

資料 2-2

生態影響評価のための第1段階生物試験について(案)

1. 第1段階生物試験の実施について

信頼性評価の結果として作用メカニズムが推定できた9物質（ジクロベニル、シペルメトリン、ピリプロキシフェン、*o*-フェニルフェノール、フルトラニル、ミクロブタニル、メタラキシル、セルトラリン、*p*-ニトロフェノール）について、昨年度において第1段階試験管内試験を実施した(合計31試験、資料2-1参照)。

試験の結果として全31試験(エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用及び抗アンドロゲン作用)において陰性であった。

よって、「試験及び評価の基本的な流れ」に従い、これら9物質は第1段階生物試験(OECD TG229)の候補物質とはならないことが考えられた。

なお、米国環境保護庁(USEPA)の内分泌かく乱物質スクリーニングプログラム(EDSP)において、上記9物質のうち5物質(シペルメトリン、*o*-フェニルフェノール、フルトラニル、ミクロブタニル、メタラキシル)についてメダカ拡張1世代繁殖試験 MEOGRT(OECD TG240)を実施する物質としている。

2. 現時点での対応案

従来の「試験及び評価の基本的な流れ」に従い、今回の試験管内試験結果が陰性であったため第1段階生物試験(メダカを用いた OECD TG229)の候補物質とはしないが、一方で EDSP において MEOGRT 実施と判断されていたため、その判断根拠について以下に整理した。

(参考)

魚類を用いた生物試験に関する信頼性評価の結果を以下に物質ごとに示した。

1. ジクロベニル

②Chemtura Corporation (2011)によって、ジクロベニル(Chemtura Corporation と思われる、99.3%) 21、210、2,100 μ g/L(測定濃度)(設定濃度 21、200、2,000 μ g/L に相当)に 21 日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(FSTRA: Fish Short-term Reproduction Assay, OECD TG229)が検討されている。その結果として、21 μ g/L 以上のばく露区で雄結節スコア(tubercle score)の低値、210 μ g/L 以上のばく露区で産卵数の低値、成熟卵胞閉塞率、雌生殖腺発達ステージの高値、2,100 μ g/L のばく露区で体色(雌雄と思われる)の明黄色化が認められた。なお、雌雄生存率、雌雄体重、雌雄体長、受精率、雌雄生殖腺体指数、雌雄血漿中ビテロゲニン濃度、雌結節スコア、雄生殖腺発達ステージには影響は認められなかった。(USEPA MRID 48616106)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：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

EDSP では、雌雄に限定的な生殖影響が認められたとの判断を示している。

本試験における有意差検定は全般 Negative Control 区(溶媒無添加対照区)との比較において実施しているが、エンドポイントによっては溶媒対照区(溶媒としてアセトン 100 μ L/L 使用)との比較も実施している点に注意を要する。

2. シペルメトリン

①Syngenta (2012)によって、シペルメトリン(CAS 52315-07-8、Syngenta と思われる、95.2%) 0.013、0.12、1.4 μ g/L(測定濃度)(設定濃度 0.03、0.3、3.0 μ g/L に相当)に 21 日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(FSTRA: Fish Short-term Reproduction Assay, OECD TG229)が検討されている。その結果として、0.12 μ g/L 以上のばく露区で産卵数の低値、雄生殖腺体指数の高値、1.4 μ g/L のばく露区で成熟卵胞閉塞率の高値が認められた。なお、雌雄生存率、雌雄体重、雌雄体長、受精率、雌生殖腺体指数、雌雄血漿中ビテロゲニン濃度、雌雄結節スコア(tubercle score)、雌雄生殖腺発達ステージ、雌雄二次性徴発現、その他観察事項(行動、体色、産卵管外観、背びれ面積、臨床的毒性兆候)には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48683001)(Δ OP)

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

EDSP では、アンドロゲン経路への潜在的な作用、抗アンドロゲン活性が認められるとの判断を示している。

3. ピリプロキシフェン

- ⑭Valent Corporation (2012)によって、ピリプロキシフェン(住友化学と思われる、99.5%) 2、9.5、110 μ g/L(測定濃度)(設定濃度 3、30、300 μ g/L に相当)に 24 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(FSTRA: Fish Short-term Reproduction Assay, OECD TG229)が検討されている。その結果として、9.5 μ g/L 以上のばく露区で雄結節スコア(tubercle score)の低値、110 μ g/L のばく露区で雄生殖腺体指数の高値が認められた。なお、雌雄生存率、雌雄体重、雌雄体長、雌雄生殖腺発達ステージ、雌生殖腺体指数、成熟卵胞閉塞率、産卵数、受精率、雌雄血漿中ビテログニン濃度、雌雄血漿中エストラジオール濃度、雌雄血漿中テストステロン濃度、その他観察事項には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48673501)(△×)

想定される作用メカニズム：不明

EDSP では、雄への一連の影響は限定的であるとの見解を示している。

本試験における有意差検定は全般 Negative Control 区(溶媒無添加対照区)との比較において実施しているが、エンドポイントによっては溶媒対照区(溶媒としてジメチルホルムアミド 0.042 μ L/L 使用)との比較も実施している点に注意を要する。

4. *o*-フェニルフェノール

- ①OPP EDSP Consortium (2011)によって、*o*-フェニルフェノール(LANXESS Corporation とと思われる、99.9%) 15.8、75.5、876 μ g/L(測定濃度)(設定濃度 20、200、2,000 μ g/L に相当)に 21 日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(FSTRA: Fish Short-term Reproduction Assay, OECD TG229)が検討されている。その結果として、876 μ g/L のばく露区で雌雄生存率、産卵数、受精率の低値、雌血漿中ビテログニン濃度の高値が認められた。なお、雌雄体重、雌雄体長、雌雄生殖腺体指数、雌雄生殖腺発達ステージ、雄結節スコア(tubercle score)、雄血漿中ビテログニン濃度、成熟卵胞閉塞率、その他観察事項には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48672606)(評価結果の略号：○?)

想定される作用メカニズム：不明

EDSP では、876 μ g/L 区での産卵数及び受精率の低下についても影響として解釈を示しており(有意差は示されていない)、エストロゲン経路への潜在的影響があるとの判断をしている。

5. フルトラニル

- ③日本農薬株式会社(2011)によって、フルトラニル(日本農薬株式会社と思われる、98.7%) 18、180、1,200 μ g/L(測定濃度)(設定濃度 20、200、2,000 μ g/L に相当)に

21 日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(FSTRA:Fish Short-term Reproduction Assay, OECD TG229)が検討されている。その結果として、18 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌生殖腺体指数、雌生殖腺発達ステージの高値、1,200 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄結節スコア(tubercle score)、雌血漿中ビテロゲニン濃度の低値、雌体重、雌体長、成熟卵胞閉塞率、雄生殖腺発達ステージの高値が認められた。なお、雌雄生存率、雄体重、雄体長、雄生殖腺体指数、雄血漿中ビテロゲニン濃度、その他観察事項には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48616806)(Δ ○P)

想定される作用メカニズム：抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用

EDSP では、エストロゲン経路及びアンドロゲン経路への潜在的作用が示唆されるとの判断を示している。

本試験における有意差検定は全般 Negative Control 区(溶媒無添加対照区)との比較において実施しているが、エンドポイントによっては溶媒対照区(溶媒としてジメチルホルムアミド 20 $\mu\text{L/L}$ 使用)との比較も実施している点に注意を要する。

6. ミクロブタニル

②Dow AgroSciences (2011)によって、ミクロブタニル(Dow AgroSciences と思われる、93.7%) 33.8、327、3,300 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度 0.032、320、3,200 $\mu\text{g/L}$ に相当)に 21 日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(FSTRA:Fish Short-term Reproduction Assay, OECD TG229)が検討されている。その結果として、327 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雌生殖腺体指数の高値、327 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌血漿中テストステロン濃度の高値、3,300 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌体重、産卵数、雌血漿中ビテロゲニン濃度、雌血漿中 17 β -エストラジオール濃度の低値、雄生殖腺体指数、成熟卵胞閉塞率、雄生殖腺発達ステージの高値が認められた。なお、雌雄生存率、雄結節スコア(tubercle score)、雄体重、雄血漿中ビテロゲニン濃度、雄血漿中テストステロン濃度、雄血漿中 17 β -エストラジオール濃度、雌雄体長、受精率、その他観察事項には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48618106)(Δ ?)

想定される作用メカニズム：毒性

EDSP では、エストロゲン関連エンドポイントに影響が認められ、ステロイド産生の変化に起因する可能性があるとの判断を示している。

7. メタラキシル

③Metalaxyl EDSP Consortium (2012)によって、メタラキシル(Metalaxyl EDSP Consortium と思われる、100.4%) 1,100、10,000、104,000 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度 1,000、10,000、100,000 $\mu\text{g/L}$ に相当)に 21 日間ばく露した成熟雌雄ファッ

トヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(FSTRA:Fish Short-term Reproduction Assay, OECD TG229)が検討されている。その結果として、1,100 μ g/L 以上のばく露区で雄体重の低値、104,000 μ g/L のばく露区で産卵数、雌生殖腺体指数、雌血漿中ビテロゲン濃度、雄結節スコア(tubercle score)の低値が認められた。なお、雌雄生存率、雌雄体長、雌雄生殖腺発達ステージ、雌体重、雄生殖腺体指数、雄血漿中ビテロゲン濃度、受精率、成熟卵胞閉塞率、その他観察事項には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48685802)(Δ OP)
想定される作用メカニズム：抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用(ステロイド産生阻害)

EDSP では、生殖腺軸への潜在的影響が示唆されるとの判断を示している。

8. セルトラリン

- ④Schultz ら(2011)によって、セルトラリン(塩酸塩、U.S. Pharmacopeia) 1.6 $\pm$ 0.46、5.2 $\pm$ 2.2 μ g/L(測定濃度)に6ヵ月以上齢から21日間ばく露した成熟雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、1.6 μ g/L のばく露区で精巣における間質細胞顕在化度の低値、5.2 μ g/L のばく露区で生存率の低値が認められた。なお、二次性徴スコア、営巣行動試験における巣占有成功率、生殖腺体指数、肝臓体指数、肥満度、血漿中ビテロゲン濃度、精巣中精原細胞数、精巣中精子数、肝臓中脂肪細胞量、肝臓細胞の液胞化度には影響は認められなかった。(14452)($\bigcirc\bigcirc$ 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

9. *p*-ニトロフェノール

魚類を用いた生物試験に関する報告は得られなかった。

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
の実施結果について(平成 30 年度実施分)(抜粋)

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 28 年度及び平成 29 年度に信頼性評価を実施する対象として選定した物質のうち、表 1 に記載された 11 物質について平成 30 年度に信頼性評価を実施した(表 2、表 3 参照)。

表 2 平成 28 年度に信頼性評価の対象とする 23 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		
6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン(別名:トナリド)	香料 ¹⁾	3. (1)
2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン(別名:ベンゾフェノン-2)	紫外線吸収剤 ²⁾	3. (1)
フタル酸ジ- <i>n</i> -オクチル	可塑剤 ²⁾	3. (3)
アセフェート	農薬(殺虫剤) ²⁾	3. (3)
3-(3,5-ジクロロフェニル)- <i>N</i> -イソプロピル-2,4-ジオキソイミダゾリジン-1-カルボキサミド(別名:イプロジオン)	農薬(殺菌剤) ⁵⁾	3. (5)
<i>N,N</i> -ジメチルアセトアミド	反応溶媒、精製溶剤、樹脂溶剤 ²⁾	3. (1)
ポリ(オキシエチレン)=ノニルフェニルエーテル類(別名:ノニルフェノールエトキシレート)(重合度が 1 から 15 までのもの)	界面活性剤(業務用洗浄剤・分散剤・切削剤・乳化剤・展着剤原料、医薬品用、化粧品用) ⁴⁾	3. (1)
<i>N</i> -(1-エチルプロピル)-2,6-ジニトロ-3,4-キシリジン(別名:ペンディメタリン)	農薬(除草剤) ⁵⁾	3. (5)
エリスロマイシン	医薬(抗生物質)、動物薬 ²⁾	3. (1)
クラリスロマイシン	医薬(抗生物質) ³⁾	3. (1)
クリンダマイシン	医薬・動物薬(抗生物質) ¹⁾	3. (1)
スルファジアジン	医薬(サルファ剤)、動物薬(抗菌剤) ⁴⁾	3. (1)
スルファピリジン	動物薬(抗菌剤) ⁴⁾	3. (1)
スルファメトキサゾール	医薬(抗生物質)、動物薬(抗菌剤) ⁴⁾	3. (1)
トリメトプリム	医薬(抗菌剤)、動物薬(抗菌剤) ⁴⁾	3. (1)
<i>n</i> -ヘキサン	反応溶媒、油脂抽出溶剤、溶剤(接着剤、インキ) ²⁾	3. (3)

名称	主な用途	選定根拠となった調査区分の記号*
4-メチル-1,3-フェニレン=ジイソシアネート (別名：2,4-トルエンジイソシアネート)	ポリウレタン原料 ²⁾	3. (1)
りん酸トリス(2-クロロエチル)	可塑剤、難燃剤、硬質ウレタンフォーム添加剤 ²⁾	3. (3)
ロキシスロマイシン	動物薬（抗生物質） ⁴⁾	3. (1)
トリレンジイソシアネートこのうち、 2-メチル-1,3-フェニレン=ジイソシアネート (別名：2,6-トルエンジイソシアネート)	合成樹脂原料(ポリウレタン樹脂) ⁵⁾	3. (5)
メフェナム酸(別名： <i>m</i> -(2,3-ジメチルフェニル)アントラニル酸)	医薬（解熱・消炎・鎮痛剤） ²⁾	3. (6)
メラミン	原料（メラミン樹脂、接着剤、医薬） ²⁾	3. (3)
今回報告		
イミダクロプリド	農薬（殺虫剤） ²⁾	3. (4)

* PRTR 第一種指定化学物質

- 1) 環境省環境保健部環境安全課、化学物質環境実態調査－化学物質と環境
(<http://www.env.go.jp/chemi/kurohon/index.html>)
- 2) 化学工業日報社、16615 の化学商品(2015)及びバックナンバー
- 3) 独立行政法人医薬品医療機器総合機構「医療用医薬品の添付文書情報」
(http://www.info.pmda.go.jp/psearch/html/menu_tenpu_base.html)
- 4) 製品評価技術基盤機構、化学物質情報提供システム (CHRIIP)
(<http://www.safe.nite.go.jp/japan/db.html>)
- 5) 環境省、PRTR インフォメーション広場 対象物質情報
(http://www.env.go.jp/chemi/prtr/archive/target_chemi.html)

*選定根拠となった調査区分の記号

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

表3 平成29年度に信頼性評価の対象とする18物質群

名称	主な用途	選定根拠となった調査区分の記号*
報告済		
2,4-ジクロロフェノール	農薬(殺虫剤、除草剤)、染料原料 ¹⁾	3. (1)
ブチルスズ類のうち モノブチルスズ（塩素数1）*	有機スズ化合物として殺菌剤 ²⁾ ジブチルスズジクロライドとして塩 ビ安定剤中間体、触媒 ⁴⁾ モノブチルスズオキサイドとして塩 ビ安定剤中間体、ウレタン・シリ コーン用触媒 ⁴⁾	3. (1)
ブチルスズ類のうち ジブチルスズ（塩素数2）*	有機スズ化合物として殺菌剤 ²⁾ モノブチルスズトリクロライドとし て防汚剤原料 ¹⁾	3. (1)

名称	主な用途	選定根拠となった調査区分の記号*
	モノブチルスズオキサイドとして塩ビ安定剤原料 ⁴⁾	
ピレン	非意図的生成物 ¹⁾	3.(3)
1,3-ブタジエン*	合成樹脂原料(合成ゴム(SBR、NBR)、ABS樹脂)、合成原料(ブタジオール) ²⁾	3.(3)
ポリ臭素化ジフェニルエーテル類のうち ノナブロモジフェニルエーテル類(臭素数9)	プラスチック製品等の難燃剤 ³⁾	3.(1)
1,1'-エチレン-2,2'-ビピリジニウム=ジプロミド (別名:ジクアトジプロミド又はジクワット)*	農薬(除草剤) ²⁾	3.(5)
(3,5,6-トリクロロ-2-ピリジル)オキシ酢酸(別名:トリクロピル)*	農薬(除草剤) ²⁾	3.(5)
今回報告		
ジクロベニル(別名:DBN)*	農薬(除草剤) ²⁾	3.(6)
シペルメトリン	農薬(殺虫剤) ⁴⁾	3.(6)
ピリプロキシフェン	農薬(殺虫剤) ⁴⁾	3.(6)
oフェニルフェノール*	殺菌剤、防腐剤、防かび剤、合成繊維染色促進剤、合成樹脂原料、合成原料(可塑剤、染料、界面活性剤) ²⁾	3.(6)
フルトラニル*	農薬(殺菌剤) ²⁾	3.(6)
プロパルギット*	農薬(殺虫剤) ²⁾	3.(6)
プロピザミド*	農薬(除草剤) ²⁾	3.(6)
ミクロブタニル*	農薬(殺菌剤) ²⁾	3.(6)
メタラキシル	農薬(殺菌剤) ⁴⁾	3.(6)
メトリブジン*	農薬(除草剤) ²⁾	3.(6)

* PRTR 第一種指定化学物質

- 1) 製品評価技術基盤機構、NITE 化学物質総合情報提供システム
(<http://www.safe.nite.go.jp/japan/db.html>)
- 2) 環境省、PRTR インフォメーション広場 対象物質情報
(http://www.env.go.jp/chemi/prtr/archive/target_chemi.html)
- 3) 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>)
- 4) 化学工業日報社、16817 の化学商品(2017)及びバックナンバー

*選定根拠となった調査区分の記号

- 3.(1) 化学物質環境実態調査
- 3.(3) 要調査項目等存在状況調査結果
- 3.(4) 農薬残留対策総合調査
- 3.(5) PRTR 第一種指定化学物質であって化学物質環境実態調査結果及び要調査項目等存在状況調査結果にて不検出であった物質
- 3.(6) 米国環境保護庁のEDSP(Endocrine Disruptor Screening Program)での検討対象であるがEXTENDでは検討対象となっていなかった物質

II. 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)の結果について

平成 30 年度に信頼性評価を実施した 11 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 4 に示した。

1. 平成 30 年度に実施した 11 物質群(米国環境保護庁の EDSP(Endocrine Disruptor Screening Program)において参照された情報を追加して評価を行う物質群)の信頼性評価のまとめ

米国環境保護庁の EDSP においては、企業等が作成した未公開報告書等の関連資料(今回実施した文献検索では検索されない)の提出を関係機関に命令し、その関連資料を参照して物質ごとに評価書を作成し、評価書を HP 上で公開している¹。それらの評価書に記載された情報について整理を行い、既存情報と合わせて評価を行うこととする。

(1)内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る 11 物質群

＊ジクロベニル：動物試験の報告において、抗アンドロゲン作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、アンドロゲン作用又は抗エストロゲン作用を示すことが示唆された。

なお、米国環境保護庁の EDSP においては、ジクロベニルについてアンドロゲン様作用または抗アンドロゲン様作用を確認するためにメダカ拡張 1 世代繁殖試験 MEOGRT を実施する対象物質としている。

＊シペルメトリン：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、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、ステロイドホルモン産生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、抗アンドロゲン作用、アンドロゲン受容体へのコレプレッサー結合促進作用、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用、抗グルココルチコイド作用、ステロイド産生への影響、プロスタグランジン産生影響を示すことが示唆された。

なお、米国環境保護庁の EDSP においては、シペルメトリンについて抗アンドロゲン様作用を確認するためにメダカ拡張 1 世代繁殖試験 MEOGRT を実施する対象物質としている。

＊ピプロキシフェン：動物試験の報告において、幼若ホルモン様作用、脱皮ホルモ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、幼若ホルモン作用、抗脱皮ホルモン作用、ステロイド産生影響を示すことが示唆された。

なお、米国環境保護庁の EDSP においては、ピプロキシフェンについて第 2 段階試験を実施する対象物質としていない。

＊*o*-フェニルフェノール：試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗

¹ United States Environmental Protection Agency、Endocrine Disruptor Screening Program Tier 1 Screening Determinations and Associated Data Evaluation Records
(<https://www.epa.gov/endocrine-disruption/endocrine-disruptor-screening-program-tier-1-screening-determinations-and>)

エストロゲン作用又はアンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、ステロイド産生影響、アロマターゼ活性阻害を示すことが示唆された。

なお、米国環境保護庁の EDSP においては、*o*-フェニルフェノールについて魚類の生殖影響(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)を確認するためにメダカ拡張 1 世代繁殖試験 MEOGRT を実施する対象物質としている。

- *フルトラニル：動物試験の報告において、抗エストロゲン作用、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、エストロゲン作用を示すことが示唆された。

なお、米国環境保護庁の EDSP においては、フルトラニルにつ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または抗アンドロゲン様作用を確認するためにメダカ拡張 1 世代繁殖試験 MEOGRT を実施する対象物質としている。

- *ミクロブタニル：動物試験の報告において、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、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、甲状腺ホルモン代謝促進作用、PXR 活性促進作用を示すこと、試験管内試験の報告において、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用(アンドロゲン作用である可能性もある)、ステロイド産生影響、アロマターゼ活性阻害作用を示すことが示唆された。

なお、米国環境保護庁の EDSP においては、ミクロブタニルについて魚類の生殖影響(ステロイド産生影響、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)を確認するためにメダカ拡張 1 世代繁殖試験 MEOGRT を実施する対象物質としている。

- *メタラキシル：動物試験の報告において、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用を示すことが示唆された。

なお、米国環境保護庁の EDSP においては、メタラキシルにつ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を確認するためにメダカ拡張 1 世代繁殖試験 MEOGRT を実施する対象物質としている。

(2)現時点では試験対象物質としない物質

II. ジクロベニル

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ジクロベニルの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、行動影響、エストロゲン作用、アンドロゲン作用又は抗アンドロゲン作用の有無に関する報告がある。

なお、米国環境保護庁の EDSP においては、ジクロベニルについてアンドロゲン様作用または抗アンドロゲン様作用を確認するためにメダカ拡張 1 世代繁殖試験 MEOGRT を実施する対象物質としている。

(1) 生態影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

- ① Chemtura Corporation (2011)によって、ジクロベニル(Chemtura Corporation と思われる、99.3%) 19、190、1,900 μ g/L(測定濃度)(設定濃度 20、200、2,000 μ g/L に相当)に Nieuwkoop-Faber (NF) stage 51 から 21 日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)幼生への影響(AMA: Amphibian Metamorphosis Assay, OECD TG231)が検討されている。その結果として、19 μ g/L 以上のばく露区で到達 NF ステージ(21 日後)の低値、19 μ g/L のばく露区で後肢長(HLL: hind-limb length、21 日後)の高値、1,900 μ g/L のばく露区で甲状腺の組織病理学的検査における異常所見(濾胞細胞肥大の頻度及び重篤度の高値、21 日後)の発生が認められた。なお、死亡率(7、21 日後)、臨床的兆候、体重(7、21 日後)、体長(SVL: snout-vent length、7、21 日後)、非同期発達個体率(7、21 日後)、甲状腺の肉眼的検査(21 日後)における所見には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48616101)(評価結果の略号: Δ OP)

想定される作用メカニズム: 視床下部-下垂体-甲状腺軸への作用

EDSP では、溶媒対照区との比較では影響は認められないとの判断を示している。ただし、到達 NF ステージ(21 日後)の低値については、溶媒対照区との比較では有意差が検出される点に注意を要する。

本試験における有意差検定は全般 Negative Control 区(溶媒無添加対照区)との比較において実施しているが、エンドポイントによっては溶媒対照区(溶媒としてアセトン 100 μ L/L 使用)との比較も実施している。到達 NF ステージ(21 日後)については、これらの対照区間に有意差が認められている点に注意を要する。

- ② Chemtura Corporation (2011)によって、ジクロベニル(Chemtura Corporation と思われる、99.3%) 21、210、2,100 μ g/L(測定濃度)(設定濃度 21、200、2,000 μ g/L に相当)に 21 日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(FSTRA: Fish Short-term Reproduction Assay, OECD TG229)が検討されている。その結果として、21 μ g/L 以上のばく露区で雄結節スコア(tubercle score)の低値、210 μ g/L 以上のばく露区で産卵数の低値、成熟卵胞閉塞率、雌生殖腺発達ステージの高値、2,100 μ g/L のばく露区で体色(雌雄と思われる)の明黄色化が認められた。なお、雌雄生存率、雌雄体重、雌雄体長、受精率、雌雄

生殖腺体指数、雌雄血漿中ビテロゲニン濃度、雌結節スコア、雄生殖腺発達ステージには影響は認められなかった。(USEPA MRID 48616106)(△○P)

想定される作用メカニズム：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

EDSP では、雌雄に限定的な生殖影響が認められたとの判断を示している。

本試験における有意差検定は全般 Negative Control 区(溶媒無添加対照区)との比較において実施しているが、エンドポイントによっては溶媒対照区(溶媒としてアセトン 100 μ L/L 使用)との比較も実施している点に注意を要する。

(4)エストロゲン作用

- ① Petit ら(1997)によって、ジクロベニル(Cluzeau Info Labo) 0.01～100 μ M(=1.72～17,200 μ g/L)の濃度に4時間ばく露したエストロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子を導入した酵母 BJ-ECZ (ニジマス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 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。(843)(△○N)

(5)アンドロゲン作用又は抗アンドロゲン作用(今回評価対象とする EDSP 試験)

- ① Chemtura Corporation (2011)によって、ジクロベニル(Chemtura Canada、99.3%) 0.0001～1,000 μ M(=0.0172～172,000 μ g/L)の濃度でアンドロゲン受容体(SD ラット前立腺腹葉サイトゾル)による標識 R1881(アンドロゲンアゴニスト) 1 nM に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 141 μ M(=24,300 μ g/L、原記載値は log IC₅₀ -3.85M)の濃度で結合阻害が認められた。(USEPA MRID 48616102)(○○P)

EDSP では、結合が認められるとの判断を示している。

2. 総合的判断(案)

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

試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、動物試験の報告において、抗アンドロゲン作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸、視床下部一下垂体—甲状腺への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、アンドロゲン作用又は抗エストロゲン作用を示すことが示唆された。

参考文献

- 14268: Yoon H, Enquist LW and Dulac C (2005) Olfactory inputs to hypothalamic neurons controlling reproduction and fertility. Cell, 123 (4), 669-682.
- 843: Petit F, LeGoff P, Cravedi JP, Valotaire Y and Pakdel F (1997) Two complementary bioassays for screening the estrogenic potency of xenobiotics: Recombinant yeast for trout estrogen receptor and

trout hepatocyte cultures. *Journal of Molecular Endocrinology*, 19 (3), 321-335.

