

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 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 1 平成 30 年度に信頼性評価を実施した 11 物質

	物質名	選定年度	信頼性評価 の実施年度
1	イミダクロプリド	平成 28 年度	平成 30 年度
2	ジクロベニル	平成 29 年度	平成 30 年度
3	シペルメトリン	平成 29 年度	平成 30 年度
4	ピリプロキシフェン	平成 29 年度	平成 30 年度
5	σ フェニルフェノール	平成 29 年度	平成 30 年度
6	フルトラニル	平成 29 年度	平成 30 年度
7	プロパルギット	平成 29 年度	平成 30 年度
8	プロピザミド	平成 29 年度	平成 30 年度
9	マイクロブタニル	平成 29 年度	平成 30 年度
10	メタラキシル	平成 29 年度	平成 30 年度
11	メトリブジン	平成 29 年度	平成 30 年度

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)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)
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>n</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 (CHRIP) (<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シライドとして塩 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⁾ モノブチルスズオキシライドとして塩 ビ安定剤原料 ⁴⁾	3.(1)
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 ンジオール) 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=ジブロミド (別名:ジクアトジブ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、合成織 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)
マイクロブタニル*	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

*イミダクロプリド：動物試験の報告において、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、生殖細胞への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、イミダクロプリドについて第 2 段階試験を実施する対象物質としていない。

*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—下垂体—生殖腺軸、視床下部—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—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

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>)

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。

- * σ 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、 σ 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、エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、視床下部—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。

- *プロパルギット：動物試験の報告において、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用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、プロパルギットについて甲状腺ホルモン様作用または抗甲状腺ホルモン様作用を確認するために幼生期両生類成長発達試験 LAGDA を実施する対象物質としている。

- *プロピザミド：動物試験の報告において、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、甲状腺ホルモン様作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、甲状腺ホルモン代謝促進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、プロピザミドについて第 2 段階試験を実施する対象物質としていない。

- *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—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、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。

*メトリブジン：動物試験の報告において、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、ステロイド産生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、メトリブジンについて甲状腺ホルモン様作用または抗甲状腺ホルモン様作用を確認するために幼生期両生類成長発達試験 LAGDA 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

今回は得られなかった。

表4 信頼性評価結果を基にした物質ごとの確認すべき作用
(試験管内試験の実施対象候補)

	名称	示唆された作用						
		エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモン	抗甲状腺ホルモン	脱皮ホルモン
1	イミダクロプリド	—	—	—	—	○	○	—
2	ジクロベニル	○	○	○	○	○	○	—
3	シペルメトリン	○	○	○	○	○	○	—
4	ピリプロキシフェン	○	—	—	—	—	—	○
5	αフェニルフェノール	○	○	○	○	—	—	—
6	フルトラニル	○	○	○	○	—	—	—
7	プロパルギット	—	—	—	○	○	○	—
8	プロピザミド	○	○	○	○	○	○	—
9	マイクロブタニル	○	○	○	○	○	○	—
10	メタラキシル	—	○	—	○	—	—	—
11	メトリブジン	—	—	—	—	○	○	—
合計	43 試験	7	7	6	8	7	7	1

○：既存知見から示唆された作用

P：試験管内試験の結果において認められた作用

N：試験管内試験の結果では、認められなかった作用

—：試験管内試験を実施しない作用

I. イミダクロプリド

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

イミダクロプリド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、アロマトラーゼへの影響、生殖細胞への影響及びグルコース代謝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、イミダクロプリドについて第 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

③Cardone (2015)によって、イミダクロプリド(Sigma-Aldrich、analytical standard 又は Confidor® 200SL、活性成分重量濃度 17.1 %w/w) 10、50、100mg/kg/day を 2 週間(隔日)経口投与した成熟雄 Italian Wall Lizard (*Podarcis sicula*)への影響が検討されている。その結果として、10mg/kg/day 以上のばく露群で血漿中テストステロン濃度、血漿中 17β エストラジオール濃度、精巣中アンドロゲン受容体 mRNA 相対発現量、精巣中エストロゲン受容体 mRNA 相対発現量、精細管中精原細胞数の低値、生殖細胞アポトーシス率の高値、20mg/kg/day 以上のばく露群で精細管中二次精母細胞数の低値、50mg/kg/day 以上のばく露群で生殖腺体指数、精細管径、精細管中一次精母細胞数の低値が認められた。なお、精細管中一次精原細胞数、精細管中一次精子細胞数には影響は認められなかった。(13841)(評価結果の略号：×—)

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

④Pandey と Mohanty (2015)によって、イミダクロプリド(confidor、活性成分重量濃度 17.80 %w/w) 31mg/kg/day を繁殖期(9月中旬から10月中旬)に 30 日間混餌投与した成熟雄ベニスズメ (*Amandava amandava*)への影響が検討されている。その結果として、体重、血漿中サイロキシン濃度、血漿中トリヨードサイロニン濃度、血漿中甲状腺刺激ホルモン濃度、甲状腺中濾胞数、甲状腺上皮細胞厚、甲状腺上皮細胞核幅の低値が認められた。なお、甲状腺絶対重量、甲状腺容積、甲状腺コロイド容積には影響は認められなかった。

また、イミダクロプリド(confidor、活性成分重量濃度 17.80 %w/w) 31mg/kg/day を繁殖期前(7月中旬から8月中旬)に 30 日間混餌投与した成熟雄ベニスズメ(*A. amandava*)への影響が検討されている。その結果として、血漿中サイロキシン濃度、血漿中甲状腺刺激ホルモン濃度、甲状腺中濾胞数、甲状腺上皮細胞厚、甲状腺上皮細胞核幅の低値、血漿中トリヨードサイロニン濃度、甲状腺コロイド容積の高値が認められた。なお、体重、甲状腺絶対重量、甲状腺容積には影響は認められなかった。

本試験結果の解釈にあたっては、低純度の製品を用いて実施された試験である点に注意を要すると判断された。(13651)(△*○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

※追加 生態影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

⑤Bayer CropScience (2012)によって、イミダクロプリド(Bayer CropScience とされる、99.4%) 730、3,700、18,500µg/L(測定濃度)(設定濃度 720、3,600、18,000µg/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、18,500 $\mu\text{g/L}$ 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)、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、体重(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には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48671402)(○×)

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の判断を示している。

※参考 生態影響(今回評価対象としなかった文献)

