

## 平成30年度第1段階生物試験の実施結果について(改)(案)

## 1. 平成30年度に実施した試験結果について

試験管内試験の結果等から第1段階生物試験を実施する優先順位が高いと考えられた2物質(ベンゾフェノン-2、ペンディメタリン)について、メダカを用いた魚類短期繁殖試験(修正TG229)を実施した(試験法の概要についてはp2参照)。

## (1) ベンゾフェノン-2の試験結果

0.0943、0.939、9.53mg/L(実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、死亡率、全長、体重、総産卵数、受精卵数、生殖腺体指数、肝臓体指数、二次性徴、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

9.53mg/Lのばく露群において、雄の肝臓中ビテロゲニン濃度の統計学的に有意な高値及び受精率の統計学的に有意な低値が認められた。

## (2) ペンディメタリンの試験結果

5.69、28.8、100µg/L(実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、死亡率、全長、体重、総産卵数、生殖腺体指数、肝臓体指数、二次性徴、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

100µg/Lのばく露群において、雄の肝臓中ビテロゲニン濃度の統計学的に有意な高値及び受精卵数、受精率の統計学的に有意な低値が認められた。

なお、ばく露濃度100µg/Lにおいて嗜眠状態(発生率4.2%)、出血(発生率21%)、眼球突出(発生率8.3%)、体幹彎曲(発生率13%)、筋肉痙攣(発生率4.2%)が認められた。

## 2. 試験結果のまとめ

## (1) ベンゾフェノン-2

ベンゾフェノン-2については既存知見からエストロゲン作用を持つことが想定されており、今回の試験結果において、有意な死亡が認められない濃度範囲において、エストロゲン作用を示す雄の肝臓中ビテロゲニン濃度の高値が認められたため、エストロゲン作用を持つことが確認された。

メダカに対する有害性(受精率の低値)が認められたばく露濃度9.53mg/Lは、平成26年度に実施された化学物質環境実態調査での最高検出値0.013µg/Lの約733,000倍であった。

メダカに対する有害性が認められなかったばく露濃度0.939mg/Lは、平成26年度に実施された化学物質環境実態調査での最高検出値0.013µg/Lの約72,200倍であった。

## (2) ペンディメタリン

ペンディメタリンについては既存知見からエストロゲン作用を持つことが想定されており、今回の試験結果において、有意な死亡が認められない濃度範囲において、エストロゲン作用を示す雄の肝臓中ビテロゲニン濃度の高値が認められたため、エストロゲン作用を持つことが確認された。

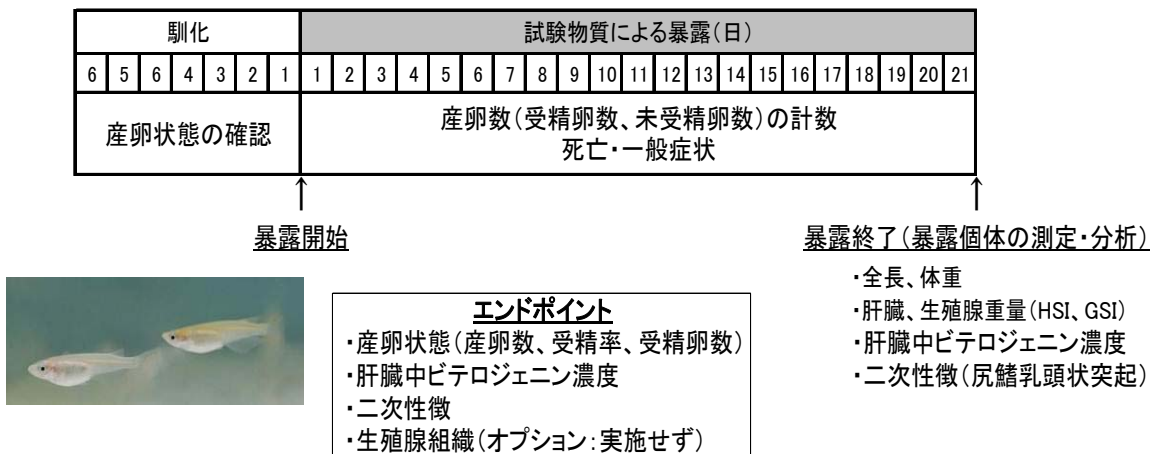
メダカに対する有害性(受精卵数、受精率の低値)が認められたばく露濃度 100µg/L は、平成 19 年度に実施された化学物質環境実態調査(未検出)での検出下限値 0.0014µg/L の約 71,400 倍であった。

