、血漿中レプチン濃度、血漿中 TNF- α 濃度、血漿中 STNFR-p55 濃度、血漿中 STNFR-p75 濃度、血漿中 SIL-2r 濃度には影響は認められなかった。(14508)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

2. 総合的判断(案)

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

対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、動物試験の報告において、アロマターゼ活性阻害作用、視床下部一下垂体一副腎皮質軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストラジオール産生促進作用、プロゲステロン産生促進作用、テストステロン産生阻害作用、アロマターゼ活性阻害作用を示すこと、疫学的調査において、抗エストロゲン様作用、抗ア

ンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表2に示した。

表2 信頼性評価のまとめ

物質名：パロキセチン

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果 (Results) を証するために必要である『材料と方法 (Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(1)生態影響		①Fong ら(2017) 評価未実施		
	不明	②Henry ら(2004)	△	?
		③Fong ら(1998) 評価未実施		
(2)生殖影響		①Mos ら(1999)	×	—
	アロマトラーゼ活性阻害作用	②Zha ら(2017)	△	○P
		③Gaukler ら(2015) 評価未実施		
(3)脳内ホルモン濃度への影響		①Pinna ら(2003)	×	—
		②Connor ら(2000) 評価未実施		
	神経毒性	③Nechmad ら(2003)	×	—
(4)行動影響		①Vorhees ら(2011) 評価未実施		
	視床下部一下垂体—副腎皮質軸への作用	②Scharf ら(2013)	△	○P
(5)エストロゲン作用		①Pop ら(2015)	△	○N
(6)抗エストロゲン作用		①Pop ら(2015)	△	○N
(7)神経細胞への影響		①Peng ら(2013) 評価未実施		
		②Okugawa ら(1999) 評価未実施		
(8)副腎皮質がん細胞への影響	エストラジオール産生促進作用、プロゲステロン産生促進作用、テストステロン産生阻害作用	①Jacobsen ら(2015)	△	○P
	CYP19 アロマトラーゼ活性促進作用	②Hansen ら(2017)	×	—
(9)アロマトラーゼ活性阻害作用		①Jacobsen ら(2015)	△	○P
(10)疫学	不明	①Mørch ら(2017)	○	?

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果 (Results) を証するために必要である『材料と方法 (Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
的調査	②Wemakor ら(2015) 評価未実施			
	③Ban ら(2014) 評価未実施			
	④Steingart ら(2003)	○	?	—
	抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用	○	○P	○
	不明	○	?	—
	視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	○	○P	○
	⑧Hinze-Selch ら(2000) 評価未実施			
今後の対応案	動物試験の報告において、アロマターゼ活性阻害作用、視床下部—下垂体—副腎皮質軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストラジオール産生促進作用、プロゲステロン産生促進作用、テストステロン産生阻害作用、アロマターゼ活性阻害作用を示すこと、疫学的調査において、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

- 1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない
2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない
3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

参考文献

- 14426: Fong PP, Bury TB, Donovan EE, Lambert OJ, Palmucci JR and Adamczak SK (2017) Exposure to SSRI-type antidepressants increases righting time in the marine snail *Ilyanassa obsoleta*. *Environmental Science and Pollution Research International*, 24 (1), 725-731.
- 14466: Henry TB, Kwon JW, Armbrust KL and Black MC (2004) Acute and chronic toxicity of five selective serotonin reuptake inhibitors in *Ceriodaphnia dubia*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23 (9), 2229-2233.
- 14511: Fong PP, Huminski PT and D'Urso LM (1998) Induction and potentiation of parturition in fingernail clams (*Sphaerium striatinum*) by selective serotonin re-uptake inhibitors (SSRIs). *Journal of Experimental Zoology*, 280 (3), 260-264.
- 14474: Mos J, Mollet I, Tolboom JT, Waldinger MD and Olivier B (1999) A comparison of the effects of different serotonin reuptake blockers on sexual behaviour of the male rat. *European Neuropsychopharmacology*, 9 (1-2), 123-135.

- 14479: Zha W, Ho HTB, Hu T, Hebert MF and Wang J (2017) Serotonin transporter deficiency drives estrogen-dependent obesity and glucose intolerance. *Scientific Reports*, 7 (1), 1137.
- 14483: Gaukler SM, Ruff JS, Galland T, Kandaris KA, Underwood TK, Liu NM, Young EL, Morrison LC, Yost GS and Potts WK (2015) Low-dose paroxetine exposure causes lifetime declines in male mouse body weight, reproduction and competitive ability as measured by the novel organismal performance assay. *Neurotoxicology and Teratology*, 47, 46-53.
- 14500: Pinna G, Broedel O, Eravci M, Stoltenburg-Didinger G, Plueckhan H, Fuxius S, Meinhold H and Baumgartner A (2003) Thyroid hormones in the rat amygdala as common targets for antidepressant drugs, mood stabilizers, and sleep deprivation. *Biological Psychiatry*, 54 (10), 1049-1059.
- 14509: Connor TJ, Kelliher P, Shen Y, Harkin A, Kelly JP and Leonard BE (2000) Effect of subchronic antidepressant treatments on behavioral, neurochemical, and endocrine changes in the forced-swim test. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 65 (4), 591-597.
- 14501: Nechmad A, Maayan R, Spivak B, Ramadan E, Poyurovsky M and Weizman A (2003) Brain neurosteroid changes after paroxetine administration in mice. *European Neuropsychopharmacology*, 13 (5), 327-332.
- 14492: Vorhees CV, Morford LR, Graham DL, Skelton MR and Williams MT (2011) Effects of periadolescent fluoxetine and paroxetine on elevated plus-maze, acoustic startle, and swimming immobility in rats while on and off-drug. *Behav Brain Funct*, 7, 41.
- 14487: Scharf SH, Sterlemann V, Liebl C, Muller MB and Schmidt MV (2013) Chronic social stress during adolescence: interplay of paroxetine treatment and ageing. *Neuropharmacology*, 72, 38-46.
- 14431: Pop A, Lupu DI, Cherfan J, Kiss B and Loghin F (2015) Estrogenic/antiestrogenic activity of selected selective serotonin reuptake inhibitors. *Clujul Medical*, 88 (3), 381-385.
- 14488: Peng ZW, Xue F, Wang HN, Zhang RG, Chen YC, Wang Y, Zhang LY, Fan J and Tan QR (2013) Paroxetine up-regulates neurogenesis in hippocampus-derived neural stem cell from fetal rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 375 (1-2), 105-113.
- 14510: Okugawa G, Omori K, Suzukawa J, Fujiseki Y, Kinoshita T and Inagaki C (1999) Long-term treatment with antidepressants increases glucocorticoid receptor binding and gene expression in cultured rat hippocampal neurones. *Journal of Neuroendocrinology*, 11 (11), 887-895.
- 14432: Jacobsen NW, Hansen CH, Nellesmann C, Styrisshave B and Halling-Sorensen B (2015) Effects of selective serotonin reuptake inhibitors on three sex steroids in two versions of the aromatase enzyme inhibition assay and in the H295R cell assay. *Toxicology in Vitro*, 29 (7), 1729-1735.
- 14423: Hansen CH, Larsen LW, Sorensen AM, Halling-Sorensen B and Styrisshave B (2017) The six most widely used selective serotonin reuptake inhibitors decrease androgens and increase estrogens in the H295R cell line. *Toxicology in Vitro*, 41, 1-11.
- 14478: Mørch LS, Dehlendorff C, Baandrup L, Friis S and Kjaer SK (2017) Use of antidepressants and risk of epithelial ovarian cancer. *International Journal of Cancer*, 141 (11), 2197-2203.
- 14481: Wemakor A, Casson K, Garne E, Bakker M, Addor MC, Arriola L, Gatt M, Khoshnood B,

- Klungsoyr K, Nelen V, O'Mahoney M, Pierini A, Rissmann A, Tucker D, Boyle B, de Jong-van den Berg L and Dolk H (2015) Selective serotonin reuptake inhibitor antidepressant use in first trimester pregnancy and risk of specific congenital anomalies: a European register-based study. *European Journal of Epidemiology*, 30 (11), 1187-1198.
- 14485: Ban L, Gibson JE, West J, Fiaschi L, Sokal R, Smeeth L, Doyle P, Hubbard RB and Tata LJ (2014) Maternal depression, antidepressant prescriptions, and congenital anomaly risk in offspring: a population-based cohort study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 121 (12), 1471-1481.
- 14468: Steingart A, Cotterchio M, Kreiger N and Sloan M (2003) Antidepressant medication use and breast cancer risk: a case-control study. *International Journal of Epidemiology*, 32 (6), 961-966.
- 14493: Tanrikut C, Feldman AS, Altemus M, Paduch DA and Schlegel PN (2010) Adverse effect of paroxetine on sperm. *Fertility and Sterility*, 94 (3), 1021-1026.
- 14495: Weber-Hamann B, Blum WF, Kratzsch J, Gilles M, Heuser I and Deuschle M (2009) Insulin-like growth factor-I (IGF-I) serum concentrations in depressed patients: relationship to saliva cortisol and changes during antidepressant treatment. *Pharmacopsychiatry*, 42 (1), 23-28.
- 14506: König F, Hauger B, von Hippel C, Wolfersdorf M and Kaschka WP (2000) Effect of paroxetine on thyroid hormone levels in severely depressed patients. *Neuropsychobiology*, 42 (3), 135-138.
- 14508: Hinze-Selch D, Schuld A, Kraus T, Kuhn M, Uhr M, Haack M and Pollmacher T (2000) Effects of antidepressants on weight and on the plasma levels of leptin, TNF-alpha and soluble TNF receptors: A longitudinal study in patients treated with amitriptyline or paroxetine. *Neuropsychopharmacology*, 23 (1), 13-19.