①Jemec ら(2007)によって、イミダクロプリド(Bayer CropScience、99%) 625、1,250、2,500、5,000、10,000、20,000、40,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 24 時間未満齢から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響が検討されている。その結果として、1,250 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で総蛋白質濃度の低値、2,500 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区でグルタチオン *S*-トランスフェラーゼ比活性、総産仔数の低値、5,000 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で同腹仔数、カタラーゼ比活性の低値、初出産に至るまでの所要日数の遅延、10,000 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で出産回数、コリンエステラーゼ比活性の低値、40,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で死亡率の高値が認められた。(12542)

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

②Pavlaki ら(2011)によって、イミダクロプリド(Bayer) 2,000、4,000、6,000、8,000、10,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 24 時間未満齢から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*)への影響が検討されている。その結果として、4,000 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で総産仔数の低値、6,000 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で体長の低値が認められた。(13855)

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

※参考 (2)生殖影響(今回評価対象としなかった文献)

①Kapoor ら(2011)によって、イミダクロプリド(Bharat Rasayan、96%) 5、10、20 mg/kg/day を 90 日間経口投与した成熟雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、20 mg/kg/day のばく露群で体重、卵巣絶対及び相対重量、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中プロゲステロン濃度、卵巣中グルタチオン濃度、卵巣中スーパーオキシドディスムターゼ比活性、卵巣中カタラーゼ比活性、卵巣中グルタチオンパーオキシダーゼ比活性の低値、血清中卵巣刺激ホルモン濃度、卵巣中過酸化脂質濃度の高値が認められた。なお、死亡率には影響は認められなかった。(13854)

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

※追加 (3)生殖及び甲状腺影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

②Bayer CropScience (2012)によって、イミダクロプリド(Bayer CropScience、98.5%) 50、100 mg/kg/day を 22 日齢から 42 日齢まで経口投与した雌 SD ラットへの影響(Female 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、50 mg/kg/day 以上のばく露群で発情周期を有する個体率、腎臓相対重量、下垂体相対重量の低値、肝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の高値、50mg/kg/day のばく露群で体重の高値、100mg/kg/day のばく露群で膣開口日の遅延が認められた。なお、増加体重、副腎絶対及び補正及び相対重量、子宮絶対及び補正重量(wet 又は blotted)、卵巣絶対及び補正重量、甲状腺絶対及び補正重量、副腎絶対及び補正重量、発情周期、膣発情周期開始日、血清中総サイロキシン濃度、甲状腺の組織病理学的検査における異常所見率、顕微鏡観察(副腎、肝臓、腎臓、卵巣、甲状腺、子宮)による異常所見率には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48671401)(△○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

EDSP では、甲状腺影響について「甲状腺刺激ホルモン濃度増加(雌で有意な高値)が認められるが、サイロキシン濃度、甲状腺重量、甲状腺の組織病理学的検査には影響が認められなかった。下垂体重量は低下ではなく増加しており、甲状腺刺激ホルモン濃度増加との関連性は疑わしい」との判断を示している。

※参考 生殖及び甲状腺影響(今回評価対象としなかった EDSP 試験)

- ① Bayer CropScience (2012)によって、イミダクロプリド(Bayer CropScience、98.5%) 50、100mg/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以上のばく露群で精囊又は前立腺の肉眼的観察による異常所見の発生、50mg/kg/dayのばく露群で左精巣絶対及び補正重量*の低値、100mg/kg/dayのばく露群で体重、増加体重、腎臓絶対及び補正重量、下垂体絶対及び補正重量、右精巣絶対重量、左右精巣上体絶対及び補正重量、精囊+凝固腺絶対及び補正重量(内容液重量込み及び含まず)、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、肛門挙筋+球海綿体筋絶対及び補正重量の低値、臨床的兆候の検出、包皮分離開始日の遅延が認められた。なお、肝臓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、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中総サイロキシン濃度、血清中テストステロン濃度、肉眼的観察(肝臓、腎臓、甲状腺、精巣)による異常所見、甲状腺・肝臓・腎臓・精巣上体・精巣・前立腺の組織病理学的検査による異常所見には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48671401)

*補正重量とは、21日齢時の体重を用いて補正した各臓器重量を示す。

EDSP では、生殖影響について「重篤な全身毒性が認められているにも係らずホルモン濃度や組織病理学的検査に影響が認められなかったことから、認められた影響がアンドロゲン経路に関与するものではなさそうだ」との判断を示している。また、甲状腺影響について「甲状腺刺激ホルモン濃度増加(雄で高値だが有意差には至らず)が認められるが、サイロキシン濃度、甲状腺重量、甲状腺の組織病理学的検査には影響が認められなかった。下垂体重量は低下ではなく増加しており、甲状腺刺激ホルモン濃度増加との関連性は疑わしい」との判断を示している。

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

※参考 (4)アロマトーゼへの影響(今回評価対象としなかった文献)

- ① Caron-Beaudoin ら(2016)によって、イミダクロプリド(Sigma-Aldrich、Pestanal 37894、99%) 3、10、30 μ M(=767、2,560、7,670 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、3 μ M(=767 μ g/L)の濃度区で CYP19 mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、アロマトーゼ活性、細胞生存率には影響は認められなかった。

また、イミダクロプリド(Sigma-Aldrich、Pestanal 37894、99%) 3、10、30 μ M(=767、2,560、7,670 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト臍帯静脈内皮細胞 HUVEC への影響が検討されているが、CYP19 mRNA 相対発現量、アロマターゼ活性、細胞生存率には影響は認められなかった。(13836)

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

(5)生殖細胞への影響

①Kugathas ら(2016)によって、イミダクロプリド(Sigma-Aldrich、97%) 0.001~100 μ M(=0.0256~25,600 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 4.45 μ M(=1,140 μ g/L)ので濃度依存的なプロスタグランジン D2 産生の阻害が認められた。(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

※参考 (6)グルコース代謝への影響(今回評価対象としなかった文献)

①Kim ら(2013)によって、イミダクロプリド(Sigma-Aldrich) 10、20 μ M(=2,560、5,110 μ g/L)の濃度に 6 日間ばく露したヒト副腎皮質上皮がん細胞 H295R への影響(ばく露後、インスリン共存下更に 15 分間処理)が検討されている。その結果として、10 μ M(=2,560 μ g/L)以上の濃度区でグルコース吸収量、ホスホリル化プロテインキナーゼ B (pAKT)相対発現量、ホスホリル化 p70-S6 キナーゼ (pS6K)相対発現量の低値が認められた。なお、プロテインキナーゼ B(AKT)相対発現量には影響は認められなかった。