メダカに対する有害性が認められなかったばく露濃度 28.8µg/L は、平成 19 年度に実施された化学物質環境実態調査(未検出)での検出下限値 0.0014µg/L の約 20,600 倍であった。

(参考)

### メダカを用いた魚類短期繁殖試験法

魚類短期繁殖試験(OECD TG229)は、成熟したメダカを雌雄混合で試験対象物質に 21 日間ばく露し、ばく露期間中の産卵状況並びにばく露終了時の生存個体の肝臓中ビテロゲニン濃度及び二次性徴を調べる試験法である。



第1段階生物試験結果(TG229)  
ベンゾフェノン-2

実施機関：化学物質評価研究機構

表 2-A 試験結果

平均濃度実測値 (mg/L)	生存個体数		死亡率 (%)		全長(mm)		体重(mg)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区(nd:<0.0199)	24	24	0	0	30.9±0.7	30.1±1.0	288±38	317±39
0.0943	24	24	0	0	30.8±1.2	30.2±0.4	291±27	296±16
0.939	23	23	4.2	4.2	30.6±1.1	30.3±1.0	290±32	304±48
9.53	24	24	0	0	31.9±1.1	30.4±0.5	327±34	295±8

表 2-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (mg/L)	総産卵数 (eggs/female/day)	受精卵数		受精率 (%)	生殖腺体指数 (%)	
		(eggs/female/day)	(eggs/female/day)		雄	雌
対照区(nd:<0.0199)	14.4±1.8	<u>13.6±1.6</u>	13.6±1.6	94.6±1.4	0.856±0.107	7.50±1.38
0.0943	15.4±2.3	<u>14.6±2.2</u>	14.6±2.2	94.5±2.3	1.07±0.14	6.93±0.34
0.939	14.5±2.7	<u>13.6±2.3</u>	13.6±2.3	94.3±2.5	0.692±0.154	7.56±1.20
9.53	13.8±1.7	<u>12.5±1.7</u>	12.5±1.7	89.7±3.5 *	0.790±0.226	8.56±0.41

表 2-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (mg/L)	肝臓体指数 (%)		ビテロゲン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区(nd:<0.0199)	1.93±0.28	3.36±0.42	0.567±0.133	345±152	79.8±4.8	0±0
0.0943	1.79±0.37	2.83±0.87	nd	354±105	72.6±7.0	0±0
0.939	1.89±0.24	3.08±0.68	0.888±0.460	398±230	77.0±19.8	0±0
9.53	1.95±0.55	3.48±0.58	393±306 *	449±114	78.8±8.4	0±0

表 2-D 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (mg/L)	その他の所見
対照区(nd:<0.0199)	異常なし
0.0943	異常なし
0.939	異常なし
9.53	異常なし

被験物質は、うすい黄緑色～赤みの黄色結晶～粉末

結果は平均値±標準偏差.

有意差水準 (\*\* $p<0.01$ , \* $p<0.05$ ).

ビテロゲニン濃度の検出下限値は 1 ng/mg liver

二次性徴：乳頭状小突起が発現した節板数

第1段階生物試験結果(TG229)  
ペンディメタリン

実施機関：化学物質評価研究機構

表 2-A 試験結果

平均濃度実測値 ( $\mu\text{g/L}$ )	生存個体数		死亡率 (%)		全長(mm)		体重(mg)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区(nd:<0.199)	23		4.2		31.8 $\pm$ 1.1	31.8 $\pm$ 1.2	367 $\pm$ 21	393 $\pm$ 43
助剤対照区(nd)	24		0		31.0 $\pm$ 0.9	31.2 $\pm$ 1.3	342 $\pm$ 31	369 $\pm$ 52
5.69	24		0		31.9 $\pm$ 0.7	32.4 $\pm$ 0.7	366 $\pm$ 25	427 $\pm$ 25
28.8	23		4.2		32.2 $\pm$ 0.2	33.1 $\pm$ 0.9	393 $\pm$ 20	455 $\pm$ 46
100	22		8.3		31.9 $\pm$ 0.7	31.4 $\pm$ 0.8	389 $\pm$ 28	423 $\pm$ 30