下記出典は未公開報告書であるが、米国環境保護庁の EDSP による物質ごとの評価書において引用されており、その内容が以下の website にて公開されている。

United States Environmental Protection Agency, Endocrine Disruptor Screening Program Tier 1 Screening Determinations and Associated Data Evaluation Records (<https://www.epa.gov/endocrine-disruption/endocrine-disruptor-screening-program-tier-1-screening-determinations-and>)

USEPA MRID 48616101: Tobor-Kaplon MA (2011) Amphibian Metamorphosis (Frog) Test With Dichlobenil Technical. Unpublished study performed by Notox B.V., Hambakenwetering 7, 5231 DD's-Hertogenbosch, The Netherlands. Notox Project 495785. Notox Substance 202841/A. Study sponsored by Chemtura Corporation, 199 Benson Road, Middlebury, CT 06749. Study completed October 20, 2011.

USEPA MRID 48616106: Migchielsen Ing. MHJ (2011) Fish Short-term Reproduction Assay with Dichlobenil Technical. Unpublished study performed by NOTOX B.V., Hambakenwetering 7, The Netherlands. Lab Study No.: 495786; Sponsor No.: EDSP-027401-120. Study sponsored by Chemtura Corporation, Middlebury, CT. Study completed September 22, 2011.

USEPA MRID 48616108: Sawhney Coder P (2011) A Pubertal Development and Thyroid Function Assay of Dichlobenil Administered Orally in Intact Juvenile/Peripubertal Female Rats. WIL Research Laboratories. LLC, Ashland, OH. Laboratory Study No.: WIL- 12431, December 7, 2011. Unpublished. Sawhney Coder, P. (2011)

USEPA MRID 48616112: Sawhney Coder P (2011) A 7-Day Dose Range-Finding Oral (Gavage) Toxicity Study of Dichlobenil Technical in Juvenile Rats for the Endocrine Disruption Screening Program. WIL Research Laboratories. LLC, Ashland, OH. Laboratory Study No.: WIL-12437, December 7, 2011. Unpublished. Chemtura Corporation, 199 Benson Road, Middlebury, CT

USEPA MRID 48616102: Meerts IAT (2011) Dichlobenil Technical: Androgen Receptor Binding (Rat Prostate Cytosol). NOTOX B.V., The Netherlands. Laboratory Project Identification number: 495779, December 9, 2011. Unpublished.

USEPA MRID 48616110: Meerts IATM (2011) Dichlobenil technical: steroidogenesis assay using the human cell line H295R. NOTOX B.V., The Netherlands, Laboratory Study No.: 495783, December 9, 2011. Unpublished.

Ⅲ. シペルメトリン

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

シペルメトリンは、*(RS)*- α シアノ-3-フェノキシベンジル= *(1RS,3RS)*-*(1RS,3SR)*-3-(2,2-ジクロロビニル)-2,2-ジメチルシクロプロパンカルボキシラートであり、異性体混合物 (CAS 番号: 52315-07-8) の他、*(R)* (*1S,3S*) 及び *(S)* (*1R,3R*) 異性体である α -シペルメトリン (CAS 番号: 67375-30-8)、*(R)* (*1S,3R*) 及び *(S)* (*1R,3S*) 異性体である β -シペルメトリン (CAS 番号: 66841-24-5)、*(S)* (*1RS,3RS*)-*(1RS,3SR)* 異性体である θ -シペルメトリン (CAS 番号: 71697-59-1) 等が知られている。

シペルメトリ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、神経行動影響、免疫影響、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、アンドロゲン受容体への抑制作用、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用、プロゲステロン作用、抗プロゲステロン作用、グルココルチコイド作用、抗グルココルチコイド作用、ステロイド産生影響、プロスタグランジン産生影響及び精子への影響の有無に関する報告がある。

なお、米国環境保護庁の EDSP においては、シペルメトリンについて抗アンドロゲン様作用を確認するためにメダカ拡張 1 世代繁殖試験 MEOGRT を実施する対象物質としている。

(1) 生態影響

①Kim ら(2008)によって、シペルメトリン(CAS 52315-07-8、Supelco、99%、異性体混合物) 0.0000002、0.000002、0.00002、0.0002、0.002 μ 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(*Daphnia magna*)への影響が検討されている。その結果として、0.0000002、0.00002、0.0002、0.002 μ g/L のばく露区で初出産に至るまでの所要日数の遅延、0.00002 μ g/L 以上のばく露区で総産仔数の低値、0.002 μ g/L のばく露区で出産数の低値が認められた。

また、シペルメトリン(CAS 52315-07-8、Supelco、99%、異性体混合物) 0.00002、0.0002、0.002、0.02、0.2 μ g/L (設定濃度) に 7 日齢から 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、0.0002 μ g/L 以上のばく露区で総産仔数の低値、0.2 μ g/L 以上のばく露区で出産数の低値が認められた。(14344)(評価結果の略号: Δ ?)

想定される作用メカニズム: 不明

②Moore と Waring (2001)によって、シペルメトリン(Greyhound Chromatography and Allied Chemicals) 0.0001、0.001、0.01、0.05、0.1、0.5 μ g/L (設定濃度)(測定濃度<0.004、<0.004、0.015、0.028、0.038、0.33 μ g/L 相当)に魚精を軽く圧搾してから 96 時間の回復期間(餌非投与)後 5 日間ばく露したタイセイヨウサケ(*Salmo salar*)成熟雄(体長 130 $\pm$ 1.3mm、体重 27.2 $\pm$ 0.8g、生殖腺体指数 7.9 $\pm$ 0.35%)への影響が検討されている。その結果として、0.0001、0.001、0.01、0.05 μ g/L のばく露区で血漿中 11-ケトテストステロン濃度の高値、0.0001、0.001、0.01 μ g/L のばく露区で血漿中テストステロン濃度、血漿中 17,18 β -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン濃度の高値、0.0001 μ g/L のばく露区で魚精相対重量(軽く圧搾して採取)、胆汁中抱

合型テストステロン濃度の高値、0.001 μ g/L のばく露区で胆液中遊離型テストステロン濃度の高値、0.01 μ g/L のばく露区で胆液中遊離型 17,18 β -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン濃度の高値が認められた。なお、胆液中グルクロン酸抱合型 17,18 β -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン濃度、胆液中遊離型 11-ケトテストステロン濃度、胆液中グルクロン酸抱合型 11-ケトテストステロン濃度には影響は認められなかった。

また、シペルメトリン(Greyhound Chromatography and Allied Chemicals) 0.5 μ g/L (設定濃度)(測定濃度 0.33 μ g/L 相当)に魚精を軽く圧搾してから 96 時間の回復期間(餌非投与)後 5 日間ばく露したタイセイヨウサケ(*S. salar*)成熟雄(体長 130 $\pm$ 1.3mm、体重 27.2 $\pm$ 0.8g、生殖腺体指数 7.9 $\pm$ 0.35%)への影響(最後の 5 時間に PGF_{2 α} 10nM によるプライミングフェロモン応答試験)が検討されている。その結果として、血漿中テストステロン濃度、血漿中 11-ケトテストステロン濃度、血漿中 17,18 β -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン濃度、魚精相対重量(軽く圧搾して採取)の低値が認められた。

また、シペルメトリン(Greyhound Chromatography and Allied Chemicals) 0.001 μ g/L (設定濃度)(測定濃度 0.33 μ g/L 相当)に魚精を軽く圧搾してから 96 時間の回復期間(餌非投与)後 5 日間ばく露したタイセイヨウサケ(*S. salar*)成熟雄(体長 126 $\pm$ 1.1mm、体重 24.2 $\pm$ 0.7g、生殖腺体指数 7.1 $\pm$ 0.29%)への影響(PGF_{2 α} 10nM 又は L-セリン 10 μ M によるプライミングフェロモン応答試験)が検討されている。その結果として、エレクトロオルファクトグラム応答電位の低値(ばく露 0 日目との比較)が認められた。

また、シペルメトリン(Greyhound Chromatography and Allied Chemicals) 0.0001、0.001、0.01、0.05、0.1、0.5 μ g/L (設定濃度)に孵化までばく露したタイセイヨウサケ(*S. salar*)受精卵への影響が検討されている。その結果として、0.1 μ g/L 以上のばく露区で孵化率の低値が認められた。(3455)(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

- ③Martinez-Jeronimo ら(2013)によって、 α -シペルメトリン(CAS 67375-30-8、PESTANAL[®]、Sigma-Aldrich、99%) 0.00054、0.0054、0.054 μ g/L (設定濃度)に 24 時間未満齢から最長 21 日間ばく露(F₀)したミジンコ属の一種(*Daphnia schoedleri*)への影響が検討されている。その結果として、0.00054 μ g/L 以上のばく露区で F₀ 生存率、純繁殖率(F₀ 総産仔数)、0.0054 μ g/L 以上のばく露区で F₀ 平均寿命、F₁ 平均余命、世代時間の低値、0.054 μ g/L のばく露区で内的増加率の低値が認められた。なお、F₀ 中総蛋白重量、F₀ 中総炭水化物重量、F₀ 中総脂質重量、F₀ 中総カロリー含量には影響は認められなかった。(14312)(Δ ?)

想定される作用メカニズム：不明

- ④Barata ら(2002)によって、シペルメトリン(Supelco、99.5%、*cis/trans* = 40/58) 0.0042、0.0074、0.029、0.089、0.259 μ g/L (設定濃度)に 24 時間未満齢ノープリウス幼生から 32 日間ばく露した海洋性カイアシ類の一種(*Acartia tonsa*)への影響が検討されている。その結果として、0.0042 μ g/L 以上のばく露区でノープリウス幼生生存率の低値、0.0074 μ g/L 以上のばく露区で内的繁殖速度の低値、0.0222 μ g/L 以上のばく露区で毎時摂餌数の低値、0.089 μ g/L 以上のばく露区で成体死亡率の低値、0.259 μ g/L のばく露区で日毎産卵数の低値が認められ

た。(3934)(○?)

想定される作用メカニズム：不明

- ⑤Gottardi ら(2017)によって、 α シペルメトリン(CAS 67375-30-8、Sigma-Aldrich、99.7%) 0.02、0.05 μ g/L (設定濃度)に成熟後最長 21 日間ばく露(F_0)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、0.02 μ g/L 以上のばく露区で F_0 体長(7、14 日後)、累積産仔数(10 日後)、累積産仔蛋白質重量(10、14 日後)、 F_1 体長(新生仔)の低値が認められた。

また、 α シペルメトリン(CAS 67375-30-8、Sigma-Aldrich、99.7%) 0.02、0.05 μ g/L (設定濃度)に成熟後 3 日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、0.02 μ g/L 以上のばく露区で体長の低値、0.05 μ g/L のばく露区で全身中 P450 比活性(EROD)の低値が認められた。(14272)(○?)

想定される作用メカニズム：不明

- ⑥Shen ら(2012)によって、 α シペルメトリン(CAS 52315-07-8、Sigma-Aldrich、99.8%) 0.005、0.01、0.025、0.05、0.1、0.25 μ g/L (設定濃度)に 24 時間未満齢から 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、0.05 μ g/L 以上のばく露区で体長の低値、0.1 μ g/L 以上のばく露区で総産仔数の低値、0.25 μ g/L のばく露区で生存率の低値が認められた。なお、初出産までの所要日数には影響は認められなかった。(14318)(○?)

想定される作用メカニズム：不明

- ⑦Guo ら(2017)によって、シペルメトリン(Nanjing Red Sun、technical product、95%) 1、2、4 μ g/L (設定濃度)に受精 1 時間後から受精後 14 日目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、1 μ g/L 以上のばく露区でエストロゲン受容体 *er β 1* mRNA 相対発現量の高値、1 μ g/L のばく露区でビテロゲン *vtg1* mRNA 相対発現量の高値、2 μ g/L のばく露区でエストロゲン受容体 *era* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、ビテロゲン *vtg2* mRNA 相対発現量、エストロゲン受容体 *er β 2* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14278)(○○P)

※備考：mRNA 相対発現量の測定は、定量的リアルタイム PCR による。

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用、視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用

- ⑧Jaensson ら(2007)によって、シペルメトリン(Sigma、98%) 0.1、1.0 μ g/L (設定濃度)に約 2 年齢から 4 日間(3 日後に脱魚精処置)ばく露した成熟雄ブラウントラウト(*Salmo trutta*)への影響(遡河性雄及び成熟雌共存下にて行動試験)が検討されている。その結果として、1.0 μ g/L 以上のばく露区で、求愛行動頻度、雌への接近時間、魚精相対重量、血漿中 11-ケトテストステロン濃度の低値が認められた。なお、血漿中 17,18 β -ジヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン濃度には影響は認められなかった。

また、シペルメトリン(Sigma、98%) 1.0 μ g/L (設定濃度)に約 2 年齢から 4 日間(3 日後に脱魚精処置)ばく露した成熟雄ブラウントラウト(*S. trutta*)への影響(PGF_{2 α} 10~100nM ばく露 5 時間後にプライミング試験)が検討されている。その結果として、血漿中 17,18 β -ジヒドロ

キシ-4-プレグネン-3-オン濃度、血漿中 11-ケトテストステロン濃度の低値が認められた。なお、魚精相対重量には影響は認められなかった。(14347)(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用、ステロイドホルモン産生への影響

生態影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

⑩Syngenta Crop Protection (2012)によって、シペルメトリン(CAS 52315-07-8、Syngenta と思われる、95.2%) 0.0019、0.0109、0.0867µg/L(測定濃度)(設定濃度 0.003、0.03、0.3µg/L に相当)に Nieuwkoop-Faber (NF) stage 51 から 21 日間ばく露したアフリカツメガエル (*Xenopus laevis*)幼生への影響(AMA: Amphibian Metamorphosis Assay, OECD TG231)が検討されている。その結果として、0.0867µg/L のばく露区で体重(7 日後)、体長(SVL: snout-vent length、7 日後)の低値が認められた。なお、死亡率(7、21 日後)、臨床的兆候、後肢長(HLL: hind-limb length、7、21 日後)、到達 NF ステージ(7、21 日後)、非同期発達個体率(7、21 日後)、甲状腺の肉眼的又は組織病理学的検査における所見(21 日後)には影響は認められなかった。(USEPA MRID 49013801)(○×)

想定される作用メカニズム：一般毒性

EDSP では、甲状腺の組織病理学的検査において影響が認められなかったことから、認められた影響が甲状腺関連であるとはみなされないとの判断を示している。

⑪Syngenta (2012)によって、シペルメトリン(CAS 52315-07-8、Syngenta と思われる、95.2%) 0.013、0.12、1.4µg/L(測定濃度)(設定濃度 0.03、0.3、3.0µg/L に相当)に 21 日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(FSTRA: Fish Short-term Reproduction Assay, OECD TG229)が検討されている。その結果として、0.12µg/L 以上のばく露区で産卵数の低値、雄生殖腺体指数の高値、1.4µg/L のばく露区で成熟卵胞閉塞率の高値が認められた。なお、雌雄生存率、雌雄体重、雌雄体長、受精率、雌生殖腺体指数、雌雄血漿中ビテログニン濃度、雌雄結節スコア(tubercle score)、雌雄生殖腺発達ステージ、雌雄二次性徴発現、その他観察事項(行動、体色、産卵管外観、背びれ nape pad 面積、臨床的毒性兆候)には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48683001)(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用

EDSP では、アンドロゲン経路への潜在的な作用、抗アンドロゲン活性が認められるとの判断を示している。

(2)生殖影響

①Jin ら (2014)によって、シペルメトリン(CAS 52315-07-8、Sigma-Aldrich、95%) 0.05mg/kg/day を 4 週齢から 20 週間経口投与した雄 C57BL/6J マウスへの影響(高カロリー餌飼育条件)が検討されている。その結果として、肝臓中脂肪酸合成及びトリグリセリド加水分解関連遺伝子* (*Scd1*) mRNA 相対発現量、肝臓中ピルビン酸濃度、血清中遊離脂肪酸濃度の高値が認められた。なお、体重、肝臓絶対及び相対重量、精巣上体中脂質絶対及び相対重

量、血清中及び肝臓中トリグリセリド濃度、血清中総コレステロール濃度、血清中 HDL 及び LDL 濃度には影響は認められなかった。(14303)(○?)

**Ppar γ* , *Srebplc*, *Ac1*, *Acc*, *Fas*, *Gpat*, *Dgat1*, *Dgat2*には影響は認められなかった。
想定される作用メカニズム：不明

- ②Wang ら(2009)によって、 β -シペルメトリン(Nanjing Panfeng、Chem、99%) 1、10、20mg/kg/day を 35 日間経口投与した成熟雄 Kunbai マウスへの影響が検討されている。その結果として、1 mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中誘導性一酸化窒素シンターゼ比活性の高値、10mg/kg/day 以上のばく露群で体重、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、精囊絶対重量、精巣上体中精子濃度、生存精子率、運動精子率、健全な先体をもつ精子率、血清中テストステロン濃度、精巣中 StAR 蛋白質相対発現量、精巣中カタラーゼ比活性、精巣中グルタチオンペルオキシダーゼ比活性、精巣中スーパーオキシドディスムターゼ比活性の低値、精巣中過酸化脂質濃度、精巣中活性酸素種(NO)濃度、精巣中総一酸化窒素シンターゼ比活性の高値、20mg/kg/day のばく露群で前立腺絶対重量の低値が認められた。(14338)(○×)

想定される作用メカニズム：精巣毒性

- ③Singh ら(2013)によって、シペルメトリン(出所の記載なし、異性体混合物、98%) 1.25、2.5、5 mg/kg/day を妊娠 5 日目から出産後 21 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響(3 週齢雄仔動物)が検討されている。その結果として、2.5mg/kg/day 以上のばく露群で血清中テストステロン濃度、自発行動試験における移動距離、自発行動試験における常套的行動頻度、自発行動試験における立ち上がり行動頻度の低値、自発行動試験における休憩時間、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、脳及び肝臓中 EROD 比活性、脳及び肝臓中 PROD 比活性、脳及び肝臓中過酸化脂質濃度、脳及び肝臓中 CYP1A mRNA 及び蛋白質相対発現量、脳及び肝臓中 CYP2B mRNA 及び蛋白質相対発現量、脳及び肝臓中 CYP2E1 mRNA 及び蛋白質相対発現量の高値が認められた。(14313)(△○P)

想定される作用メカニズム：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

- ④Sharma ら(2014)によって、 α -シペルメトリン(Gharda Chemicals、97%) 3.83mg/kg/day を 14 日間経口投与した成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、精子濃度、運動精子率、生存精子率、血清中テストステロン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、精巣中グルタチオン濃度、精巣中スーパーオキシドディスムターゼ比活性、精巣中カタラーゼ比活性、精巣中グルタチオンペルオキシダーゼ比活性、精巣中グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ比活性の低値、形態異常精子率、精巣中過酸化脂質濃度、精巣中グルタチオンレダクターゼ比活性の高値が認められた。(14294)(△○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

- ⑤Sharma ら(2013)によって、 α -シペルメトリン(Gharda Chemicals、97%) 3.38mg/kg/day を 28 日間経口投与した成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、精子濃度、運動精子率、生存精子率、血清中テストステロン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、精巣中グルタチオン

濃度、精巣中カタラーゼ比活性、精巣中スーパーオキシドディスムターゼ比活性、精巣中グルタチオンペルオキシダーゼ比活性、精巣中グルタチオンレダクターゼ比活性、精巣中グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ比活性、精巣中総蛋白質濃度の低値、形態異常精子率、精巣中過酸化脂質濃度の高値が認められた。(14301)(△○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

- ⑥Jin ら(2011)によって、シペルメトリン(CAS 52315-07-8、Sigma-Aldrich) 5、10、20mg/kg/day を 21 日齢から 42 日齢まで経口投与した雄 ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、5 mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓中 HMG-CoA シンターゼ (*HMG-CoA*) mRNA 相対発現量の低値(精巣中では影響なし)、10mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓中総抗酸化活性、精巣中テストステロン合成関連遺伝子* (*P450 17α*) mRNA 相対発現量の低値、肝臓中スーパーオキシドディスムターゼ(*Sod1* 及び *Sod2*) mRNA 相対発現量、肝臓中グルタチオンペルオキシダーゼ(*Gpx1* 及び *Gpx2*) mRNA 相対発現量の高値、20mg/kg/day のばく露群で精巣中テストステロン濃度、精巣中コレステロール輸送関連遺伝子** (*StAR*) mRNA 相対発現量の低値、肝臓中スーパーオキシドディスムターゼ蛋白質相対発現量、肝臓中グルタチオンペルオキシダーゼ蛋白質相対発現量、肝臓中カタラーゼ蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、体重、肝臓中カタラーゼ(*Cat*) mRNA 相対発現量、肝臓中過酸化脂質濃度、肝臓及び精巣中 HMG-CoA レダクターゼ(*HMG-CoA reductase*) mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14325)(△○P)

**P450scc*、*17β-HSD* には影響は認められなかった。

***SR-B1*、*LDL-R*、*PBR* には影響は認められなかった。

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

- ⑦Hu ら(2013)によって、シペルメトリン(ChangZhou Pesticide Factory, 98%) 6.25、12.5、25、50mg/kg/day を 15 日間経口投与した成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、6.25mg/kg/day 以上のばく露群で精細管周長、精細管(State I~IV)内腔直径の低値、変成が認められる精細管数(画像単位面積毎)の高値、6.25、12.5mg/kg/day のばく露群で精細管数(画像単位面積毎)の低値、12.5mg/kg/day 以上のばく露群で体重、精細管(State I~IV)周辺細胞層数、アンドロゲン受容体発現セルトリ細胞数(精細管毎)、アンドロゲン受容体発現ライディッヒ細胞数(画像単位面積毎)、アンドロゲン受容体発現ミロイド細胞数(画像単位面積毎)の低値、50mg/kg/day のばく露群で前立腺絶対重量、精巣組織精子産生能、血清中テストステロン濃度の低値、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、肝臓絶対重量、腎臓絶対重量、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、精囊絶対重量には影響は認められなかった。(14320)(○○P)

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

- ⑧Li ら(2013)によって、シペルメトリン(ChangZhou Pesticide Factory, 98%) 7.5、15、30、60mg/kg/day を 10 週齢から 15 日間経口投与した成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、7.5mg/kg/day 以上のばく露群で精細管周長の低値、7.5、15、30mg/kg/day のばく露群で精細管内腔直径の低値、15mg/kg/day 以上のばく露群で精細管周辺細胞層数の

低値、30mg/kg/day 以上のばく露群で血清中テストステロン濃度の低値の低値、60mg/kg/day のばく露群で精巣組織精子産生能の低値、血清中卵胞刺激ホルモン濃度の高値が認められた。なお、体重、肝臓絶対重量、腎臓絶対重量、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、血清中黄体形成ホルモン濃度には影響は認められなかった。(14314)(○ ○ P)

想定される作用メカニズム：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

- ⑨Jin ら(2015)によって、シペルメトリン(CAS 52315-07-8, Sigma-Aldrich, 95%) 10mg/kg/day を 4 週齢から 4 週間混餌投与した雄 C57BL/6J マウスへの影響が検討されている。その結果として、精巣上体中脂質絶対及び相対重量の低値、肝臓絶対及び相対重量の高値が認められた。なお、体重、精巣絶対及び相対重量には影響は認められなかった。

また、シペルメトリン(CAS 52315-07-8, Sigma-Aldrich, 95%) 10mg/kg/day を 4 週齢から 4 週間混餌投与した雄 C57BL/6J マウスへの影響(投与終了後 8 週間の高カロリー餌投与期間を設定)が検討されている。その結果として、血清中トリグリセリド濃度、肝臓中糖代謝関連遺伝子* (*Cherebp*) mRNA 相対発現量、肝臓中脂質合成関連遺伝子** (*Fas*, *Scd1*) mRNA 相対発現量の低値、肝臓中糖代謝関連遺伝子(*Pk*) mRNA 相対発現量、肝臓中糖新生関連遺伝子*** (*Glut4*) mRNA 相対発現量、肝臓中脂質代謝関連蛋白質**** (*PPAR α*)相対発現量、肝臓中脂質酸化関連遺伝子***** (*Ucp2*及び *Hsl*) mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、体重、肝臓絶対及び相対重量、精巣絶対及び相対重量、精巣上体中脂質絶対及び相対重量、血清中総コレステロール濃度、血清中グルコース濃度、肝臓中脂質代謝関連遺伝子(*Ppara*, *Ppar γ* , *Srebp1c*) mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14296)(○ ?)