また、イミダクロプリド(Sigma-Aldrich) 10、20 μ M(=2,560、5,110 μ g/L)の濃度に 6 日間ばく露したマウス筋芽細胞 C2C12 への影響(ばく露後、インスリン共存下更に 15 分間処理)が検討されている。その結果として、10 μ M(=2,560 μ g/L)以上の濃度区でグルコース吸収量、ホスホリル化 p70-S6 キナーゼ(pS6K)相対発現量の低値、20 μ M(=5,110 μ g/L)の濃度区でホスホリル化プロテインキナーゼ B (pAKT)相対発現量の低値が認められた。なお、プロテインキナーゼ B(AKT)相対発現量には影響は認められなかった。

また、イミダクロプリド(Sigma-Aldrich) 10、20 μ M(=2,560、5,110 μ g/L)の濃度に 6 日間ばく露したマウス筋芽細胞 C2C12 への影響(ばく露後、インスリン共存下更に 15 分間処理)が検討されている。その結果として、10 μ M(=2,560 μ g/L)以上の濃度区でホスホリル化プロテインキナーゼ B (pAKT)相対発現量、ホスホリル化 p70-S6 キナーゼ(pS6K)相対発現量の低値、20 μ M(=5,110 μ g/L)の濃度区でグルコース吸収量の低値が認められた。なお、プロテインキナーゼ B(AKT)相対発現量には影響は認められなかった。(13847)

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

2. 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、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、生殖細胞への

影響を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表1に示した。

また、本物質については、今後の関連文献数の増加が予想されるため、注視が必要である。

表1 信頼性評価のまとめ

物質名：イミダクロプリド

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(1)生態影響		①Jemec ら(2007) 評価未実施		
		②Pavlaki ら(2011) 評価未実施		
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	③Cardone (2015)	×	—
	視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用	④Pandey と Mohanty (2015)	△*	○P
	一般毒性	⑤Bayer CropScience (2012)	○	×
(2)生殖影響		①Kapoor ら(2011) 評価未実施		
(3)生殖及び甲状腺影響		①Bayer CropScience (2012) 評価未実施		
	視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用	②Bayer CropScience (2012)	△	○P
(4)アロマトーゼ		①Caron-Beaudoin ら(2016) 評価未実施		
(5)生殖細胞への影響	プロスタグランジンD2 産生阻害	①Kugathas ら(2016)	○	○P
(6)グルコース代謝への影響		①Kim ら(2013) 評価未実施		
今後の対応案	動物試験の報告において、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、生殖細胞への影響を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、△*：一部記載が不十分であり、低純度の製品を用いて実施された試験である可能性あり、×：記載が不十分である、—：評価を行わない

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

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

参考文献

- 12542: Jemec A, Tisler T, Drobne D, Sepcic K, Fournier D and Trebse P (2007) Comparative toxicity of imidacloprid, of its commercial liquid formulation and of diazinon to a non-target arthropod, the microcrustacean *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 68 (8), 1408-1418.
- 13855: Pavlaki MD, Pereira R, Loureiro S and Soares AM (2011) Effects of binary mixtures on the life traits of *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74 (1), 99-110.
- 13841: Cardone A (2015) Imidacloprid induces morphological and molecular damages on testis of lizard (*Podarcis sicula*). *Ecotoxicology*, 24 (1), 94-105.
- 13651: Pandey SP and Mohanty B (2015) The neonicotinoid pesticide imidacloprid and the dithiocarbamate fungicide mancozeb disrupt the pituitary-thyroid axis of a wildlife bird. *Chemosphere*, 122, 227-234.
- 13854: Kapoor U, Srivastava MK and Srivastava LP (2011) Toxicological impact of technical imidacloprid on ovarian morphology, hormones and antioxidant enzymes in female rats. *Food and Chemical Toxicology*, 49 (12), 3086-3089.
- 13836: Caron-Beaudoin E, Denison MS and Sanderson JT (2016) Effects of Neonicotinoids on Promoter-Specific Expression and Activity of Aromatase (CYP19) in Human Adrenocortical Carcinoma (H295R) and Primary Umbilical Vein Endothelial (HUVEC) Cells. *Toxicological Sciences*, 149 (1), 134-144.
- 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.
- 13847: Kim J, Park Y, Yoon KS, Clark JM and Park Y (2013) Imidacloprid, a neonicotinoid insecticide, induces insulin resistance. *Journal of Toxicological Sciences*, 38 (5), 655-660.

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 48671402: Banman CS, Alexander TM and Lam CV (2012) Amphibian Metamorphosis Assay with South African Clawed-Frog (*Xenopus laevis*) Exposed to Imidacloprid Technical Under Flow-Through Conditions. Unpublished study performed by Bayer CropScience, Ecotoxicology, Stilwell, Kansas. Laboratory report number EBNTY004. Study sponsored by Bayer CropScience, Research Triangle Park, North Carolina. Study completed March 28, 2012.

USEPA MRID 48671401: Lautraite S (2012) Imidacloprid: Assessment of pubertal development and thyroid function in juvenile/peripubertal male and female rats. Bayer S.A.S., Bayer CropScience, Sophia Antipolis Cedex, France. Laboratory Study Number: SA 11004, April 11, 2012. Unpublished.

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。

※追加 (1)生態影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

- ①Chemtura Corporation (2011)によって、ジクロベニル(Chemtura Corporation とと思われる、99.3%) 19、190、1,900 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度 20、200、2,000 $\mu\text{g/L}$ 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、19 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で到達 NF ステージ(21 日後)の低値、19 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で後肢長(HLL: hind-limb length、21 日後)の高値、1,900 $\mu\text{g/L}$ 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 $\mu\text{L/L}$ 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。

- ②Chemtura Corporation (2011)によって、ジクロベニル(Chemtura Corporation とと思われる、99.3%) 21、210、2,100 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度 21、200、2,000 $\mu\text{g/L}$ に相当)に 21 日間ばく露した成熟雌雄フットヘッドミノー(*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 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄結節スコア(tubercle score)の低値、210 $\mu\text{g/L}$ 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 $\mu\text{g/L}$ 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—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。

※参考 (2)生殖及び甲状腺影響(今回評価対象としなかった EDSP 試験)

②Chemtura Corporation (2011)によって、ジクロベニル(Notox BV、99.3%) 20、60mg/kg/day を 22 日齢から 42 日齢まで経口投与した雌 SD ラットへの影響(Female 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、20mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓相対重量の高値、60mg/kg/day のばく露群で子宮絶対重量(blotted)の低値が認められた。なお、体重、増加体重、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、腎臓絶対及び補正及び相対重量、卵巣絶対及び補正重量、甲状腺絶対及び補正重量、膣開口日、膣発情周期開始日、発情周期、発情周期を有する個体率、正常発情周期を有する個体率、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、甲状腺・卵巣の組織病理学的異常所見率には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48616108)