Ⅲ. ジクロフェナク

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ジクロフェナクの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、生殖影響、神経発達影響、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用、副腎皮質ホルモン作用、抗副腎皮質ホルモン作用、排卵への影響、サイトカイン産生影響、ステロイド産生影響、ステロイド代謝酵素への影響の有無及び疫学的調査に関する報告がある。

(1)生態影響

①Efosa ら(2017)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩と思われる、Sigma-Aldrich) 0.0269、2.3638 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度中央値、設定濃度 0.01、0.0001 μM に相当、カルボン酸換算)に8日間ばく露(96時間後にヒト絨毛性ゴナドトロピンを注射)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、0.0269 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で肝臓中ビテロゲニン *VTG* mRNA 相対発現量の高値、0.0269 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で精巣中ステロイド 5α レダクターゼ *Srd5a2* mRNA 相対発現量の低値、脳中黄体形成ホルモン *LH* mRNA 相対発現量の高値、2.3638 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で血漿中テストステロン/エストラジオール濃度比、発声行動における Advertisement calls の率(ゴナドトロピン注射前4日間)の低値、精巣中アロマターゼ *ARO* mRNA 相対発現量、精巣中ステロイド 5α レダクターゼ *Srd5a1* mRNA 相対発現量、発声行動における Rasping の率(ゴナドトロピン注射前4日間)の高値が認められた。なお、発声行動における Advertisement calls の率(ゴナドトロピン注射前8日間)、発声行動における Rasping の率(ゴナドトロピン注射前8日間)、脳中卵胞刺激ホルモン *FSH* mRNA 相対発現量、血漿中テストステロン濃度、血漿中ジヒドロテストステロン濃度、血漿中エストラジオール濃度、血漿中ジヒドロテストステロン/エストラジオール濃度比、精巣中 *P450scc* mRNA 相対発現量、精巣中 *StAR* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14517)(評価結果の略号: Δ OP)

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

③Gröner ら(2017)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich) 0.15 \pm 0.03、1.37 \pm 0.17、12.59 \pm 2.76、137.71 \pm 30.59 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度中央値、設定濃度 0.1、1、10、100 $\mu\text{g/L}$ に相当、カルボン酸換算と思われる)に受精卵から最長 80 日間ばく露したニルティラピア(*Oreochromis niloticus*)への影響が検討されている。その結果として、0.15、1.37、12.59 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で二次鰓弁(secondary lamellae)形態異常率の高値、1.37、12.59 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で肝臓中グルタニオン-S-トランスフェラーゼ *GST* mRNA 相対発現量の高値、1.37、137.71 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で下垂体中黄体形成ホルモン *LH* mRNA 相対発現量の低値、1.37 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で肝臓中ビテロゲニン *VTG* mRNA 相対発現量の高値、12.59 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で体重の低値、肝臓中多剤耐性蛋白質 *MDRP* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、孵化率、孵化後生存率、肥満度、肝臓体指数、下垂体中成長ホルモン *GH* mRNA 相対発現量、下垂体中卵胞刺激ホルモン *FSH* mRNA 相対発現量、肝臓中インスリン様成長因子 *IGF-1* mRNA 相対発現量、肝臓中 *CYP1A* mRNA 相対発現量には影

響は認められなかった。(14519)(△○P)

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

- ④Dietrich ら(2010)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich) 0.36µg/L(設定濃度、カルボン酸換算と思われる)に誕生直後から初出産までばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*) F₀への影響が検討されている。その結果として、初出産までの所要日数の遅延、新生仔体長の高値が認められた。なお、初出産時母動物体長、産仔数には影響は認められなかった。

また更に、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich) 0.36µg/L(設定濃度、カルボン酸換算と思われる)に誕生直後から初出産までばく露したオオミジンコ(*D. magna*) F₁(上記 F₀の初出産後に回収)への影響が検討されている。その結果として、産仔数の高値が認められた。なお、初出産までの所要日数、初出産時母動物体長、新生仔体長には影響は認められなかった。

また更に、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich) 0.36µg/L(設定濃度、カルボン酸換算と思われる)に誕生直後から初出産までばく露したオオミジンコ(*D. magna*) F₂(上記 F₁の初出産後に回収)への影響が検討されている。その結果として、初出産までの所要日数の遅延が認められた。なお、産仔数、初出産時母動物体長、新生仔体長には影響は認められなかった。

また更に、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich) 0.36µg/L(設定濃度、カルボン酸換算と思われる)に誕生直後から初出産までばく露したオオミジンコ(*D. magna*) F₃(上記 F₂の初出産後に回収)への影響が検討されているが、初出産までの所要日数、産仔数、初出産時母動物体長、新生仔体長には影響は認められなかった。

また更に、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich) 0.36µg/L(設定濃度、カルボン酸換算と思われる)に誕生直後から初出産までばく露したオオミジンコ(*D. magna*) F₄(上記 F₃の初出産後に回収)への影響が検討されている。その結果として、新生仔体長の高値が認められた。なお、初出産までの所要日数、産仔数、初出産時母動物体長には影響は認められなかった。

また更に、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich) 0.36µg/L(設定濃度、カルボン酸換算と思われる)に誕生直後から初出産までばく露したオオミジンコ(*D. magna*) F₅(上記 F₄の初出産後に回収)への影響が検討されているが、初出産までの所要日数、産仔数、初出産時母動物体長、新生仔体長には影響は認められなかった。(14536)(△?)

想定される作用メカニズム：不明

- ⑤Saravanan ら(2014)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich、99.9%) 1、10、100µg/L(設定濃度、ナトリウム塩換算と思われる)に幼若期に 96 時間又は 7、14、21、28 日間ばく露したコイ目の一種 Indian major carp (*Cirrhinus mrigala*)への影響が検討されている。その結果として、1 µg/L 以上のばく露区で血漿中トリヨードサイロニン濃度、血漿中サイロキシン濃度の低値、血漿中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値が認められた。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich、99.9%) 1、10、100µg/L(設定濃度、ナトリウム塩換算と思われる)に幼若期に 35 日間ばく露したコイ目の一種 Indian major carp (*C. mrigala*)への影響が検討されている。その結果として、1 µg/L 以上のばく露区で血漿中トリヨードサイロニン濃度の低値、血漿中サイロキシン濃度の低値(100µg/L 区では高値)、血漿中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値が認められた。(14529)(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用

⑥Liu ら(2017)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩、J&K Scientific、96%) 5、50、500、5,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 24 時間未満齢から 24 時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、5 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区でエクダイソン受容体 *EcR* mRNA 相対発現量の低値、5、50、5,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で putative toxicant receptor *HR96* mRNA 相対発現量、*CYP314* mRNA 相対発現量の低値、5、5,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で P-糖蛋白質 *P-gp* mRNA 相対発現量の低値、5、50 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でグルタチオン-S-トランスフェラーゼ *GST* mRNA 相対発現量の低値(5,000 $\mu\text{g/L}$ 区では高値)、5 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *CYP360A8* mRNA 相対発現量の低値(500、5,000 $\mu\text{g/L}$ 区では高値)、500 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区でビテロゲニン *Vtg* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩、J&K Scientific、96%) 5、50、500、5,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 24 時間未満齢から 48 時間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*)への影響が検討されている。その結果として、5 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で *CYP360A8* mRNA 相対発現量の高値、5、500、5,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で putative toxicant receptor *HR96* mRNA 相対発現量の高値、5、50 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でグルタチオン-S-トランスフェラーゼ *GST* mRNA 相対発現量の高値、50 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で P-糖蛋白質 *P-gp* mRNA 相対発現量、エクダイソン受容体 *EcR* mRNA 相対発現量の高値、50 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *CYP314* mRNA 相対発現量の高値(500、5,000 $\mu\text{g/L}$ 区では低値)、500 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区でビテロゲニン *Vtg* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩、J&K Scientific、96%) 5、50、500、5,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 24 時間未満齢から 96 時間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*)への影響が検討されている。その結果として、5、5,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *CYP360A8* mRNA 相対発現量の低値、5、500 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で P-糖蛋白質 *P-gp* mRNA 相対発現量の低値、5、50、5,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でエクダイソン受容体 *EcR* mRNA 相対発現量の低値(500 $\mu\text{g/L}$ 区では高値)、5、50 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でグルタチオン-S-トランスフェラーゼ *GST* mRNA 相対発現量の高値(500 $\mu\text{g/L}$ 区では低値)、5、50 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *CYP314* mRNA 相対発現量の高値(500、5,000 $\mu\text{g/L}$ 区では低値)、50、500 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で putative toxicant receptor *HR96* mRNA 相対発現量の高値、50 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でビテロゲニン *Vtg* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩、J&K Scientific、96%) 5、50、500、5,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 24 時間未満齢から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*)への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で初産卵に至るまでの所要日数の遅延が認められた。なお、死亡率、体長、内的増殖率、脱皮回数、初出産に至るまでの所要日数、初産卵数、産卵回数、総産仔数には影響は認められなかった。(14518)(○×)