**Gk*, *Pdk* には影響は認められなかった。

***Acl*, *Acc*, *Gpat*, *Dgat1*, *Dgat2* には影響は認められなかった。

****G6p*, *Pepck*, *Pgcl* には影響は認められなかった。

****PPAR γ , SREBP1C には影響は認められなかった。

******Ucp2*, *Hsl* には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：不明

- ⑩Alaa-Eldin ら(2017)によって、 α -シペルメトリン(Indora, 95%) 12.5mg/kg/day を 12 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、精巣絶対重量、血清中テストステロン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、精子濃度、運動精子率、生存精子率の低値、頭部形態異常精子率、DNA 断片化指数の高値が認められた。(14276)(○ ○ 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

- ⑪Liu ら(2010)によって、 β -シペルメトリン(Nanjung Pesticide Factory, 95%) 15、30mg/kg/day を 15 日間経口投与した成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、15mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中精子濃度、精巣組織精子産生能、精巣中アンドロゲン受容体発現量(免疫組織化学画像解析)の低値が認められた。なお、体重、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、精囊絶対重量には影響は認められなかった。(14323)(○ ○ P)

想定される作用メカニズム：アンドロゲン受容体への作用、精巣毒性

- ⑫Yousef ら(2003)によって、シペルメトリン(Mitchell Cotts Chemicals、25% E.C、*cis/trans* 異性体混合ラセミ体) 24mg/kg/day を隔日 12 週間経口投与した成熟雄 NZW ウサギへの影響が検討されている。その結果として、体重、摂餌量、精巣相対重量、精巣上体相対重量、血漿中テストステロン濃度、射精精液量、精子濃度、総精子数、総運動精子数、精子運動率、精子中フラクトース濃度、精液中精子容積の低値精子死亡率、精子異常率、精子 pH の高値、交尾行動時間(マウンティングから勃起終了まで)の遅延が認められた。(4192)(△×)

想定される作用メカニズム：一般毒性

- ⑬Wang ら(2011)によって、シペルメトリン(Sigma) 25mg/kg/day を母動物に対し出産 0 日後から 21 日後まで経口投与した ICR マウスへの影響(21 日齢雄仔動物)が検討されている。その結果として、血清及び精巣中テストステロン濃度、StAR mRNA 相対発現量、P450_{sc} mRNA 及び蛋白質相対発現量、P450_{17α} mRNA 相対発現量、17βHSD mRNA 相対発現量の低値、17βHSD 蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、精巣絶対重量、精巣中ライディッヒ細胞数、精巣中アポトーシス細胞数、StAR 蛋白質相対発現量、P450_{17α} 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。

また、上記の通りばく露した成熟雄 SD ラットについて、非ばく露雌との交配試験(おそらく 70 週齢から)が検討されているが、交尾率、妊孕率、同腹着床部位数、同腹消失胚数、同腹生存雌雄新生仔数、同腹死亡新生仔数、新生仔性比、雌雄新生仔体重、雌雄新生仔頭臀長には影響は認められなかった。(14333)(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用

- ⑭Wang ら(2010)によって、シペルメトリン(Sigma) 25mg/kg/day を 35 日齢から 70 日齢まで経口投与した雄 CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、精巣上体中精子数、血清及び精巣中テストステロン濃度、精巣中 StAR mRNA 及び蛋白質相対発現量、精巣中 P450_{17α} mRNA 相対発現量の低値、アポトーシス細胞が検出される精細管率、精子細胞アポトーシス数(精細管毎)の高値が認められた。なお、体重、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、精巣中 P450_{sc} mRNA 及び蛋白質相対発現量、精巣中 17βHSD mRNA 及び蛋白質相対発現量、精巣中 P450_{17α} 蛋白質相対発現量、精巣中ライディッヒ細胞数(単位画像面積当)には影響は認められなかった。(14337)(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用

- ⑮Elbetieha ら(2001)によって、シペルメトリン(Veterinary and Agricultural Products) 13.15、18.93、39.66mg/rat/day (飲水中濃度 8,571、17,143、34,286ppm)に 80~90 日齢から 12 週間飲水投与した成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、13.15mg/kg/day 以上のばく露群で体重増加量、精巣中精子数、精巣中日毎産生精子数、精巣上体中精子数、精細管周辺細胞層数の低値、18.93mg/kg/day 以上のばく露群で精細管数(画像単位面積毎)、精細管周長の低値、精巣絶対重量、精囊絶対重量、包皮腺絶対及び相対重量の高値、18.93mg/kg/day のばく露群で摂水量の低値、39.66mg/rat/day のばく露群で血清中テストステロン濃度(39.66mg/rat/day 群のみ試験)、血清中性腺刺激ホルモン濃度

(39.66mg/rat/day 群のみ試験)、血清中黄体形成ホルモン濃度(39.66mg/rat/day 群のみ試験)の低値が認められた。なお、精細管内腔径には影響は認められなかった。

また、上記の通りばく露した成熟雄 SD ラットについて、非ばく露雌との交配試験が検討されている。その結果として、13.15mg/kg/day 以上のばく露群で生存胎仔数の低値、吸収胚発生率(着床数換算及び母動物数換算)の高値、18.93mg/kg/day 以上のばく露群で妊娠率の低値、39.66mg/kg/day のばく露群で着床数の低値が認められた。(4195)(△○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、生殖毒性作用

(5)エストロゲン作用

①Jin ら(2010)によって、シペルメトリン(Danyang Agrochemicals、98%) 0.001、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.416、4.16、41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に6日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験(E-screen assay)が検討されている。その結果として、0.01、0.1、1 μ M(=4.16、41.6、416 μ g/L)の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。

また、シペルメトリン(Danyang Agrochemicals、98%) 1 μ M(=416 μ g/L)の濃度に2日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、エストロゲン受容体 α mRNA 相対発現量の低値、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。(14332)(○○P)

②Chen ら(2002)によって、シペルメトリン(Dr. Chen C、90%) 0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、1 μ M(=0.00416、0.0416、0.416、4.16、41.6、416 μ g/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(E-screen assay)が検討されている。その結果として、0.01 μ M(=4.16 μ g/L)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 共存下で消失した。

また、シペルメトリン(Dr. Chen C、90%) 0.0001、0.001、0.01、0.1、1 μ M(=0.0416、0.416、4.16、41.6、416 μ g/L)の濃度に6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、1 μ M(=416 μ g/L)の濃度区で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、シペルメトリン(Dr. Chen C、90%) 0.000001~100 μ M(=0.000416~41,600 μ g/L)の濃度でSDラット子宮サイトゾル由来エストロゲン受容体による標識 17 β -エストラジオール 1 nM に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 562 μ M(=234,000 μ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。(4117)(○○P)

③Sun ら(2014)によって、シペルメトリン(CAS 52315-05-8、Dr. Ehrenstorfer-Schäfer、92%) 0.01、0.1、1、10、100 μ M(=4.16、41.6、416、4,160、41,600 μ g/L)の濃度に24時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (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(GAL4結合部位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 0.37 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。

また、シペルメトリン(CAS 52315-05-8、Dr. Ehrenstorfer-Schäfer、92%) 0.01、0.1、1、

10、100 μ M(=4.16、41.6、416、4,160、41,600 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (ラットエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、EC₅₀ 値 6.78 μ M(=2,820 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。(14304)(○●P)

④Kjeldsen ら(2013)によって、シペルメトリン(CAS 52315-07-8、Sigma-Aldrich、95%) 0.0001～100 μ M(=0.0416～41,600 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MVLN(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、1 μ M(=416 μ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。(13654)(○●P)

⑤Kim ら(2015)によって、シペルメトリン(Sigma-Aldrich) 0.01、0.1、1、10 μ M(=4.16、41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 9 日間ばく露したヒト卵巣がん細胞 BG-1 による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、10 μ M(=4,160 μ g/L)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 10nM 共存下で消失した。

また、シペルメトリン(Sigma-Aldrich) 10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト卵巣がん細胞 BG-1 にへの影響が検討されている。その結果として、細胞周期調節遺伝子 *Cyclin D1* mRNA 相対発現量の高値が認められた。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 10nM 共存下で消失した。なお、エストロゲン受容体 α mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14286)(△●P)

⑥Du ら(2010)によって、シペルメトリン(Dr. Ehrenstorfer-Schäfer、92%)0.001、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.416、4.16、41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎由来細胞 CV-1 (ラッ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。(13282)(○●N)

(6)抗エストロゲン作用

①Sun ら(2014)によって、シペルメトリン(CAS 52315-05-8、Dr. Ehrenstorfer-Schäfer、92%) 0.01、0.1、1、10、100 μ M(=4.16、41.6、416、4,160、41,600 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(17 β -エストラジオール 1 nM 共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (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(GAL4 結合部位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。

また、シペルメトリン(CAS 52315-05-8、Dr. Ehrenstorfer-Schäfer、92%) 0.01、0.1、1、10、100 μ M(=4.16、41.6、416、4,160、41,600 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(17 β -エストラジオール 1 nM 共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (ラットエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞

を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導の阻害は認められなかった。(14304)(○●N)

②Kjeldsen ら(2013)によって、シペルメトリン(CAS 52315-07-8, Sigma-Aldrich, 95%) 0.0001 ~10 μ M(=0.0416~4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(17 β エストラジオール 25pM 共存下)したヒト乳がん細胞 MVLN (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。(13654)(○●N)

③Du ら(2010)によって、シペルメトリン(Dr. Ehrenstorfer-Schäfer, 92%)0.001、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.416、4.16、41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(17 β エストラジオール 1 nM 共存下)したアフリカミドリサル腎由来細胞 CV-1 (ラッ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。(13282)(○●N)

(7)アンドロゲン作用

①Kjeldsen ら(2013)によって、シペルメトリン(CAS 52315-07-8, Sigma-Aldrich, 95%) 0.0001 ~10 μ M(=0.0416~4,160 μ g/L)の濃度に 20 時間ばく露したチャイニーズハムスター卵巢細胞 CHO (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。(13654)(○●N)

②Hu ら(2012)によって、シペルメトリン(Sigma, 99%) 0.1、1、10 μ M(=41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (アンドロゲン受容体のリガンド結合ドメイン及び C-末ドメインを発現)によるレポーターアッセイ(GAL4 結合部位配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導は認められなかった。(14319)(△●N)

③Du ら(2010)によって、シペルメトリン(Dr. Ehrenstorfer-Schäfer, 92%)0.001、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.416、4.16、41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 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)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。(13282)(○●N)

④Xu ら(2008)によって、シペルメトリン(Fluka) 0.1、1、10 μ M(=41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導は認められなかった。(12590)(△●N)

⑤Sun ら(2007)によって、シペルメトリン(Fluka) 1、10、100 μ M(=416、4,160、41,600 μ g/L)

の濃度に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。(8775)(△○N)

(8)抗アンドロゲン作用

①Du ら(2010)によって、シペルメトリン(Dr. Ehrenstorfer-Schäfer, 92%)0.001、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.416、4.16、41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(5 α ジヒドロテストステロン 1 nM 共存下)したヒト乳がん細胞 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、1 μ M(=416 μ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(13282)(○○P)

②Zhang ら(2008)によって、シペルメトリン(Huifeng) 10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露 (5 α ジヒドロテストステロン 1 nM 共存下) したヒト乳がん細胞 MDA-kb2 (ヒトアンドロゲン受容体を発現と思われる)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、ルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、シペルメトリン(Huifeng) 50mg/kg/day を 6 週齢から 7 日間日経口投与(及びテストステロンプロピオネート 0.5mg/kg/day を皮下投与)した雄 SD ラット(4 週齢で精巣摘出处置)への影響(Hershberger 試験)が検討されている。その結果として、精巣絶対重量、腹側前立腺絶対重量、背側前立腺絶対重量の低値が認められた。なお、肛門挙筋+球海綿体筋絶対重量、カウパー腺絶対重量、陰茎絶対重量には影響は認められなかった。(14340)(△○P)

※備考:本報告では、 β -シペルメトリン(Huifeng)についても同じ条件で試験を実施しているが、Hershberger 試験においても、レポーターアッセイにおいても影響は認められなかった。

③Hu ら(2012)によって、シペルメトリン(Sigma, 99%) 0.1、1、10 μ M(=41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露 (5 α ジヒドロテストステロン 10 又は 100nM 共存下) したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (アンドロゲン受容体のリガンド結合ドメイン及び C-末ドメインを発現)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クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度区でクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(14319)(△○P)

④Xu ら(2008)によって、シペルメトリン(Fluka) 0.1、1、10 μ M(=41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露 (5 α ジヒドロテストステロン 1 nM 共存下) したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度区でクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(12590)(△○P)

- ⑤Sun ら(2007)によって、シペルメトリン(Fluka) 1、10、100 μ M(=416、4,160、41,600 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露 (5α ジヒドロテストステロン 1 nM 共存下) したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 μ M(=4,160 μ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(8775)(Δ OP)
- ⑥Kjeldsen ら(2013)によって、シペルメトリン(CAS 52315-07-8、Sigma-Aldrich、95%) 0.0001 ~ 10 μ M(=0.0416 ~ 4,160 μ g/L)の濃度に 20 時間ばく露(アンドロゲン受容体アゴニスト R1881 又はジヒドロテストステロン 25pM 共存下)したチャイニーズハムスター卵巢細胞 CHO (アンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導の阻害は認められなかった。(13654)($\bigcirc$ ON)

(9)アンドロゲン受容体への抑制作用

- ①Wang ら(2016)によって、シペルメトリン(Sigma-Aldrich)10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度に 85 時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 LNCaP による細胞増殖試験(IL-6: Interleukin-6 50ng/mL 共存下)が検討されている。その結果として、細胞増殖の阻害が認められた。

また、シペルメトリン(Sigma-Aldrich)10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度に 85 時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 LNCaP による細胞増殖試験(5α ジヒドロテストステロン 1nM 共存下)が検討されている。その結果として、細胞増殖の阻害が認められた。

また、シペルメトリン(Sigma-Aldrich)0.1、1、10 μ M(=41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (アンドロゲン受容体及び SRC-1: steroid receptor co-activator-1 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クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度区でクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、シペルメトリン(Sigma-Aldrich)0.1、1、10 μ M(=41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (アンドロゲン受容体及び SMRT: silencing mediator for retinoid and thyroid hormone receptors 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クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度区でクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(14282)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン作用、アンドロゲン受容体へのコアクチベーター結合阻害作用、アンドロゲン受容体へのコレプレッサー結合阻害作用

- ②Wang ら(2015)によって、シペルメトリン(Sigma)0.1、1、10 μ M(=41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(IL-6 50ng/mL 共存下、24 時間)した前立腺がん細胞 LNCaP (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クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度区でクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(14291)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン作用、IL-6 誘導性リガンド非依存的アンドロゲン受容体シグナル抑制

- ③Pan ら(2013)によって、シペルメトリン(Sigma-Aldrich、99%)0.1、1、10 μ M(=41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (アンドロゲン受容体及び SMRT: silencing mediator for retinoid and thyroid hormone receptors ドメインを発現)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クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度区でクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導が認められた。

また、シペルメトリン(Sigma-Aldrich、99%)0.1、1、10 μ M(=41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (アンドロゲン受容体及び NCoR: nuclear receptor corepressor ドメインを発現)によるレポーターアッセイ(GAL4 結合部位配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度区でクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導が認められた。(14310)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：アンドロゲン受容体へのコレプレッサー結合促進作用

- ④Pan ら(2012)によって、シペルメトリン(Sigma、99%)0.1、1、10 μ M(=41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (アンドロゲン受容体及び SRC-1: steroid receptor co-activator-1 ドメインを発現)によるレポーターアッセイ(GAL4 結合部位配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度区でクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(14317)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：コアクチベーター結合阻害作用

(10)甲状腺ホルモン作用

- ①Ghisari ら(2015)によって、シペルメトリン(Sigma-Aldrich、52315-07-8、95%) 0.0001～50 μ M(=0.0416～20,800 μ g/L)の濃度に 6 日間ばく露したラット下垂体腫瘍細胞 GH3 (甲状腺ホルモン受容体を発現)による細胞増殖試験(T-screen assay)が検討されている。その結果として、5 μ M(=2,080 μ g/L)以上の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。(13650)(Δ OP)

※備考：本報告では、レポーターアッセイによる芳香族炭化水素受容体に対するアゴニスト活性及びアンタゴニスト活性についても報告している。

- ②Du ら(2010)によって、シペルメトリン(Dr. Ehrenstorfer-Schäfer、92%)0.001、0.01、0.1、

1、10 μ M(=0.416、4.16、41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (甲状腺ホルモン受容体 β を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。(13282)(○○N)

(11)抗甲状腺ホルモン作用

①Du ら(2010)によって、シペルメトリン(Dr. Ehrenstorfer-Schäfer、92%)0.001、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.416、4.16、41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(トリヨードサイロニン 5 nM 共存下)したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (甲状腺ホルモン受容体 β を発現)によるレポーターアッセイ(甲状腺ホルモン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(13282)(○○P)

②Ghisari ら(2015)によって、シペルメトリン(Sigma-Aldrich、52315-07-8、95%) 0.0001～50 μ M(=0.0416～20,800 μ g/L)の濃度に 6 日間ばく露(トリヨードサイロニン 0.5nM 共存下)したラット下垂体腫瘍細胞 GH3 (甲状腺ホルモン受容体を発現)による細胞増殖試験(T-screen assay)が検討されている。その結果として、50 μ M(=20,800 μ g/L)の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(13650)(△○P)

(14)グルココルチコイド作用

①Zhang ら(2016)によって、シペルメトリン(Sigma-Aldrich、Analytical standard) 10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したチャイニーズハムスター細胞 CHO-KI (ヒトグルココルチコイド受容体 α を発現)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)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。(14287)(△○N)

(15)抗グルココルチコイド作用

①Zhang ら(2016)によって、シペルメトリン(Sigma-Aldrich、Analytical standard) 0.001、0.01、0.1、1、5、10 μ M(=0.416、4.16、41.6、416、2,080、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(コルチゾール 100nM 共存下)したチャイニーズハムスター細胞 CHO-KI (ヒトグルココルチコイド受容体 α を発現)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、1 μ M(=416 μ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、シペルメトリン(Sigma-Aldrich、Analytical standard) 10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(コルチゾール 100nM 共存下)したラット肝臓がん細胞 H4IIE への影響が検討されている。その結果として、グルココルチコイド応答遺伝子* *TAT* mRNA 相対発現量の低値が認められた。(14287)(△○P)

**Arg*、*PEPCK*には影響は認められなかった

(16)ステロイド産生影響

- ①Taxvig ら(2013)によって、シペルメトリン(CAS 52315-07-8, Sigma-Aldrich, PESTANAL®) 1.6、3.13、6.25、12.5、25、50、100 μ M(=650、1,300、2,600、5,200、10,400、20,800、41,600 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 NCI-H295R への影響が検討されている。その結果として、3.13、6.25、12.5、50 μ M(=1,300、2,600、5,200、20,800 μ g/L)の濃度区で 17 β -エストラジオール産生量の低値、6.25、12.5 μ M(=2,600、5,200 μ g/L)の濃度区でプロゲステロン産生量の高値が認められた。なお、テストステロン産生量には影響は認められなかった。(14309)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：ステロイド産生影響

- ②Laville ら(2006)によって、シペルメトリン(CAS 67375-30-8, Sigma-Aldrich) 1、3、10 μ M(=416、1,250、4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト絨毛がん細胞 JEG-3 への影響が検討されている。その結果として、10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度区でアロマターゼ活性の高値が認められた。

また、シペルメトリン(CAS 67375-30-8, Sigma-Aldrich) 10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト絨毛がん細胞 JEG-3 への影響が検討されているが、*cyp19* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(12272)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：アロマターゼ作用

- ③Gill ら(2011)によって、シペルメトリン(Pesticide Testing Laboratory, 90%) 10、50、100ppm(=10,000、50,000、100,000 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したバッファロー黄体細胞への影響が検討されている。その結果として、10ppm(=100,000 μ g/L)以上の濃度区で細胞生存率、プロゲステロン産生量の低値が認められた。(14335)(Δ ?)

想定される作用メカニズム：不明

- ④Kjeldsen ら(2013)によって、シペルメトリン(CAS 52315-07-8, Sigma-Aldrich, 95%) 0.001～100 μ M(=0.416～41,600 μ g/L)の濃度に 20 時間ばく露したヒト胎盤絨毛がん細胞 JEG-3 への影響が検討されているが、アロマターゼ活性(標識アンドロステンジオンを基質とする)には影響は認められなかった。(13654)($\bigcirc\bigcirc$ N)

想定される作用メカニズム：不明

ステロイド産生影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

- ⑤FMC Corporation (2012)によって、シペルメトリン(CAS 52315-07-8, Syngenta Crop Protection)と思われる、95.2%、cis/trans = 49.8/50.2) 0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.0416、0.416、4.16、41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響が検討されている。その結果として、10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度区でエストラジオール産生量の高値が認められた。なお、テストステロン産生量、細胞生存率には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48670203)($\bigcirc\bigcirc$ P)

想定される作用メカニズム：エストラジオール産生促進

EDSP では、本試験についてはエストラジオール産生量の濃度依存的増加との判断を示している。しかし、ステロイド産生影響全体については相反する結果が得られているとの見解を示している。

(17) プロスタグランジン産生影響

- ①Kugathas ら(2016)によって、シペルメトリン(Sigma-Aldrich、52315-07-8、97%) 0.001～100 μ M(=0.0416～41,600 μ g/L)の濃度に24時間ばく露した幼若マウス由来セルトリ細胞SC5への影響が検討されている。その結果として、IC₅₀値 0.678 μ M(=282 μ g/L)の濃度で、プロスタグランジン D2 産生阻害が認められた。(13837)(〇〇P)

想定される作用メカニズム：プロスタグランジン D2 産生阻害

(18) 精子への影響

- ①Song ら(2008)によって、シペルメトリン(Dr. Haiyan Chen、99.05%) 1、4、16、64 μ M(=416、1,660、6,660、26,600 μ g/L)の濃度に1時間ばく露した成熟雄SDラット由来精子への影響が検討されている。その結果として、4 μ M(=1,660 μ g/L)以上の濃度区で直線地点移動速度(VSL: Progressive Velocity)、頭部振動数(BCF: Beat Frequency)、直線性(LCN: Linearity)、前進運動性精子率(STR: Straightness)の低値、64 μ M(=26,600 μ g/L)の濃度区で頭部振幅(ALH: Amplitude of lateral head)の低値、平均速度(VAP: Average Path Velocity)の高値が認められた。なお、曲線地点移動速度(VCL: Curvilinear Velocity)には影響は認められなかった。(8772)(〇?)

想定される作用メカニズム：不明

※備考 本報告とほぼ同一内容の報告としてYuan ら(2010) (14336)があった。

2. 総合的判断(案)

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

試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、動物試験の報告において、エストロゲン様作用、抗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、ステロイドホルモン産生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、抗アンドロゲン作用、アンドロゲン受容体へのコレプレッサー結合促進作用、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用、抗グルココルチコイド作用、ステロイド産生への影響、プロスタグランジン産生影響を示すことが示唆された。

参考文献

- 14344: Kim Y, Jung J, Oh S and Choi K (2008) Aquatic toxicity of cartap and cypermethrin to different life stages of *Daphnia magna* and *Oryzias latipes*. Journal of Environmental Science and Health. Part B:

Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes, 43 (1), 56-64.

- 3455: Moore A and Waring CP (2001) The effects of a synthetic pyrethroid pesticide on some aspects of reproduction in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquatic Toxicology*, 52 (1), 1-12.
- 14312: Martinez-Jeronimo F, Arzate-Cardenas M and Ortiz-Butron R (2013) Linking sub-individual and population level toxicity effects in *Daphnia schoedleri* (Cladocera: Anomopoda) exposed to sublethal concentrations of the pesticide alpha-cypermethrin. *Ecotoxicology*, 22 (6), 985-995.
- 3934: Barata C, Medina M, Telfer T and Baird DJ (2002) Determining demographic effects of cypermethrin in the marine copepod *Acartia tonsa*: stage-specific short tests versus life-table tests. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43 (3), 373-378.
- 14272: Gottardi M, Birch MR, Dalhoff K and Cedergreen N (2017) The effects of epoxiconazole and alpha-cypermethrin on *Daphnia magna* growth, reproduction, and offspring size. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36 (8), 2155-2166.
- 14318: Shen MF, Kumar A, Ding SY and Grocke S (2012) Comparative study on the toxicity of pyrethroids, alpha-cypermethrin and deltamethrin to *Ceriodaphnia dubia*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 78, 9-13.
- 14278: Guo D, Wang Y, Qian Y, Chen C, Jiao B, Cai L and Wang Q (2017) Joint acute and endocrine disruptive toxicities of malathion, cypermethrin and prochloraz to embryo-larval zebrafish, *Danio rerio*. *Chemosphere*, 166, 63-71.
- 14347: Jaensson A, Scott AP, Moore A, Kylin H and Olsen KH (2007) Effects of a pyrethroid pesticide on endocrine responses to female odours and reproductive behaviour in male parr of brown trout (*Salmo trutta* L.). *Aquatic Toxicology*, 81 (1), 1-9.
- 14342: Singh PB and Singh V (2008) Cypermethrin induced histological changes in gonadotrophic cells, liver, gonads, plasma levels of estradiol-17beta and 11-ketotestosterone, and sperm motility in *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Chemosphere*, 72 (3), 422-431.
- 14303: Jin Y, Lin X, Miao W, Wu T, Shen H, Chen S, Li Y, Pan Q and Fu Z (2014) Chronic exposure of mice to environmental endocrine-disrupting chemicals disturbs their energy metabolism. *Toxicology Letters*, 225 (3), 392-400.
- 14338: Wang XZ, Liu SS, Sun Y, Wu JY, Zhou YL and Zhang JH (2009) Beta-cypermethrin impairs reproductive function in male mice by inducing oxidative stress. *Theriogenology*, 72 (5), 599-611.
- 14313: Singh A, Yadav S, Srivastava V, Kumar R, Singh D, Sethumadhavan R and Parmar D (2013) Imprinting of cerebral and hepatic cytochrome p450s in rat offsprings exposed prenatally to low doses of cypermethrin. *Molecular Neurobiology*, 48 (1), 128-140.
- 14294: Sharma P, Huq AU and Singh R (2014) Cypermethrin-induced reproductive toxicity in the rat is prevented by resveratrol. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 7 (2), 99-106.
- 14301: Sharma P, Huq AU and Singh R (2013) Cypermethrin induced reproductive toxicity in male Wistar rats: protective role of *Tribulus terrestris*. *Journal of Environmental Biology*, 34 (5), 857-862.
- 14325: Jin Y, Wang L, Ruan M, Liu J, Yang Y, Zhou C, Xu B and Fu Z (2011) Cypermethrin exposure during puberty induces oxidative stress and endocrine disruption in male mice. *Chemosphere*, 84 (1), 124-130.
- 14320: Hu JX, Li YF, Li J, Pan C, He Z, Dong HY and Xu LC (2013) Toxic effects of cypermethrin on the male reproductive system: with emphasis on the androgen receptor. *Journal of Applied Toxicology*, 33 (7), 576-585.
- 14314: Li YF, Pan C, Hu JX, Li J and Xu LC (2013) Effects of cypermethrin on male reproductive system in adult rats. *Biomedical and Environmental Sciences*, 26 (3), 201-208.
- 14296: Jin Y, Lin X, Miao W, Wang L, Wu Y and Fu Z (2015) Oral exposure of pubertal male mice to endocrine-disrupting chemicals alters fat metabolism in adult livers. *Environmental Toxicology*, 30 (12), 1434-1444.

- 14276: Alaa-Eldin EA, El-Shafei DA and Abouhashem NS (2017) Individual and combined effect of chlorpyrifos and cypermethrin on reproductive system of adult male albino rats. *Environmental Science and Pollution Research International*, 24 (2), 1532-1543.
- 14323: Liu L, Hu JX, Wang H, Chen BJ, He Z and Xu LC (2010) Effects of beta-cypermethrin on male rat reproductive system. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30 (3), 251-256.
- 4192: Yousef MI, El-Demerdash FM and Al-Salhen KS (2003) Protective role of isoflavones against the toxic effect of cypermethrin on semen quality and testosterone levels of rabbits. *Journal of Environmental Science and Health. Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 38 (4), 463-478.
- 14333: Wang H, Wang SF, Ning H, Ji YL, Zhang C, Zhang Y, Yu T, Ma XH, Zhao XF, Wang Q, Liu P, Meng XH and Xu DX (2011) Maternal cypermethrin exposure during lactation impairs testicular development and spermatogenesis in male mouse offspring. *Environmental Toxicology*, 26 (4), 382-394.
- 14337: Wang H, Wang Q, Zhao XF, Liu P, Meng XH, Yu T, Ji YL, Zhang H, Zhang C, Zhang Y and Xu DX (2010) Cypermethrin exposure during puberty disrupts testosterone synthesis via downregulating StAR in mouse testes. *Archives of Toxicology*, 84 (1), 53-61.
- 4195: Elbetieha A, Da'as SI, Khamas W and Darmani H (2001) Evaluation of the toxic potentials of cypermethrin pesticide on some reproductive and fertility parameters in the male rats. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 41 (4), 522-528.
- 14274: Gómez-Giménez B, Llansola M, Hernandez-Rabaza V, Cabrera-Pastor A, Malaguarnera M, Agusti A and Felipo V (2017) Sex-dependent effects of developmental exposure to different pesticides on spatial learning. The role of induced neuroinflammation in the hippocampus. *Food and Chemical Toxicology*, 99, 135-148.
- 14292: Singh A, Mudawal A, Maurya P, Jain R, Nair S, Shukla RK, Yadav S, Singh D, Khanna VK, Chaturvedi RK, Mudiam MK, Sethumadhavan R, Siddiqi MI and Parmar D (2016) Prenatal Exposure of Cypermethrin Induces Similar Alterations in Xenobiotic-Metabolizing Cytochrome P450s and Rate-Limiting Enzymes of Neurotransmitter Synthesis in Brain Regions of Rat Offsprings During Postnatal Development. *Molecular Neurobiology*, 53 (6), 3670-3689.
- 14293: Singh A, Mudawal A, Shukla RK, Yadav S, Khanna VK, Sethumadhavan R and Parmar D (2015) Effect of Gestational Exposure of Cypermethrin on Postnatal Development of Brain Cytochrome P450 2D1 and 3A1 and Neurotransmitter Receptors. *Molecular Neurobiology*, 52 (1), 741-756.
- 14331: Tiwari MN, Singh AK, Ahmad I, Upadhyay G, Singh D, Patel DK, Singh C, Prakash O and Singh MP (2010) Effects of cypermethrin on monoamine transporters, xenobiotic metabolizing enzymes and lipid peroxidation in the rat nigrostriatal system. *Free Radical Research*, 44 (12), 1416-1424.
- 14360: Madsen C, Claesson MH and Ropke C (1996) Immunotoxicity of the pyrethroid insecticides deltamethrin and alpha-cypermethrin. *Toxicology*, 107 (3), 219-227.
- 4198: Santoni G, Cantalamessa F, Spreghini E, Sagretti O, Staffolani M and Piccoli M (1999) Alterations of T cell distribution and functions in prenatally cypermethrin-exposed rats: possible involvement of catecholamines. *Toxicology*, 138 (3), 175-187.
- 4200: Santoni G, Cantalamessa F, Cavagna R, Romagnoli S, Spreghini E and Piccoli M (1998) Cypermethrin-induced alteration of thymocyte distribution and functions in prenatally-exposed rats. *Toxicology*, 125 (1), 67-78.
- 14332: Jin M, Li L, Xu C, Wen Y and Zhao M (2010) Estrogenic activities of two synthetic pyrethroids and their metabolites. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 22 (2), 290-296.
- 4117: Chen H, Xiao J, Hu G, Zhou J, Xiao H and Wang X (2002) Estrogenicity of organophosphorus and pyrethroid pesticides. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A*, 65 (19), 1419-1435.
- 14304: Sun H, Chen W, Xu X, Ding Z, Chen X and Wang X (2014) Pyrethroid and their metabolite, 3-phenoxybenzoic acid showed similar (anti)estrogenic activity in human and rat estrogen receptor alpha-mediated reporter gene assays. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37 (1), 371-377.