EDSP では、子宮絶対重量の低値について 21 日齢時の体重で補正すると影響は認められないとの判断を示している。

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

(3)行動影響

①Yoon ら(2005)によって、ジクロベニル(入手先及び純度の記載なし) 25mg/kg/day(設定濃度)に 7～8 週齢から隔日 3 回腹腔内投与した雄 C57BL/J6 マウスへの影響が検討されている。その結果として、嗅ぎ行動頻度、マウンティング行動頻度の低値が認められた。(14268)(×—)

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

(4)エストロゲン作用

①Petit 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)(Δ ○N)

※追加 (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)

①Chemtura 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。

※参考 (6)ステロイド産生影響(今回評価対象としなかった EDSP 試験)

①Chemtura Corporation (2011)によって、ジクロベニル(Chemtura Corporation と思われる、99.3%)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、0.0001 μ M(=0.0172 μ g/L)の濃度区でテストステロン産生量、エストラジオール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 48616110)

EDSP では、影響が不明瞭との判断を示している。

評価未実施の理由：明瞭な影響が認められなかった報告のため

2. 総合的判断(案)

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

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。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 2 に示した。

表 2 信頼性評価のまとめ

物質名：ジクロベニル

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(1)生態影響	視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用	①Chemtura Corporation (2011)	△	○P	○
	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	②Chemtura Corporation (2011)	△	○P	○
(2)生殖及び甲状腺影響		①Chemtura Corporation (2011) 評価未実施			
(3)行動影響	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	①Yoon ら(2005)	×	—	×
(4)エストロゲン作用		①Petit ら(1997)	△	○N	×
(5)アンドロゲン作用又は抗アンドロゲン作用		①Chemtura Corporation (2011)	○	○P	○

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を 検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(6)ステロイド産生影響	①Chemtura Corporation (2011) 評価未実施			
今後の対応案	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—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、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ため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

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

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

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

参考文献

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 のばく露区で胆汁中遊離型テストステロン濃度の高値、0.01 μ g/L のばく露区で胆汁中遊離型 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、胆汁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、胆汁中遊離型 11-ケトテストステロン濃度、胆汁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 ○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

- 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(F₀)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 F₀ 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)、F₁ 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 *erb1* 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 *erb2* 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—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)(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、ステロイドホルモン産生への影響

- ⑨Singh と Singh (2008)によって、シペルメトリン(Hindustan Insecticide Ltd, technical grade, 94%) 20 μ g/L (設定濃度)に産卵前期にて 45 日間ばく露した雌雄ナマズ目の一種(*Heteropneustes fossilis*)への影響が検討されている。その結果として、雌雄生殖腺体指数、雄血漿中 11-ケトテストステロン濃度、雌血漿中 17 β -エストラジオール濃度、雄精子試験における運動精子率の低値が認められた。(14342)(\times —)

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

※追加 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 とおぼ

れる、95.2%) 0.0019、0.0109、0.0867 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度 0.003、0.03、0.3 $\mu\text{g/L}$ 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、0.0867 $\mu\text{g/L}$ 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。

⑩ Syngenta (2012)によって、シペルメトリン(CAS 52315-07-8、Syngenta とと思われる、95.2%) 0.013、0.12、1.4 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度 0.03、0.3、3.0 $\mu\text{g/L}$ 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、0.12 $\mu\text{g/L}$ 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 $\mu\text{g/L}$ 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 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—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。

(2)生殖影響

⑪ Jin 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* 、*Srebp1c*、*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

⑫ Wang 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、精巢中過酸化脂質濃度、精巢中活性酸素種(NO)濃度、精巢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：精巢毒性

- 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—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、精巢絶対重量、精巢上体絶対重量、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、精巢中グルタチオン濃度、精巢中スーパーオキシドディスムターゼ比活性、精巢中カタラーゼ比活性、精巢中グルタチオンペルオキシダーゼ比活性、精巢中グルタチオンSトランスフェラーゼ比活性の低値、形態異常精子率、精巢中過酸化脂質濃度、精巢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—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、精巢絶対重量、精巢上体絶対重量、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、精巢中グルタチオン濃度、精巢中カタラーゼ比活性、精巢中スーパーオキシドディスムターゼ比活性、精巢中グルタチオンペルオキシダーゼ比活性、精巢中グルタチオンレダクターゼ比活性、精巢中グルタチオンSトランスフェラーゼ比活性、精巢中総蛋白質濃度の低値、形態異常精子率、精巢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、5mg/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(精巢中では影響なし)、10mg/kg/day以上のばく露群で肝臓中総抗酸化活性、精巢中テストステロン合成関連遺伝子* (P450 17 α) 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のばく露群で精巢中テストステロン濃度、精巢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

スル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、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、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—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**** (*PPARα*)相対発現量、肝臓中脂質酸化関連遺伝子***** (*Ucp2* 及び *Hsd*) 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 α* 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—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)($\Delta\times$)

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_{sec} mRNA 及び蛋白質相対発現量、P450_{17 α} mRNA 相対発現量、17 β -HSD mRNA 相対発現量の低値、17 β -HSD 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_{17 α} 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)(Δ ○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

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_{scc} mRNA 及び蛋白質相対発現量、精巣中 17β-HSD 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—下垂体—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

※参考 (3)神経行動影響(今回評価対象としなかった文献)

①Gómez-Giménez ら(2017)によって、αシペルメトリン(Sigma-Aldrich、PESTANAL® 45806) 1.5mg/kg/day を妊娠 7 日目から出産後 21 日目経口投与した Wistar ラットへの影響(2~3 ヶ月齢仔動物)が検討されている。その結果として、Morris 水迷路試験における雌雄の逃避行動潜時、八方向放射状迷路試験における雄の誤行動(walking errors)回数、八方向放射状迷路試験における雄の学習指数、雄海馬中神経伝達物質受容体(GLUR1、NR2B)濃度の低値、八方向放射状迷路試験における雄の誤行動(reference errors)回数、雄海馬中前及び抗炎症サイトカイン(IL-1β)濃度、雌海馬中前及び抗炎症サイトカイン(IL-10)濃度の高値が認められた。なお、Morris 水迷路試験における雌雄の正解四分画区間滞在時間には影響は認められなかった。(14274)