想定される作用メカニズム：不明

⑧Yokota ら(2017)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩、和光純薬、98%) 10、50、100 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度、ナトリウム塩換算と思われる)に 14 日間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雌の腹部腫大発生率の高値、50 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で総産卵数、孵化率の低値、雄の下顎異常発生率、雌死亡率の高値が認められた。

(14514)(○○P)

想定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

- ⑨Yokotaら(2016)によってジクロフェナク(ナトリウム塩、和光純薬、98%) 12.5、25、50、100µg/L(設定濃度、ナトリウム塩換算)に14日間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、50µg/L以上のばく露区で受精率の低値、100µg/Lのばく露区で総産卵数の低値が認められた。なお、雌雄生殖腺体指数には影響は認められなかった。(14121)(○○P)

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

- ⑩Duら(2016)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich、98%) 500、1,500、4,500、13,500、40,500µg/L(設定濃度、カルボン酸換算と思われる)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、500µg/L以上のばく露区で総産仔(原著では卵と記載)数、出産回数、脱皮回数の低値、体長の高値が認められた。

(14520)(△×)

想定される作用メカニズム：抗脱皮ホルモン様作用を伴う一般毒性

本試験結果の解釈にあたっては、OECD TG211に準拠して実施された試験であるとしながらも、対照区の産仔数が試験成立条件に満たない点に注意を要すると判断された。

- ⑪Leeら(2011)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich) 1、10、100、1,000、10,000µg/L(設定濃度、カルボン酸換算と思われる)に受精後12時間未満から孵化後77日目までばく露したメダカ(*Oryzias latipes*) F₀への影響が検討されている。その結果として、10,000µg/Lのばく露区で雌生殖腺体指数の高値が認められた。なお、雄血漿中ビテロゲン濃度、雄生殖腺体指数、雌雄肝臓体指数には影響は認められなかった。また、濃度依存性については、孵化率、体長(孵化後77日齢)とに負の相関性、孵化までの所要日数(遅延)とに正の相関性が認められた。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich) 1、10、100、1,000、10,000µg/L(設定濃度、カルボン酸換算と思われる)に受精後12時間未満から孵化後77日目までばく露したメダカ(*O. latipes*) F₁(上記F₀雌雄が更に1週間ばく露継続後に産卵)への影響が検討されているが、受精率、孵化率、孵化までの所要日数には影響は認められなかった。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich) 1、10、100、1,000、10,000µg/L(設定濃度、カルボン酸換算と思われる)に受精後12時間未満から孵化後77日目までばく露したメダカ(*O. latipes*) F₂(上記F₁雌雄が更に1週間ばく露継続後に産卵)への影響が検討されている。その結果として、10,000µg/Lのばく露区で受精率の低値が認められた。なお、孵化率、孵化までの所要日数には影響は認められなかった。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich) 900、2,800、8,300、25,000、75,000µg/L(設定濃度、カルボン酸換算と思われる)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、25,000µg/L以上のばく露区で総産仔数、同腹産仔数の低値、75,000µg/Lのばく露区で生存率の低値が認められた。なお、初出産に至るまでの所要日数には影響は認められなかった。また、濃度依存性については、内的増殖率とに負の相関性が認められた。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich) 1,900、5,600、16,700、50,000、150,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度、カルボン酸換算と思われる)に 24 時間未満齢から 21 日間ばく露したタマミジンコ(*Moina macrocopa*)への影響が検討されている。その結果として、50,000 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で総産仔数、同腹産仔数の低値、初出産に至るまでの所要日数の遅延、150,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で生存率の低値が認められた。また、濃度依存性については、内的増殖率とに負の相関性が認められた。(14534)(Δ OP)

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(メダカ)、一般毒性(オオミジンコ及びタマミジンコ)

※参考 生態影響(今回評価対象としなかった文献)

②Mohd ら(2017)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich、98%) 0.01、0.1、1、10、100、1,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度、カルボン酸換算と思われる)に 2 時間ばく露したヨーロッパバフンウニ(*Psammechinus miliaris*)への影響が検討されている。その結果として、0.01 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で受精率(雌雄ばく露)の低値、0.1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で運動精子率、受精率(雄のみばく露)の低値、10 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で受精率(雌のみばく露)の低値が認められた。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich、98%) 0.01、0.1、1、10、100、1,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度 0.1、1、10、100 $\mu\text{g/L}$ に相当、カルボン酸換算と思われる)に 2 時間ばく露したタマシギゴカイ科の一種(*Arenicola marina*)への影響が検討されている。その結果として、0.01 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で受精率(雌雄ばく露)の低値、1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で運動精子率の低値、10 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で受精率(雄又は雌のみばく露)の低値が認められた。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich、98%) 0.01、0.1、1、10、100、1,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度、カルボン酸換算と思われる)に 2 時間ばく露したキヒトデ属の一種(*Asterias rubens*)への影響が検討されている。その結果として、0.01 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で受精率(雌雄ばく露)の低値、1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で運動精子率、受精率(雄のみばく露)の低値、10 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で受精率(雌のみばく露)の低値が認められた。(14516)

評価未実施の理由：試験生物の入手先が野外であり、試験開始前ばく露の可能性が否定できない報告のため。評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため

⑦Xia ら(2017)によって、ジクロフェナク(Dr. Ehrenstorfer、99%) 5、50、500 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に受精後 6 時間から最長受精後 120 時間までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、5 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で自発運動頻度(受精後 28 時間)、明条件自由遊泳試験における遊泳距離(受精後 120 時間)、明条件自由遊泳における遊泳継続時間(受精後 120 時間)の低値、5、500 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で孵化率(受精後 55 時間)の低値(孵化の遅延)、500 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でニューロゲニン *neurog1* mRNA 相対発現量(受精後 96 時間)の低値が認められた。なお、暗条件自由遊泳試験における遊泳距離(受精後 120 時間)、暗条件自由遊泳における遊泳継続時間(受精後 120 時間)、暗条件自由遊泳における遊泳速度(受精後 120 時間)、プロスタグランジン及びエンドペルオキシド及びシクターゼ *ptgs1* mRNA 相対発現量(受精後 96 時間)、プロスタグランジン及びエンドペルオキシド及びシクターゼ *ptgs2a* mRNA 相対発現量(受精後 96 時間)、グリア線維酸性蛋

白質 *gfap*mRNA 相対発現量(受精後 96 時間)、ELAV 様ニューロン特異的 RNA 結合蛋白質 *elavl3* mRNA 相対発現量(受精後 96 時間)、神経原分化蛋白質 *neurod1* mRNA 相対発現量(受精後 96 時間)には影響は認められなかった。(14515)

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

⑫de Oliveira ら(2016)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich、98%) 29,500、36,900、46,100、57,600、72,000µg/L(設定濃度、カルボン酸換算と思われる)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が、総産卵数、増殖率には影響は認められなかった。(14527)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

(2)生殖影響

①Güven ら(2013)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Voltaren®、Novartis、75mg/3mL ample) 1 mg/kg/day を妊娠 5 日目から 15 日目まで腹腔内投与したラットへの影響(4 週齢雌仔動物)が検討されている。その結果として、グラーフ卵胞体積、黄体体積、子宮角体積(内腔、上皮、固有層、筋層)の低値、卵巣体積(皮質)高値が認められた。(14531)(△○P)

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

②Mogilner ら(2006)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Voltaren) 10mg/kg/day を 3 日間皮下投与した雄 SD ラット(虚血再灌流傷害処置)への影響(処置側精巣)が検討されている。その結果として、アポトーシス生殖細胞率、アポトーシス生殖細胞が検出される精細管率、精巣絶対重量の低値が認められた。なお、精原性スコア(Johnsen's Criteria による)、生殖細胞層数には影響は認められなかった。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Voltaren) 10mg/kg/day を 3 日間皮下投与した雄 SD ラット(偽処置)への影響(処置側精巣)が検討されているが、アポトーシス生殖細胞率、アポトーシス生殖細胞が検出される精細管率、精巣絶対重量、精原性スコア(Johnsen's Criteria による)、生殖細胞層数には影響は認められなかった。(14542)(△?)