- 13654: Kjeldsen LS, Ghisari M and Bonefeld-Jorgensen EC (2013) Currently used pesticides and their mixtures affect the function of sex hormone receptors and aromatase enzyme activity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 272 (2), 453-464.
- 14286: Kim CW, Go RE and Choi KC (2015) Treatment of BG-1 Ovarian Cancer Cells Expressing Estrogen Receptors with Lambda-cyhalothrin and Cypermethrin Caused a Partial Estrogenicity *via* an Estrogen Receptor-dependent Pathway. *Toxicological Research*, 31 (4), 331-337.
- 13282: Du G, Shen O, Sun H, Fei J, Lu C, Song L, Xia Y, Wang S and Wang X (2010) Assessing hormone receptor activities of pyrethroid insecticides and their metabolites in reporter gene assays. *Toxicological Sciences*, 116 (1) 58-66.
- 8785: Kim IY, Shin JH, Kim HS, Lee SJ, Kang IH, Kim TS, Moon HJ, Choi KS, Moon A and Han SY (2004) Assessing estrogenic activity of pyrethroid insecticides using *in vitro* combination assays. *Journal of Reproduction and Development*, 50 (2), 245-255.
- 4196: Saito K, Tomigahara Y, Ohe N, Isobe N, Nakatsuka I and Kaneko H (2000) Lack of significant estrogenic or antiestrogenic activity of pyrethroid insecticides in three *in vitro* assays based on classic estrogen receptor alpha-mediated mechanisms. *Toxicological Sciences*, 57 (1), 54-60.
- 14319: Hu JX, Li YF, Pan C, Zhang JP, Wang HM, Li J and Xu LC (2012) Anti-androgen effects of cypermethrin on the amino- and carboxyl-terminal interaction of the androgen receptor. *Toxicology*, 292 (2-3), 99-104.
- 12590: Xu LC, Liu L, Ren XM, Zhang MR, Cong N, Xu AQ and Shao JH (2008) Evaluation of androgen receptor transcriptional activities of some pesticides *in vitro*. *Toxicology*, 243 (1-2), 59-65.
- 8775: Sun H, Xu XL, Xu LC, Song L, Hong X, Chen JF, Cui LB and Wang XR (2007) Antiandrogenic activity of pyrethroid pesticides and their metabolite in reporter gene assay. *Chemosphere*, 66 (3), 474-479.
- 14340: Zhang J, Zhu W, Zheng Y, Yang J and Zhu X (2008) The antiandrogenic activity of pyrethroid pesticides cyfluthrin and beta-cyfluthrin. *Reproductive Toxicology*, 25 (4), 491-496.
- 14282: Wang Q, Zhou JL, Wang H, Ju Q, Ding Z, Zhou XL, Ge X, Shi QM, Pan C, Zhang JP, Zhang MR, Yu HM and Xu LC (2016) Inhibition effect of cypermethrin mediated by co-regulators SRC-1 and SMRT in interleukin-6-induced androgen receptor activation. *Chemosphere*, 158, 24-29.
- 14291: Wang Q, Xu LF, Zhou JL, Zhou XL, Wang H, Ju Q, Pan C, Zhang JP, Zhang MR, Yu HM and Xu LC (2015) Antagonism effects of cypermethrin on interleukin-6-induced androgen receptor activation. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40 (1), 172-174.
- 14310: Pan C, Wang Q, Liu YP, Xu LF, Li YF, Hu JX, Jiang M, Zhang JP, Zhang MR, Yu HM, Zhou JL, Zhou XL and Xu LC (2013) Anti-androgen effects of the pyrethroid pesticide cypermethrin on interactions of androgen receptor with corepressors. *Toxicology*, 311 (3), 178-183.
- 14317: Pan C, Liu YP, Li YF, Hu JX, Zhang JP, Wang HM, Li J and Xu LC (2012) Effects of cypermethrin on the ligand-independent interaction between androgen receptor and steroid receptor coactivator-1. *Toxicology*, 299 (2-3), 160-164.
- 13650: Ghisari M, Long M, Tabbo A and Bonefeld-Jorgensen EC (2015) Effects of currently used pesticides and their mixtures on the function of thyroid hormone and aryl hydrocarbon receptor in cell culture. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 284 (3), 292-303.
- 8787: Sumida K, Saito K, Ooe N, Isobe N, Kaneko H and Nakatsuka I (2001) Evaluation of *in vitro* methods for detecting the effects of various chemicals on the human progesterone receptor, with a focus on pyrethroid insecticides. *Toxicology Letters*, 118 (3), 147-155.
- 14287: Zhang J, Zhang J, Liu R, Gan J, Liu J and Liu W (2016) Endocrine-Disrupting Effects of Pesticides through Interference with Human Glucocorticoid Receptor. *Environmental Science & Technology*, 50 (1), 435-443.
- 14309: Taxvig C, Hadrup N, Boberg J, Axelstad M, Bossi R, Bonefeld-Jorgensen EC and Vinggaard AM (2013) *In vitro-in vivo* correlations for endocrine activity of a mixture of currently used pesticides. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 272 (3), 757-766.

- 12272: Laville N, Balaguer P, Brion F, Hinfrey N, Casellas C, Porcher JM and Ait-Aissa S (2006) Modulation of aromatase activity and mRNA by various selected pesticides in the human choriocarcinoma JEG-3 cell line. *Toxicology*, 228 (1), 98-108.
- 14335: Gill SA, Rizvi F, Khan MZ and Khan A (2011) Toxic effects of cypermethrin and methamidophos on bovine corpus luteal cells and progesterone production. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 63 (1-2), 131-135.
- 13837: Kugathas S, Audouze K, Ermler S, Orton F, Rosivatz E, Scholze M and Kortenkamp A (2016) Effects of Common Pesticides on Prostaglandin D2 (PGD2) Inhibition in SC5 Mouse Sertoli Cells, Evidence of Binding at the COX-2 Active Site, and Implications for Endocrine Disruption. *Environmental Health Perspectives*, 124 (4), 452-459.
- 8772: Song L, Wang YB, Sun H, Yuan C, Hong X, Qu JH, Zhou JW and Wang XR (2008) Effects of fenvalerate and cypermethrin on rat sperm motility patterns *in vitro* as measured by computer-assisted sperm analysis. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A*, 71 (5), 325-332.
- 14336: Yuan C, Wang C, Gao SQ, Kong TT, Chen L, Li XF, Song L and Wang YB (2010) Effects of permethrin, cypermethrin and 3-phenoxybenzoic acid on rat sperm motility *in vitro* evaluated with computer-assisted sperm analysis. *Toxicology in Vitro*, 24 (2), 382-386.

下記出典は未公開報告書であるが、米国環境保護庁の EDSP による物質ごとの評価書において引用されており、その内容が以下の website にて公開されている。

United States Environmental Protection Agency、Endocrine Disruptor Screening Program Tier 1 Screening Determinations and Associated Data Evaluation Records
(<https://www.epa.gov/endocrine-disruption/endocrine-disruptor-screening-program-tier-1-screening-determinations-and>)

USEPA MRID 49013801: Lee MR (2012) Cypermethrin: Amphibian Metamorphosis Assay with African Clawed Frog (*Xenopus laevis*). Unpublished study performed by Smithers Viscient, Inc., Wareham, MA. Laboratory report number 1781-6765. Study sponsored by Syngenta Crop Protection, LLC, Greensboro, NC. Study completed November 28, 2012.

USEPA MRID 48683001: York DO (2012) Cypermethrin – Fish Short-term Reproduction Assay with the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*). Performed by Smithers Viscient, Wareham, Massachusetts, Laboratory Project No. 1781.6766. Submitted by Syngenta Ltd, Jealott's Hill International Research Centre, Bracknell, Berkshire RG42 6EY, United Kingdom; FMC Corporation, Philadelphia, Pennsylvania; United Phosphorus, Inc., King of Prussia, Pennsylvania. Completion date April 18, 2012.

USEPA MRID 48670203: Wagner H (2012) Cypermethrin - H295R Steroidogenesis Assay. CeeTox, Inc., Kalamazoo, MI. Laboratory Study No.: 9047V-00353STER, January 17, 20 12. Unpublished.

IV. ピリプロキシフェン

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ピリプロキシフェンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、エストロゲン作用、幼若ホルモン作用及び抗脱皮ホルモン作用の有無に関する報告がある。

なお、米国環境保護庁の EDSP においては、ピリプロキシフェンについて第 2 段階試験を実施する対象物質としていない。

(1)生態影響

- ①Ginjumpalli と Baldwin (2013)によって、ピリプロキシフェン(Fluka、99%) 0.025、0.05、0.1、0.2、0.4 μ g/L (設定濃度)に 14 日齢から 4 回目の出産まで(約 12 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、0.025 μ g/L 以上のばく露区で総産仔数、雌総産仔数の低値、0.05 μ g/L 以上のばく露区で雄総産仔数の高値が認められた。(14367)(評価結果の略号：△○P)

想定される作用メカニズム：幼若ホルモン様作用

- ②LeBlanc ら(2013)によって、ピリプロキシフェン(Chem Service、99%) 0.000084～0.00062 μ M(=0.027～0.20 μ g/L)(設定濃度)に 21 日間ばく露(F_0)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、0.000084 μ M(=0.027 μ g/L)以上のばく露区で総産仔数の濃度依存的低値、新生仔(F_1)雄性比の濃度依存的 high 値、0.00056 μ M(=0.18 μ g/L)以上のばく露区で新生仔(F_1)の全雄化が認められた。なお、 F_0 寿命、 F_0 体長、 F_0 脱皮回数には影響は認められなかった。

また、ピリプロキシフェン(Chem Service、99%) 0.00022 μ M(=0.071 μ g/L)(設定濃度)に 21 日間ばく露(F_0)したオオミジンコ(*D. magna*)への影響(F_1 を非ばく露条件で飼育し出産状況を観察)が検討されている。その結果として、総産仔数の低値が認められた。なお、 F_1 生存率、 F_1 体長、新生仔(F_2)性比には影響は認められなかった。

また、ピリプロキシフェン(Chem Service、99%) 0.000084～0.00062 μ M(=0.027～0.20 μ g/L)(設定濃度)に 2 回目の出産までばく露(F_0)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、EC₅₀ 値 0.00022 μ M(=0.071 μ g/L)の濃度で新生仔(F_1)雄が出現する出産率の高値が認められた。(14368)(△○P)

想定される作用メカニズム：幼若ホルモン様作用

- ③Tatarazako ら(2003)によって、ピリプロキシフェン(和光純薬、96.6%) 0.012、0.037、0.11、0.33、1 μ 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(*Daphnia magna*)への影響が検討されている。その結果として、0.037 μ g/L 以上のばく露区で総産仔数の濃度依存的低値、新生仔雄性比の高値が認められた。

また、ピリプロキシフェン(和光純薬、96.6%) 0.3 μ g/L (設定濃度)に 2～3 週齢から 8 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、新生仔雄性比(ばく露 3～8 日後)の高値が認められた。なお、新生仔雄性比(ばく露 1～2 日後)には影

響は認められなかった。(14377)(△○P)

想定される作用メカニズム：幼若ホルモン様作用

- ④Ginjumpalli ら(2015)によって、ピリプロキシフェン(Fluka、99%) 0.05、0.1 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 10 日齢から 2～5 回目の出産にかけて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、0.05 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で総産仔数、雌総産仔数の低値、雄総産仔数の高値が認められた。(14365)(△○P)

想定される作用メカニズム：幼若ホルモン様作用

- ⑤Matsumoto ら(2008)によって、ピリプロキシフェン(LKT Laboratory) 0.01～1 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 13 日齢から 24 時間(最終脱皮から 60～72 時間後の期間が含まれる)ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響(ばく露後、非ばく露条件で飼育 5 日後)が検討されている。その結果として、 EC_{50} 値 0.057 $\mu\text{g/L}$ 及び EC_{100} 値 0.1 $\mu\text{g/L}$ の濃度で新生仔雄性比の高値が認められた。(14371)(△○P)

想定される作用メカニズム：幼若ホルモン様作用

- ⑥Jordao ら(2016)によって、ピリプロキシフェン(Sigma-Aldrich) 0.00016～0.0093 μM (=0.051～3.0 $\mu\text{g/L}$)(設定濃度)に 3 令(3 回目の脱皮 4～8 時間前)から 3 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、0.0003 μM (=0.096 $\mu\text{g/L}$)以上のばく露区で体内脂肪濃度の高値が認められた。

また、ピリプロキシフェン 0.0012、0.0047、0.0093 μM (=0.39、1.5、3.0 $\mu\text{g/L}$)(設定濃度)に 3 令(3 回目の脱皮 4～8 時間前)から 3 日間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*)への影響(ばく露後、初出産まで非ばく露条件で飼育)が検討されている。その結果として、0.0012 μM (=0.39 $\mu\text{g/L}$)以上のばく露区で初出産仔数の低値、0.0047 μM (=1.5 $\mu\text{g/L}$)以上のばく露区で母動物体長の低値、0.0093 μM (=3.0 $\mu\text{g/L}$)のばく露区で新生仔体長の低値が認められた。

また、ピリプロキシフェン(Sigma-Aldrich) 0.25 μM (=80 $\mu\text{g/L}$)までの設定濃度に 3 令(3 回目の脱皮 4～8 時間前)から 3 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、0.0187 μM (=6.0 $\mu\text{g/L}$)以上のばく露区で脱皮率の低値、0.05 μM (=16 $\mu\text{g/L}$)以上のばく露区で摂餌速度の低値が認められた。(14364)(△○P)

想定される作用メカニズム：幼若ホルモン様作用、脱皮ホルモン様作用、脂肪蓄積作用

- ⑦ Mu と LeBlanc (2004) によって、ピリプロキシフェン (Chem Service) 0.0003 μM (=0.096 $\mu\text{g/L}$)(設定濃度)に 8 時間齢から 24 時間(胚の性分化期に相当)ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響(ばく露後、成熟まで非ばく露条件で飼育)が検討されている。その結果として、雄仔が含まれる出産率の高値が認められた。

また、ピリプロキシフェン(Chem Service) 0.001～0.02 μM (=0.321～6.42 $\mu\text{g/L}$)(設定濃度)に Stage I 胚から成熟まで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、 EC_{50} 値 0.008 μM (=2.57 $\mu\text{g/L}$)の濃度で奇形率(特に shell spine の湾曲)の高値が認められた。(5285)(△○P)

想定される作用メカニズム：幼若ホルモン様作用

- ⑧Olmstead と LeBlanc (2003)によって、ピリプロキシフェン(Chem Service) 0.0000031、

0.000016、0.000078、0.00030 μ M(=0.001、0.005、0.025、0.096 μ g/L)(設定濃度)に 24 時間未満齢から 21 日間(この間に約 4 回出産)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、0.00030 μ M(=0.096 μ g/L)のばく露区で新生仔雄性比の高値が認められた。

また、ピリプロキシフェン(Chem Service) 0.00001~0.001 μ M(=0.0032~0.32 μ g/L)(設定濃度)に 24 時間未満齢から 21 日間(この間に約 4 回出産)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、EC₅₀ 値 0.00031 μ M(=0.1 μ g/L)の濃度で新生仔雄性比の高値が認められた。(14378)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：幼若ホルモン様作用

- ⑨Oda ら(2006)によって、ピリプロキシフェン(和光純薬、96.6%) 5、10 μ g/L (設定濃度)に 2 週齢以後から 12 時間ばく露した 3 系統のオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響(ばく露後、非ばく露条件で飼育し 1 及び 2 回目出産状況を観察)が検討されている。その結果として、いずれの 3 系統においても 5 μ g/L 以上のばく露区で、新生仔雄性比の高値(82、98、100%)が認められた。(14374)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：幼若ホルモン様作用

- ⑩Tokishita ら(2006)によって、ピリプロキシフェン(和光純薬) 0.0156 μ M(= 5 μ g/L、設定濃度)に 1 時間未満齢から 120 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、ビテロゲニン *DmagVTG1* 及び *DmagVTG2* mRNA 相対発現のほぼ完全な阻害が認められた。(14373)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：幼若ホルモン様作用

生態影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

- ⑬Valent Corporation (2012)によって、ピリプロキシフェン(住友化学と思われる、99.5%) 1.5、17、173 μ g/L(測定濃度)(設定濃度 3、30、300 μ g/L に相当)に Nieuwkoop-Faber (NF) stage 51 から 21 日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)幼生への影響(AMA: Amphibian Metamorphosis Assay, OECD TG231)が検討されている。その結果として、1.5 μ g/L 以上のばく露区で後肢長(HLL: hind-limb length、7 日後)の低値、173 μ g/L のばく露区で体重(7、21 日後)、体長(SVL: snout-vent length、7、21 日後)、後肢長(HLL: hind-limb length、21 日後)の低値が認められた。なお、死亡率(7、21 日後)、臨床的兆候、非同期発達個体率(7、21 日後)、甲状腺の肉眼的又は組織病理学的検査における所見(21 日後)には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48619201)(Δ ×)

想定される作用メカニズム：一般毒性

EDSP では、甲状腺の組織病理学的検査において影響が認められなかったことから、認められた影響が甲状腺関連であるとはみなさないと判断を示している。

本試験における有意差検定は全般 Negative Control 区(溶媒無添加対照区)との比較において実施しているが、エンドポイントによっては溶媒対照区(溶媒としてジメチルホルムアミド 20 μ L/L 使用)との比較も実施している点に注意を要する。

⑭Valent Corporation (2012)によって、ピリプロキシフェン(住友化学と思われる、99.5%) 2、9.5、110 μ g/L(測定濃度)(設定濃度 3、30、300 μ g/L に相当)に 24 日間ばく露した成熟雌雄フアットヘッドミノー (*Pimephales promelas*) への影響 (FSTRA: Fish Short-term Reproduction Assay, OECD TG229)が検討されている。その結果として、9.5 μ g/L 以上のばく露区で雄結節スコア(tubercle score)の低値、110 μ g/L のばく露区で雄生殖腺体指数の高値が認められた。なお、雌雄生存率、雌雄体重、雌雄体長、雌雄生殖腺発達ステージ、雌生殖腺体指数、成熟卵胞閉塞率、産卵数、受精率、雌雄血漿中ビテロゲニン濃度、雌雄血漿中エストラジオール濃度、雌雄血漿中テストステロン濃度、その他観察事項には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48673501)(△×)

想定される作用メカニズム：不明

EDSP では、雄への一連の影響は限定的であるとの見解を示している。

本試験における有意差検定は全般 Negative Control 区(溶媒無添加対照区)との比較において実施しているが、エンドポイントによっては溶媒対照区(溶媒としてジメチルホルムアミド 0.042 μ L/L 使用)との比較も実施している点に注意を要する。

(2)生殖及び甲状腺影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

①Valent Corporation (2012)によって、ピリプロキシフェン(住友化学と思われる、99.5%) 500、1,000mg/kg/day を 23 日齢から 53 日齢まで経口投与した雄 SD ラットへの影響(Male Pubertal Assay、最終投与 2 時間後に剖検)が検討されている。その結果として、500mg/kg/day 以上のばく露群で前立腺腹葉絶対及び補正重量、前立腺背側葉絶対及び補正重量、血清中テストステロン濃度の低値、肝臓絶対及び補正及び相対重量、肝臓・腎臓・甲状腺の組織病理学的検査における異常所見発生率、臨床的兆候の発生率の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で体重、増加体重、右精巣絶対及び補正重量、左精巣上体絶対重量、右精巣上体絶対重量、精囊+凝固腺絶対及び補正重量、肛門挙筋+球海綿体筋絶対及び補正重量の低値、腎臓絶対及び補正及び相対重量の高値が認められた。なお、下垂体絶対及び補正及び相対重量、副腎絶対及び補正及び相対重量、甲状腺絶対及び補正重量、包皮分離開始日、血清中総サイロキシン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、精巣・精巣上体の組織病理学的検査における異常所見発生率には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48688104)(△×)

想定される作用メカニズム：一般毒性

EDSP では、抗アンドロゲン活性が示唆されるとの判断を示している。組織病理学的検査結果から甲状腺影響の可能性についても言及している。

(3)エストロゲン作用

①Kojima ら(2005)によって、ピリプロキシフェン(99%)0.1~100 μ M(=32.1~32,100 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト卵巣がん細胞 BG1 (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、EC₁₀ 値 29 μ M(=9,310 μ g/L)の濃度でル

シフェラーゼ発現誘導が認められた。(12552)(△○P)

②Manabe ら(2006)によって、ピリプロキシフェン(和光純薬、99%) 0.0001~1,000 μ M(=0.0321~321,000 μ g/L)の濃度に3日間ばく露したラット下垂体がん細胞 MtT/S (ヒトエストロゲン受容体 α 及び β を 3.55:1 の比で発現)による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、REC₁₀ 値* 55 μ M(=17,700 μ g/L)の濃度で細胞増殖誘導が認められた**。(12546)(○?)

*17 β エストラジオール 0.1nM が示す活性の 10%に相当を示す濃度

**ただし、試験濃度範囲における各濃度区において対象区との有意差は検出されなかった。

(4)幼若ホルモン作用

①LeBlanc ら(2013)によって、ピリプロキシフェン(Chem Service、99%) 100 μ M(32,100 μ g/L)までの濃度に24時間ばく露したショウジョウバエ細胞 S2 (*Daphnia pulex* 由来転写因子及び昆虫由来ステロイド受容体コアクチベーターSRC を発現)によるレポーターアッセイ(ファルネシル酸メチル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、EC₅₀ 値 4.8 μ M(=1,540 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。(14368)(○○P)

(5)脱皮ホルモン作用

①Mu と LeBlanc (2004)によって、ピリプロキシフェン(Chem Service) 0.00001、0.0001、0.001 μ M(=0.00321、0.0321、0.321 μ g/L)の濃度に3日間ばく露したショウジョウバエ細胞 Kc (エクダイソン受容体を発現)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。(5285)(△○N)

(6)抗脱皮ホルモン作用

①Mu と LeBlanc (2004)によって、ピリプロキシフェン(Chem Service) 0.00001、0.0001、0.001 μ M(=0.00321、0.0321、0.321 μ g/L)の濃度に3日間ばく露(20-ヒドロキシエクダイソン 1.0 μ M 共存下)したショウジョウバエ細胞 Kc (エクダイソン受容体を発現)への影響が検討されている。その結果として、0.001 μ M(=0.321 μ g/L)の濃度区でエクダイソン受容体(EcR) mRNA 相対発現量、エクダイソン受容体コファクター(USP: ultraspiracle) mRNA 相対発現量の低値、細胞増殖率の高値が認められた。(5285)(△○P)

(7)ステロイド産生影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

①Sumitomo Chemical Company 及び Valent U.S.A. Corporation (2011)によって、ピリプロキシフェン(住友化学と思われる、99.5%) 0.03、0.1、0.3、1、3、10 μ M(=9.63、32.1、96.3、321、963、3,210 μ g/L)の濃度に48時間ばく露したヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響が検討されている。その結果として、10 μ M(=3,210 μ g/L)の濃度区でエストラジオール産生量の高値が認められた。テストステロン産生量については再現性が得られなかった。なお、細胞生存率には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48619206)(○○P)

想定される作用メカニズム：エストラジオール産生促進、テストステロン産生促進

EDSP では、エストラジオール産生量の濃度依存的増加が認められるとの判断を示している。

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、幼若ホルモン様作用、脱皮ホルモ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、幼若ホルモン作用、抗脱皮ホルモン作用、ステロイド産生影響を示すことが示唆された。

参考文献

- 14367: Ginjupalli GK and Baldwin WS (2013) The time- and age-dependent effects of the juvenile hormone analog pesticide, pyriproxyfen on *Daphnia magna* reproduction. *Chemosphere*, 92 (9), 1260-1266.
- 14368: LeBlanc GA, Wang YH, Holmes CN, Kwon G and Medlock EK (2013) A transgenerational endocrine signaling pathway in Crustacea. *PloS One*, 8 (4), e61715.
- 14377: Tatarazako N, Oda S, Watanabe H, Morita M and Iguchi T (2003) Juvenile hormone agonists affect the occurrence of male *Daphnia*. *Chemosphere*, 53 (8), 827-833.
- 14365: Ginjupalli GK, Gerard PD and Baldwin WS (2015) Arachidonic acid enhances reproduction in *Daphnia magna* and mitigates changes in sex ratios induced by pyriproxyfen. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34 (3), 527-535.
- 14371: Matsumoto T, Ikuno E, Itoi S and Sugita H (2008) Chemical sensitivity of the male daphnid, *Daphnia magna*, induced by exposure to juvenile hormone and its analogs. *Chemosphere*, 72 (3), 451-456.
- 14364: Jordao R, Garreta E, Campos B, Lemos MF, Soares AM, Tauler R and Barata C (2016) Compounds altering fat storage in *Daphnia magna*. *Science of the Total Environment*, 545-546, 127-136.
- 5285: Mu X and LeBlanc GA (2004) Cross communication between signaling pathways: juvenoid hormones modulate ecdysteroid activity in a crustacean. *Journal of Experimental Zoology. Part A: Comparative Experimental Biology*, 301 (10), 793-801.
- 14378: Olmstead AW and LeBlanc GA (2003) Insecticidal juvenile hormone analogs stimulate the production of male offspring in the crustacean *Daphnia magna*. *Environmental Health Perspectives*, 111 (7), 919-924.
- 14374: Oda S, Tatarazako N, Watanabe H, Morita M and Iguchi T (2006) Genetic differences in the production of male neonates in *Daphnia magna* exposed to juvenile hormone analogs. *Chemosphere*, 63 (9), 1477-1484.
- 14373: Tokishita S, Kato Y, Kobayashi T, Nakamura S, Ohta T and Yamagata H (2006) Organization and repression by juvenile hormone of a vitellogenin gene cluster in the crustacean, *Daphnia magna*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 345 (1), 362-370.
- 14381: Trayler KM and Davis JA (1996) Sensitivity of *Daphnia carinata* sensu lato to the insect growth regulator, pyriproxyfen. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 33 (2), 154-156.