表 2-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ( $\mu\text{g/L}$ )	総産卵数 (eggs/female/day)	受精卵数 (eggs/female/day)	受精率 (%)	生殖腺体指数 (%)	
				雄	雌
対照区(nd:<0.199)	20.8 $\pm$ 4.7	18.9 $\pm$ 4.1	91.2 $\pm$ 4.0	0.736 $\pm$ 0.225	10.6 $\pm$ 1.2
助剤対照区(nd)	21.6 $\pm$ 2.1	18.4 $\pm$ 2.1	85.2 $\pm$ 6.7	0.647 $\pm$ 0.101	10.6 $\pm$ 1.0
5.69	20.5 $\pm$ 3.4	19.0 $\pm$ 3.1	93.0 $\pm$ 0.9	0.635 $\pm$ 0.106	10.7 $\pm$ 0.8
28.8	20.4 $\pm$ 3.9	17.9 $\pm$ 3.6	88.2 $\pm$ 4.9	0.554 $\pm$ 0.112	11.3 $\pm$ 0.8
100	19.1 $\pm$ 2.1	11.9 $\pm$ 2.3 **	61.7 $\pm$ 10.9 **	0.603 $\pm$ 0.200	9.71 $\pm$ 0.34

表 2-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ( $\mu\text{g/L}$ )	肝臓体指数 (%)		ビテロゲン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区(nd:<0.199)	2.52 $\pm$ 0.39	3.75 $\pm$ 0.75	nd	570 $\pm$ 248	87.2 $\pm$ 6.7	0 $\pm$ 0
助剤対照区(nd)	2.79 $\pm$ 0.45	3.85 $\pm$ 0.34	1.38 $\pm$ 1.03	515 $\pm$ 328	80.2 $\pm$ 7.4	0 $\pm$ 0
5.69	2.69 $\pm$ 0.16	4.51 $\pm$ 0.70	nd	649 $\pm$ 200	84.7 $\pm$ 10.6	0 $\pm$ 0
28.8	2.72 $\pm$ 0.28	7.73 $\pm$ 0.58	5.74 $\pm$ 6.60	933 $\pm$ 692	79.8 $\pm$ 8.2	0 $\pm$ 0
100	2.85 $\pm$ 0.45	4.38 $\pm$ 1.04	774 $\pm$ 290 **	813 $\pm$ 157	79.9 $\pm$ 12.6	0 $\pm$ 0

表 2-D 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ( $\mu\text{g/L}$ )	その他の所見
対照区(nd:<0.199)	異常なし
助剤対照区(nd)	異常なし
5.69	卵黄部分にごくわずかに黄色の着色
28.8	魚体や、卵黄部分にわずかに黄色い着色
100	<u>嗜眠状態、出血、眼球突出、体幹彎曲、筋肉痙攣、魚体や卵黄部分に黄色い着色</u>

被験物質は、黄赤色の結晶性粉末

結果は平均値 $\pm$ 標準偏差.

有意差水準 (\*\* $p$ <0.01, \* $p$ <0.05).

ビテロゲン濃度の検出下限値は 1 ng/mg liver

二次性徴：乳頭状小突起が発現した節板数

資料 1-1

化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告の信頼性評価について(案)抜粋

1. 平成 29 年度に実施した 17 物質群の信頼性評価のまとめ

(1)内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る 12 物質群

- \*6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン(別名：トナリド又は AHTN)：動物試験の報告において、エストロゲン様作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗プロゲステロン作用、脂肪細胞の分化への影響を示すことが示唆されたため
- \*2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン(別名：ベンゾフェノン-2)：動物試験の報告において、エストロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、ステロイドホルモン合成経路への影響を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、甲状腺ペルオキシダーゼへの影響、ステロイド合成経路への影響を示すことが示唆されたため
- \*フタル酸ジ-*n*-オクチル：試験管内試験の報告において、抗甲状腺ホルモン作用を示すこと、疫学的調査の報告において視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用を示すことが示唆されたため
- \*イプロジオン：動物試験の報告において、抗アンドロゲン様作用、アンドロゲン生成抑制作用を示すこと、試験管内試験の報告において、抗アンドロゲン作用、生殖細胞への影響、ステロイド産生への影響、芳香族炭化水素受容体への影響を示すことが示唆されたため
- \*アセフェート：試験管内試験の報告において、プロゲステロン作用を示すことが示唆されたため
- \*ポリ(オキシエチレン)＝ノニルフェニルエーテル類(別名：ノニルフェノールエトキシレート)：動物試験の報告において、エストロゲン様作用を示すこと、試験管内試験の報告において、魚類精巣細胞への影響を示すことが示唆されたため
- \*ペンディメタリン：動物試験の報告において、エストロゲン様作用を示すことが示唆されたため
- \*クラリスロマイシン：試験管内試験の報告において、ステロイド代謝酵素への影響を示すことが示唆されたため
- \*ロキシスロマイシン：動物試験の報告において、視床下部一下垂体—副腎軸への作