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

②Singh ら(2016)によって、シペルメトリン(technical grade、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成長ホルモン濃度、学習能力試験における能動的回避応答(active avoidance response)、空間記憶力試験における continuous alternations、小脳中神経伝達物質合成律速酵素 GAD67 mRNA 及び蛋白質相対発現量、

海馬中神経伝達物質合成律速酵素 ChAT mRNA 及び蛋白質相対発現量、線条体中神経伝達物質合成律速酵素 TH mRNA 及び蛋白質相対発現量、前頭葉中神経伝達物質合成律速酵素 TPH mRNA 及び蛋白質相対発現量の低値、脳中(小脳、海馬、視床下部及び嗅葉) CYP1A/1A2 mRNA 相対発現量、脳中(小脳、海馬及び視床下部) CYP2B1/2B2 mRNA 相対発現量、脳中(小脳、海馬、視床下部及び嗅葉) CYP2E1 mRNA 相対発現量の高値が認められた。(14292)

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

- ③Singh ら(2015)によって、シペルメトリン(technical grade、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 以上のばく露群で小脳中神経伝達物質受容体 GABA_{Aα1} mRNA 及び蛋白質相対発現量、海馬中神経伝達物質受容体 CHRM2 mRNA 及び蛋白質相対発現量、線条体中神経伝達物質受容体 DA-D2 mRNA 及び蛋白質相対発現量、前頭葉中神経伝達物質受容体 5-HT_{2A} mRNA 及び蛋白質相対発現量の低値、脳中(小脳、海馬、視床下部、前頭葉及び線条体) CYP3A1 mRNA 相対発現量、脳中(小脳、海馬、視床下部、前頭葉、線条体及び嗅葉) CYP2D1 mRNA 相対発現量の高値が認められた。(14293)

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

- ④Tiwari ら(2010)によって、シペルメトリン(Sigma-Aldrich) 15mg/kg/day を19日+2ヶ月齢から12週間(週2日)腹腔内投与した雄 Wistar ラットへの影響(中脳黒質線条体について試験)が検討されている。その結果として、小胞モノアミントランスポーター(VMAT 2) mRNA 及び蛋白質相対発現量の低値、CYP2E1 mRNA 及び蛋白質相対発現量、CYP2E1 比活性、グルタチオン-Sトランスフェラーゼ(GST A4-4) mRNA 及び蛋白質相対発現量、過酸化脂質濃度の高値が認められた。なお、グルタチオン-Sトランスフェラーゼ(GST Ya) mRNA 相対発現量、グルタチオン-Sトランスフェラーゼ(GST Yc) mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(14331)

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

※参考 (4)免疫影響(今回評価対象としなかった文献)

- ①Madsen ら(1996)によって、 α -シペルメトリン(CAS 67375-30-8、Dr. Ehrenstorfer、99%) 4、8、12mg/kg/day を28日間経口投与した4週齢以後から雄 F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、12mg/kg/day のばく露群で副腎相対重量の高値が認められた。なお、体重、脾臓絶対及び相対重量、脾臓抗体産生能(SRBC-PFC)、骨髄中ナチュラルキラー細胞活性には影響は認められなかった。(14360)

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

- ②Santoni ら(1999)によって、シペルメトリン(NRDC 149、Dr. S Activa、92.4%、*trans:cis* = 62.8:37.2) 50mg/kg/day を妊娠7日目から妊娠16日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響(2~90日齢仔動物)が検討されている。その結果として、脾臓中リンパ増殖率(30~90日齢、コンカナバリン A 又は遺伝子組み換えヒトインターロイキン 2 誘導性)の低値、血清中ノルアドレナリン濃度(15~60日齢)、血清中アドレナリン濃度(60~90日齢)、末梢血中リンパ増殖率(30~90日齢、コンカナバリン A 又は遺伝子組み換えヒトインターロイキン 2 誘導性)が認められた。なお、末梢血及び脾臓中 T 細胞サブセット(CD 4⁺, 5⁺, 8⁺)濃度には影響は認められなかった。(4198)

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

③Santoni ら(1998)によって、シペルメトリン(NRDC 149, Dr. S Activa, 92.4%, *trans:cis* = 62.8:37.2) 50mg/kg/day を妊娠 7 日目から妊娠 16 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響(15~90 日齢仔動物)が検討されている。その結果として、脾臓細胞数、脾臓中リンパ増殖率(コンカナバリン A 又は遺伝子組み換えヒトインターロイキン 2 誘導性)、脾臓中インターロイキン 2 分泌濃度(コンカナバリン A 誘導性)、脾臓中 T 細胞サブセット(CD 4+)濃度、脾臓中 T 細胞サブセット(CD 8+)濃度の低値が認められた。(4200)

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

(5)エストロゲン作用

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)(〇〇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)(〇〇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)(○ \circ 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 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)(Δ ○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)(○ \circ N)

※参考 エストロゲン作用(今回評価対象としなかった文献)

⑦Kim ら(2004)によって、シペルメトリン(Chem Service) 10 μ M(=4,160 μ g/L)までの濃度に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。(8785)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

⑧Saito ら(2000)によって、シペルメトリン(住友化学、93%) 10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度に40時間ば
く露したヒト子宮頸がん細胞 HeLa (ヒトエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーターアッセイ
(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討
されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

また、シペルメトリン(住友化学、93%) 10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度に40時間ばく露した酵母(ヒト
エストロゲン受容体 α リガンド結合ドメインを発現)によるレポーターアッセイ(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。(4196)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

(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 エストロジオール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 エストロジオール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 エストロジオール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 エストロジオール1 nM 共存下)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)

※参考 抗エストロゲン作用(今回評価対象としなかった文献)

④Kim ら(2004)によって、シペルメトリン(Chem Service)1 μ M(=416 μ g/L)の濃度に6日間ばく露(17 β エストロジオール0.01又は0.1nM 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)が検討されているが、細胞増殖誘導の阻害は認められなかった。(8785)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

⑤Saito ら(2000)によって、シペルメトリン(住友化学、93%)10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度に40時間ばく露(17 β エストロジオール0.1nM 共存下)したヒト子宮頸がん細胞 HeLa (ヒトエストロゲン受容体 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。

また、シペルメトリン(住友化学、93%)10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度に40時間ばく露(17 β エストロジオール10.1nM 共存下)した酵母(ヒトエストロゲン受容体 α リガンド結合ドメインを発現)によるレポーターアッセイ(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の阻害は認められなかった。

また、シペルメトリン(住友化学、93%)0.01、0.1、1.0、10 μ M(=4.16、41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度でヒトエストロゲン受容体 α による17 β エストロ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が、結合阻害は認められなかった。(4196)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