- 14375: Tuberty SR and McKenney CL (2005) Ecdysteroid responses of estuarine crustaceans exposed through complete larval development to juvenile hormone agonist insecticides. *Integrative and Comparative Biology*, 45 (1), 106-117.
- 12552: Kojima M, Fukunaga K, Sasaki M, Nakamura M, Tsuji M and Nishiyama T (2005) Evaluation of estrogenic activities of pesticides using an *in vitro* reporter gene assay. *International Journal of Environmental Health Research*, 15 (4), 271-280.
- 12546: Manabe M, Kanda S, Fukunaga K, Tsubura A and Nishiyama T (2006) Evaluation of the estrogenic activities of some pesticides and their combinations using MtT/Se cell proliferation assay. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 209 (5), 413-421.

下記出典は未公開報告書であるが、米国環境保護庁の EDSP による物質ごとの評価書において引用されており、その内容が以下の website にて公開されている。

United States Environmental Protection Agency、Endocrine Disruptor Screening Program Tier 1 Screening Determinations and Associated Data Evaluation Records
(<https://www.epa.gov/endocrine-disruption/endocrine-disruptor-screening-program-tier-1-screening-determinations-and>)

USEPA MRID 48619201: Lee MR (2012) Pyriproxyfen: Amphibian Metamorphosis Assay with African Clawed Frog (*Xenopus laevis*) Following OPPTS Test Guideline 890.1100 and OECD Test Guideline 231. Unpublished study performed by Smithers Viscient, Wareham, Massachusetts. Laboratory report number 13048.6672. Study sponsored by Valent U.S.A. Corporation. Study completed January 25, 2012.

USEPA MRID 48673501: York DO (2012) Pyriproxyfen - Short-term Reproduction Assay with the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*). Performed by Smithers Viscient (formerly Springborn Smithers Laboratories, LLC), Wareham, Massachusetts, Laboratory Project No. 13048.6696. Submitted by Valent Corporation. Completion date February 2, 2012.

USEPA MRID 48688104: Heberth M (2012) A pubertal development and thyroid function assay of pyriproxyfen T.G. administered orally in intact juvenile/peripubertal male rats. WIL Research Laboratories, Ashland, OH. Laboratory Project ID: WIL-118078, July 3, 2012. Unpublished.

USEPA MRID 48619206: Mikata K (2011) *In vitro* steroidogenesis assay of pyriproxyfen T.G. with H295R cell line. Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Company Ltd., Osaka, Japan. Study ID: 4239, December 28, 2011. Unpublished.

V. o-フェニルフェノール

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

o-フェニルフェノールの内分泌かく乱作用に関連する報告として、発達影響、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用及び抗アンドロゲン作用の有無に関する報告がある。

なお、米国環境保護庁の EDSP においては、o-フェニルフェノールについて魚類の生殖影響(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)を確認するためにメダカ拡張 1 世代繁殖試験 MEOGRT を実施する対象物質としている。

(1) 生態影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

①OPP EDSP Consortium (2011)によって、o-フェニルフェノール(LANXESS Corporation と思われる、99.9%) 15.8、75.5、876µg/L(測定濃度)(設定濃度 20、200、2,000µg/L に相当)に 21 日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(FSTRA: Fish Short-term Reproduction Assay, OECD TG229)が検討されている。その結果として、876µg/L のばく露区で雌雄生存率、産卵数、受精率の低値、雌血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。なお、雌雄体重、雌雄体長、雌雄生殖腺体指数、雌雄生殖腺発達ステージ、雄結節スコア(tubercle score)、雄血漿中ビテロゲニン濃度、成熟卵胞閉塞率、その他観察事項には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48672606)(評価結果の略号：○?)
想定される作用メカニズム：不明

EDSP では、876µg/L 区での産卵数及び受精率の低下についても影響として解釈を示しており(有意差は示されていない)、エストロゲン経路への潜在的影響があるとの判断をしている。

②OPP EDSP Consortium (2011)によって、o-フェニルフェノール(LANXESS Corporation と思われる、99.9%) 17.5、67.3、352、1,920µg/L(測定濃度)(設定濃度 24、120、600、3,000µg/L に相当)に Nieuwkoop-Faber (NF) stage 51 から 21 日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)幼生への影響(AMA: Amphibian Metamorphosis Assay, OECD TG231)が検討されている。その結果として、1,920µg/L のばく露区で後肢長(HLL: hind-limb length、21 日後)の低値が認められた。なお、死亡率(7、21 日後)、体重(7、21 日後)、体長(SVL: snout-vent length、7、21 日後)、臨床的兆候、非同期発達個体率(7、21 日後)、到達 NF ステージ(7、21 日後)、甲状腺の肉眼的又は組織病理学的検査における所見(21 日後)には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48916901)(○×)

想定される作用メカニズム：不明

EDSP では、甲状腺経路関連影響とみなすには不十分との判断を示している。

(2) 生殖及び甲状腺影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

①OPP EDSP Consortium (2011)によって、o-フェニルフェノール(LANXESS 99.9%) 50、250、900mg/kg/day を 23 日齢から 53 日齢まで経口投与した雄 SD ラットへの影響(Male Pubertal Assay、最終投与 2 時間後に剖検)が検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上の

ばく露群で副腎絶対重量、血清中総サイロキシシン濃度の低値、250mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓相対重量の高値、900mg/kg/day のばく露群で体重、増加体重、下垂体絶対及び補正重量、左精巣絶対及び補正重量、左右精巣上体絶対重量、精嚢＋凝固腺絶対重量、前立腺腹葉絶対及び補正重量、肛門挙筋＋球海綿体筋絶対及び補正重量の低値、腎臓の組織病理学的検査における異常所見発生率の高値、包皮分離開始日の遅延が認められた。なお、臨床的兆候、右精巣絶対及び補正重量、甲状腺絶対及び補正重量、腎臓絶対及び補正及び相対重量、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中テストステロン濃度、甲状腺・肝臓・精巣・精巣上体・前立腺の組織病理学的検査における異常所見発生率には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48686602)(○?)

想定される作用メカニズム：不明

EDSP では、甲状腺関連影響としては血清中総サイロキシシン濃度の低下以外には認められないとの判断を示している。

(4)エストロゲン作用

①Petit ら(1997)によって、 σ フェニルフェノール(EGA-Chime) 0.01～100 μ M(=1.70～17,000 μ g/L)の濃度に4時間ばく露した酵母 BJ-ECZ (ニジマス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 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、1～10 μ M(=170～1,700 μ g/L)の濃度区で β ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた(100 μ M 区では細胞増殖阻害)。

また、 σ フェニルフェノール(EGA-Chime) 100 μ M(=17,000 μ g/L)の濃度に48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、ビテロゲニン mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、 σ フェニルフェノール(EGA-Chime) 0.01～100 μ M(=1.70～17,200 μ g/L)の濃度に16時間ばく露した酵母 BJ-ECZ (ニジマスエストロゲン受容体を発現)による17 β 標識エストラジオール 20nM 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、1～100 μ M(=170～17,000 μ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。(843)(評価結果の略号：△○P)

②Routledge と Sumpter (1997)によって、 σ フェニルフェノール(MTM、99%) 0.2～100 μ M(=34～17,000 μ g/L)の濃度に84時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲン応答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、100 μ M(=1,700 μ g/L)付近の濃度区で β ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた*。(363)(×—)

*ただし、原著グラフからの読取値であり、対象区との有意差検定はなされていない。

③Manabe ら(2006)によって、 σ フェニルフェノール(和光純薬、99%) 0.0001～1,000 μ M(=0.0172～172,000 μ g/L)の濃度に3日間ばく露したラット下垂体がん細胞 MtT/S (ヒトエストロゲン受容体 α 及び β を 3.55:1 の比で発現)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。(12546)(○○N)

- ④Kojima ら(2005)によって、 σ フェニルフェノール(99%)0.1~100 μ M(=17.2~172,00 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト卵巣がん細胞 BG1 (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。

なお、S9 処理による代謝物は濃度依存的に高値を示した。(12552)(Δ ○N)

(5)エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用(今回評価対象とする EDSP 試験)

- ①OPP EDSP Consortium (2012)によって、 σ フェニルフェノール(LANXESS 99.9%) 0.0001~1,000 μ M(=0.0170~170,000 μ g/L)の濃度でエストロゲン受容体(SD ラット子宮サイトゾル)による標識 17 β エストラジオール 1 nM に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 642 μ M(=109,000 μ g/L、原記載値は log IC₅₀-3.192M)の濃度で結合阻害が認められた。(USEPA MRID 48672604)(○○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

EDSP では、結合は陽性だが不明瞭(equivocal)との判断を示している。

(7)アンドロゲン作用

- ①Orton ら(2011)によって、 σ フェニルフェノール(Aldrich、98.7%) 50 μ M(=8,500 μ g/L)までの濃度に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MDA-kb2 (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。(14413)(Δ ○N)

※備考 本文献では、アンドロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子を導入した酵母(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 β ガラクトシダーゼ発現誘導)も報告しているが、試験濃度範囲の記載が不明瞭であった(ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった)。

- ②Krüger ら(2008)によって、 σ フェニルフェノール(Aldrich、97%) 0.0001~100 μ M(=0.017~17,000 μ g/L)の濃度にばく露したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-KI (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。(14014)(Δ ○N)

(8)アンドロゲン作用又は抗アンドロゲン作用(今回評価対象とする EDSP 試験)

- ①OPP EDSP Consortium (2012)によって、 σ フェニルフェノール(LANXESS 99.9%) 0.0001~1,000 μ M(=0.0170~170,000 μ g/L)の濃度でアンドロゲン受容体(SD ラット前立腺腹葉サイトゾル)による標識 R1881(アンドロゲンアゴニスト) 1 nM に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 178 μ M(=30,300 μ g/L、記載値は log IC₅₀-3.749M)の濃度で結合阻害が認められた。(USEPA MRID 48672603)(○○P)

EDSP では受容体との相互作用を示す科学的根拠ありとの判断を示している。

(9)抗アンドロゲン作用

- ①Orton ら(2011)によって、 σ フェニルフェノール(Aldrich、98.7%) 50 μ M(=8,500 μ g/L)までの濃度に 24 時間ばく露(ジヒドロテストステロン 0.25nM 共存下)したヒト乳がん細胞 MDA-kb2 (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、IC₂₀ 値 3.43 μ M(=583 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。(14413)(Δ OP)

※備考 本文献では、アンドロゲン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子を導入した酵母でも試験を実施しているが、試験濃度範囲の記載が不明瞭であった(ルシフェラーゼ発現誘導の阻害は認められなかった)。

- ②Krüger ら(2008)によって、 σ フェニルフェノール(Aldrich、97%) 0.0001~100 μ M(=0.017~17,000 μ g/L)の濃度にばく露(アンドロゲン受容体アゴニスト R1881 25pM 共存下)したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-KI (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 6.3 μ M(=1,070 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。(14014)(Δ OP)

(10)ステロイド産生影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

- ①OPP EDSP Consortium (2012)によって、 σ フェニルフェノール(LANXESS 99.9%) 0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10、100 μ M(=0.017、0.17、1.7、17、170、1,700、17,000 μ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響が検討されている。その結果として、10 μ M(=1,700 μ g/L)以上の濃度区でエストラジオール産生量の高値、10 μ M(=1,700 μ g/L)の濃度区でテストステロン産生量の高値(100 μ M 区では低値)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。(USEPA MRID 48672601)($\bigcirc$ 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、テストステロン産生促進および阻害

EDSP では、エストラジオール産生量の濃度依存的増加が認められるとの判断を示している。

(11)アロマターゼ活性への作用(今回評価対象とする EDSP 試験)

- ①OPP EDSP Consortium (2012)によって、 σ フェニルフェノール(LANXESS 99.9%) 0.0001~1,000 μ M(=0.0170~170,000 μ g/L)の濃度でアロマターゼ(CYP19)酵素活性(標識 17 β アンドロステンジオンを基質とする)への作用が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 107 μ M(=18,190 μ g/L、原記載値は log IC₅₀ -3.97M)の濃度で結合阻害が認められた。(USEPA MRID 48672608)($\bigcirc$ OP)

想定される作用メカニズム：アロマターゼ活性阻害

EDSP では、濃度依存的な阻害が認められるとの判断を示している。

2. 総合的判断(案)

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

試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用又はアンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、ステロイド産生影響、アロマターゼ活性阻害を示すことが示唆された。

参考文献

- 14384: John JA, Murray FJ, Rao KS and Schwetz BA (1981) Teratological evaluation of orthophenylphenol in rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1 (3), 282-285.
- 843: Petit F, Le Goff P, Cravedi JP, Valotaire Y and Pakdel F (1997) Two complementary bioassays for screening the estrogenic potency of xenobiotics: Recombinant yeast for trout estrogen receptor and trout hepatocyte cultures. *Journal of Molecular Endocrinology*, 19 (3), 321-335.
- 363: Routledge EJ and Sumpter JP (1997) Structural Features of Alkylphenolic Chemicals Associated with Estrogenic Activity. *Journal of Biological Chemistry*, 272 (6) 3280-3288.
- 12546: Manabe M, Kanda S, Fukunaga K, Tsubura A and Nishiyama T (2006) Evaluation of the estrogenic activities of some pesticides and their combinations using MtT/Se cell proliferation assay. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 209 (5), 413-421.
- 12552: Kojima M, Fukunaga K, Sasaki M, Nakamura M, Tsuji M and Nishiyama T (2005) Evaluation of estrogenic activities of pesticides using an *in vitro* reporter gene assay. *International Journal of Environmental Health Research*, 15 (4), 271-280.
- 873: Rehmann K, Schramm KW and Kettrup AA (1999) Applicability of a yeast oestrogen screen for the detection of oestrogen-like activities in environmental samples. *Chemosphere*, 38 (14), 3303-3312.
- 14411: Blair RM, Fang H, Branham WS, Hass BS, Dial SL, Moland CL, Tong W, Shi L, Perkins R and Sheehan DM (2000) The estrogen receptor relative binding affinities of 188 natural and xenochemicals: structural diversity of ligands. *Toxicological Sciences*, 54, 138-153.
- 14413: Orton F, Rosivatz E, Scholze M and Kortenkamp A (2011) Widely used pesticides with previously unknown endocrine activity revealed as *in vitro* antiandrogens. *Environmental Health Perspectives*, 119 (6), 794-800.
- 14014: Krüger T, Long M and Bonefeld-Jorgensen EC (2008) Plastic components affect the activation of the aryl hydrocarbon and the androgen receptor. *Toxicology*, 246 (2-3), 112-123.

下記出典は未公開報告書であるが、米国環境保護庁の EDSP による物質ごとの評価書において引用されており、その内容が以下の website にて公開されている。

United States Environmental Protection Agency, Endocrine Disruptor Screening Program Tier 1 Screening Determinations and Associated Data Evaluation Records
(<https://www.epa.gov/endocrine-disruption/endocrine-disruptor-screening-program-tier-1-screening-determinations-and>)

- USEPA MRID 48672606: Lehman CM, Fiting JA, Hutchinson KL, Louch DW, Malowinski NA, McFadden LG and Thomas J (2012) *Ortho*-Phenylphenol: The Fish Short-term Reproduction Assay Using the Fathead Minnow, *Pimephales promelas*. Unpublished study performed by Toxicology and Environmental Research and Consulting, Midland, Michigan. Lab Study No.: 111032. Study sponsored by OPP EDSP Consortium, Dow Chemical Company, Midland, Michigan and LANXESS Corporation, Pittsburgh, Pennsylvania. Study completed January 04, 2012.
- USEPA MRID 48916901: Lehman CM, Hutchinson K, Fiting JA and Thomas J (2011) *Ortho*-Phenylphenol: The Amphibian Metamorphosis Assay Using the African Clawed Frog, *Xenopus laevis*. Unpublished study performed by Toxicology and Environmental Research and Consulting, The Dow Chemical Company, Midland, Michigan. Laboratory report number 111018. Study sponsored by OPP EDSP Consortium, Dow Advanced Materials, The Dow Chemical Company, Midland, Michigan, and LANXESS Corporation, Materials Protection Products, Pittsburgh, Pennsylvania. Study completed October 14, 2011.
- USEPA MRID 48686602: Marty MS, Andrus AK and Sura R (2012) *Ortho*-Phenylphenol: Pubertal Development and Thyroid Function in Intact Juvenile/Peripubertal Male Crl: CD(SD) Rats. Toxicology and Environmental Research and Consulting, The Dow Chemical Company, Midland, MI. Laboratory Project Study ID No.: 111088; April 13, 2012. Unpublished.
- USEPA MRID 48672604: LeBaron MJ, Schisler MR and Visconti NR (2012) Evaluation of *ortho*-phenylphenol (OPP) in an *in vitro* estrogen receptor binding assay. Toxicology & Environmental Research and Consulting, The Dow Chemical Company, Midland, MI. Laboratory Project ID: 111120, January 4, 2012.. Unpublished.
- USEPA MRID 48672603: LeBaron MJ, Schisler MR and Visconti NR (2011) Evaluation of *ortho*-phenylphenol (OPP) in an *in vitro* androgen receptor binding assay. Toxicology & Environmental Research and Consulting, The Dow Chemical Company, Midland, MI. Laboratory Project ID: 111114, December 19, 2011. Unpublished
- USEPA MRID 48672601: LeBaron MJ, Kan HL and Perala AW (2012) Evaluation of *Ortho*-Phenylphenol (OPP) in the *In Vitro* Steroidogenesis Assay. Toxicology & Environmental Research and Consulting, Midland, MI. Laboratory Report No.: 111014, Jan 4, 2012. Unpublished.
- USEPA MRID 48672608: Coady KK and Sosinski LK (2012) Evaluation of *Ortho*-Phenylphenol in the Human Recombinant Aromatase Assay. Toxicology & Environmental Research and Consulting, The Dow Chemical Company, Midland, MI. Laboratory Project Study ID No.: 111007, January 3, 2012. Unpublished.

VI. フルトラニル

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

フルトラニルの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響及びエストロゲン作用の有無に関する報告がある。

なお、米国環境保護庁の EDSP においては、フルトラニルにつ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または抗アンドロゲン様作用を確認するためにメダカ拡張 1 世代繁殖試験 MEOGRT を実施する対象物質としている。

(1)生態影響

- ①Yang ら(2016)によって、フルトラニル(Taizhou Baili Chemical, 98.7%) 1,500、1,800、2,160、2,590、3,100 μ g/L (設定濃度)に胚期から卵稚仔期にかけて 11 日間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、1,800 μ g/L 以上のばく露区で孵化率(受精後 72 時間)の低値、2,160 μ g/L 以上のばく露区で自発運動量(受精後 24 時間)、体長(11 日後)の低値、2,590 μ g/L 以上のばく露区で孵化率(受精後 96 時間)、心拍数(受精後 48 時間)の低値が認められた。(14388)(評価結果の略号：△×)

想定される作用メカニズム：一般毒性

生態影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

- ②日本農薬株式会社(2011)によって、フルトラニル(日本農薬株式会社と思われる、98.7%) 15、130、1,100 μ g/L(測定濃度)(設定濃度 15、150、1,500 μ g/L に相当)に Nieuwkoop-Faber (NF) stage 51 から 21 日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)幼生への影響(AMA: Amphibian Metamorphosis Assay, OECD TG231)が検討されている。その結果として、15 μ g/L 以上のばく露区で到達 NF ステージ(21 日後)、後肢長(HLL: hind-limb length、21 日後)の高値、15、130 μ g/L のばく露区で体重(7、21 日後)、体長(SVL: snout-vent length、7、14 日後)の高値が認められた。また、甲状腺の肉眼的検査における異常所見(21 日後)として濃度依存的な甲状腺肥大の重篤度と頻度の高値、甲状腺の組織病理学的検査における異常所見(21 日後)として濃度依存的な甲状腺肥大の重篤度と頻度の高値が認められた。なお、死亡率(7、21 日後)、臨床的兆候、非同期発達個体率(7、21 日後)には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48616801)(△×)

想定される作用メカニズム：不明

EDSP では、溶媒対照区との比較から、認められた影響は溶媒添加によるものであるとの判断を示している。

本試験における有意差検定は全般 Negative Control 区(溶媒無添加対照区)との比較において実施しているが、エンドポイントによっては溶媒対照区(溶媒としてジメチルホルムアミド 20 μ L/L 使用)との比較も実施している点に注意を要する。更に、溶媒無添加対照区との比較において溶媒対照区においても体重、SVL、HLL に有意な高値が認められている点に注意を

要する。

- ③日本農薬株式会社(2011)によって、フルトラニル(日本農薬株式会社と思われる、98.7%) 18、180、1,200 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度 20、200、2,000 $\mu\text{g/L}$ に相当)に 21 日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(FSTRA: Fish Short-term Reproduction Assay, OECD TG229)が検討されている。その結果として、18 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌生殖腺体指数、雌生殖腺発達ステージの高値、1,200 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄結節スコア(tubercle score)、雌血漿中ビテログニン濃度の低値、雌体重、雌体長、成熟卵胞閉塞率、雄生殖腺発達ステージの高値が認められた。なお、雌雄生存率、雄体重、雄体長、雄生殖腺体指数、雄血漿中ビテログニン濃度、その他観察事項には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48616806)(△○P)

想定される作用メカニズム：抗エストロゲン作用、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

EDSP では、エストロゲン経路及びアンドロゲン経路への潜在的作用が示唆されるとの判断を示している。

本試験における有意差検定は全般 Negative Control 区(溶媒無添加対照区)との比較において実施しているが、エンドポイントによっては溶媒対照区(溶媒としてジメチルホルムアミド 20 $\mu\text{L/L}$ 使用)との比較も実施している点に注意を要する。

(2)エストロゲン作用

- ①Oh ら(2007)によって、フルトラニル(Chem Service) 0.000001、0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10、100 μM (=0.000323、0.00323、0.0323、0.323、3.23、32.3、323、3230、32300 $\mu\text{g/L}$)の濃度に最長 6 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF7 BUS (ヒトエストロゲン受容体を発現)への影響が検討されている。その結果として、100 μM (=32300 $\mu\text{g/L}$)の濃度区でエストロゲン受容体 α 蛋白質相対発現量(24 時間)の低値、細胞増殖率(6 日間)、プロゲステロン受容体 mRNA 相対発現量(48 時間)、エストロゲン応答性遺伝子 pS2 mRNA 相対発現量(48 時間)の高値が認められた。なお、細胞増殖率(6 日間)の高値は、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182,780 1 μM 共存下で影響が消失した。

また、フルトラニル(Chem Service)0.000001、0.00001、0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10、100 μM (=0.000323、0.00323、0.0323、0.323、3.23、32.3、323、3230、32300 $\mu\text{g/L}$)の濃度に最長 6 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MDA MB231 (ヒトエストロゲン受容体を非発現)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。(12831)(△○P)

2. 総合的判断(案)

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

試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、動物試験の報告において、エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用を示すことが示唆された。

参考文献

- 14388: Yang Y, Qi S, Chen J, Liu Y, Teng M, and Wang C (2016) Toxic Effects of Bromothalonil and Flutolanil on Multiple Developmental Stages in Zebrafish. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 97 (1), 91-97.
- 12831: Oh YJ, Jung YJ, Kang JW and Yoo YS (2007) Investigation of the estrogenic activities of pesticides from Pal-dang reservoir by *in vitro* assay. *Science of the Total Environment*, 388 (1-3), 8-15.

下記出典は未公開報告書であるが、米国環境保護庁の EDSP による物質ごとの評価書において引用されており、その内容が以下の website にて公開されている。

United States Environmental Protection Agency、Endocrine Disruptor Screening Program Tier 1 Screening Determinations and Associated Data Evaluation Records
(<https://www.epa.gov/endocrine-disruption/endocrine-disruptor-screening-program-tier-1-screening-determinations-and>)

USEPA MRID 48616801: Palmer SJ, Kendall TZ and Krueger HO (2011) Flutolanil: Amphibian Metamorphosis Assay for the Detection of Thyroid Active Substances. Unpublished study performed by Wildlife International, Ltd., Easton, Maryland 21601. Laboratory project number 397A-149. Study sponsored by Nihon Nohyaku Co. Ltd., Chuo-ku, Tokyo 103-8236 Japan. Study completed December 7, 2011.

USEPA MRID 48616806: Palmer SJ, Kendall TZ and Krueger HO (2011) Flutolanil: Fish Short-term Reproduction Assay with the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*). Unpublished study performed by Wildlife International, Ltd., Easton, Maryland. Lab Study No.: 397A-148. Study sponsored by Nihon Nohyaku Co. Ltd., Chuo-ku, Tokyo, Japan. Study completed December 7, 2011.

Ⅸ. ミクロブタニル

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ミクロブタニルの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、生殖影響、甲状腺影響、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用又は抗アンドロゲン作用、ステロイド産生影響及びアロマターゼ活性への作用の有無に関する報告がある。

なお、米国環境保護庁の EDSP においては、ミクロブタニルについて魚類の生殖影響(ステロイド産生影響、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)を確認するためにメダカ拡張 1 世代繁殖試験 MEOGRT を実施する対象物質としている。

(1) 生態影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

- ①Dow AgroSciences (2011)によって、ミクロブタニル(Dow AgroSciences とと思われる、93.7%) 96.4、438、2,040 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度 100、500、2,500 $\mu\text{g/L}$ に相当)に Nieuwkoop-Faber (NF) stage 51 から 21 日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)幼生への影響(AMA: Amphibian Metamorphosis Assay, OECD TG231)が検討されている。その結果として、96.4 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で後肢長(HLL: hind-limb length、21 日後)の低値、96.4、2,040 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で体重(21 日後)、体長(SVL: snout-vent length、21 日後)の低値、438 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で体重(7 日後)、体長(SVL: snout-vent length、7 日後)の低値、2,040 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で到達 NF ステージ(7 日後)、後肢長(HLL: hind-limb length、7 日後)の低値が認められた。なお、死亡率(7、21 日後)、臨床的兆候、非同期発達個体率(7、21 日後)、甲状腺の肉眼的検査における異常所見(21 日後)、甲状腺の肉眼的又は組織病理学的検査における所見(21 日後)には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48618101)(評価結果の略号: ○?)