用を示すこと、試験管内試験の報告において、抗アンドロゲン作用、ステロイド代謝酵素への影響を示すことが示唆されたため

\*スルファメトキサゾール：動物試験の報告において、エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用を示すことが示唆されたため

\**n*-ヘキサン：動物試験の報告において、エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用を示すことが示唆されたため

\*りん酸トリス(2-クロロエチル)：動物試験の報告において、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、ステロイド産生への影響が示唆されたため

## (2)現時点では試験対象物質としない5物質

\**N,N*-ジメチルアセトアミド：内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠は得られなかったため、現時点では試験対象物質としない。

\*クリンダマイシン：内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠は得られなかったため、現時点では試験対象物質としない。

\*スルファピリジン：内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠は得られなかったため、現時点では試験対象物質としない。

\*2,4-トルエンジイソシアネート：内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠は得られなかったため、現時点では試験対象物質としない。

\*2,6-トルエンジイソシアネート：内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠は得られなかったため、現時点では試験対象物質としない。



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

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン(別名：ベンゾフェノン-2)の内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、生殖影響、甲状腺影響、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、甲状腺ホルモン合成阻害作用、ステロイド合成経路への影響、免疫影響の有無及び疫学的調査に関する報告がある。

#### (1)生態影響

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

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

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

③Thienpont ら(2011)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 1~100µM(=246~24,600µg/L、設定濃度)に受精 48 時間後から 3 日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)卵稚仔への影響が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 19.1µM(=4,700µg/L)で甲状腺濾胞内サイ

ロキシン濃度(IT4C: intrafollicular T4-content)の濃度依存的な低値が認められた。(13657)(△○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

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

## (2)生殖影響

- ① Kim ら(2011)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 50mg/kg を5週齢に単回腹腔内投与した雄 C57BL/6J(B6)マウスへの影響が検討されている。その結果として、血清中テストステロン濃度、精巣中 StAR mRNA 相対発現量、精巣中 P450c17 mRNA 相対発現量、精巣中 P450scc 蛋白質相対発現量の低値、精巣中 3βヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ mRNA 相対発現量、精巣中 3βヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、精巣中テストステロン濃度、精巣中 StAR 蛋白質相対発現量、精巣中 P450c17 蛋白質相対発現量、精巣中 P450scc mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(13977)(△○P)  
想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン合成経路への影響

## (3)甲状腺影響

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

## (4)エストロゲン作用

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

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

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

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

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=0.00246、0.0246、0.246、2.46、24.6、246、2,460 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト子宮頸がん細胞 HeLa (ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$ を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、ルシフェラーゼ発現誘導が認められた(作用濃度の記載不明瞭)。(13990)( $\circ$ OP)

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

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

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

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

⑧Matsumoto ら(2005)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10、30、100 $\mu$ M(=2.46、7.38、24.6、73.8、246、738、2,460、7,380、24,600 $\mu$ g/L)の濃度に2日間ばく露したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHOOSERによるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたアルカリ性ホスファターゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、0.03 $\mu$ M(=7.38 $\mu$ g/L)以上の濃度区でアルカリ性ホスファターゼ発現誘導が認められた。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.1、0.3、1、3、10、30、100 $\mu$ M(=24.6、73.8、246、738、2,460、7,380、24,600 $\mu$ g/L)の濃度に5日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、0.3 $\mu$ M(=73.8 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。なお、この影響は、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182,780 1  $\mu$ M 共存下で消失した。(13984)( $\bigcirc\bigcirc$ P)

⑨Suzuki ら(2005)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.1、1、10、100 $\mu$ M(=2.46、24.6、246、2,460、24,600 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7(ヒトエストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub>値 0.30 $\mu$ M(=74 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。(13986)( $\Delta\bigcirc$ P)

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

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

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

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

7.38、24.6、73.8、246、738、2,460、7,380、24,600 $\mu\text{g/L}$ の濃度に16時間ばく露したヒト乳がん細胞 MELN (MCF-7 由来、ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$ 陽性)によるレポーターアッセイ(エストロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、1  $\mu\text{M}$ (=246 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