想定される作用メカニズム：不明

※参考 (3)神経発達影響(今回評価対象としなかった文献)

①Odaci ら(2010)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Voltaren®、Novartis、75mg/3mL ample) 1 mg/kg/day を妊娠 5 日目から 15 日目まで腹腔内投与した Wistar ラットへの影響(20 週齢雌仔動物)が検討されている。その結果として、小脳中プルキンエ細胞数の高値が認められた。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Voltaren®、Novartis、75mg/3mL ample) 1 mg/kg/day を妊娠 5 日目から 15 日目まで腹腔内投与したラットへの影響(4 週齢雌仔動物)が検討されているが、小脳中プルキンエ細胞数には影響は認められなかった。(14537)

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

②Ragbetli ら(2007)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Voltaren®、Novartis、75mg/3mL ample) 1 mg/kg/day を妊娠 5 日目から 15 日目まで腹腔内投与したラット(Wistar とと思われる)への

影響(4又は20週齢雄仔動物)が検討されている。その結果として、小脳中プルキンエ細胞数の高値が認められた。(14541)

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

(4)エストロゲン作用

①Klopčičら(2018)によって、ジクロフェナク(カルボン酸、TIC、98%) 100 μ M(=29,600 μ g/L、カルボン酸換算)までの濃度に48時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた β ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 β ガラクトシダーゼ発現誘導は認められなかった。(14513)(Δ ON)

②Ezechiašら(2016)によって、ジクロフェナク 0.28~70.35 μ M(=82.9~20,800 μ g/L、カルボン酸換算)の濃度に2.5時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

また、ジクロフェナク 10~337 μ M(=2,960~99,800 μ g/L)の濃度に2日間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D への影響が検討されているが、エストロゲン誘導性サイトカイン CXCL12 分泌誘導は認められなかった。(14522)(\times —)

本試験結果の解釈にあたっては、製品の入手先及び純度の記載がない点に注意を要すると判断された。

※参考 エストロゲン作用(今回評価対象としなかった文献)

③Escherら(2005)によって、ジクロフェナク(カルボン酸、Sigma) 10,000 μ M (=29,600,000 μ g/L、カルボン酸換算)までの濃度に72時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた β ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 β ガラクトシダーゼ発現誘導は認められなかった。(112756)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

(5)抗エストロゲン作用

①Ezechiašら(2016)によって、ジクロフェナク 0.28~70.35 μ M(=82.9~20,800 μ g/L、カルボン酸換算)の濃度に2.5時間ばく露(17 β エストラジオール 416 μ g/L 共存下)した酵母(ヒトエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC₅₀値 9.45 μ M(=2,800 μ g/L)の濃度でシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、ジクロフェナク 10~337 μ M(=2,960~99,800 μ g/L、カルボン酸換算)の濃度に2日間ばく露(17 β エストラジオール 9.18pM 共存下)したヒト乳がん細胞 T47D への影響が検討されている。その結果として、IC₅₀値 63.09 μ M(=18,700 μ g/L)の濃度でエストロゲン誘導性サイトカイン CXCL12 分泌誘導の阻害が認められた。(14522)(\times —)

②Klopčičら(2018)によって、ジクロフェナク(カルボン酸、TIC、98%) 100 μ M(=29,600 μ g/L、カルボ

ン酸換算)までの濃度に 48 時間ばく露(17 β -エストロジオール 0.2nM 共存下)した酵母(ヒトエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた 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、IC₅₀ 値 38 μ M(=11,000 μ g/L)の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導の阻害が認められた。(14513)(Δ OP) 本試験結果の解釈にあたっては、製品の入手先及び純度の記載がない点に注意を要すると判断された。

(6)アンドロゲン作用

①Klopčič ら(2018)によって、ジクロフェナク(カルボン酸、TIC、98%) 100 μ M(=29,600g/L、カルボン酸換算)までの濃度に 24 時間ばく露(ミフェプリストン 100nM 共存下)した乳がん細胞 MDA-kb2 (ヒトアンドロゲン受容体及びグルココルチコイド受容体を発現。ただし、グルココルチコイド受容体についてはアンタゴニストであるミフェプリストンによって抑制)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、EC₅₀ 値 0.52 μ M(=154 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

なお、ジクロフェナク(カルボン酸、TIC、98%) 100 μ M(=29,600g/L、カルボン酸換算)までの濃度に 48 時間ばく露した酵母(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた β -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 β -ガラクトシダーゼ発現誘導は認められなかった。(14513)(Δ OP)

②Ezechiaš ら(2016)によって、ジクロフェナク 0.28~70.35 μ M(=82.9~20,800 μ g/L、カルボン酸換算)の濃度に 2.5 時間ばく露した酵母(アンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているがルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。(14522)(\times -)

本試験結果の解釈にあたっては、製品の入手先及び純度の記載がない点に注意を要すると判断された。

(7)抗アンドロゲン作用

①Klopčič ら(2018)によって、ジクロフェナク(カルボン酸、TIC、98%) 100 μ M(=29,600g/L、カルボン酸換算)までの濃度に 24 時間ばく露(ジヒドロテストステロン 0.5nM 共存下)した乳がん細胞 MDA-kb2 (ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 0.019 μ M(=5.6 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、ジクロフェナク(カルボン酸、TIC、98%) 100 μ M(=29,600g/L、カルボン酸換算)までの濃度に 48 時間ばく露(ジヒドロテストステロン 1 nM 共存下)した酵母(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた β -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 63 μ M(=19,000 μ g/L)の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導の阻害が認められた。

なお、ジクロフェナク(カルボン酸、TIC、98%) 0.000001~10 μ M(=0.000296~2,960g/L、カルボ

ン酸換算、原著中グラフからの読み取り値)の濃度でラットアンドロゲン受容体 (PolarScreen™ AR competitor assay kit、リガンド結合ドメイン)による結合阻害(競合結合)試験が検討されているが、結合阻害は認められなかった。(14513)(△○P)

②Ezechiaš ら(2016)によって、ジクロフェナク 0.28~70.35μM(=82.9~20,800μg/L、カルボン酸換算)の濃度に 2.5 時間ばく露(テストステロン 4,160μg/L 共存下)した酵母(アンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 17.6μM(=5,200μg/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(14522)(×ー)

本試験結果の解釈にあたっては、製品の入手先及び純度の記載がない点に注意を要すると判断された。

(8)甲状腺ホルモン作用

①Zloh ら(2016)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩と思われる、Sigma-Aldrich) 0.001、0.01、0.1、1、10μM(=0.296、2.96、29.6、296、2,960μg/L、カルボン酸換算)までの濃度に 24 時間ばく露したヒト細胞(ヒト甲状腺ホルモン受容体 β を発現、INDIGO Biosciences)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。(14524)(△○N)

②Klopčič ら(2018)によって、ジクロフェナク(カルボン酸、TIC、98%) 100μM(=29,600μg/L、カルボン酸換算)までの濃度に 24 時間ばく露したラット下垂体がん細胞 GH3 (甲状腺ホルモン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。(14513)(△○N)

(9)抗甲状腺ホルモン作用

①Zloh ら(2016)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩と思われる、Sigma-Aldrich) 0.001、0.01、0.1、1、10μM(=0.296、2.96、29.6、296、2,960μg/L、カルボン酸換算)までの濃度に 24 時間ばく露(トリヨードサイロニン 100nM 共存下)したヒト細胞(ヒト甲状腺ホルモン受容体 β を発現、INDIGO Biosciences)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 5.3μM(=1,570μg/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩と思われる、Sigma-Aldrich) 10μM(=2,960μg/L、カルボン酸換算)の濃度で雄 Wistar ラット由来膜動脈への影響が検討されている。その結果として、血管拡張率(30分後にトロンボキササン A2 受容体アゴニスト U46619 300nM 及びトリヨードサイロニン 10~300nM 添加し測定)の低値が認められた。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩と思われる、Sigma-Aldrich) 10μM(=2,960μg/L、カルボン酸換算)の濃度で雄 Wistar ラット由来膜動脈への影響が検討されている。その結果として、血管拡張率(15分後にトロンボキササン A2 受容体アゴニスト U46619 1,000nM 添加し測定)の低値が認めら

れた。(114524)(△○P)

②Klopčičら(2018)によって、ジクロフェナク(カルボン酸、TIC、98%) 100 μ M(=29,600 μ g/L、カルボン酸換算)までの濃度に 24 時間ばく露(トリヨードサイロニン 0.25nM 共存下)したラット下垂体がん細胞 GH3 (甲状腺ホルモン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 9.9 μ M(=2,900 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(14513)(△○P)

(10)副腎皮質ホルモン作用

①Klopčičら(2018)によって、ジクロフェナク(カルボン酸、TIC、98%) 100 μ M(=29,600 μ g/L、カルボン酸換算)までの濃度に 24 時間ばく露(フルタミド 5,000nM 共存下)した乳がん細胞 MDA-kb2 (ヒトアンドロゲン受容体及びグルココルチコイド受容体を発現。ただし、アンドロゲン受容体についてはアンタゴニストであるフルタミドによって抑制)によるレポーターアッセイ(グルココルチコイド応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、EC₅₀ 値 0.046 μ M(=13.6 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。(14513)(△○P)