想定される作用メカニズム: 不明

EDSP では、甲状腺影響が認められたとは言及していない。

- ②Dow AgroSciences (2011)によって、ミクロブタニル(Dow AgroSciences とと思われる、93.7%) 33.8、327、3,300 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度 0.032、320、3,200 $\mu\text{g/L}$ に相当)に 21 日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(FSTRA: Fish Short-term Reproduction Assay, OECD TG229)が検討されている。その結果として、327 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雌生殖腺体指数の高値、327 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌血漿中テストステロン濃度の高値、3,300 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌体重、産卵数、雌血漿中ビテロゲニン濃度、雌血漿中 17 β -エストラジオール濃度の低値、雄生殖腺体指数、成熟卵胞閉塞率、雄生殖腺発達ステージの高値が認められた。なお、雌雄生存率、雄結節スコア(tubercle score)、雄体重、雄血漿中ビテロゲニン濃度、雄血漿中テストステロン濃度、雄血漿中 17 β -エストラジオール濃度、雌雄体長、受精率、その他観察事項には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48618106)(△?)

想定される作用メカニズム：毒性

EDSP では、エストロゲン関連エンドポイントに影響が認められ、ステロイド産生の変化に起因する可能性があるとの判断を示している。

(2)生殖影響

①Goetz ら(2007)によって、ミクロブタニル(Bayer CropScience 及び US Triazole Task Force) 100、500、2,000ppm (餌中濃度)を妊娠 6 日目から出産、哺育終了まで混餌投与し、更に雄仔動物については 23 日齢での離乳後から混餌投与を継続した Wistar/Han ラットへの影響(主に 1、22、50、92 日齢雄仔動物)が検討されている。その結果として、100ppm 以上のばく露群で精巣絶対重量(1 日齢)の高値*、500ppm 以上のばく露群で下垂体絶対及び相対重量(92 日齢)の低値、精巣絶対重量(22 日齢)の高値**、500ppm のばく露群で前立腺絶対及び相対重量(92 日齢)の高値、2,000ppm のばく露群で生存率(0 日齢と思われる)、体重(0～92 日齢)の低値、精巣相対重量(50 日齢)***、血清中テストステロン濃度(92、99 日齢)、肛門生殖突起間距離(AGD、0 日齢)、肝臓相対重量(1、50、92 日齢)、肝臓絶対重量(1 日齢)、肝臓での病理的所見発生率(50、92 日齢)の高値が認められた。なお、包皮分離日、精巣上体絶対及び相対重量(92 日齢)、精囊絶対及び相対重量(92 日齢)、脳相対重量(1、22、50、92 日齢)には影響は認められなかった。

また、上記の通りばく露した Wistar/Han ラット雄仔動物について、非ばく露雌との交配試験(118～120 日齢から)が検討されている。その結果として、500ppm 以上のばく露群で妊娠率、出産率の低値、2,000ppm のばく露群で受精率の低値が認められた。なお、着床後胚消失率、形態が正常な精子率、精子運動速度には影響は認められなかった。(13760)(△○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

*500ppm 以上のばく露群で精巣相対重量(1 日齢)の高値

**2,000ppm のばく露群で精巣絶対重量(22 日齢)の高値

***精巣絶対重量(50 日齢)には影響は認められなかった

②Rockett ら(2006)によって、ミクロブタニル(Bayer CropScience 及び US Triazole Task Force) 100、500、2,000ppm (餌中濃度)を妊娠 6 日目から出産、哺育終了まで混餌投与し、更に雌仔動物については 22 日齢で離乳後から混餌投与を継続した Wistar/Han ラットへの影響(主に 99 日齢雌仔動物)が検討されている。その結果として、2,000ppm のばく露群で肛門生殖突起間距離(AGD、0 日齢)、両卵巢相対重量(99 日齢)の高値、膣開口日の遅延が認められた。なお、体重(99 日齢)、肝臓相対重量(99 日齢)、遅延又は不規則発情周期発生率(1～2、5～6、9～10 週齢)、肝臓での病理的所見発生率(99 日齢)には影響は認められなかった。(13761)(△○P)

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

③Tully ら(2006)によって、ミクロブタニル(LKT Laboratories、99.9%) 10、75、150mg/kg/day を 60 日齢から 14 日間経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果とし

て、75mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓相対重量の高値、肝臓での病理的所見、150mg/kg/day のばく露群で血清中テストステロン濃度の高値が認められた。なお、体重、脾臓相対重量、副腎相対重量、左精巣相対重量、左精巣上体相対重量、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中エストラジオール濃度には影響は認められなかった。

また、ミクロブタニル(LKT Laboratories、99.9%) 150mg/kg/day を 60 日齢から 14 日間経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、運動精子率の低値、精巣中 mRNA 相対発現量の変動(*Hsd3b* の低値、*Adh I*、*Timp2* の高値)、肝臓中 mRNA 相対発現量の変動(*Hsd3b*、*Hspa5* の低値、*Gstm3*、*Udpgr2* の高値)が認められた。なお、形態異常精子率には影響は認められなかった。(13762)(○●P)

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

④Goetz と Dix (2009)によって、ミクロブタニル(Bayer CropScience 及び US Triazole Task Force) 300mg/kg を 10 週齢に単回経口投与した雄 SD ラットへの影響(24 時間後)が検討されている。その結果として、血清中テストステロン濃度の高値が認められた。

また、ミクロブタニル(Bayer CropScience 及び US Triazole Task Force) 300mg/kg を 10 週齢に単回経口投与した雄 SD ラットへの影響(6 時間後)が検討されているが、血清中テストステロン濃度には影響は認められなかった。

また、ミクロブタニル(Bayer CropScience 及び US Triazole Task Force) 300mg/kg/day を 10 週齢から 14 日間経口投与した雄 SD ラットへの影響(最終投与 24 時間後)が検討されているが、血清中テストステロン濃度の高値が認められた。(14415)(△○P)

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

(3)生殖及び甲状腺影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

①Dow AgroSciences (2011)によって、ミクロブタニル(Dow AgroSciences、93.7%) 50、200、400mg/kg/day を 23 日齢から 53 日齢まで経口投与した雄 SD ラットへの影響(Male Pubertal Assay、最終投与 2 時間後に剖検)が検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上のばく露群で下垂体絶対及び補正重量の低値、肝臓相対重量の高値、200mg/kg/day 以上のばく露群で精嚢＋凝固腺絶対及び補正重量(内容液重量を含む)、精嚢＋凝固腺絶対及び補正重量(内容液重量は含まず)、前立腺腹葉絶対及び補正重量、血清中テストステロン濃度の低値、肝臓の組織病理学的検査における異常所見発生率の高値、400mg/kg/day のばく露群で前立腺背側葉絶対及び補正重量、肛門挙筋＋球海綿体筋絶対重量の低値、副腎相対重量の高値、包皮分離開始日の遅延、甲状腺の組織病理学的検査における異常所見発生率が認められた。なお、臨床的兆候、体重、増加体重、腎臓絶対及び補正重量、左右精巣絶対及び補正重量、左右精巣上体絶対及び補正重量、甲状腺絶対及び補正重量、血清中総サイロキシニン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、精巣・精巣上体・腎臓の組織病理学的検査における異常所見発

生率には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48618109)(〇〇P)

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

EDSP では、認められたアンドロゲン関連影響は、肝臓の重量低下や萎縮が起きる投与量においても認められているとの判断を示している。

(4)甲状腺影響

①Wolf ら(2006)によって、ミクロブタニル(Bayer Crop-Sciences、95.8%) 5.3±0.8、26.2±4.6、103.4±17.9mg/kg/day (餌中濃度 100、500、2,000ppm に相当)を7週齢から4日間混餌投与した雄 Wistar/Han ラットへの影響が検討されている。その結果として、26.2mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓ミクロソーム PROD 比活性の高値、103.4mg/kg/day のばく露群で血清中サイロキシン濃度の低値、肝臓ミクロソーム EROD 比活性、肝臓での病理学的所見発生率、肝臓細胞増殖率(103.4mg/kg/day 群のみ試験)、肝臓中ウリジン二りん酸グルクロニルトランスフェラーゼ(UDPGT)比活性(103.4mg/kg/day 群のみ試験)、血清中コレステロール濃度(103.4mg/kg/day 群のみ試験)の高値が認められた。なお、増加体重、肝臓絶対及び相対重量、肝臓ミクロソーム MROD 比活性、血清中トリヨードサイロニン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、甲状腺細胞増殖率、血清中トリグリセリド濃度、血清中高比重リポ蛋白質濃度には影響は認められなかった。

また、ミクロブタニル(Bayer Crop-Sciences、95.8%) 5.3±0.8、26.2±4.6、103.4±17.9mg/kg/day (餌中濃度 100、500、2,000ppm に相当)を7週齢から30日間混餌投与した雄 Wistar/Han ラットへの影響が検討されている。その結果として、26.2mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓ミクロソーム EROD 比活性、肝臓ミクロソーム PROD 比活性の高値、103.4mg/kg/day のばく露群で血清中トリヨードサイロニン濃度(103.4mg/kg/day 群のみ試験)の低値、肝臓での病理学的所見発生率、肝臓細胞増殖率(103.4mg/kg/day 群のみ試験)、肝臓中ウリジン二りん酸グルクロニルトランスフェラーゼ(UDPGT)比活性(103.4mg/kg/day 群のみ試験)の高値が認められた。なお、増加体重、肝臓絶対及び相対重量、肝臓ミクロソーム MROD 比活性、血清中サイロキシン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、甲状腺細胞増殖率、血清中コレステロール濃度、血清中トリグリセリド濃度、血清中高比重リポ蛋白質濃度には影響は認められなかった。

また、ミクロブタニル(Bayer Crop-Sciences、95.8%) 5.3±0.8、26.2±4.6、103.4±17.9mg/kg/day (餌中濃度 100、500、2,000ppm に相当)を7週齢から90日間混餌投与した雄 Wistar/Han ラットへの影響が検討されている。その結果として、26.2mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓ミクロソーム EROD 比活性、肝臓ミクロソーム PROD 比活性の高値、103.4mg/kg/day のばく露群で肝臓中ウリジン二りん酸グルクロニルトランスフェラーゼ(UDPGT)比活性(103.4mg/kg/day 群のみ試験)の高値が認められた。なお、増加体重、肝臓絶対及び相対重量、肝臓での病理学的所見発生率、肝臓ミクロソーム MROD 比活性、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、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、肝臓細胞増殖率、甲状腺細胞増殖率、血清中コレステロール濃度、血清中トリグリセリド濃度、

血清中高比重リポ蛋白質濃度には影響は認められなかった。(13758)(△○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、甲状腺ホルモン代謝促進作用

②Martin ら(2007)によって、ミクロブタニル(Dow AgroSciences、95.8%) 300mg/kg/day を 11 週齢から 5 日間経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、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、肝臓中 *Dio3* mRNA 相対発現量の低値、肝臓中 *Cyp3a3* mRNA 相対発現量、肝臓中 *Nqo1* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、血清中コレステロール濃度、血清中テストステロン濃度、血清中総トリヨードサイロニン濃度、肝臓中 *Cpt1a* mRNA 相対発現量、肝臓中 *Serpina1* mRNA 相対発現量、肝臓中 *Cyp4a14* mRNA 相対発現量、肝臓中 *Cyp2b3* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、ミクロブタニル(Dow AgroSciences、95.8%) 300mg/kg/day を 11 週齢から 3 日間経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、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、肝臓中 *Cyp2b3* mRNA 相対発現量の低値、肝臓中 *Cyp3a3* mRNA 相対発現量、肝臓中 *Dio3* mRNA 相対発現量、肝臓中 *Nqo1* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、血清中コレステロール濃度、血清中テストステロン濃度、肝臓中 *Cpt1a* mRNA 相対発現量、肝臓中 *Serpina1* mRNA 相対発現量、肝臓中 *Cyp4a14* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、ミクロブタニル(Dow AgroSciences、95.8%) 300mg/kg を 11 週齢にて単回経口投与した雄 SD ラットへの影響(24 時間後に試験)が検討されている。その結果として、肝臓中 *Dio3* mRNA 相対発現量の低値、血清中テストステロン濃度、肝臓中 *Cyp4a14* mRNA 相対発現量、肝臓中 *Nqo1* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、血清中コレステロール濃度、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、肝臓中 *Cpt1a* mRNA 相対発現量、肝臓中 *Serpina1* mRNA 相対発現量、肝臓中 *Cyp2b3* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(12021)(△○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、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、PXR 活性促進作用

※備考：mRNA 相対発現量の測定は、定量的 PCR 及びマイクロアレイによる。

(5)エストロゲン作用

①Okubo ら(2004)によって、ミクロブタニル(Dr.Ehrenstorfer GmbH) 1 ~100μM(=289 ~28,900μg/L)の濃度に 6 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験(E-screen assay)が検討されているが、細胞増殖誘導は認められなかった。(12393)(△○N)

(6)抗エストロゲン作用

①Okubo ら(2004)によって、ミクロブタニル(Dr.Ehrenstorfer GmbH) 1 ~100μM(=289 ~28,900μg/L)の濃度に 6 日間ばく露(17β-エストラジオール 30pM 共存下)したヒト乳がん細胞

MCF-7 による細胞増殖試験(E-screen assay)が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 10 μ M(=2,890 μ g/L)付近の濃度で細胞増殖誘導の阻害が認められた。

また、ミクロブタニルについてエストロゲン受容体 α (Toyobo 製)による 17 β -エストラジオールに対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 203 $\pm$ 3 μ M(=58,600 μ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。(12393)(Δ OP)

(7)アンドロゲン作用又は抗アンドロゲン作用

- ①Okubo ら(2004)によって、ミクロブタニル(Dr.Ehrenstorfer GmbH)についてアンドロゲン受容体(Toyobo 製)によるミボレロンに対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 115 $\pm$ 8 μ M(=33,200 μ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。(12393)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：アンドロゲン作用である可能性もあり。

アンドロゲン作用又は抗アンドロゲン作用(今回評価対象とする EDSP 試験)

- ②Dow AgroSciences (2011)によって、ミクロブタニル(Chemtura Canada、93.7%) 0.0001～1,000 μ M(=0.0289～289,000 μ g/L)の濃度でアンドロゲン受容体(SD ラット前立腺腹葉サイトゾル)による標識 R1881(アンドロゲンアゴニスト) 1 nM に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 316 μ M(=91,300 μ g/L、原記載値は log IC₅₀ - 3.5M)の濃度で結合阻害が認められた。(USEPA MRID 48618102)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用

EDSP では結合が確認されたが親和性は弱いとの判断を示している。

(8)ステロイド産生影響

- ①Prutner ら(2013)によって、ミクロブタニル(Dr. Ehrenstorfer、97.5～99.5%) 0.01、0.1、1、3、10、30、100 μ M(=2.89、28.9、289、866、2,890、8,660、28,900 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト副腎皮質がん細胞 H295R への影響が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 1 μ M(=289 μ g/L)付近の濃度で、エストロン産生量の低値が認められた*。(14099)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：エストロン産生阻害

*ただし、原著グラフからの読取値であり、対象区との有意差検定については示されていない。

- ②Goetz ら(2009)によって、ミクロブタニル(LKT Laboratories、95%) 1、10、100 μ M(=289、2,890、28,900 μ g/L)の濃度に 2.5 時間ばく露(ヒト絨毛性精神刺激ホルモン 100mU/mL 共存下)した 90～100 日齢成熟雄 SD ラット由来精巣組織への影響が検討されている。その結果として、1 μ M(=289 μ g/L)以上の濃度区でプロゲステロン産生量の高値、10 μ M(=2,890 μ g/L)以上の濃度区で 17 α -ヒドロキシプロゲステロン産生量の高値、100 μ M(=28,900 μ g/L)の濃度区でテストステロン産生量、アンドロステンジオン産生量の低値が認められた。

また、ミクロブタニル(LKT Laboratories、95%) 1、10、100 μ M(=289、2,890、28,900 μ g/L)

の濃度に 2.5 時間ばく露(ヒト絨毛性精神刺激ホルモン 100mU/mL 共存下)した 1 日齢新生仔雄 SD ラット由来精巣組織への影響が検討されている。その結果として、10 μ M(=2,890 μ g/L)以上の濃度区でプロゲステロン産生量、17 α ヒドロキシプロゲステロン産生量の高値、100 μ M(=28,900 μ g/L)の濃度区でテストステロン産生量、アンドロステンジオン産生量の低値が認められた。

また、ミクロブタニル(LKT Laboratories、95%) 1、3、10、30、100 μ M(=289、866、2,890、8,660、28,900 μ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト副腎皮質腫瘍細胞 H295R への影響が検討されている。その結果として、3 μ M(=866 μ g/L)以上の濃度区でエストラジオール産生量、プロゲステロン産生量、テストステロン産生量の濃度依存的低値が認められた*。(13756)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：テストステロン産生阻害、エストラジオール産生阻害、プロゲステロン産生阻害または促進、アンドロステンジオン産生阻害、17 α ヒドロキシプロゲステロン産生促進

*ただし、原著グラフからの読取値であり、対象区との有意差検定は一部の濃度区においてしか示されていない。

ステロイド産生影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

③Dow AgroSciences (2011)によって、ミクロブタニル(Dow AgroSciences と思われる、93.7%) 0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10、100 μ M(=0.0289、0.289、2.89、28.9、289、2,890、28,900 μ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響が検討されている。その結果として、1 μ M(=289 μ g/L)以上の濃度区でエストラジオール産生量の低値、100 μ M(=28,900 μ g/L)以上の濃度区でテストステロン産生量の低値が認められた。なお、細胞生存率には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48618110)($\circ\circ$ P)

想定される作用メカニズム：テストステロン及びエストラジオールの合成抑制作用

EDSP では、潜在的エストラジオール産生抑制との判断を示している。

(9)アロマターゼ活性への作用(今回評価対象とする EDSP 試験)

①Dow AgroSciences (2011)によって、ミクロブタニル(Dow AgroSciences と思われる、93.7%) 0.0001～1,000 μ M(=0.0289～289,000 μ g/L)の濃度でアロマターゼ(CYP19)酵素活性(標識 17 β アンドロステンジオンを基質とする)への作用が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 0.251 μ M(=72.4 μ g/L、記載値は log IC₅₀ -6.6M)の濃度で酵素活性阻害が認められた。(USEPA MRID 48618103)(Δ OP)

想定される作用メカニズム：アロマターゼ活性阻害作用

EDSP では、潜在的エストラジオール産生抑制との判断を示している。

2. 総合的判断(案)

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

試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、動物試験の報告において、抗アンドロゲン様作用、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、甲状腺ホルモン代謝促進作用、PXR 活性促進作用を示すこと、試験管内試験の報告において、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用(アンドロゲン作用である可能性もある)、ステロイド産生影響、アロマターゼ活性阻害作用を示すことが示唆された。

参考文献

- 13760: Goetz AK, Ren H, Schmid JE, Blystone CR, Thillainadarajah I, Best DS, Nichols HP, Strader LF, Wolf DC, Narotsky MG, Rockett JC and Dix DJ (2007) Disruption of testosterone homeostasis as a mode of action for the reproductive toxicity of triazole fungicides in the male rat. *Toxicological Sciences*, 95 (1), 227-239.
- 13761: Rockett JC, Narotsky MG, Thompson KE, Thillainadarajah I, Blystone CR, Goetz AK, Ren H, Best DS, Murrell RN, Nichols HP, Schmid JE, Wolf DC and Dix DJ (2006) Effect of conazole fungicides on reproductive development in the female rat. *Reproductive Toxicology*, 22 (4), 647-658.
- 13762: Tully DB, Bao W, Goetz AK, Blystone CR, Ren H, Schmid JE, Strader LF, Wood CR, Best DS, Narotsky MG, Wolf DC, Rockett JC and Dix DJ (2006) Gene expression profiling in liver and testis of rats to characterize the toxicity of triazole fungicides. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 215 (3), 260-273.
- 14415: Goetz AK and Dix DJ (2009) Toxicogenomic Effects Common to Triazole Antifungals and Conserved Between Rats and Humans. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238 (1), 80-89.
- 13758: Wolf DC, Allen JW, George MH, Hester SD, Sun G, Moore T, Thai SF, Delker D, Winkfield E, Leavitt S, Nelson G, Roop BC, Jones C, Thibodeaux J and Nesnow S (2006) Toxicity profiles in rats treated with tumorigenic and nontumorigenic triazole conazole fungicides: Propiconazole, triadimefon, and myclobutanil. *Toxicologic Pathology*, 34 (7), 895-902.
- 12021: Martin MT, Brennan RJ, Hu W, Ayanoglu E, Lau C, Ren H, Wood CR, Corton JC, Kavlock RJ and Dix DJ (2007) Toxicogenomic study of triazole fungicides and perfluoroalkyl acids in rat livers predicts toxicity and categorizes chemicals based on mechanisms of toxicity. *Toxicological Sciences*, 97 (2), 595-613.
- 12393: Okubo T, Yokoyama Y, Kano K, Soya Y and Kano I (2004) Estimation of estrogenic and antiestrogenic activities of selected pesticides by MCF-7 cell proliferation assay. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 46 (4), 445-453.
- 14099: Prutner W, Nicken P, Haunhorst E, Hamscher G and Steinberg P (2013) Effects of single pesticides and binary pesticide mixtures on estrone production in H295R cells. *Archives of Toxicology*, 87 (12), 2201-2214.
- 13756: Goetz AK, Rockett JC, Ren H, Thillainadarajah I and Dix DJ (2009) Inhibition of rat and human steroidogenesis by triazole antifungals. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 55 (5-6), 214-226.

下記出典は未公開報告書であるが、米国環境保護庁の EDSP による物質ごとの評価書において引用されており、その内容が以下の website にて公開されている。

United States Environmental Protection Agency、Endocrine Disruptor Screening Program Tier 1 Screening Determinations and Associated Data Evaluation Records

(<https://www.epa.gov/endocrine-disruption/endocrine-disruptor-screening-program-tier-1-screening-determinations-and>)

- USEPA MRID 48618101: Coady KK, Hutchinson KL, Marino TA, Malowinski NA and Sura R (2011) Myclobutanil: The Amphibian Metamorphosis Assay Using The African Clawed Frog (*Xenopus laevis*). Unpublished study performed by The Dow Chemical Company, Midland, Michigan 48674. Laboratory project study ID 101124. Study sponsored by Dow AgroSciences LLC, Indianapolis, Indiana 46268. Study completed October 17, 2011.
- USEPA MRID 48618106: Coady KK, Louch DW, Malowinski NA, Marino TA, McFadden LG, Perala AW, Sosinski LK and Sura R (2011) Myclobutanil – The Fish Short-term Reproduction Assay with the Fathead Minnow, *Pimephales promelas*, Performed by Toxicology & Environmental Research and Consulting, Midland, Michigan, Submitted by Dow Chemical Company. Project ID 111020, December 14, 2011.
- USEPA MRID 48618109: Marty MS, Andrus AK and Stebbins KE (2011) Myclobutanil: Pubertal Development and Thyroid Function in Intact Juvenile/Peripubertal Male Crl:CD(SD) Rats. Toxicology & Environmental Research and Consulting, The Dow Chemical Co., Midland, MI. Laboratory Study ID 111090, December 12, 2011. Unpublished.
- USEPA MRID 48618102: LeBaron MJ, Schisler MR and Visconti NR (2011) Evaluation of myclobutanil in an *in vitro* androgen receptor binding assay. Toxicology & Environmental Research and Consulting, The Dow Chemical Company, Midland, MI. Laboratory Study No.: 111113, December 5, 2011. Unpublished.
- USEPA MRID 48618110: LeBaron MJ, Kan HL and Perala AW (2011) Evaluation of myclobutanil in the *in vitro* steroidogenesis assay. Toxicology & Environmental Research and Consulting, The Dow Chemical Company, Midland, MI. Laboratory Study No.: 101192, December 5, 2011. Unpublished.
- USEPA MRID 48618103: Coady KK and Sosinski LK (2011) Myclobutanil: evaluation of myclobutanil in the human recombinant aromatase assay. Toxicology & Environmental Research and Consulting, The Dow Chemical Company, Midland, MI. Laboratory Project Study ID 111015, November 28, 2011. Unpublished.

X. メタラキシル

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

メタラキシルの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響の有無に関する報告がある。

なお、米国環境保護庁の EDSP においては、メタラキシルにつ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を確認するためにメダカ拡張 1 世代繁殖試験 MEOGRT を実施する対象物質としている。

(1) 生態影響

①Chen と Liu (2008)によって、メタラキシル(Zhejiang Heben Pesticide and Chemicals, China、98.0%、*R*-体) 10、100、1,000、2,000、5,000µg/L (設定濃度)に 24 時間未満齢から 14 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、1,000µg/L 以上のばく露区で出産回数、総出産仔数、体長の低値、初出産までの所要日数の遅延が認められた。

また、メタラキシル(Zhejiang Heben Pesticide and Chemicals, China、98.0%、ラセミ体) 10、100、1,000、2,000、5,000µg/L (設定濃度)に 24 時間未満齢から 14 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、1,000µg/L 以上のばく露区で出産回数の低値、2,000µg/L 以上のばく露区で、総出産仔数、体長の低値、初出産までの所要日数の遅延が認められた。(13278)(評価結果の略号：△?)