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

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

#### ※参考 エストロゲン作用(今回評価対象としなかった文献)

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

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

#### (5)抗エストロゲン作用

- ①Yamasakiら(2003a)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 40、200、800 $\text{mg/kg/day}$ を19日齢から3日間皮下投与(17 $\alpha$ エチニルエストラジオール 0.6 $\mu\text{g/kg/day}$ を同時皮下投与)した雌SDラットへの影響が検討されている。その結果として、40、200 $\text{mg/kg/day}$ のばく露群で子宮絶対重量(blotted)の低値(800 $\text{mg/kg/day}$ 群では影響なし)、200 $\text{mg/kg/day}$ のばく露群で子宮相対重量(blotted)の低値(800 $\text{mg/kg/day}$ 群では高値)が認められた。なお、体重には影響は認められなかった。

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

なお、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10 $\mu\text{M}$ (=0.00246、0.0246、0.246、2.46、24.6、246、2,460 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に24時間ばく露(17 $\beta$ エス

トラジオール 25pM 共存下)したヒト子宮頸がん細胞 HeLa (ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導の阻害は認められなかった。(13990)(○●P)

②Yamasaki ら(2003b)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 40、200、800mg/kg/day を 19 日齢から 3 日間皮下投与(17 $\alpha$ エチニルエストラジオール 0.6 $\mu$ g/kg/day を同時皮下投与)した雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、40、200mg/kg/day のばく露群で子宮絶対重量の低値(800mg/kg/day 群では影響なし)、200mg/kg/day のばく露群で子宮相対重量の低値(800mg/kg/day 群では高値)が認められた。なお、体重には影響は認められなかった。(5714)(△○P)

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

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

④Matsumoto ら(2005)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン(試験濃度範囲の記載なし)のヒトエストロゲン受容体  $\beta$  へのエストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182,780 1  $\mu$ M に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 0.18 $\mu$ M(=44 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン(試験濃度範囲の記載なし)のヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  へのエストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182,780 1  $\mu$ M に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 0.29 $\mu$ M(=71 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。(13984)(○●P)

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

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

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10、30、100 $\mu$ M(=2.46、7.38、24.6、73.8、246、738、2,460、7,380、24,600 $\mu$ g/L)の濃度に3時間ばく露(標識17 $\beta$ エストラジオール0.1nM共存下)したヒト乳がん細胞 HELN-ER $\alpha$  (HeLa 由来、ヒトエストロゲン受容体 $\alpha$ を安定発現)による結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=24.6 $\mu$ g/L)以上の濃度区で結合阻害が認められた。(13979)( $\Delta$ OP)

## (6)アンドロゲン作用

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

## (7)抗アンドロゲン作用

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

③Suzuki ら(2005)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.1、1、10、100 $\mu$ M(=2.46、24.6、246、2,460、24,600 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 0.1nM 共存下)したマウス胎仔線維芽細胞 NIH3T3 (ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 1.53 $\mu$ M(=377 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(13986)( $\Delta$ OP)

#### (8)抗甲状腺ホルモン作用

①Zhang ら(2015)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 10 $\mu$ M(=2,460 $\mu$ g/L)までの濃度でヒトトランスサイレチンによる対標識サイロキシン結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 0.62 $\mu$ M(=153 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。(13972)( $\Delta$ OP)

#### (9)甲状腺ペルオキシダーゼへの影響(甲状腺ホルモン合成阻害作用)

①Paul ら(2014)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.0001~100 $\mu$ M(=0.0246~24,600 $\mu$ g/L)の濃度で雄 LE ラット甲状腺由来マイクロソームへの影響が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 0.16 $\mu$ M(=39.4 $\mu$ g/L)で濃度依存的な TPO 活性(グアイアコールを基質とする)の阻害が認められた。(10812)( $\Delta$ OP)

②Schmutzler ら(2007)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.0001~10 $\mu$ M(=0.0246~2,460 $\mu$ g/L)の濃度でヒト甲状腺ペルオキシダーゼ(TPO)への影響が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 0.45 $\mu$ M(=111 $\mu$ g/L)で濃度依存的な TPO 活性(グアイアコールを基質とする)の阻害が認められた。なお、この阻害活性は、過酸化水素 10 $\mu$ M 共存条件下で消失し、よう素イオン 10 $\mu$ M 共存条件下で回復した。

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

③Song ら(2011)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 1 $\mu$ M(=246 $\mu$ g/L)の濃度でヒト甲状腺ペルオキシダーゼ(TPO、ヒト甲状腺がん細胞 FTC-238/TPO に遺伝子導入し大量発現)への影響が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 0.16 $\mu$ M(=39.4 $\mu$ g/L)で濃度依存的な TPO 活性(グアイアコールを基質とする)の阻害が認められた。(10842)( $\Delta$ OP)

#### (10)ステロイド合成経路への影響

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

また、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 30 $\mu$ M(=7、380 $\mu$ g/L)の濃度にはばく露(30nM ト