(11)抗副腎皮質ホルモン作用

①Klopčičら(2018)によって、ジクロフェナク(カルボン酸、TIC、98%) 100 μ M(=29,600 μ g/L、カルボン酸換算)までの濃度に 24 時間ばく露(ヒドロコルチゾン 500nM 共存下)した乳がん細胞 MDA-kb2 (グルココルチコイド受容体を発現)によるレポーターアッセイ(グルココルチコイド受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 21 μ M(=6,200 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、ジクロフェナク(カルボン酸、TIC、98%) 0.0001~10 μ M(=0.0296~2,960 μ g/L、カルボン酸換算、原著中グラフからの読み取り値)の濃度でヒトグルココルチコイド受容体(PolarScreen™ GR competitor assay kit、全長)による結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 1.1 μ M(=326 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(14513)(△○P)

(12)排卵への影響

①Yokotaら(2016)によってジクロフェナク(ナトリウム塩、和光純薬、98%) 0.5、5、50、500 μ M(=148、1,480、14,800、148,000 μ g/L、カルボン酸換算)の濃度に排卵予定時刻から 6 時間ばく露した成熟雌メダカ(*Oryzias latipes*)由来卵胞(排卵予定時刻 6:00 の約 10 時間前に相当する 20:00 に卵巣から採取)への影響が検討されている。その結果として、500 μ M(=148,000 μ g/L)の濃度区で排卵率の低値が認められた。なお、この影響は、プロスタグランジン PGE2 エタノールアミド 50 μ M 共存下で消失した。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩、和光純薬、98%) 500 μ M(=148,000 μ g/L)の濃度に排卵予定時刻から 6 時間ばく露した成熟雌メダカ(*Oryzias latipes*)由来卵胞(排卵予定時刻 6:00 の約 19 時間

前に相当する 11:00 に卵巣から採取)への影響が検討されている。その結果として、シクロオキシゲナーゼ比活性の低値が認められた。(14121)(○●P)

想定される作用メカニズム：プロスタグランジン抑制

②Ramos ら(2008)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩と思われる、Sigma Chemical) 30,000、60,000、100,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度で成熟雌ヒキガエル属の一種(*Bufo arenarum*)卵巣組織への影響(1時間ばく露後、更に下垂体磨砕物 0.03 gland/mL を添加し 12 時間後に試験)が検討されている。その結果として、30,000 $\mu\text{g/L}$ 以上の濃度区で排卵率の低値が認められた。(14540)(×一)

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、卵巣でのシクロオキシゲナーゼ阻害によるプロスタグランジン効果(排卵)の阻害

本試験結果の解釈にあたっては、試験生物の入手先が野外であり、試験開始前ばく露の可能性が否定できない点に注意を要すると判断された。

※参考 (13)ステロイド産生影響(今回評価対象としなかった文献)

①Ji ら(2010)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich) 200、2,000、20,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度に 48 時間ばく露したヒト副腎皮質上皮がん細胞 H295R への影響が検討されているが、17 β -エストラジオール産生量、テストロン産生量には影響は認められなかった。(13868)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

(14)サイトカイン産生影響

①Klopčič ら(2018)によって、ジクロフェナク(カルボン酸、TIC、98%) 0.046、0.3、100 μM (=13.6、88.8、29,600 $\mu\text{g/L}$ 、カルボン酸換算)の濃度に 1 時間、更にサイトカイン産生活活性化条件で 24 時間ばく露したヒトリンパ芽球様細胞 LCL への影響が検討されている。その結果として、0.046、0.3 μM (=13.6、88.8 $\mu\text{g/L}$)の濃度区でインターロイキン IL-2 産生量の高値(100 μM 区では低値)、100 μM (=29,600 $\mu\text{g/L}$)の濃度区で、インターロイキン IL-6 産生量、腫瘍壊死因子 TNF- α 産生量の低値が認められた。なお、インターロイキン IL-4 及び IL-10 産生量には影響は認められなかった。(14513)(Δ ×)

想定される作用メカニズム：不明

(15)ステロイド代謝酵素への影響

①Sten ら(2009)によって、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich) 10~1,000 μM (=2,960~296,000 $\mu\text{g/L}$ 、カルボン酸換算)の濃度で遺伝子組み換えヒト UGT2B15、遺伝子組み換えヒト UGT2B17 への影響が検討されている。その結果として、それぞれ IC₅₀ 値 25 μM (=7,400 $\mu\text{g/L}$)、65 μM (=19,000 $\mu\text{g/L}$)の濃度でテストステロン(10 μM)グルクロニル化反応の阻害が認められた。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich) 10~1,000 μM (=2,960~296,000 $\mu\text{g/L}$ 、カルボン酸換算)の濃度でヒト肝臓ミクロソーム由来 UGT2B17、ヒト肝臓ミクロソーム由来 UGT2B7、遺伝子組み換えヒト UGT2B15、遺伝子組み換えヒト UGT2B17 への影響が検討されている。その結果として、それぞれ IC₅₀ 値 43 μM (=13,000 $\mu\text{g/L}$)、77 μM (=23,000 $\mu\text{g/L}$)、51 μM (=15,000 $\mu\text{g/L}$)、

220 μ M(=65,000 μ g/L)の濃度でテストステロン(50 μ M)グルクロニル化反応の阻害が認められた。

また、ジクロフェナク(ナトリウム塩、Sigma-Aldrich) 500 μ M(=148,000 μ g/L、カルボン酸換算)までの濃度でヒト肝臓マイクロソームへの影響が検討されているが検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 64 μ M(=19,000 μ g/L)の濃度でテストステロン(50 μ M)グルクロニル化反応の阻害が認められた。なお、エピテストステロン(50 μ M)グルクロニル化反応については濃度依存的阻害が認められたが、IC₅₀ 値は得られなかった。(14538)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：アンドロゲン代謝阻害

(16)疫学的調査

①Aoyama ら(1990)によって、日本にて、ジクロフェナク(ナトリウム塩) 50mg を単回(早朝空腹時)経口投与した健常者(男性8名、女性2名)への影響(投与90分後の投与前との比較)が検討されている。その結果として、血清中総サイロキシン濃度、血清中遊離サイロキシン濃度、血清中総トリヨードサイロニン濃度の低値、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度、血清中トリヨードサイロニン吸収率(T3U)、血清中遊離/総サイロキシン比、血清中遊離/総トリヨードサイロニン比の高値が認められた。(14544)(\circ OP)

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用、甲状腺ホルモン結合蛋白に対する競合的阻害作用

②Bishnoi ら(1994)によって、米国にて、ジクロフェナク 141mg/day(平均値)を3週間以上服用した外来患者(8名、平均年齢 61 \pm 3 歳)への影響が検討されている。その結果として、非投与群(非ステロイド性抗炎症薬を服用していない外来患者 22名)との比較において、血清中総トリヨードサイロニン濃度の低値が認められた。なお、血清中総サイロキシン濃度、血清中遊離サイロキシン指数、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度には有意差は認められなかった。(14543)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用、甲状腺ホルモン結合蛋白に対する競合的阻害作用

2. 総合的判断(案)

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

対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、動物試験の報告において、エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用、視床下部-下垂体-甲状腺軸への作用、脱皮ホルモン様作用、排卵への影響を示すこと、試験管内試験の報告において、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、副腎皮質ホルモン作用、抗副腎皮質ホルモン作用を示すこと、疫学的調査において、抗甲状腺ホルモン様作用、甲状腺ホルモン結合蛋白に対する競合的阻害作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表3に示した。

表3 信頼性評価のまとめ

物質名：ジクロフェナク

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法 (Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(1)生態影響	エストロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	①Efosa ら(2017)	△	○P	○
		②Mohd ら(2017) 評価未実施			
	エストロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	③Gröner ら(2017)	△	○P	○
	不明	④Dietrich ら(2010)	△	?	—
	視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用	⑤Saravanan ら(2014)	△	○P	○
	不明	⑥Liu ら(2017)	○	×	×
		⑦Xia ら(2017) 評価未実施			
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	⑧Yokota ら(2017)	○	?	—
	エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	⑨Yokota ら(2016)	○	○P	○
	抗脱皮ホルモン様作用を伴う一般毒性	⑩Du ら(2016)	△	×	×
	一般毒性	⑪Lee ら(2011)	△	×	×
		⑫de Oliveira ら(2016) 評価未実施			
(2)生殖影響	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	①Güven ら(2013)	△	?	—
	不明	②Mogilner ら(2006)	×	?	—
(3)神経発達影響		①Odaci ら(2010) 評価未実施			
		②Ragbetli ら(2007) 評価未実施			