想定される作用メカニズム：毒性

②Zhang ら(2016)によって、メタラキシル(Zhejiang Yifan Bio-Technology Group, China、95%、*R*-体) 100,000、200,000µg/L (設定濃度。300,000、400,000、500,000、600,000µg/L 区も実施しているが高死亡率)に受精 6 時間後から受精 96 時間後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、100,000µg/L 以上のばく露区で *cyp19a* mRNA 相対発現量、甲状腺ペルオキシダーゼ *tpo* mRNA 相対発現量の低値、死亡率の高値、200,000µg/L のばく露区でビテロゲニン *vtg 1* mRNA 相対発現量、*cyp19b* mRNA 相対発現量、デヨージナーゼ *dio1* mRNA 相対発現量の低値、奇形率、心嚢浮腫発生率、デヨージナーゼ *dio2* mRNA 相対発現量、ナトリウム及びヨードシンポータ *nis* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、孵化率、卵黄浮腫発生率、ビテロゲニン *vtg 2* mRNA 相対発現量、*cyp17* mRNA 相対発現量、サイログロブリン *tg* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、メタラキシル(Zhejiang Yifan Bio-Technology Group, China、95%、ラセミ体) 100,000、200,000µg/L (設定濃度。300,000、400,000、500,000、600,000µg/L 区も実施しているが高死亡率)に受精 6 時間後から受精 96 時間後までばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響が検討されている。その結果として、200,000µg/L のばく露区で奇形率、心嚢浮腫発生率、デヨージナーゼ *dio2* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、死亡率、孵化率、卵黄浮腫発生率、ビテロゲニン *vtg 1* mRNA 相対発現量、ビテロゲニン *vtg 2* mRNA

相対発現量、*cyp17* mRNA 相対発現量、*cyp19a* mRNA 相対発現量、*cyp19b* mRNA 相対発現量、デヨージナーゼ *dio1* mRNA 相対発現量、ナトリウム及びヨードシンポータ *nis* mRNA 相対発現量、サイログロブリン *tg* mRNA 相対発現量、甲状腺ペルオキシダーゼ *tpo* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14406)(△×)

想定される作用メカニズム：発生毒性

生態影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

③Metalaxyl EDSP Consortium (2012)によって、メタラキシル(Metalaxyl EDSP Consortium と思われる、100.4%) 1,100、10,000、104,000µg/L(測定濃度)(設定濃度 1,000、10,000、100,000µg/L に相当)に 21 日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(FSTRA: Fish Short-term Reproduction Assay, OECD TG229)が検討されている。その結果として、1,100µg/L 以上のばく露区で雄体重の低値、104,000µg/L のばく露区で産卵数、雌生殖腺体指数、雌血漿中ビテロゲニン濃度、雄結節スコア(tubercle score)の低値が認められた。なお、雌雄生存率、雌雄体長、雌雄生殖腺発達ステージ、雌体重、雄生殖腺体指数、雄血漿中ビテロゲニン濃度、受精率、成熟卵胞閉塞率、その他観察事項には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48685802)(△○P)

想定される作用メカニズム：抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用(ステロイド産生阻害)
EDSP では、生殖腺軸への潜在的影響が示唆されるとの判断を示している。

④Metalaxyl EDSP Consortium (2012)によって、メタラキシル(Metalaxyl EDSP Consortium と思われる、98.2%) 980、10,000、95,000µg/L(測定濃度)(設定濃度 1,000、10,000、100,000µg/L に相当)に Nieuwkoop-Faber (NF) stage 51 から 21 日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)幼生への影響(AMA: Amphibian Metamorphosis Assay, OECD TG231)が検討されている。その結果として、95,000µg/L のばく露区で後肢長(HLL: hind-limb length、7、21 日後)、体重(7、21 日後)の低値、体長(SVL: snout-vent length、21 日後)の高値が認められた。なお、死亡率(7、21 日後)、到達 NF ステージ(7、21 日後)、臨床的兆候、非同期発達個体率(7、21 日後)、甲状腺の肉眼的又は組織病理学的検査における所見(21 日後)には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48685801)(○×)

想定される作用メカニズム：一般毒性

EDSP では、甲状腺影響は認められないとの判断を示している。

2. 総合的判断(案)

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

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

参考文献

- 13278: Chen S and Liu W (2008) Toxicity of chiral pesticide *Rac*-metalaxyl and *R*-metalaxyl to *Daphnia magna*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 81 (6), 531-534.
- 14406: Zhang Y, Zhang Y, Chen A, Zhang W, Chen H and Zhang Q (2016) Enantioselectivity in Developmental Toxicity of *rac*-metalaxyl and *R*-metalaxyl in Zebrafish (*Danio rerio*) Embryo. Chirality, 28 (6), 489-494.

下記出典は未公開報告書であるが、米国環境保護庁の EDSP による物質ごとの評価書において引用されており、その内容が以下の website にて公開されている。

United States Environmental Protection Agency、Endocrine Disruptor Screening Program Tier 1 Screening Determinations and Associated Data Evaluation Records
(<https://www.epa.gov/endocrine-disruption/endocrine-disruptor-screening-program-tier-1-screening-determinations-and>)

USEPA MRID 48685802: York DO (2012) Metalaxyl - Short-term Reproduction Assay with the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*). Performed by Smithers Viscient, Wareham, Massachusetts, Laboratory Project No. 13694.6143. Submitted by Metalaxyl EDSP Consortium, Burr Ridge, Illinois. Completion date March 2, 2012.

USEPA MRID 48701301: Carlson MB (2012) A Pubertal Development and Thyroid Function Study of Metalaxyl by Oral Gavage in Peripubertal Male and Female Rats. Charles River Laboratories Preclinical Services, Pennsylvania; Horsham, PA. Laboratory Study No.: 20012408, July 17, 2012. Unpublished.

USEPA MRID 48617607: Willoughby JA (2011) Metalaxyl: Estrogen Receptor Binding (Rat Uterine Cytosol). CeeTox, Inc., Kalamazoo, MI. Laboratory Study No.: 9143V-100326ERB, December 8, 2011. Unpublished.

USEPA MRID 48843501: Willoughby JA (2012) Supplemental Information - Laboratory Proficiency Data for ER TA assays and Saturation Binding Data for AR and ER Binding Assays for Assorted Chemicals. CeeTox, Inc., Kalamazoo, MI. July 19 2012. Unpublished.

資料 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
の実施結果について(平成 30 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 5 物質について平成 30 年度に信頼性評価を実施した(表 2 参照)。

表 2 平成 30 年度に信頼性評価の対象とする 9 物質

名称	主な用途	選定根拠となった調査区分の記号†
今回報告		
<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
信頼性評価を実施中		
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

なお、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臭化メチル（別名：ブロモメタン）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. 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)の結果について

平成 30 年度に信頼性評価を実施した 5 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。

2. 平成 30 年度に実施した 5 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 4 物質

* *p*-ニトロフェノール：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、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用を示すことが示唆された。

* セルトラリン：動物試験の報告において、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、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、インスリン分泌への影響、視床下部一下垂体(後葉)への作用、副腎髄質に対する作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、エストラジオール産生促進作用、プロゲステロン産生阻害作用、テストステロン産生阻害作用、インスリンによる血糖調節機序のかく乱作用、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、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、視床下部一下垂体—副腎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 1 物質

(別添)

1. *p*-ニトロフェノール

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

p-ニトロフェノール(別名：4-ニトロフェノール)内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、生殖影響、エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、精巣細胞への影響、卵巣組織への影響及び肝臓細胞への影響の有無に関する報告がある。

(1)生態影響

③Ahmed ら(2015a)によって、4-ニトロフェノール 0.01、0.1、1 mg/kg/day を4週齢以上から45日間経口投与した雄ニホンウズラ(*Coturnix japonica*)への影響が検討されている。その結果として、0.01mg/kg/day 以上のばく露群で血漿中コルチコステロン濃度の高値が認められた。

また、4-ニトロフェノール 0.01、0.1、1 mg/kg/day を4週齢以上から60日間経口投与した雄ニホンウズラ(*C. japonica*)への影響が検討されている。その結果として、0.1mg/kg/day 以上のばく露群で血漿中コルチコステロン濃度、肝臓中 *CYP1B1* mRNA 相対発現量、肝臓中芳香族炭化水素受容体 *AhR1* mRNA 相対発現量、肝臓中ヘムオキシゲナーゼ *HO1* mRNA 相対発現量の高値、1 mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓中 *CYP1A4* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、肝臓中 *CYP1A5* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、4-ニトロフェノール 0.01、0.1、1 mg/kg/day を4週齢以上から75日間経口投与した雄ニホンウズラ(*C. japonica*)への影響が検討されている。その結果として、0.1mg/kg/day のばく露群で血漿中コルチコステロン濃度の高値が認められた。なお、肝臓中 *CYP1A4* mRNA 相対発現量、肝臓中 *CYP1A5* mRNA 相対発現量、肝臓中 *CYP1B1* mRNA 相対発現量、肝臓中芳香族炭化水素受容体 *AhR1* mRNA 相対発現量、肝臓中ヘムオキシゲナーゼ *HO1* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14552)(△?)

想定される作用メカニズム：一般毒性

④Ahmed ら(2015b)によって、*p*-ニトロフェノール 0.01、0.1、1 mg/kg/day を28日齢以上から2.5ヶ月間経口投与した雄ニホンウズラ(*Coturnix japonica*)への影響が検討されている。その結果として、0.01mg/kg/day 以上のばく露群で精巣変性スコアの高値、精巣中アポトーシス細胞数の高値、精巣中密着結合蛋白質クロードイン1の発現異常、0.1mg/kg/day 以上のばく露群でクロアカ腺(cloaca gland)面積、血漿中テストステロン濃度、血漿中黄体形成ホルモン濃度の低値が認められた。なお、下垂体中黄体形成ホルモン濃度、左右精巣重量には影響は認められなかった。(14553)(△○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、精巣毒性

(2)生殖影響

①Li ら(2009)によって、4-ニトロフェノール 0.01、0.1、1、10mg/kg/day を28日齢から14

日間皮下投与した雄 Wistar-Imamichi ラットへの影響が検討されている。その結果として、0.01mg/kg/day 以上のばく露群で血漿中黄体ホルモン濃度の低値、血漿中コルチコステロン濃度の高値、0.1mg/kg/day 以上のばく露群で血漿中卵胞刺激ホルモン濃度の低値、血漿中免疫反応性インヒビン濃度の高値、10mg/kg/day のばく露群で血漿中テストステロン濃度、血漿中プロラクチン濃度の高値が認められた。なお、体重、増加体重、肝臓絶対重量、腎臓絶対重量、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、前立腺腹葉絶対重量、精囊＋凝固腺絶対重量、肛門挙筋＋球海綿体筋絶対重量、カウパー腺絶対重量、陰茎絶対重量には影響は認められなかった。(14557)(△○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

- ②Mi ら(2013)によって、4-ニトロフェノール 2、10、50mg/kg/week を9週齢から6週間(週1回)腹腔内投与した雄 ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/week のばく露群で精細管の組織病理学的検査において重篤な損傷が認められた。

また、4-ニトロフェノール 50mg/kg/week を9週齢から6週間(週1回)腹腔内投与した雄 ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、精巣中スーパーオキシドディスムター比活性、精巣中グルタチオンペルオキシダーゼ比活性、アポトーシス関連蛋白質 Bcl-xl 発現精細管率の低値、精巣中カスパーゼ-3 比活性、精巣中生殖細胞アポトーシス率、アポトーシス関連蛋白質 Bax 発現精細管率、アポトーシス関連蛋白質 *XBP-1* m RNA 相対発現量、アポトーシス関連蛋白質 *HO-1* m RNA 相対発現量、精巣中過酸化脂質濃度、精巣中ヒドロキルラジカル産生濃度の高値が認められた。(14555)(△?)

想定される作用メカニズム：不明

- ④Zhang ら(2013)によって、4-ニトロフェノール 0.1、1、10mg/kg/day を4週齢から28日間皮下投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、10mg/kg/day のばく露群で血清中エストラジオール濃度、血清中エストラジオール/テストステロン濃度比の低値、血清中テストステロン濃度、精細管毎ライディッヒ細胞数の高値が認められた。なお、体重、増加体重、肝臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、精巣絶対及び相対重量、精巣上体絶対及び相対重量、副腎絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、精巣上体中精子濃度、精巣上体中精子形態異常率には影響は認められなかった。(14554)(○○P)

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、エストロゲン様作用

- ⑤Li ら(2017)によって、4-ニトロフェノール 200mg/kg を28日齢に単回経口投与した雄 Wistar-Imamichi ラットへの影響(投与1日後と思われる)が検討されている。その結果として、肝臓中エストロゲン受容体 α 蛋白質発現細胞率、肝臓中エストロゲン受容体 *ER α* mRNA 相対発現量、肝臓中芳香族炭化水素受容体蛋白質発現細胞率、肝臓中芳香族炭化水素受容体 *AhR* mRNA 相対発現量、肝臓中 CYP1A1 蛋白質発現細胞率、肝臓中グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ *GST* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、体重、増加体重、肝臓絶対及び相対重量、肝臓中 *CYP1A1* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、4-ニトロフェノール 200mg/kg/day を28日齢から3日間経口投与した雄 Wistar-Imamichi ラットへの影響(投与開始3日後と思われる)が検討されている。その結果

として、体重、増加体重、肝臓絶対及び相対重量の低値、肝臓中芳香族炭化水素受容体蛋白質発現細胞率の高値が認められた。なお、肝臓中芳香族炭化水素受容体 *AhR* mRNA 相対発現量、肝臓中エストロゲン受容体 α 蛋白質発現細胞率、肝臓中エストロゲン受容体 *ER α* mRNA 相対発現量、肝臓中 CYP1A1 蛋白質発現細胞率、肝臓中 *CYP1A1* mRNA 相対発現量、肝臓中グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ *GST* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、4-ニトロフェノール 200mg/kg/day を 28 日齢から 3 日間経口投与した雄 Wistar-Imamichi ラットへの影響(最終投与 6 日後)が検討されている。その結果として、肝臓中エストロゲン受容体 α 蛋白質発現細胞率、肝臓中 *CYP1A1* mRNA 相対発現量の低値、肝臓中芳香族炭化水素受容体蛋白質発現細胞率、肝臓中 CYP1A1 蛋白質発現細胞率の高値が認められた。なお、体重、増加体重、肝臓絶対及び相対重量、肝臓中エストロゲン受容体 *ER α* mRNA 相対発現量、肝臓中芳香族炭化水素受容体 *AhR* mRNA 相対発現量、肝臓中グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ *GST* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14549)(△?)

想定される作用メカニズム：毒性

⑥ Tang ら(2016)によって、4-ニトロフェノール 200mg/kg を単回経口投与した雄 Wistar-Imamichi ラットへの影響(1 日後)が検討されている。その結果として、十二指腸中エストロゲン受容体 α 蛋白質発現細胞率、十二指腸中エストロゲン受容体 *ER α* mRNA 相対発現量の低値(空腸中では有意差なし)、十二指腸及び空腸中芳香族炭化水素受容体蛋白質発現細胞率、十二指腸及び空腸中 CYP1A1 蛋白質発現細胞率の高値、空腸中 *CYP1A1* mRNA 相対発現量の高値(十二指腸中では有意差なし)が認められた。なお、体重、増加体重、肝臓相対重量、脾臓相対重量、精巣相対重量、精巣上体相対重量、腎臓相対重量、副腎相対重量、精囊相対重量、前立腺相対重量、十二指腸及び空腸中芳香族炭化水素受容体 *AhR* mRNA 相対発現量、十二指腸及び空腸中グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ *GST* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、4-ニトロフェノール 200mg/kg/day を 3 日間経口投与した雄 Wistar-Imamichi ラットへの影響(最終投与 1 日後と思われる)が検討されている。その結果として、体重、増加体重、肝臓相対重量の低値、十二指腸中エストロゲン受容体 α 蛋白質発現細胞率、十二指腸中エストロゲン受容体 *ER α* mRNA 相対発現量の低値(空腸中では有意差なし)、腎臓相対重量、副腎相対重量、十二指腸及び空腸中芳香族炭化水素受容体蛋白質発現細胞率、十二指腸及び空腸中グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ *GST* mRNA 相対発現量の高値、十二指腸中芳香族炭化水素受容体 *AhR* mRNA 相対発現量、十二指腸中 CYP1A1 蛋白質発現細胞率、十二指腸中 *CYP1A1* mRNA 相対発現量の高値(空腸中では有意差なし)が認められた。なお、脾臓相対重量、精巣相対重量、精巣上体相対重量、精囊相対重量、前立腺相対重量には影響は認められなかった。

また、4-ニトロフェノール 200mg/kg/day を 3 日間経口投与した雄 Wistar-Imamichi ラットへの影響(最終投与 3 日後)が検討されている。その結果として、空腸中エストロゲン受容体

α 蛋白質発現細胞率、空腸中エストロゲン受容体 *ER α* mRNA 相対発現量の低値(十二指腸中では有意差なし)、十二指腸及び空腸中芳香族炭化水素受容体蛋白質発現細胞率の高値が認められた。なお、体重、増加体重、肝臓相対重量、脾臓相対重量、精巣相対重量、精巣上体相対重量、腎臓相対重量、副腎相対重量、精嚢相対重量、前立腺相対重量、十二指腸及び空腸中 CYP1A1 蛋白質発現細胞率、十二指腸及び空腸中 *CYP1A1* mRNA 相対発現量、十二指腸及び空腸中芳香族炭化水素受容体 *AhR* mRNA 相対発現量、十二指腸及び空腸中グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ *GST* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14548)(○?)

想定される作用メカニズム：毒性

⑦Zhang ら(2016)によって、4-ニトロフェノール 0.695mg/rat(=0.1M $\times$ 50 μ L/rat)を9週齢にて単回精巣内投与した雄 SD ラットへの影響(投与1日後)が検討されている。その結果として、精巣中細胞質分画中 Nrf2 (Nuclear factor erythroid 2-related factor 2)蛋白質相対発現量の低値、血清中テストステロン濃度、精巣核分画中 Nrf2 蛋白質相対発現量、精巣中カスパーゼ-3 蛋白質相対発現量、精巣中スーパーオキシドディスムターゼ蛋白質相対発現量、精巣中カタラーゼ蛋白質相対発現量、精巣中グルタチオンペルオキシダーゼ蛋白質相対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、精巣上体尾中精子濃度、形態異常精子率、精巣中過酸化脂質濃度、精巣中過酸化水素濃度、精巣中グルタチオン濃度、精巣中 *Nrf2* mRNA 相対発現量、精巣中ヘムオキシゲナーゼ *HO1* mRNA 相対発現量、精巣中 γ -グルタミルシステインシンターゼ *GCLC* mRNA 相対発現量、精巣中 NAD(P)キノン及びオキシドレダクターゼ 1 *NQO1* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、4-ニトロフェノール 0.695mg/rat(=0.1M $\times$ 50 μ L/rat)を9週齢にて単回精巣内投与した雄 SD ラットへの影響(投与3日後)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、精巣中過酸化脂質濃度、精巣中過酸化水素濃度、精巣核分画中 Nrf2 蛋白質相対発現量、精巣中カスパーゼ-3 蛋白質相対発現量、精巣中スーパーオキシドディスムターゼ蛋白質相対発現量、精巣中 γ -グルタミルシステインシンターゼ *GCLC* mRNA 相対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、精巣上体尾中精子濃度、形態異常精子率、精巣中グルタチオン濃度、精巣中カタラーゼ蛋白質相対発現量、精巣中グルタチオンペルオキシダーゼ蛋白質相対発現量、精巣細胞質分画中 Nrf2 蛋白質相対発現量、精巣中 *Nrf2* mRNA 相対発現量、精巣中ヘムオキシゲナーゼ *HO1* mRNA 相対発現量、精巣中 NAD(P)キノン及びオキシドレダクターゼ *NQO1* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、4-ニトロフェノール 0.695mg/rat(=0.1M $\times$ 50 μ L/rat)を9週齢にて単回精巣内投与した雄 SD ラットへの影響(投与7日後)が検討されている。その結果として、精巣中グルタチオン濃度、形態異常精子率、精巣核分画中 Nrf2 蛋白質相対発現量、精巣中カスパーゼ-3 蛋白質相対発現量、精巣中 *Nrf2* mRNA 相対発現量、精巣中ヘムオキシゲナーゼ *HO1* mRNA 相対発現量が認められた。なお、体重、精巣絶対及び相対重量、精巣上体尾中精子濃度、血清中テストステロン濃度、精巣中過酸化脂質濃度、精巣中過酸化水素濃度、精巣中スーパー

オキシドデヒドロゲナーゼ蛋白質相対発現量、精巣中カタラーゼ蛋白質相対発現量、精巣中グルタチオンペルオキシダーゼ蛋白質相対発現量、精巣細胞質分画中 Nrf2 蛋白質相対発現量、精巣中 γ -グルタミルシステインシナーゼ *GCLC* mRNA 相対発現量、精巣中 NAD(P)キノン及びオキシドレダクターゼ *NQO1* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

(14550)(○?)

想定される作用メカニズム：不明

(3)エストロゲン作用

①Li ら(2006)によって、4-ニトロフェノール 1、10、100mg/kg/day を7日間皮下投与した雌 Wistar-Imamichi ラット(25 日齢で卵巣摘出处置、投与開始までの馴養日数の記載は見当たらない)への影響が検討されている。その結果として、10mg/kg/day 以上のばく露群で子宮絶対対及び相対重量の高値が認められた。なお、体重、増加体重、肝臓絶対重量、腎臓絶対重量、副腎絶対重量、下垂体絶対重量、血漿中卵胞刺激ホルモン濃度、血漿中黄体形成ホルモン濃度には影響は認められなかった。(14560)(△○P)

②Taneda ら(2004)によって、4-ニトロフェノール 0.49、0.98、2.0、7.8、16、31、63、130、250、500、1,000 μ M(=6.81、13.6、27.2、543、1,090、2,170、4,350、8,690、17,400、24,800、69,500、139,000 μ g/L)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、500 μ M(=69,500 μ g/L)の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。なお、1,000 μ M(=139,000 μ g/L)の濃度では 24 時間後に細胞増殖阻害が認められた。(5896)(△○P)

(4)抗アンドロゲン作用

①Li ら(2006)によって、4-ニトロフェノール 0.01、0.1、1 mg/kg/day を 28 日齢から 5 日間皮下投与した雄 SD ラット(21 日齢で精巣摘出後 7 日間馴養、28 日齢でテストステロン含有 silastic tube 埋設)への影響(Hershberger 試験)が検討されている。その結果として、0.01mg/kg/day 以上のばく露群で腹側前立腺絶対重量の低値、0.01、0.1mg/kg/day のばく露群で肛門挙筋+球海綿体筋絶対重量の低値、0.1mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓絶対重量、陰茎絶対重量の低値、0.1mg/kg/day のばく露群で腎臓絶対重量、精囊+凝固腺絶対重量の低値、血漿中卵胞刺激ホルモン濃度、血漿中黄体形成ホルモン濃度の高値が認められた。なお、体重、増加体重、副腎絶対重量、下垂体絶対重量、カウパー腺絶対重量には認められなかった。(14560)(△○P)

②Taneda ら(2004)によって、4-ニトロフェノール 0.49、0.98、2.0、7.8、16、31、63、130、250、500、1,000 μ M(=6.81、13.6、27.2、543、1,090、2,170、4,350、8,690、17,400、24,800、69,500、139,000 μ g/L)の濃度に 72 時間ばく露(標識 5α -ジヒドロテストステロン 1.25nM 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、0.49 μ M(=6.81 μ g/L)以上の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導の阻害が認められた。(5896)(Δ OP)

(5) 精巣細胞への影響

①Mi ら(2010)によって、4-ニトロフェノール 0.1、1、10 μ M(=13.9、139、1,390 μ g/L)の濃度に最長 48 時間ばく露したニワトリ精巣細胞への影響が検討されている。その結果として、10 μ M(=1,390 μ g/L)の濃度区で生存率(6 時間)、精原細胞数(48 時間)の低値が認められた。

また、4-ニトロフェノール 10 μ M(=1,390 μ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したニワトリ精巣細胞への影響が検討されている。その結果として、細胞内スーパーオキシドディスムターゼ活性、細胞内グルタチオン過酸化酵素活性の低値、細胞内過酸化脂質産生量の高値が認められた。(14556)(Δ ?)

想定される作用メカニズム：酸化ストレス影響

(7) 肝臓細胞への影響

①Ahmed ら(2015a)によって、4-ニトロフェノール 1、10、100 μ M(=139、1,390、13,900 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したニホンウズラ肝臓培養細胞への影響が検討されている。その結果として、1、10 μ M(=139、1,390 μ g/L)の濃度区で *CYP1A5* mRNA 相対発現量の高値、10 μ M(=1,390 μ g/L)以上の濃度区でヘムオキシゲナーゼ *HO1* mRNA 相対発現量の高値、100 μ M(=13,900 μ g/L)の濃度区で *CYP1A4* mRNA 相対発現量、*CYP1B1* mRNA 相対発現量の高値が認められた。(14552)(Δ ?)

想定される作用メカニズム：一般毒性

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、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用を示すことが示唆された。

参考文献

- 14562: Francis PC, Grothe DW and Scheuring JC (1986) Chronic toxicity of 4-nitrophenol to *Daphnia magna* Straus under static-renewal and flow-through conditions. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 36 (5), 730-737.
- 7781: Kühn R, Pattard M, Pernak KD and Winter A (1989) Results of the harmful effects of water pollutants to *Daphnia magna* in the 21 day reproduction test. Water Res, 23 (4), 501-510.

- 14552: Ahmed E, Nagaoka K, Fayez M, Samir H and Watanabe G (2015a) Long-term *p*-nitrophenol exposure can disturb liver metabolic cytochrome *P450* genes together with aryl hydrocarbon receptor in Japanese quail. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 63 (3), 115-127.
- 14553: Ahmed E, Nagaoka K, Fayez M, Abdel-Daim MM, Samir H and Watanabe G (2015b) Suppressive effects of long-term exposure to *p*-nitrophenol on gonadal development, hormonal profile with disruption of tissue integrity, and activation of caspase-3 in male Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Environmental Science and Pollution Research International*, 22 (14), 10930-10942.
- 14557: Li X, Li C, Suzuki AK, Taneda S, Watanabe G and Taya K (2009) 4-Nitrophenol isolated from diesel exhaust particles disrupts regulation of reproductive hormones in immature male rats. *Endocrine*, 36 (1), 98-102.
- 14555: Mi Y, Tu L, Wang H, Zeng W and Zhang C (2013) Supplementation with quercetin attenuates 4-nitrophenol-induced testicular toxicity in adult male mice. *Anatomical Record*, 296 (10), 1650-1657.
- 14547: Zhang H, Taya K, Nagaoka K, Yoshida M and Watanabe G (2017) 4-Nitrophenol (PNP) inhibits the expression of estrogen receptor beta and disrupts steroidogenesis during the ovarian development in female rats. *Environmental Pollution*, 229, 1-9.
- 14554: Zhang Y, Piao Y, Li Y, Song M, Tang P and Li C (2013) 4-Nitrophenol induces Leydig cells hyperplasia, which may contribute to the differential modulation of the androgen receptor and estrogen receptor-alpha and -beta expression in male rat testes. *Toxicology Letters*, 223 (2), 228-235.
- 14549: Li R, Song M, Li Z, Li Y, Watanabe G, Nagaoka K, Taya K and Li C (2017) 4-Nitrophenol exposure alters the AhR signaling pathway and related gene expression in the rat liver. *Journal of Applied Toxicology*, 37 (2), 150-158.
- 14548: Tang J, Song M, Watanabe G, Nagaoka K, Rui X and Li C (2016) Effects of 4-nitrophenol on expression of the ER-alpha and AhR signaling pathway-associated genes in the small intestine of rats. *Environmental Pollution*, 216, 27-37.
- 14550: Zhang Y, Cao Y, Wang F, Song M, Rui X, Li Y and Li C (2016) 4-Nitrophenol induces activation of Nrf2 antioxidant pathway and apoptosis of the germ cells in rat testes. *Environmental Science and Pollution Research International*, 23 (13), 13035-13046.
- 14560: Li C, Taneda S, Suzuki AK, Furuta C, Watanabe G and Taya K (2006) Estrogenic and anti-androgenic activities of 4-nitrophenol in diesel exhaust particles. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 217 (1), 1-6.
- 5896: Taneda S, Mori Y, Kamata K, Hayashi H, Furuta C, Li C, Seki K, Sakushima A, Yoshino S, Yamaki K, Watanabe G, Taya K and Suzuki AK (2004) Estrogenic and anti-androgenic activity of nitrophenols in diesel exhaust particles (DEP). *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27 (6), 835-837.
- 14551: Wu D, Tao X, Chen ZP, Han JT, Jia WJ, Zhu N, Li X, Wang Z and He YX (2016) The environmental endocrine disruptor *p*-nitrophenol interacts with FKBP51, a positive regulator of androgen receptor and inhibits androgen receptor signaling in human cells. *Journal of Hazardous Materials*, 307, 193-201.
- 14556: Mi Y, Zhang C, Li CM, Taneda S, Watanabe G, Suzuki AK and Taya K (2010) Protective effect of quercetin on the reproductive toxicity of 4-nitrophenol in diesel exhaust particles on male embryonic chickens. *Journal of Reproduction and Development*, 56 (2), 195-199.