リョードサイロニン及び 300 $\mu$ M 8Br-cAMP 共存下)したマウスライディッヒ細胞 MA-10 への影響 (mRNA 相対発現量は 8 時間、ホルモン産生量は 36 時間後)が検討されている。その結果として、プロゲステロン産生量、テストステロン産生量、精巣中 P450c17 mRNA 相対発現量、精巣中 P450scc mRNA 相対発現量の低値、StAR mRNA 相対発現量、3 $\beta$ ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ mRNA 相対発現量の高値が認められた。(13977)( $\Delta$ OP)  
想定される作用メカニズム：ステロイド合成経路への影響

#### ※参考 (11)免疫影響(今回評価対象としなかった文献)

①Rachon<sup>ら</sup>(2006)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン 0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=0.246、24.6、246、2,460 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したマウス脾臓細胞への影響が検討されている。その結果として、インターフェロン産生量比(インターフェロン- $\gamma$ 対インターフェロン-10)の低値が認められた。なお、インターフェロン  $\gamma$  産生量、インターロイキン-10 産生量には影響は認められなかった。(13982)

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

#### (12)疫学的調査

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

想定される作用メカニズム：不明

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

想定される作用メカニズム：不明

③Buck Louis<sup>ら</sup>(2014)によって、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン(BP-2)について、米国ミシガン州及びテキサス州の 16 郡にて 2005 年から 2009 年にかけて 2 ヶ月以内に妊娠予定の夫婦 501 組(夫平均年齢 29.0 歳、妻平均年齢 31.0 歳、夫尿中 BP-2 検出率は夫婦共に 28%)を対象に、夫婦のベンゾフェノン系紫外線吸収剤ばく露と受胎確率(fecundability)との関連性について検討さ

れている。その結果として、尿中 BP-2 濃度が 75%未満の群との比較において、75%パーセントイル値以上の群の夫の fecundability 補正オッズ比の低値が認められた。なお、妻の fecundability 補正オッズ比には影響は認められなかった。(13973)(○?)

想定される作用メカニズム：不明

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

想定される作用メカニズム：不明

## 2. 総合的判断(案)

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

試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、動物試験の報告において、エストロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、ステロイドホルモン合成経路への影響を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、甲状腺ペルオキシダーゼへの影響、ステロイド合成経路への影響を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 2 に示した。

表 2 信頼性評価のまとめ

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

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を証するため必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>	
(1)生態影響	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	①Weisbrod ら(2007)	△	○P	○
	エストロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	②Haselman ら(2016)	○	○P	○

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を証 するために必要である 『材料と方法(Materials and Methods)』に関する 記載の有無及びその評 価 <sup>1)</sup>	内分泌 かく乱 作用と の関連 の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱 作用に関する 試験対象物質 として選定す る根拠として の評価 <sup>3)</sup>	
	視床下部—下垂体— 甲状腺軸への作用	③Thienpont ら(2011)	△	○P	○
	エストロゲン様作用	④Kunz と Fent (2009)	○	○P	○
(2)生殖影 響	ステロイドホルモン 合成経路への影響	①Kim ら(2011)	△	○P	○
(3)甲状腺 影響影響	視床下部—下垂体— 甲状腺軸への作用	①Schmutzler ら(2007)	×	—	×
(4)エストロゲン作用	①Schlecht ら(2006)	△	○P	○	
	②Koda ら(2005)	○	○P	○	
	③Yamasaki ら(2003a)	○	○P	○	
	④Seidlová-Wuttke ら (2005)評価未実施				
	⑤Yamasaki ら(2003b)	△	○P	○	
	⑥Schlecht ら(2004)	△	○P	○	
	⑦Ohta ら(2012)	○	○P	○	
	⑧Matsumoto ら(2005)	○	○P	○	
	⑨Suzuki ら(2005)	△	○P	○	
	⑩Molina-Molina ら(2008)	△	○P	○	
(5)抗エストロゲン作用	①Yamasaki ら(2003a)	○	○P	○	
	②Yamasaki ら(2003b)	△	○P	○	
	③Ohta ら(2012)	○	○P	○	
	④Matsumoto ら(2005)	○	○P	○	
	⑤Molina-Molina ら(2008)	△	○P	○	
(6)アンドロゲン作用	①Yamasaki ら(2003b)	△	○N	×	
	②Suzuki ら(2005)	△	○N	×	
	③Molina-Molina ら(2008)	△	○N	×	
(7)抗アンドロゲン作用	①Yamasaki ら(2003b)	△	○N	×	
	②Molina-Molina ら(2008)	△	○P	○	
	③Suzuki ら(2005)	△	○P	○	
(8)抗甲状腺ホルモン作用	①Zhang ら(2015)	△	○P	○	
(9)甲状腺ペルオキシダーゼへの 影響(甲状腺ホルモン合成阻害作 用)	①Paul ら(2014)	△	○P	○	
	②Schmutzler ら(2007)	×	—	×	
	③Song ら(2011)	△	○P	○	
(10)ステロイド合成経路への影響	①Kim ら(2011)	△	○P	○	
(11)免疫影響	①Rachoń ら(2006) 評価未実施				
(12)疫学的調査	①Bae ら(2016)	○	?	—	
	②Buck Louis ら(2016)	○	?	—	
	③Buck Louis ら(2014)	○	?	—	
	④Kunisue ら(2012)	×	—	×	