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法 (Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(4)エストロゲン作用	①Klopčič ら(2018)	△	○N	×	
	②Ezechiaš ら(2016)	×	—	×	
	③Escher ら(2005) 評価未実施				
(5)抗エストロゲン作用	①Ezechiaš ら(2016)	×	—	×	
	②Klopčič ら(2018)	△	○P	○	
(6)アンドロゲン作用	①Klopčič ら(2018)	△	○P	○	
	②Ezechiaš ら(2016)	×	—	×	
(7)抗アンドロゲン作用	①Klopčič ら(2018)	△	○P	○	
	②Ezechiaš ら(2016)	×	—	×	
(8)甲状腺ホルモン作用	①Zloh ら(2016)	△	○N	×	
	②Klopčič ら(2018)	△	○N	×	
(9)抗甲状腺ホルモン作用	①Zloh ら(2016)	△	○P	○	
	②Klopčič ら(2018)	△	○P	○	
(10)副腎皮質ホルモン作用	①Klopčič ら(2018)	△	○P	○	
(11)抗副腎皮質ホルモン作用	①Klopčič ら(2018)	△	○P	○	
(12)排卵への影響	プロスタグランジン抑制	①Yokota ら(2016)	○	○P	○
		②Ramos ら(2008)	×	—	×
(13)サイトカイン産生影響		①Klopčič ら(2018)	△	×	×
(14)ステロイド産生影響		①Ji ら(2010) 評価未実施			
(15)ステロイド代謝酵素への影響	アンドロゲン代謝阻害	①Sten ら(2009)	△	?	—
(16)疫学的調査	抗甲状腺ホルモン様作用、甲状腺ホルモン結合蛋白に対する競合的阻害作用	①Aoyama ら(1990)	○	○P	○
	抗甲状腺ホルモン様作用、甲状腺ホルモン結合蛋白に対する競合的阻害作用	②Bishnoi ら(1994)	△	○P	○

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法 (Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
今後の対応案	動物試験の報告において、エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン作用、アンドロゲン代謝阻害、抗甲状腺ホルモン作用、副腎皮質ホルモン作用、抗副腎皮質ホルモン作用を示すこと、疫学的調査において、抗甲状腺ホルモン様作用、甲状腺ホルモン結合蛋白に対する競合的阻害作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

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

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

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

参考文献

14517: Efosa NJ, Kleiner W, Kloas W and Hoffmann F (2017) Diclofenac can exhibit estrogenic modes of action in male *Xenopus laevis*, and affects the hypothalamus-pituitary-gonad axis and mating vocalizations. *Chemosphere*, 173, 69-77.

14516: Mohd Zanuri NB, Bentley MG and Caldwell GS (2017) Assessing the impact of diclofenac, ibuprofen and sildenafil citrate (Viagra®) on the fertilisation biology of broadcast spawning marine invertebrates. *Marine Environmental Research*, 127, 126-136.

14519: Gröner F, Hohne C, Kleiner W and Kloas W (2017) Chronic diclofenac exposure affects gill integrity and pituitary gene expression and displays estrogenic activity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Chemosphere*, 166, 473-481.

14536: Dietrich S, Ploessl F, Bracher F and Laforsch C (2010) Single and combined toxicity of pharmaceuticals at environmentally relevant concentrations in *Daphnia magna* — a multigenerational study. *Chemosphere*, 79 (1), 60-66.

14529: Saravanan M, Hur JH, Arul N and Ramesh M (2014) Toxicological effects of clofibric acid and diclofenac on plasma thyroid hormones of an Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* during short and long-term exposures. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 38 (3), 948-958.

14518: Liu Y, Wang L, Pan B, Wang C, Bao S and Nie X (2017) Toxic effects of diclofenac on life history parameters and the expression of detoxification-related genes in *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 183, 104-113.

14515: Xia L, Zheng L and Zhou JL (2017) Effects of ibuprofen, diclofenac and paracetamol on hatch and motor behavior in developing zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 182, 416-425.

14514: Yokota H, Higashi K, Hanada E, Matsuzaki E, Tsuruda Y, Suzuki T, Nakano E and Eguchi S (2017) Recovery from reproductive and morphological abnormalities in medaka (*Oryzias latipes*)

- following a 14-day exposure to diclofenac. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36 (12), 3277-3283.
- 14121: Yokota H, Eguchi S, Hasegawa S, Okada K, Yamamoto F, Sunagawa A, Tanaka M, Yamamoto R and Nakano E (2016) Assessment of *in vitro* antioviulatory activities of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and comparison with *in vivo* reproductive toxicities of medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology*, 31 (12), 1710-1719.
- 14520: Du J, Mei CF, Ying GG and Xu MY (2016) Toxicity Thresholds for Diclofenac, Acetaminophen and Ibuprofen in the Water Flea *Daphnia magna*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 97 (1), 84-90.
- 14534: Lee J, Ji K, Lim Kho Y, Kim P and Choi K (2011) Chronic exposure to diclofenac on two freshwater cladocerans and Japanese medaka. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74 (5), 1216-1225.
- 14527: de Oliveira LL, Antunes SC, Goncalves F, Rocha O and Nunes B (2016) Acute and chronic ecotoxicological effects of four pharmaceuticals drugs on cladoceran *Daphnia magna*. *Drug and Chemical Toxicology*, 39 (1), 13-21.
- 14531: Güven D, Altunkaynak BZ, Ayranci E, Kaplan S, Bildircin FD, Kesim Y and Ragbetli MC (2013) Stereological and histopathological evaluation of ovary and uterine horns of female rats prenatally exposed to diclofenac sodium. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 33 (3), 258-263.
- 14542: Mogilner JG, Lurie M, Coran AG, Nativ O, Shiloni E and Sukhotnik I (2006) Effect of diclofenac on germ cell apoptosis following testicular ischemia-reperfusion injury in a rat. *Pediatric Surgery International*, 22 (1), 99-105.
- 14537: Odaci E, Cihan OF, Aslan H, Ragbetli MC and Kaplan S (2010) Prenatal diclofenac sodium administration increases the number of Purkinje cells in female rats: a stereological study. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 28 (2), 145-151.
- 14541: Ragbetli MC, Ozyurt B, Aslan H, Odaci E, Gokcimen A, Sahin B and Kaplan S (2007) Effect of prenatal exposure to diclofenac sodium on Purkinje cell numbers in rat cerebellum: a stereological study. *Brain Research*, 1174, 130-135.
- 14513: Klopčič I, Markovič T, Mlinarič-Raščan I and Dolenc MS (2018) Endocrine disrupting activities and immunomodulatory effects in lymphoblastoid cell lines of diclofenac, 4-hydroxydiclofenac and paracetamol. *Toxicology Letters*. 294, 95-104.
- 14522: Ezechias M, Janochová J, Filipová A, Křesinová Z and Cajthaml T (2016) Widely used pharmaceuticals present in the environment revealed as *in vitro* antagonists for human estrogen and androgen receptors. *Chemosphere*, 152, 284-291.
- 12756: Escher BI, Bramaz N, Eggen RI and Richter M (2005) *In vitro* assessment of modes of toxic action of pharmaceuticals in aquatic life. *Environmental Science & Technology*, 39 (9), 3090-3100.
- 14524: Zloh M, Perez-Diaz N, Tang L, Patel P and Mackenzie LS (2016) Evidence that diclofenac and celecoxib are thyroid hormone receptor beta antagonists. *Life Sciences*, 146, 66-72.
- 14540: Ramos I, Cisint SB, Crespo CA, Medina MF and Fernández SN (2008) Modulators of *Bufo arenarum* ovulation. *Zygote*, 16 (1), 65-72.

- 13868: Ji K, Choi K, Lee S, Park S, Khim JS, Jo EH, Choi K, Zhang X and Giesy JP (2010) Effects of sulfathiazole, oxytetracycline and chlortetracycline on steroidogenesis in the human adrenocarcinoma (H295R) cell line and freshwater fish *Oryzias latipes*. *Journal of Hazardous Materials*, 182 (1-3), 494-502.
- 14538: Sten T, Finel M, Ask B, Rane A and Ekstrom L (2009) Non-steroidal anti-inflammatory drugs interact with testosterone glucuronidation. *Steroids*, 74 (12), 971-977.
- 14544: Aoyama A, Natori Y, Yamaguti N, Koike S, Kusakabe K, Demura R and Demura H (1990) The effects of diclofenac sodium on thyroid function tests *in vivo* and *in vitro*. *Rinsho Byori. Japanese Journal of Clinical Pathology*, 38 (6), 688-692.
- 14543: Bishnoi A, Carlson HE, Gruber BL, Kaufman LD, Bock JL and Lidonnici K (1994) Effects of commonly prescribed nonsteroidal anti-inflammatory drugs on thyroid hormone measurements. *American Journal of Medicine*, 96 (3), 235-238.

IV. アミオダロン

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

アミオダロンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、生殖影響、甲状腺影響、代謝影響、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用の有無及び疫学的調査に関する報告がある。

(1)生態影響

①Raldúa と Babin (2009)によって、アミオダロン(塩酸塩、Sigma-Aldrich) 1 µg/L(=635nM)(遊離アミン体換算設定濃度)に受精後 48 時間から孵化後 120 時間までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)受精卵への影響が検討されている。その結果として、甲状腺濾胞におけるサイロキシン濃度の低値(サイロキシン免疫蛍光染色による)が認められた。(14620)(評価結果の略号: △○P)

想定される作用メカニズム: 甲状腺ホルモン合成への影響

③Verstraelen ら(2016)によって、アミオダロン(塩酸塩、Sigma-Aldrich) 129、645、3,230µg/L(=0.2、1、5 µM)(遊離アミン体換算設定濃度)に受精後 72 時間から 48 時間までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)受精卵への影響が検討されている。その結果として、129µg/L 以上ばく露区でアルブミン様蛋白質 *GC*mRNA 相対発現量、トランスフェリン *TF*mRNA 相対発現量の低値、645µg/L 以上のばく露区でセルロプラスミン *CP*mRNA 相対発現量の低値、カスパーゼ *CASP3A* mRNA 相対発現量の高値、645µg/L のばく露区で二価鉄キレートレダクターゼ 1 *ZGC163022* mRNA 相対発現量の低値、3,230µg/L のばく露区で肝脂肪酸結合蛋白質 *FABP10a* mRNA 相対発現量の低値、*CYP3A65* mRNA 相対発現量、*CYP2K19* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、核受容体サブファミリー *NR1H4* mRNA 相対発現量、腫瘍抑制蛋白質 *TP53* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14610)(△?)