(7) アンドロゲン作用

- ① Kjeldsen 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巣細胞 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)
- ② Hu 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)
- ③ Du 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)
- ④ Xu 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)
- ⑤ Sun 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

- ① Du 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)
- ② Zhang 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週齢で精巣摘出処置)への影響(Hershberger 試験)が検討されている。その結果として、精囊絶対重量、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(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)(△○P)

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巣細胞 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)(○○N)

(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(5 α -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)(\circ 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、 $10\mu\text{M}(=4,160\mu\text{g/L})$ 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)(○○P)

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

① Ghisari ら(2015)によって、シペルメトリン(Sigma-Aldrich、52315-07-8、95%) $0.0001\sim 50\mu\text{M}(=0.0416\sim 20,800\mu\text{g/L})$ 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、 $5\mu\text{M}(=2,080\mu\text{g/L})$ 以上の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。(13650)(△○P)

※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。

② Du ら(2010)によって、シペルメトリン(Dr. Ehrenstorfer-Schäfer、92%) $0.001、0.01、0.1、1、10\mu\text{M}(=0.416、4.16、41.6、416、4,160\mu\text{g/L})$ 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

① Du ら(2010)によって、シペルメトリン(Dr. Ehrenstorfer-Schäfer、92%) $0.001、0.01、0.1、1、10\mu\text{M}(=0.416、4.16、41.6、416、4,160\mu\text{g/L})$ の濃度に24時間ばく露(トリヨードサイロニン 5nM 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、 $10\mu\text{M}(=4,160\mu\text{g/L})$ 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)

② Ghisari ら(2015)によって、シペルメトリン(Sigma-Aldrich、52315-07-8、95%) $0.0001\sim 50\mu\text{M}(=0.0416\sim 20,800\mu\text{g/L})$ 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、 $50\mu\text{M}(=20,800\mu\text{g/L})$ 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)

※参考 (12)プロゲステロン作用(今回評価対象としなかった文献)

① Sumida ら(2001)によって、シペルメトリン(住友化学、93%) $10\mu\text{M}(=4,160\mu\text{g/L})$ の濃度に28時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D (ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(プロゲステロン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

また、シペルメトリン(住友化学、93%) $10\mu\text{M}(=4,160\mu\text{g/L})$ の濃度に4時間ばく露した酵母(ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(プロゲステロン応答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。(8787)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

※参考 (13)抗プロゲステロン作用(今回評価対象としなかった文献)

①Sumida ら(2001)によって、シペルメトリン(住友化学、93%) 10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度に 28 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D (ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(プロゲステロン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

また、シペルメトリン(住友化学、93%) 10 μ M(=4,160 μ g/L)の濃度に 4 時間ばく露(プロゲステロン 1 nM 共存下)した酵母(ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(プロゲステロン応答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。

また、シペルメトリン(住友化学、93%) 0.001、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.416、4.16、41.6、416、4,160 μ g/L)の濃度でヒトプロゲステロン受容体(intact ヒト乳がん細胞 T47D を使用)による標識プロゲステロン 3 nM に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されているが、結合阻害は認められなかった。(8787)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

(14)グルココルチコイド作用

① Zhang 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-K1 (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)(Δ ○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-K1 (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)(Δ ○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)($\circ\circ$ N)
想定される作用メカニズム：不明

※追加 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)($\circ\circ$ 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

- ① Kugathas 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)(○OP)

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

- ① Song 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)(○?)

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。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 3 に示した。

表3 信頼性評価のまとめ

物質名：シペルメトリン

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(1) 生態影響	不明	①Kim ら(2008)	△	?	—
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	②Moore と Waring (2001)	△	○P	○
	不明	③Martinez-Jeronimo ら(2013)	△	?	—
	不明	④Barata ら(2002)	△	?	—
	不明	⑤Gottardi ら(2017)	△	?	—
	不明	⑥Shen ら(2012)	△	?	—
	エストロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	⑦Guo ら(2017)	△	○P	○
	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	⑧Jaensson ら(2007)	△	○P	○
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	⑨Singh と Singh (2008)	×	—	×
	一般毒性	⑩Syngenta (2012)	○	×	×
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	⑪Syngenta Crop Protection (2012)	△	○P	○
(2) 生殖影響	不明	①Jin ら(2014)	○	?	—
	精巢毒性	②Wang ら(2009)	○	×	×
	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	③Singh ら(2013)	△	○P	○
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	④Sharma ら(2014)	△	○P	○
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	⑤Sharma ら(2013)	△	○P	○
	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	⑥Jin ら(2011)	△	○P	○
	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	⑦Hu ら(2013)	○	○P	○
	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	⑧Li ら(2013)	○	○P	○
	不明	⑨Jin ら(2015)	○	?	—

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用	⑩Alaa-Eldin ら(2017)	○	○P	○
アンドロゲン受容体への作用、精巣毒性	⑪Liu ら(2010)	○	○P	○
一般毒性	⑫Yousef ら(2003)	△*	×	×
視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用	⑬Wang ら(2011)	△	○P	○
視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用	⑭Wang ら(2010)	△	○P	○
視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用、生殖毒性作用	⑮Elbetieha ら(2001)	△	○P	○
(3)神経行動影響	①Gómez-Giménez ら(2017) 評価未実施			
	②Singh ら(2016) 評価未実施			
	③Singh ら(2015) 評価未実施			
	④Tiwari ら(2010) 評価未実施			
(4)免疫影響	①Madsen ら(1996) 評価未実施			
	②Santoni ら(1999) 評価未実施			
	③Santoni ら(1998) 評価未実施			
(5)エストロゲン作用	①Jin ら(2010)	○	○P	○
	②Chen ら(2002)	○	○P	○
	③Sun ら(2014)	○	○P	○
	④Kjeldsen ら(2013)	○	○P	○
	⑤Kim ら(2015)	△	○P	○
	⑥Du ら(2010)	○	○N	×
	⑦Kim ら(2004) 評価未実施			
	⑧Saito ら(2000) 評価未実施			
(6)抗エストロゲン作用	①Sun ら(2014)	○	○N	×
	②Kjeldsen ら(2013)	○	○N	×
	③Du ら(2010)	○	○N	×
	④Kim ら(2004) 評価未実施			