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を証 するために必要である 『材料と方法(Materials and Methods)』に関する 記載の有無及びその評 価 <sup>1)</sup>	内分泌 かく乱 作用と の関連 の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱 作用に関する 試験対象物質 として選定す る根拠として の評価 <sup>3)</sup>
今後の 対応案	動物試験の報告において、エストロゲン様作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、ステロイドホルモン合成経路への影響を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、甲状腺ペルオキシダーゼへの影響、ステロイド合成経路への影響を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

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

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

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

#### 参考文献

13980: Weisbrod CJ, Kunz PY, Zenker AK and Fent K (2007) Effects of the UV filter benzophenone-2 on reproduction in fish. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 225 (3), 255-266.

14145: Haselman JT, Sakurai M, Watanabe N, Goto Y, Onishi Y, Ito Y, Onoda Y, Kosian PA, Korte JJ, Johnson RD, Iguchi T and Degitz SJ (2016) Development of the Larval Amphibian Growth and Development Assay: Effects of benzophenone-2 exposure in *Xenopus laevis* from embryo to juvenile. *Journal of Applied Toxicology*, 36 (12), 1651-1661.

13657: Thienpont B, Tingaud-Sequeira A, Prats E, Barata C, Babin PJ and Raldua D (2011) Zebrafish eleutheroembryos provide a suitable vertebrate model for screening chemicals that impair thyroid hormone synthesis. *Environmental Science & Technology*, 45 (17), 7525-7532.

13978: Kunz PY and Fent K (2009) Estrogenic activity of ternary UV filter mixtures in fish (*Pimephales promelas*) - an analysis with nonlinear isobolograms. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 234 (1), 77-88.

13977: Kim Y, Ryu JC, Choi HS and Lee K (2011) Effect of 2,2',4,4'-tetrahydroxybenzophenone (BP2) on steroidogenesis in testicular Leydig cells. *Toxicology*, 288 (1-3), 18-26.

10858: Schmutzler C, Bacinski A, Gotthardt I, Huhne K, Ambrugger P, Klammer H, Schlecht C, Hoang-Vu C, Gruters A, Wuttke W, Jarry H and Kohrle J (2007) The ultraviolet filter benzophenone 2 interferes with the thyroid hormone axis in rats and is a potent *in vitro* inhibitor of human recombinant thyroid peroxidase. *Endocrinology*, 148 (6), 2835-2844.

13983: Schlecht C, Klammer H, Wuttke W and Jarry H (2006) A dose-response study on the estrogenic activity of benzophenone-2 on various endpoints in the serum, pituitary and uterus of female rats. *Archives of Toxicology*, 80 (10), 656-661.

13985: Koda T, Umezumi T, Kamata R, Morohoshi K, Ohta T and Morita M (2005) Uterotrophic effects of benzophenone derivatives and a *p*-hydroxybenzoate used in ultraviolet screens. *Environmental Research*, 98 (1), 40-45.

13990: Yamasaki K, Takeyoshi M, Yakabe Y, Sawaki M and Takatsuki M (2003a) Comparison of the reporter gene assay for ER-alpha antagonists with the immature rat uterotrophic assay of 10 chemicals. *Toxicology*