V. セルトラリン

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

セルトラリ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、代謝影響、行動影響、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、副腎皮質がん細胞への影響、膵臓がん細胞への影響、アロマターゼ活性阻害作用、肝臓ミクロソーム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

- ②Connors ら(2009)によって、セルトラリン(塩酸塩、Toronto Research Chemicals) 0.1、1、10 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に Nieuwkoop & Faber ステージ 42~43(約 3 日齢幼生)から 70 日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で体重の低値、0.1、1 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で尾吸収に至るまでの所要日数の短縮が認められた。なお、死亡率、奇形率には影響は認められなかった。(14455)(〇〇P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用

- ④Schultz ら(2011)によって、セルトラリン(塩酸塩、U.S. Pharmacopeia) 1.6 $\pm$ 0.46、5.2 $\pm$ 2.2 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)に 6 ヶ月以上齢から 21 日間ばく露した成熟雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、1.6 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で精巣における間質細胞顕在化度の低値、5.2 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で生存率の低値が認められた。なお、二次性徴スコア、営巣行動試験における巣占有成功率、生殖腺体指数、肝臓体指数、肥満度、血漿中ビテログゲン濃度、精巣中精原細胞数、精巣中精子数、肝臓中脂肪細胞量、肝臓細胞の液胞化度には影響は認められなかった。(14452)(〇〇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

- ⑥Lamichhane ら(2014)によって、セルトラリン(塩酸塩、Toronto Research Chemicals) 0.005、0.05、0.5、5、50 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 24 時間未満齢から 14 日間ばく露したニセネコゼミジンコ(*Ceriodaphnia dubia*) F₀ への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で体長、総出産仔数、出産回数、新生仔体長、新生仔乾燥重量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。

また更に、セルトラリン(塩酸塩、Toronto Research Chemicals) 0.005、0.05、0.5、5、50 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 24 時間未満齢から 14 日間ばく露したニセネコゼミジンコ(*C. dubia*) 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、50 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で体長、総出産仔数、新生仔体長、新生仔乾燥重量の低値が認められた。なお、出産回数、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。

また更に、セルトラリン(塩酸塩、Toronto Research Chemicals) 0.005、0.05、0.5、5、50 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 24 時間未満齢から 14 日間ばく露したニセネコゼミジンコ(*C. dubia*) 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、5 $\mu\text{g/L}$ のばく露区

で総出産仔数、新生仔体長、新生仔乾燥重量の低値、50µg/L のばく露区で体長、出産回数の低値、初出産に至るまでの所要日数の遅延が認められた。(14438)(△?)

想定される作用メカニズム：不明

- ⑧Minguez ら(2015)によって、セルトラリン(塩酸塩、Interchim) 0.3、30、100µg/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(*Daphnia magna*) F₀ への影響が検討されている。その結果として、30µg/L 以上のばく露区で総産仔数、3 回目出産における産仔数の高値、30µg/L のばく露区で 4 回目出産における産仔数の高値が認められた。なお、1 回目出産における産仔数、2 回目出産における産仔数、5 回目出産における産仔数、漸近的増殖速度(asymptotic population growth rate)には影響は認められなかった。

また更に、セルトラリン(塩酸塩、Interchim) 0.3、30、100µg/L(設定濃度)に 24 時間未満齢から 14 日間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*) F₁ (上記 F₀ の 5 回目出産後に回収)への影響が検討されている。その結果として、100µg/L のばく露区で総産仔数の低値が認められた(継続ばく露をしない試験では総産仔数の低値の回復が認められた)。なお、初出産に至るまでの所要日数、漸近的増殖速度には影響は認められなかった。

また更に、セルトラリン(塩酸塩、Interchim) 0.3、30、100µg/L(設定濃度)に 24 時間未満齢から 14 日間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*) F₁ (上記 F₀ の 2 回目出産後に回収)への影響が検討されているが総出産仔数、初出産に至るまでの所要日数、漸近的増殖速度には影響は認められなかった。(14434)(△?)

想定される作用メカニズム：不明

- ⑩Henry ら(2004)によって、セルトラリン(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、99.86%) 0.9、9、45、89µg/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、45µg/L 以上のばく露区で総出産仔数の低値が認められた。なお、生存率、初出産に至るまでの所要日数、出産回数には影響は認められなかった。(14466)(△?)

想定される作用メカニズム：不明

本試験においては、447、894µg/L 区における生存率についても検討しており、全個体死亡が認められた。

- ⑫Minagh ら(2009)によって、セルトラリン(塩酸塩、Sigma-Aldrich) 10、32、100、320µg/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(*Daphnia magna*)への影響が検討されている。その結果として、100µg/L 以上のばく露区で総産仔数の低値、死亡率の高値、初出産に至るまでの所要日数の遅延が認められた。(14459)(△?)

想定される作用メカニズム：不明

(2)生殖影響

- ②Atli ら(2017)によって、セルトラリン(塩酸塩、IE Ulagay-Menarini Group) 5、10、20mg/kg/day を、8～12 週齢以上から 4 週間経口投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討

されている。その結果として、5 mg/kg/day 以上のばく露群で精子中 DNA 損傷率、精巣中過酸化脂質濃度の高値、10mg/kg/day 以上のばく露群で異常精子率、精細管における精子形成障害重篤度(Johnsen's score)の高値、20mg/kg/day のばく露群で精子濃度、精巣中グルタチオン濃度の低値、血清中テストステロン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度の高値が認められた。なお、精巣相対重量、精巣上体相対重量、運動精子率、血清中卵胞刺激ホルモン濃度には影響は認められなかった。(14424)(△○P)

想定される作用メカニズム：アンドロゲン様作用

(3)代謝影響

②Sanders ら(2008)によって、セルトラリン(塩酸塩と思われる、Toronto Research Chemicals) 7.5mg/kg/day を6日間皮下投与した成熟雄 SD ラット(5、6日目にインスリンを輸液した recurrent hypoglycemia 群)への影響(最終投与0、60、120分後に試験)が検討されている。その結果として、血漿中エピネフリン濃度(60、120分後)の高値が認められた。なお、血漿中グルコース濃度、血漿中グルカゴン濃度、血漿中ノルエピネフリン濃度、血漿中副腎皮質刺激ホルモン濃度、血漿中コルチコステロン濃度、体重、摂餌量には影響は認められなかった。

また、セルトラリン(塩酸塩と思われる、Toronto Research Chemicals) 7.5mg/kg/day を6日間皮下投与した成熟雄 SD ラット(5日目に生理食塩水、6日目にインスリンを輸液した single hypoglycemia 群)への影響(最終投与0、60、120分後に試験)が検討されている。その結果として、血漿中エピネフリン濃度(120分後)の高値が認められた。なお、血漿中グルコース濃度、血漿中グルカゴン濃度、血漿中ノルエピネフリン濃度、血漿中副腎皮質刺激ホルモン濃度、血漿中コルチコステロン濃度、体重、摂餌量には影響は認められなかった。

また、セルトラリン(塩酸塩と思われる、Toronto Research Chemicals) 7.5mg/kg/day を6日間皮下投与した成熟雄SDラット(5、6日目に生理食塩水を輸液した saline 群)への影響(最終投与0、60、120分後に試験)が検討されているが、血漿中グルコース濃度、血漿中グルカゴン濃度、血漿中エピネフリン濃度、血漿中ノルエピネフリン濃度、血漿中副腎皮質刺激ホルモン濃度、血漿中コルチコステロン濃度、体重、摂餌量には影響は認められなかった。

また、セルトラリン(塩酸塩と思われる、Toronto Research Chemicals) 7.5mg/kg/day を20日間皮下投与した成熟雄 SD ラット(19、20日目にインスリンを輸液した recurrent hypoglycemia 群)への影響(最終投与0、60、120分後に試験)が検討されている。その結果として、血漿中エピネフリン濃度(60分後)、血漿中ノルエピネフリン濃度(60、120分後)の高値が認められた。なお、血漿中グルコース濃度、血漿中グルカゴン濃度、血漿中副腎皮質刺激ホルモン濃度、血漿中コルチコステロン濃度、体重、摂餌量には影響は認められなかった。

また、セルトラリン(塩酸塩と思われる、Toronto Research Chemicals) 7.5mg/kg/day を20日間皮下投与した成熟雄 SD ラット(19日目に生理食塩水、20日目にインスリンを輸液した single hypoglycemia 群)への影響(最終投与0、60、120分後に試験)が検討されている。その結果として、血漿中グルカゴン濃度(60、120分後)、血漿中エピネフリン濃度(60、120分後)、血漿中ノルエピネフリン濃度(60分後)の高値が認められた。なお、血漿中グルコース

濃度、血漿中副腎皮質刺激ホルモン濃度、血漿中コルチコステロン濃度、体重、摂餌量には影響は認められなかった。

また、セルトラリン(塩酸塩と思われる、Toronto Research Chemicals) 7.5mg/kg/day を 20 日間皮下投与した成熟雄 SD ラット(19、20 日目に生理食塩水を輸液した saline 群)への影響(最終投与 0、60、120 分後に試験)が検討されているが、血漿中グルコース濃度、血漿中グルカゴン濃度、血漿中エピネフリン濃度、血漿中ノルエピネフリン濃度、血漿中副腎皮質刺激ホルモン濃度、血漿中コルチコステロン濃度、体重、摂餌量には影響は認められなかった。(14460)(△○P)

想定される作用メカニズム：副腎髄質（交感神経系）に対する作用

- ③ de Long ら(2015)によって、セルトラリン(塩酸塩、Toronto Research Chemicals) 10mg/kg/day を全妊娠期間中皮下投与した Wistar ラットへの影響(1 日齢仔動物について試験)が検討されている。その結果として、血清中インスリン濃度、膵臓中 β 細胞量(画像面積比)、膵臓中 *Ngn3* (neurogenin 3) mRNA 相対発現量、膵臓中 *Neurod* (neurogenin differentiation factor) mRNA 相対発現量、膵臓中 *Fev* (serotonergic E-twenty-six transcription factor Pet1) mRNA 相対発現量、膵島中 *Pdx1* (pancreatic and duodenal homeobox 1)発現細胞率、膵島中液胞量(画像面積比)、膵島中 VEGF (vascular endothelial growth factor)発現細胞率の低値が認められた。なお、膵臓中 *Pdx1* (pancreatic and duodenal homeobox 1) mRNA 相対発現量、膵島中 *Ngn3* (neurogenin 3)発現細胞率、血清中グルコース濃度、膵臓中 β 細胞アポトーシス率、膵臓中 β 細胞増殖率、膵臓中 *MafA* (musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog A) mRNA 相対発現量、膵臓中 *Annexin V* mRNA 相対発現量、膵臓中 *Igf1* (insulin growth factor 1) mRNA 相対発現量、膵臓中 *Igf 2* (insulin growth factor 2) mRNA 相対発現量、膵臓中 *Vegfa* (vascular endothelial growth factor) mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14433)(△×)

想定される作用メカニズム：発達毒性

- ⑤ Gomez ら(2001)によって、セルトラリン(塩酸塩、Zolofit®, Pfizer) 30mg/kg を 18 時間絶食後に単回腹腔内投与した雄 Wistar ラットへの影響(投与 30 分後に 50%グルコース水溶液 1mL を強制経口投与、更に 30 分後に試験)が検討されている。その結果として、高インスリン血症発症率の高値が認められた。

また、セルトラリン(塩酸塩、Zolofit®, Pfizer) 30mg/kg を 18 時間絶食後に単回腹腔内投与した雄 Wistar ラットへの影響(投与 30 分後に試験)が検討されているが、高インスリン血症発症率には影響は認められなかった。(14470)(△○P)

想定される作用メカニズム：インスリン分泌への影響

- ⑥ Erenmemisoglu ら(1999)によって、セルトラリン(塩酸塩、Zolofit®, Pfizer) 30mg/kg/day を 21 日間腹腔内投与した Swiss マウス(正常血糖性群)への影響(最終投与時から 18 時間の絶食後に試験)が検討されている。その結果として、血漿中グルコース濃度の低値が認められた。なお、血漿中インスリン濃度には影響は認められなかった。

なお、セルトラリン(塩酸塩、Zolofit®, Pfizer) 30mg/kg/day を 21 日間腹腔内投与した Swiss

マウス(事前にアロキサン水和物 75mg/kg を腹腔内投与処理した抗血糖性群)への影響(最終投与時から 18 時間の絶食後に試験)が検討されている。その結果として、血漿中グルコース濃度の低値が認められた。なお、血漿中インスリン濃度には影響は認められなかった。(14472)(△?)

想定される作用メカニズム：不明

(4)行動影響

②de Magalhães-Nunes ら(2007)によって、セルトラリン(塩酸塩、MEPHA) 180ppm(飲水中濃度)を 28 日間飲水投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、日毎飲水量の低値が認められた。

また、セルトラリン(塩酸塩、MEPHA) 180ppm(飲水中濃度)を 21 日間飲水投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、血漿中バソプレシン濃度、血漿中オキシトシン濃度の高値が認められた。(14463)(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体（後葉）への作用

(5)エストロゲン作用

①Pop ら(2015)によって、セルトラリン(塩酸塩と思われる、LGC Standard) 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10 μ M(=3.06、9.19、30.6、91.9、306、919 μ 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。その結果として、0.01 μ M(=3.06 μ g/L)の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

なお、セルトラリン(塩酸塩と思われる、LGC Standard) 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10 μ M(=3.06、9.19、30.6、91.9、306、919 μ 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)(△○P)

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、セルトラリン(塩酸塩と思われる、LGC Standard) 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10 μ M(=3.06、9.19、30.6、91.9、306、919 μ 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。その結果として、10 μ M(=919 μ g/L)の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。(14431)(△○P)

(7)副腎皮質がん細胞への影響

①Jacobsen ら(2015)によって、セルトラリン(塩酸塩、TRC) 0.47、0.93、1.9、3.7、7.5 μ M(=140、280、580、1,100、2,300 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、1.9 μ M(=580 μ g/L)以上の濃度区で 17 β エストラジオール産生量の高値、7.5 μ M(=2,300 μ g/L)の濃度区でプロゲステロン産生量、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阻害作用、テストステロン産生阻害作用

(8)膵臓がん細胞への影響

①Isaac ら(2013)によって、セルトラリン(塩酸塩と思われる、Sigma) 5、10 μ M(=1,530、3,060 μ g/L)の濃度に 16 時間ばく露したマウス膵臓がん β 細胞 Min6 への影響が検討されている。その結果として、5 μ M(=1,530 μ g/L)以上の濃度で活性化転写因子 *ATF4* mRNA 相対発現量、転写因子相同蛋白質 *CHOP* mRNA 相対発現量、誘導型一酸化窒素合成酵素 *iNOS* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、セルトラリン(塩酸塩と思われる、Sigma) 10 μ M(=3,060 μ g/L)の濃度に 16 時間ばく露したマウス膵臓がん β 細胞 Min6 への影響が検討されている。その結果として、細胞内還元力の低値、カスパーゼ 3/7 活性の高値が認められた。

また、セルトラリン(塩酸塩と思われる、Sigma) 30 μ M(=9,190 μ g/L)の濃度に 1 時間ばく露(グルコース 20mM 共存下)したマウス膵臓がん β 細胞 Min6 への影響が検討されている。その結果として、インスリン分泌量の低値が認められた。

また、セルトラリン(塩酸塩と思われる、Sigma) 30 μ M(=9,190 μ g/L)の濃度に 2 時間ばく露(グルコース 22.5mM 共存下)したマウス膵臓培養細胞への影響が検討されている。その結果として、インスリン分泌量の低値が認められた。

また、セルトラリン(塩酸塩と思われる、Sigma) 30 μ M(=9,190 μ g/L)の濃度に 2 時間ばく露(グルコース 16.7mM 共存下)したヒト膵臓培養細胞への影響が検討されている。その結果として、インスリン分泌量の低値が認められた。(14446)(Δ OP)

想定される作用メカニズム:インスリンによる血糖調節機序のかく乱

(9)アロマターゼ活性阻害作用

①Jacobsen ら(2015)によって、セルトラリン(塩酸塩と思われる、TRC) 1 ~1,000 μ M(=306 ~306,000 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(蛍光法による) 13.3 μ M(=4,070 μ g/L)又は IC₅₀ 値(GC-MS 法による) 90.6 μ M(=27,700 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)肝臓ミクロソームへの影響

①Masubuchi と Kawabuchi (2013)によって、セルトラリン(塩酸塩、東京化成工業) 50 μ M(=15,300 μ g/L)の濃度でヒト肝臓ミクロソームへの影響が検討されている。その結果として、CYP3A4 比活性(テストステロンの 6 β 水酸化)の低値が認められた。

また、セルトラリン(塩酸塩、東京化成工業) 200 μ M(=61,200 μ g/L)の濃度でヒト肝臓ミクロソームへの影響が検討されている。その結果として CYP3A4 比活性(テストステロンの 6 β 水酸化)の低値が認められた。なお、CYP2C9 比活性(ジクロフェナクの 4'-水酸化)、CYP2D6 比活性(プロプラノールの 4-水酸化)、CYP2C19/1A2 比活性(プロプラノールの *N*-脱イソプロピル化)には影響は認められなかった。(14444)(Δ ?)

想定される作用メカニズム：不明

②Haduch ら(2005)によって、セルトラリン(塩酸塩、Pfizer) 50~200 μ M(=15,300~61,200 μ g/L)の濃度でラット肝臓ミクロソームの影響が検討されている。その結果として K_i 値 50 μ M(=15,000 μ g/L)の濃度で CYP2A 比活性(テストステロンの 7 α ヒドロキシル化)の阻害が認められた。

また、セルトラリン(塩酸塩、Pfizer) 5 $\times$ 2mg/kg/day を2週間(日毎2回)腹腔内投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、肝臓ミクロソーム中 CYP2A 比活性(テストステロンの 7 α ヒドロキシル化)の高値が認められた。

また、セルトラリン(塩酸塩、Pfizer) 5 $\times$ 2mg/kg を単日(日毎2回)腹腔内投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されているが肝臓ミクロソーム中 CYP2A 比活性(テストステロンの 7 α ヒドロキシル化)には影響は認められなかった。(14464)(Δ ?)

想定される作用メカニズム：不明

③Wójcikowski ら(2013)によって、セルトラリン(塩酸塩、Pfizer) 50~200 μ M(=15,300~61,200 μ g/L)の濃度でラット肝臓ミクロソームの影響が検討されている。その結果として K_i 値 31 μ M(=9,500 μ g/L)及び 47 μ M(=14,000 μ g/L)の濃度で CYP2C11 比活性(テストステロンの 2 α ヒドロキシル化)及び CYP2C11 比活性(テストステロンの 16 α ヒドロキシル化)の阻害が認められた。

また、セルトラリン(塩酸塩、Pfizer) 5 $\times$ 2mg/kg/day を2週間(日毎2回)腹腔内投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されているが、肝臓ミクロソーム中 CYP2C11 比活性(テストステロンの 2 α 及び 16 α ヒドロキシル化)には影響は認められなかった。

また、セルトラリン(塩酸塩、Pfizer) 5 $\times$ 2mg/kg を単日(日毎2回)腹腔内投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されているが肝臓ミクロソーム中 CYP2A 比活性 CYP2C11 比活性(テストステロンの 2 α 及び 16 α ヒドロキシル化)には影響は認められなかった。(14439)(Δ ?)

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。

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、アンドロゲン様作用、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、インスリン分泌への影響、視床下部一下垂体(後葉)への作用、副腎髄質に対する作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、エストラジオール産生促進作用、プロゲステロン産生阻害作用、テストステロン産生阻害作用、インスリンによる血糖調節機序のかく乱作用、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、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、視床下部一下垂体—副腎軸への作用を示すことが示唆された。

参考文献

- 14440: Bossus MC, Guler YZ, Short SJ, Morrison ER and Ford AT (2014) Behavioural and transcriptional changes in the amphipod *Echinogammarus marinus* exposed to two antidepressants, fluoxetine and sertraline. *Aquatic Toxicology*, 151, 46-56.
- 14455: Connors DE, Rogers ED, Armbrust KL, Kwon JW and Black MC (2009) Growth and development of tadpoles (*Xenopus laevis*) exposed to selective serotonin reuptake inhibitors, fluoxetine and sertraline, throughout metamorphosis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28 (12), 2671-2676.
- 14422: Carty DR, Hala D and Huggett DB (2017) The Effects of Sertraline on Fathead Minnow (*Pimephales promelas*) Growth and Steroidogenesis. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 98 (6), 753-757.
- 14452: Schultz MM, Painter MM, Bartell SE, Logue A, Furlong ET, Werner SL and Schoenfuss HL (2011) Selective uptake and biological consequences of environmentally relevant antidepressant pharmaceutical exposures on male fathead minnows. *Aquatic Toxicology*, 104 (1-2), 38-47.
- 14450: Valenti TW, Gould GG, Berninger JP, Connors KA, Keele NB, Prosser KN and Brooks BW (2012) Human therapeutic plasma levels of the selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) sertraline decrease serotonin reuptake transporter binding and shelter-seeking behavior in adult male fathead minnows. *Environmental Science & Technology*, 46 (4), 2427-2435.
- 14438: Lamichhane K, Garcia SN, Huggett DB, Deangelis DL and La Point TW (2014) Exposures to a selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI), sertraline hydrochloride, over multiple generations: changes in life history traits in *Ceriodaphnia dubia*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 101, 124-130.
- 14436: Chiffre A, Clérandeau C, Dwoinikoff C, Le Bihanic F, Budzinski H, Geret F and Cachot J (2016) Psychotropic drugs in mixture alter swimming behaviour of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) larvae above environmental concentrations. *Environmental Science and Pollution Research International*, 23 (6), 4964-4977.
- 14434: Minguez L, Ballandonne C, Rakotomalala C, Dubreule C, Kientz-Bouchart V and Halm-Lemeille MP (2015) Transgenerational effects of two antidepressants (sertraline and venlafaxine) on *Daphnia magna* life history traits. *Environmental Science & Technology*, 49 (2), 1148-1155.
- 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.

- 14443: Di Poi C, Evariste L, Serpentine A, Halm-Lemeille MP, Lebel JM and Costil K (2014) Toxicity of five antidepressant drugs on embryo-larval development and metamorphosis success in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Environmental Science and Pollution Research International, 21 (23), 13302-13314.
- 14459: Minagh E, Hernan R, O'Rourke K, Lyng FM and Davoren M (2009) Aquatic ecotoxicity of the selective serotonin reuptake inhibitor sertraline hydrochloride in a battery of freshwater test species. Ecotoxicology and Environmental Safety, 72 (2), 434-440.
- 14457: Painter MM, Buerkley MA, Julius ML, Vajda AM, Norris DO, Barber LB, Furlong ET, Schultz MM and Schoenfuss HL (2009) Antidepressants at environmentally relevant concentrations affect predator avoidance behavior of larval fathead minnows (*Pimephales promelas*). Environmental Toxicology and Chemistry, 28 (12), 2677-2684.
- 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.
- 14424: Atli O, Baysal M, Aydogan-Kilic G, Kilic V, Ucarcan S, Karaduman B and Ilgin S (2017) Sertraline-induced reproductive toxicity in male rats: evaluation of possible underlying mechanisms. Asian Journal Of Andrology, 19 (6), 672-679.
- 14442: Montagnini BG, Bortolan S, dos Santos BD, Moreno AP, Camin Nde A, Gerardin DC and Moreira EG (2013) Evaluation of escitalopram, sertraline, and methylphenidate in the immature rat uterotrophic assay. International Journal of Toxicology, 32 (6), 426-430.
- 14449: Kummert GJ, Haskell SE, Hermann GM, Ni C, Volk KA, Younes AK, Miller AK and Roghair RD (2012) Neonatal SSRI Exposure Programs a Hypermetabolic State in Adult Mice. Journal of Nutrition and Metabolism, 2012, 431574.
- 14460: Sanders NM, Wilkinson CW, Taborsky GJ, Jr., Al-Noori S, Daumen W, Zavosh A and Figlewicz DP (2008) The selective serotonin reuptake inhibitor sertraline enhances counterregulatory responses to hypoglycemia. American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism, 294 (5), E853-860.
- 14433: de Long NE, Gutgesell MK, Petrik JJ and Holloway AC (2015) Fetal Exposure to Sertraline Hydrochloride Impairs Pancreatic beta-Cell Development. Endocrinology, 156 (6), 1952-1957.
- 14430: Silverstein-Metzler MG, Shively CA, Clarkson TB, Appt SE, Carr JJ, Kritchevsky SB, Jones SR and Register TC (2016) Sertraline inhibits increases in body fat and carbohydrate dysregulation in adult female cynomolgus monkeys. Psychoneuroendocrinology, 68, 29-38.
- 14470: Gomez R, Huber J, Lhullier F and Barros HM (2001) Plasma insulin levels are increased by sertraline in rats under oral glucose overload. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 34 (12), 1569-1572.
- 14472: Erenmemisoglu A, Ozdogan UK, Saraymen R and Tutus A (1999) Effect of some antidepressants on glycaemia and insulin levels of normoglycaemic and alloxan-induced hyperglycaemic mice. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 51 (6), 741-743.
- 14458: Sell SL, Craft RM, Seitz PK, Stutz SJ, Cunningham KA and Thomas ML (2008) Estradiol-sertraline synergy in ovariectomized rats. Psychoneuroendocrinology, 33 (8), 1051-1060.
- 14463: de Magalhães-Nunes AP, Badauê-Passos D, Jr., Ventura RR, Guedes Dda S, Jr., Araújo JP, Granadeiro PC, Milanez-Barbosa HK, da Costa-e-Sousa RH, de Medeiros MA, Antunes-Rodrigues J and Reis LC (2007) Sertraline, a selective serotonin reuptake inhibitor, affects thirst, salt appetite and plasma levels of oxytocin and vasopressin in rats. Experimental Physiology, 92 (5), 913-922.
- 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.
- 14432: Jacobsen NW, Hansen CH, Nellemann C, Styris have 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 Styris have 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.

- 14446: Isaac R, Boura-Halfon S, Gurevitch D, Shainskaya A, Levkovitz Y and Zick Y (2013) Selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) inhibit insulin secretion and action in pancreatic beta cells. *Journal of Biological Chemistry*, 288 (8), 5682-5693.
- 14444: Masubuchi Y and Kawaguchi Y (2013) Time-dependent inhibition of CYP3A4 by sertraline, a selective serotonin reuptake inhibitor. *Biopharmaceutics and Drug Disposition*, 34 (8), 423-430.
- 14464: Haduch A, Wójcikowski J and Daniel WA (2005) Effect of short- and long-term treatment with antidepressant drugs on the activity of rat CYP2A in the liver. *Pharmacological Reports*, 57 (6), 774-781.
- 14439: Wójcikowski J, Haduch A and Daniel WA (2013) Effect of antidepressant drugs on cytochrome P450 2C11 (CYP2C11) in rat liver. *Pharmacological Reports*, 65 (5), 1247-1255.