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
	⑤Saito ら(2000)			
(7)アンドロゲン作用	①Kjeldsen ら(2013)	○	○N	×
	②Hu ら(2012)	△	○N	×
	③Du ら(2010)	○	○N	×
	④Xu ら(2008)	△	○N	×
	⑤Sun ら(2007)	△	○N	×
(8)抗アンドロゲン作用	①Du ら(2010)	○	○P	○
	②Zhang ら(2008)	△	○P	○
	③Hu ら(2012)	△	○P	○
	④Xu ら(2008)	△	○P	○
	⑤Sun ら(2007)	△	○P	○
	⑥Kjeldsen ら(2013)	○	○N	×
(9) 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抑制作用	①Wang ら(2016)	△	○P	○
	②Wang ら(2015)	△	○P	○
	③Pan ら(2013)	○	○P	○
	④Pan ら(2012)	○	○P	○
(10)甲状腺ホルモン作用	①Ghisari ら(2015)	△	○P	○
	②Du ら(2010)	○	○N	×
(11)抗甲状腺ホルモン作用	①Du ら(2010)	○	○P	○
	②Ghisari ら(2015)	△	○P	○
(12)プロゲステロン作用	①Sumida ら(2001)			
(13)抗プロゲステロン作用	①Sumida ら(2001)			
(14)グルココルチコイド作用	①Zhang ら(2016)	△	○N	×
(15)抗グルココルチコイド作用	①Zhang ら(2016)	△	○P	○
(16)ステロイド産生影響	①Taxvig ら(2013)	△	○P	○

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
	アロマターゼ作用	②Laville ら(2006)	△	○P	○
	不明	③Gill ら(2011)	△	?	—
	不明	④Kjeldsen ら(2013)	○	○N	×
	エストラジオール産生促進	⑤FRC Corporation (2012)	○	○P	○
(17)プロスタグランジン産生影響	プロスタグランジンD2産生阻害	①Kugathas ら(2016)	○	○P	○
(18)精子への影響		①Song ら(2008)	○	?	—
今後の対応案	動物試験の報告において、エストロゲン様作用、抗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ため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。				

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

参考文献

- 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*

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, Hinfray N, Casellas C, Porcher JM and Ait-Aissa S (2006) Modulation of aromatase activity and mRNA by various selected pesticides in the human choriocarcinoma JEG-3 cell line. *Toxicology*, 228 (1), 98-108.

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

①Ginjupalli 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 $\mu\text{g/L}$ (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 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で総産仔数、雌総産仔数の低値、0.05 $\mu\text{g/L}$ 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： $\Delta\circ\text{P}$)

想定される作用メカニズム：幼若ホルモン様作用

② LeBlanc ら (2013) によって、ピリプロキシフェン (Chem Service, 99%) 0.000084 ~ 0.00062 μM (=0.027~0.20 $\mu\text{g/L}$)(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 μM (=0.027 $\mu\text{g/L}$)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低値、0.00056 μM (=0.18 $\mu\text{g/L}$)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 μM (=0.071 $\mu\text{g/L}$)(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 μM (=0.027~0.20 $\mu\text{g/L}$)(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、 EC_{50} 値 0.00022 μM (=0.071 $\mu\text{g/L}$)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)($\Delta\circ\text{P}$)

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 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 24 時間未満齢から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響が検討されている。その結果として、0.037 $\mu\text{g/L}$ 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 $\mu\text{g/L}$ (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)($\Delta\circ\text{P}$)

想定される作用メカニズム：幼若ホルモン様作用

④Ginjupalli 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)(Δ OP)

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)(Δ OP)

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)(Δ OP)

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

⑦Mu 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)(Δ OP)

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 μM (=0.001、0.005、0.025、0.096 $\mu\text{g/L}$)(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 μM (=0.096 $\mu\text{g/L}$)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 μM (=0.0032～0.32 $\mu\text{g/L}$)(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 0.00031μM(=0.1μg/L)の濃度で新生仔雄性比の高値が認められた。(14378)(△○P)

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、10μg/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 μg/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)(△○P)

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) 0.0156μM(= 5 μg/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)(△○P)

想定される作用メカニズム：幼若ホルモン様作用

- ⑪Trayler と Davis (1996)によって、ピリプロキシフェン(Welcome Australia、96.6%) 10μg/L (設定濃度)に 12 時間未満齢から 14 日間ばく露したミジンコの一種(*Daphnia carinata*)への影響が検討されている。その結果として、総産仔数、体長の低値が認められた。なお、生存率には影響は認められなかった。(14381)(×—)

想定される作用メカニズム：不明

- ⑫Tuberty と McKenney (2005)によって、ピリプロキシフェン(USEPA) 10μg/L (設定濃度)に 12 時間未満齢から後期幼生(postlarvae)までばく露したテナガエビ科の一種(*Palaemonetes pugio*)への影響が検討されている。その結果として総エクダイソン濃度(4 令幼生、後期幼生)、非極性抱合型エクダイソン濃度(4 令幼生)、極性抱合型エクダイソン濃度(4 令幼生)の低値、遊離エクダイソン濃度(2 令幼生)、乾燥重量(4 令幼生)の高値、後期幼生に至るまでの所要日数の遅延が認められた。なお、5 令幼生に至るまでの生存率には影響は認められなかった。

また、ピリプロキシフェン(USEPA) 10μg/L (設定濃度)に 12 時間未満齢から稚ガニ(1st crab)までばく露したミナトオオギガニ(*Rhithropanopeus harrisi*)への影響が検討されている。その結果として孵総エクダイソン濃度(2 令ゾエア)、遊離エクダイソン濃度(2 令ゾエア)の高値、孵化から稚ガニに至るまでの所要日数、ゾエア幼生からメガロパ幼生に至るまでの所要日数の遅延が認められた。なお、乾燥重量(1 令ゾエア、2 令ゾエア、3 令ゾエア、稚ガニ)、メガロパ幼生に至るまでの生存率、メガロパ幼生から稚ガニに至るまでの所要日数、非極性抱合型エクダイソン濃度、極性抱合型エクダイソン濃度には影響は認められなかった。(14375)(×—)

想定される作用メカニズム：脱皮ホルモン濃度への影響

※追加 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、173μg/L(測定濃度)(設定濃度 3、30、300μg/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 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で後肢長(HLL: hind-limb length、7日後)の低値、173 $\mu\text{g/L}$ 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)($\Delta\times$)

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。

⑭ Valent 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 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度 3、30、300 $\mu\text{g/L}$ 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 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄結節スコア(tubercle score)の低値、110 $\mu\text{g/L}$ 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)($\Delta\times$)

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 $\mu\text{L/L}$ 使用)との比較も実施している点に注意を要する。

※追加 (2)生殖及び甲状腺影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

① Valent 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、1,000 mg/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、500 mg/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、1,000 mg/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ニン濃度、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)($\Delta\times$)

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)(Δ OP)

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)(O?)