想定される作用メカニズム: 肝臓に対する影響

※参考 生態影響(今回評価対象としなかった文献)

②Liu と Chan (2002)によって、アミオダロン(入手先の記載は見当たらない、塩酸塩と思われる) 32.7µg/L(=50nM)(設定濃度)(遊離アミン体換算設定濃度)に受精後 48 時間から 48 時間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)受精卵への影響が検討されている。その結果として、甲状腺ホルモン受容体 *TRa* 及び *TRb* mRNA 相対発現量の低値が認められた。

また、アミオダロン 32.7µg/L(=50nM)(設定濃度)(遊離アミン体換算設定濃度)に受精後 5.3 時間(原腸期初期に相当)から受精後 5 日までばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)受精卵への影響が検討されているが、甲状腺ホルモン受容体 *TRa* 及び *TRb* mRNA 相対発現量、最大体高、浮袋高、メッケル軟骨から角舌骨までの距離、下顎長、眼中央部頭幅、標準体長には影響は認められなかった。(14625)

評価未実施の理由: 影響が認められなかった報告のため

④Jomaa ら(2014)によって、アミオダロン(塩酸塩、Sigma-Aldrich) 0.645~6,450µg/L(=0.001~

10 μ M)(遊離アミン体換算設定濃度)に受精後 72 時間から 48 時間までばく露したゼブラフィッシュ (*Danio rerio*)受精卵への影響が検討されている。その結果として、6,450 μ g/L(10 μ M)のばく露区で奇形率(浮袋の膨張不全)の高値が認められた。なお、GDS (General Morphology Score)には影響は認められなかった。(14615)

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

(2)生殖影響

①Özkaya ら(2016)によって、アミオダロン(入手先の記載は見当たらない、塩酸塩と思われる) 20、200mg/kg/day(遊離アミン体換算と思われる)を 8 週齢から 14 日間経口投与した雄 SD ラットへの影響(精細管中生殖細胞)が検討されている。その結果として、20mg/kg/day 以上のばく露群でカスパーゼ-3 蛋白質発現量、アポトーシス発生量(TUNEL 染色及び Bax 染色)の高値、細胞の炎症化、膨潤化、液胞化程度の用量依存的重篤化、200mg/kg/day のばく露群でカスパーゼ-9 蛋白質発現量の高値が認められた。なお、体重、精巣絶対及び相対重量には影響は認められなかった。(14609)(×)

想定される作用メカニズム：精巣毒性

本試験結果の解釈にあたっては、製品の入手先及び純度の記載がない点に注意を要すると判断された。

(3)甲状腺影響

①Wiersinga と Broenink (1991)によって、アミオダロン(Sanofi、塩酸塩と思われる) 50、100、150mg/kg/day(遊離アミン体換算と思われる)を 2 週間経口投与した成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上のばく露群で血漿中サイロキシン濃度の高値、100mg/kg/day 以上のばく露群で血漿中トリヨードサイロニン濃度の低値、血漿中甲状腺刺激ホルモン濃度、血漿中コレステロール濃度の高値が認められた。(14629)(△○P)

想定される作用メカニズム：サイロキシンからトリヨードサイロニンへの変換障害による甲状腺機能低下

②Hudig F ら(1997)によって、アミオダロン(Sanofi、塩酸塩と思われる) 100mg/kg/day(遊離アミン体換算と思われる)を 14 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、血漿及び肝臓中トリヨードサイロニン濃度、血漿中トリグリセリド濃度、肝臓中 LDL 受容体 mRNA 相対発現量の低値、肝臓絶対重量、血漿中サイロキシン濃度、血漿中甲状腺刺激ホルモン濃度、血漿中コレステロール濃度、血漿中 LDL コレステロール濃度、血漿中 HDL コレステロール濃度の高値が認められた。(14786)(△○P)

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用

(4)代謝影響

①Ernst ら(2010)によって、アミオダロン(Sigma-Aldrich、塩酸塩と思われる) 80mg/kg/day(遊離アミン体換算と思われる)を 9～11 週齢+ 5 日間から 8 日間腹腔内投与した雄 C57BL/6 マウス(野生

型)への影響が検討されている。その結果として、増加体重の低値、肝臓相対重量、肝臓中 *BIEN* (bifunctional enzyme) mRNA 相対発現量、肝臓中 *CYP4A14* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、心臓相対重量、腎臓相対重量、血清中トリグリセリド濃度、血清中コレステロール濃度、血清中遊離脂肪酸濃度、血清中アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ濃度、肝臓中アシル CoA オキシダーゼ *ACOX* mRNA 相対発現量、肝臓中 *CD36* mRNA 相対発現量、肝臓中 *CPT2* mRNA 相対発現量、肝臓中チオラーゼ *Thiolase* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、アミオダロン(Sigma-Aldrich、塩酸塩と思われる) 80mg/kg/day(遊離アミン体換算と思われる)を9~11 週齢+5 日間から8 日間腹腔内投与した雄 C57BL/6 マウス(ペルオキシゾーム増殖剤応答性受容体(PPAR: Peroxisome Proliferator-Activated Receptor) α 欠損型)への影響が検討されている。その結果として、増加体重、腎臓相対重量の低値、血清中アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ濃度の高値が認められた。なお、心臓相対重量、心臓相対重量、血清中トリグリセリド濃度、血清中コレステロール濃度、血清中遊離脂肪酸濃度、肝臓中アシル CoA オキシダーゼ *ACOX* mRNA 相対発現量、肝臓中 *BIEN*(bifunctional enzyme) mRNA 相対発現量、肝臓中 *CD36* mRNA 相対発現量、肝臓中 *CPT2* mRNA 相対発現量、肝臓中 *CYP4A14* mRNA 相対発現量、肝臓中チオラーゼ *Thiolase* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14619)(×-)

想定される作用メカニズム：毒性

- ②McCarthy ら(2004)によって、アミオダロン(Sigma-Aldrich、塩酸塩と思われる) 150mg/kg/day(遊離アミン体換算と思われる)を9~11 週齢+4 日間から最長7 日間腹腔内投与した雄 C57BL/6 マウス(野生型)への影響が検討されている。その結果として、増加体重(7 日後)、血清中グルコース濃度(4 日後)、血清中トリグリセリド濃度(4 日後)の低値、腎臓絶対及び相対重量(7 日後)、肝臓相対重量(7 日後、絶対重量は有意差なし)の高値が認められた。なお、血清中総コレステロール濃度(4 日後)、血清中アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ濃度(4 日後)、血清中胆汁酸濃度(4 日後)には影響は認められなかった。(14624)(×-)

想定される作用メカニズム：毒性

(5)エストロゲン作用

- ① Ezechias ら(2016)によって、アミオダロン(Sigma-Aldrich、塩酸塩と思われる、98%) 1.41 μ M(=910 μ g/L)(遊離アミン体換算)の濃度に2.5 時間ばく露した酵母(エストロゲン受容体 α を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

また、アミオダロン(塩酸塩、Sigma-Aldrich、98%) 0.15~31 μ M(=97~2,000 μ g/L)(遊離アミン体換算)の濃度に2 日間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D への影響が検討されているが、エストロゲン誘導性サイトカイン CXCL12 分泌量には影響は認められなかった。(14522)(Δ ○N)

(6)抗エストロゲン作用

- ① Ezechias ら(2016)によって、アミオダロン(塩酸塩、Sigma-Aldrich、98%) 0.15~31 μ M(=97~2,000 μ g/L)(遊離アミン体換算)の濃度に2 日間ばく露(17 β -エストラジオール 9.18pM 共存下)した

ヒト乳がん細胞 T47D への影響が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 10.59 μ M(=18,700 μ g/L)の濃度でエストロゲン誘導性サイトカイン CXCL12 分泌量の濃度依存的低値が認められた。

また、アミオダロン(塩酸塩、Sigma-Aldrich、98%) 1.41 μ M(=910 μ g/L)(遊離アミン体換算)の濃度に 2.5 時間ばく露(17 β -エストラジオール 416 μ g/L 共存下)した酵母(エストロゲン受容体 α を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。(14522)(Δ OP)

(7)アンドロゲン作用

①Ezechiaš ら(2016)によって、アミオダロン(塩酸塩、Sigma-Aldrich、98%) 1.41 μ M(=910 μ g/L)(遊離アミン体換算)の濃度に 2.5 時間ばく露した酵母(アンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。(14522)(Δ ON)