- Letters, 142 (1-2), 119-131.
- 5602: Seidlová-Wuttke D, Jarry H, Christoffel J, Rimoldi G and Wuttke W (2005) Effects of bisphenol-A (BPA), dibutylphthalate (DBP), benzophenone-2 (BP2), procymidone (Proc), and linurone (Lin) on fat tissue, a variety of hormones and metabolic parameters: a 3 months comparison with effects of estradiol (E2) in ovariectomized (ovx) rats. *Toxicology*, 213 (1-2), 13-24.
- 5714: Yamasaki K, Takeyoshi M, Sawaki M, Imatanaka N, Shinoda K and Takatsuki M (2003b) Immature rat uterotrophic assay of 18 chemicals and Hershberger assay of 30 chemicals. *Toxicology*, 183 (1-3), 93-115.
- 13987: Schlecht C, Klammer H, Jarry H and Wuttke W (2004) Effects of estradiol, benzophenone-2 and benzophenone-3 on the expression pattern of the estrogen receptors (ER) alpha and beta, the estrogen receptor-related receptor 1 (ERR1) and the aryl hydrocarbon receptor (AhR) in adult ovariectomized rats. *Toxicology*, 205 (1-2), 123-130.
- 13269: Ohta R, Takagi A, Ohmukai H, Marumo H, Ono A, Matsushima Y, Inoue T, Ono H and Kanno J (2012) Ovariectomized mouse uterotrophic assay of 36 chemicals. *Journal of Toxicological Sciences*, 37 (5), 879-889.
- 13984: Matsumoto H, Adachi S and Suzuki Y (2005) [Estrogenic activity of ultraviolet absorbers and the related compounds]. *Yakugaku Zasshi. Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 125 (8), 643-652.
- 13986: Suzuki T, Kitamura S, Khota R, Sugihara K, Fujimoto N and Ohta S (2005) Estrogenic and antiandrogenic activities of 17 benzophenone derivatives used as UV stabilizers and sunscreens. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 203 (1), 9-17.
- 13979: Molina-Molina JM, Escande A, Pillon A, Gomez E, Pakdel F, Cavaillès V, Olea N, Aït-Aïssa S and Balaguer P (2008) Profiling of benzophenone derivatives using fish and human estrogen receptor-specific *in vitro* bioassays. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 232 (3), 384-395.
- 13972: Zhang J, Kamstra JH, Ghorbanzadeh M, Weiss JM, Hamers T and Andersson PL (2015) *In Silico* Approach To Identify Potential Thyroid Hormone Disruptors among Currently Known Dust Contaminants and Their Metabolites. *Environmental Science & Technology*, 49 (16), 10099-10107.
- 10812: Paul KB, Hedge JM, Rotroff DM, Hornung MW, Crofton KM and Simmons SO (2014) Development of a thyroperoxidase inhibition assay for high-throughput screening. *Chemical Research in Toxicology*, 27 (3), 387-399.
- 10842: Song M, Kim YJ, Song MK, Choi HS, Park YK and Ryu JC (2011) Identification of classifiers for increase or decrease of thyroid peroxidase activity in the FTC-238/hTPO recombinant cell line. *Environmental Science & Technology*, 45 (18), 7906-7914.
- 13982: Rachoń D, Rimoldi G and Wuttke W (2006) *In vitro* effects of benzophenone-2 and octyl-methoxycinnamate on the production of interferon-gamma and interleukin-10 by murine splenocytes. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 28 (3), 501-510.
- 13971: Bae J, Kim S, Kannan K and Buck Louis GM (2016) Couples' urinary concentrations of benzophenone-type ultraviolet filters and the secondary sex ratio. *Science of the Total Environment*, 543 (Pt A), 28-36.
- 13970: Buck Louis GM, Barr DB, Kannan K, Chen Z, Kim S and Sundaram R (2016) Paternal exposures to environmental chemicals and time-to-pregnancy: overview of results from the LIFE study. *Andrology*, 4 (4), 639-647.
- 13973: Buck Louis GM, Kannan K, Sapra KJ, Maisog J and Sundaram R (2014) Urinary concentrations of benzophenone-type ultraviolet radiation filters and couples' fecundity. *American Journal of Epidemiology*, 180

(12), 1168-1175.

13976: Kunisue T, Chen Z, Buck Louis GM, Sundaram R, Hediger ML, Sun L and Kannan K (2012) Urinary concentrations of benzophenone-type UV filters in U.S. women and their association with endometriosis. *Environmental Science & Technology*, 46 (8), 4624-4632.

## Ⅷ. ペンディメタリン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

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

#### (1)生殖影響

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

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用

### 2. 総合的判断(案)

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

試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、動物試験の報告において、エストロゲン様作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 8 に示した。

表 8 信頼性評価のまとめ

物質名：ペンディメタリン

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>	
(1)生殖影響	エストロゲン様作用	①Undeger ら(2010)	△	○P	○
今後の対応案	動物試験の報告において、エストロゲン様作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。				

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

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

3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、

— : 内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

#### 参考文献

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