(8)抗アンドロゲン作用

①Ezechiaš ら(2016)によって、アミオダロン(塩酸塩、Sigma-Aldrich、98%) 1.41 μ M(=910 μ g/L)(遊離アミン体換算)の濃度に 2.5 時間ばく露(テストステロン 4,160 μ g/L 共存下)した酵母(アンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。(14522)(Δ ON)

(9)甲状腺ホルモン作用

①Kimura-Kuroda ら(2002)によって、アミオダロン(Sigma、塩酸塩と思われる) 0.1 μ M(=64.5 μ g/L)(遊離アミン体換算)の濃度に 20 日間ばく露した小脳培養細胞(BALB/C マウス由来)への影響が検討されているが、プリキンエ細胞樹状突起面積には影響は認められなかった。(14784)(Δ ON)

(10)抗甲状腺ホルモン作用

①Li ら(2014)によって、アミオダロン(塩酸塩、Shanghai Pharmaceutical) 0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.0645、0.645、6.45、64.5、645、6,450 μ g/L)(遊離アミン体換算)の濃度に一昼夜ばく露(トリヨードサイロニン 0.25 μ M 共存下)した酵母(ヒト甲状腺ホルモン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた 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、RIC₂₀ (20% relative inhibitory concentration)値 0.0078 μ M(=5.0 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(14783)(Δ OP)

②Kimura-Kuroda ら(2002)によって、アミオダロン(Sigma、塩酸塩と思われる) 0.1 μ M(=64.5 μ g/L)(遊離アミン体換算)の濃度に 20 日間ばく露(サイロキシシン 50nM 共存下)した小脳培養細胞(BALB/C マウス由来)への影響が検討されている。その結果として、プリキンエ細胞樹状突起面積の低値が認め

られた。(14784)(△○P)

(11)疫学的調査

①Vorperian ら(1997)によって、アミオダロンについて、うっ血性心不全又は心筋梗塞後症候群の男性患者を対象に 1991 年から 1995 年にかけて公表された 4 研究(二重盲検プラセボ投与対照群を設定)のメタアナリシスが報告されている。その結果として、投与群(738 名、日毎平均 52~330mg/day を 24~45 ヶ月間継続)と非投与群(727 名)との Peto-modified Mantel-Haenszel 法によるオッズ比比較において、甲状腺有害影響発症率、神経有害影響発症率、皮膚有害影響発症率、眼有害影響発症率、徐脈有害影響発症率の高値が認められた。なお、肝臓有害影響発症率、胃腸有害影響発症率、肺有害影響発症率には影響は認められなかった。(14785)(○○P)

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用

②Dobs ら(1991)によって、アミオダロンについて、米国 Maryland 州(Johns Hopkins Cardiac Arrhythmia Clinic)にて抗不整脈治療を長期受診中の男性患者を対象に、血清中ホルモン濃度に及ぼす影響が検討されている。その結果として、投与群(18 名、年齢 68±8 歳、試験時において 2 名が 200mg/day 及び 16 名が 400mg/day を 3.5±1.6 年間継続)及び非投与群(26 名、年齢 65±8 歳)との比較において、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値、血清中総サイロキシン濃度、血清中卵巣刺激ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度の高値が認められた。なお、血清中総テストステロン濃度、血清中遊離テストステロン濃度、血清中プロラクチン濃度、血清中総エストラジオール濃度には影響は認められなかった。(14628)(△○P)

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用(精巣の触診結果より)、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用

2. 総合的判断(案)

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

対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、動物試験の報告において、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、甲状腺ホルモン合成への影響、サイロキシンからトリヨードサイロニンへの変換障害による甲状腺機能低下作用を示すこと、試験管内試験の報告において、抗エストロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用を示すこと、疫学的調査において、抗アンドロゲン様作用、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 4 に示した。

表4 信頼性評価のまとめ

物質名：アミオダロン

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法 (Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(1)生態影響	甲状腺ホルモン合成への影響	①Raldúa と Babin (2009)	△	○P	○
		②Liu と Chan (2002) 評価未実施			
	肝臓に対する影響	③Verstraelen ら(2016)	△	?	—
		④Jomaa ら(2014) 評価未実施			
(2)生殖影響	精巣毒性	①Özkaya ら(2016)	×	—	×
(3)甲状腺影響	サイロキシンからトリヨードサイロニンへの変換障害による甲状腺機能低下	①Wiersinga と Broenink (1991)	△	○P	○
	抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	②Hudig ら(1997)	△	○P	○
(4)代謝影響	毒性	①Ernst ら(2010)	×	—	×
	毒性	②McCarthy と(2004)	×	—	×
(5)エストロゲン作用		①Ezechiasz ら(2016)	△	○N	×
(6)抗エストロゲン作用		①Ezechiasz ら(2016)	△	○P	○
(7)アンドロゲン作用		①Ezechiasz ら(2016)	△	○N	×
(8)抗アンドロゲン作用		①Ezechiasz ら(2016)	△	○N	×
(9)甲状腺ホルモン作用		①Kimura-Kuroda ら(2002)	△	○N	×
(10)抗甲状腺ホルモン作用		①Li ら(2014)	△	○P	○
		②Kimura-Kuroda ら(2002)	△	○P	○
(11)疫学的調査	抗甲状腺ホルモン作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	①Vorperian ら(1997)	○	○P	○
	抗アンドロゲン様作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	②Dobs ら(1991)	△	○P	○

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法 (Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
今後の対応案	動物試験の報告において、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、甲状腺ホルモン合成への影響、サイロキシンからトリヨードサイロニンへの変換障害による甲状腺機能低下作用を示すこと、試験管内試験の報告において、抗エストロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用を示すこと、疫学的調査において、抗アンドロゲン様作用、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

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

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

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

参考文献

14620: Raldúa D and Babin PJ (2009) Simple, rapid zebrafish larva bioassay for assessing the potential of chemical pollutants and drugs to disrupt thyroid gland function. *Environmental Science & Technology*, 43 (17), 6844-6850.

14625: Liu YW and Chan WK (2002) Thyroid hormones are important for embryonic to larval transitory phase in zebrafish. *Differentiation*, 70 (1), 36-45.

14610: Verstraelen S, Peers B, Maho W, Hollanders K, Remy S, Berckmans P, Covaci A and Witters H (2016) Phenotypic and biomarker evaluation of zebrafish larvae as an alternative model to predict mammalian hepatotoxicity. *Journal of Applied Toxicology*, 36 (9), 1194-1206.

14615: Jomaa B, Hermsen SA, Kessels MY, van den Berg JH, Peijnenburg AA, Aarts JM, Piersma AH and Rietjens IM (2014) Developmental toxicity of thyroid-active compounds in a zebrafish embryotoxicity test. *Altex*, 31 (3), 303-317.

14609: Özkaya AK, Dilber E, Gürgen SG, Kutlu O, Cansu A and Gedik Y (2016) Effects of chronic amiodarone treatment on rat testis. *Acta Histochemica*, 118 (3), 271-277.

14629: Wiersinga WM and Broenink M (1991) Amiodarone induces a dose-dependent increase of plasma cholesterol in the rat. *Hormone and Metabolic Research*, 23 (2), 94-95.

14786: Hudig F, Bakker O and Wiersinga WM (1997) Tri-iodothyronine prevents the amiodarone-induced decrease in the expression of the liver low-density lipoprotein receptor gene. *Journal of Endocrinology*, 152 (3), 413-421.

14619: Ernst MC, Sinal CJ and Pollak PT (2010) Influence of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha (PPARalpha) activity on adverse effects associated with amiodarone exposure in mice. *Pharmacological Research*, 62 (5), 408-415.

14624: McCarthy TC, Pollak PT, Hanniman EA and Sinal CJ (2004) Disruption of hepatic lipid

homeostasis in mice after amiodarone treatment is associated with peroxisome proliferator-activated receptor-alpha target gene activation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 311 (3), 864-873.

14522: Ezechiaš M, Janochová J, Filipová A, Křesinová Z and Cajthaml T (2016) Widely used pharmaceuticals present in the environment revealed as *in vitro* antagonists for human estrogen and androgen receptors. *Chemosphere*, 152, 284-291.

14784: Kimura-Kuroda J, Nagata I, Negishi-Kato M, and Kuroda Y (2002) Thyroid hormone-dependent development of mouse cerebellar Purkinje cells *in vitro*. *Brain Research: Developmental Brain Research*, 137 (1), 55-65.

14783: Li J, Ren S, Han S, and Li N (2014) A yeast bioassay for direct measurement of thyroid hormone disrupting effects in water without sample extraction, concentration, or sterilization. *Chemosphere*, 100, 139-145.

14785: Vorperian VR, Havighurst TC, Miller S, and January CT (1997) Adverse effects of low dose amiodarone: a meta-analysis. *Journal of the American College of Cardiology*, 30 (3), 791-798.

14628: Dobs AS, Sarma PS, Guarnieri T, and Griffith L (1991) Testicular dysfunction with amiodarone use. *Journal of the American College of Cardiology*, 18 (5), 1328-1332.