*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)(OOP)

(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)(Δ ON)

(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)(Δ OP)

※追加 (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)(〇〇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。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表4に示した。

表4 信頼性評価のまとめ

物質名：ピリプロキシフェン

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(1)生態影響	幼若ホルモン様作用	①Ginjupalli と Baldwin (2013)	△	〇P	○
	幼若ホルモン様作用	②LeBlanc ら(2013)	△	〇P	○
	幼若ホルモン様作用	③Tatarazako ら(2003)	△	〇P	○
	幼若ホルモン様作用	④Ginjupalli ら(2015)	△	〇P	○
	幼若ホルモン様作用	⑤Matsumoto ら(2008)	△	〇P	○
	幼若ホルモン様作用、脱皮ホルモン様作用、脂肪蓄積作用	⑥Jordao ら(2016)	△	〇P	○
	幼若ホルモン様作用	⑦Mu と LeBlanc (2004)	△	〇P	○
	幼若ホルモン様作用	⑧Olmstead と LeBlanc (2003)	△	〇P	○
	幼若ホルモン様作用	⑨Oda ら(2006)	△	〇P	○
	幼若ホルモン様作用	⑩Tokishita ら(2006)	△	〇P	○

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
	不明	⑪Trayler と Davis (1996)	×	—	×
	脱皮ホルモン濃度への影響	⑫Tuberty と McKenney (2005)	×	—	×
	一般毒性	⑬Valent Corporation (2012)	△	×	×
	不明	⑭Valent Corporation (2012)	△	×	×
(2)生殖及び甲状腺影響	一般毒性	①Valent Corporation (2012)	△	×	×
(3)エストロゲン作用		①Kojima ら(2005)	△	○P	○
		②Manabe ら(2006)	○	?	—
(4)幼若ホルモン作用		①LeBlanc ら(2013)	△	○P	○
(5)脱皮ホルモン作用		②Mu と LeBlanc (2004)	△	○N	×
(6)抗脱皮ホルモン作用		①Mu と LeBlanc (2004)	△	○P	○
(7)ステロイド産生影響	エストラジオール産生促進、テストステロン産生促進	①Sumitomo Chemical Company 及び Valent U.S.A. Corporation (2011)	○	○P	○
今後の対応案		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ため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

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

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

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

参考文献

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. σ 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

σ 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、 σ 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。

※追加 (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、 σ 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、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。

②OPP EDSP Consortium (2011)によって、 σ フェニルフェノール(LANXESS Corporation とと思われる、99.9%) 17.5、67.3、352、1,920 μ g/L(測定濃度)(設定濃度 24、120、600、3,000 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、1,920 μ g/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。

※追加 (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、 σ 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。

※参考 (3)発達影響(今回評価対象としなかった文献)

- ①John ら(1981)によって、 σ フェニルフェノール(DOWINCIDE[®]、Dow Chemical、99.69%) 100、300、700mg/kg/day を妊娠6日目から妊娠15日目まで経口投与したラットへの影響が検討されている。その結果として、700mg/kg/day のばく露群で母動物肝臓絶対重量の低値、胎仔骨格変化率の高値が認められた。なお、母動物増加体重、同腹着床部位数、同腹生存胎仔数、同腹吸収胚数、胎仔体重、胎仔頭臀長、胎仔性比、胎仔外表変化率、胎仔柔組織変化率には影響は認められなかった。(14384)

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

(4)エストロゲン作用

- 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、ピテロゲニン 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 $\mu\text{g/L}$)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)($\bigcirc\bigcirc\text{N}$)

- ④Kojima ら(2005)によって、 σ フェニルフェノール(99%)0.1~100 μM (=17.2~172,00 $\mu\text{g/L}$)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)($\Delta\bigcirc\text{N}$)

※参考 エストロゲン作用(今回評価対象としなかった文献)

- ⑤Rehmann ら(1999)によって、 σ フェニルフェノール 0.01、10、1,000 μM (=1.70、1,700、170,000 $\mu\text{g/L}$)の濃度に2時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体のホルモン結合ドメインを発現)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。(873)
評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

※追加 (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 μM (=0.0170~170,000 $\mu\text{g/L}$)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 μM (=109,000 $\mu\text{g/L}$ 、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)($\bigcirc\bigcirc\text{P}$)

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。

※参考 (6)抗エストロゲン作用(今回評価対象としなかった文献)

- ①Blair ら(2000)によって、 σ フェニルフェノール 100 μM (=170 $\mu\text{g/L}$)までの濃度に20時間ばく露した成熟雌 SD ラット由来子宮サイトゾル(ラットエストロゲン受容体を含有)による 17 β 標識エストラジオール 1 nM に対する結合阻害(競合結合)試験が検討されているが、結合阻害は認められなかった。(14411)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

(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 μM (=8,500 $\mu\text{g/L}$)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)($\Delta\bigcirc\text{N}$)

※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)。

- ② Krüger 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)の濃度に基づ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)

※追加 (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)

- ① OPP 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

- ① Orton 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 ○P)

※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)。

- ② Krüger 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)の濃度に基づく露(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 ○P)

※追加 (10)ステロイド産生影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

- ① OPP 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)(○●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。

※追加 (11)アロマトラーゼ活性への作用(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)の濃度でアロマトラーゼ(CYP19)酵素活性(標識 17 β アンドロステ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)(〇〇P)
想定される作用メカニズム：アロマトラーゼ活性阻害
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、アロマトラーゼ活性阻害を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表5に示した。

表5 信頼性評価のまとめ

物質名： σ フェニルフェノール

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(1)生態影響	①OPP EDSP Consortium (2011)	○	?	—
	②OPP EDSP Consortium (2011)	○	×	×
(2)生殖及び甲状腺影響	①OPP EDSP Consortium (2011)	○	?	—
(3)発達影響	①John ら(1981) 評価未実施			
(4)エストロゲン作用	①Petit ら(1997)	△	〇P	○
	②Routledge と Sumpter (1997)	×	—	×
	③Manabe ら(2006)	○	〇N	×
	④Kojima ら(2005)	○	〇N	×

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
	⑤Rehmann ら(1999) 評価未実施			
(5)エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用	①OPP EDSP Consortium (2012)	○	○P	○
(6)抗エストロゲン作用	①Blair ら(2000) 評価未実施			
(7)アンドロゲン作用	①Orton ら(2011)	△	○N	×
	②Krüger ら(2008)	△	○N	×
(8)アンドロゲン作用又は抗エストロゲン作用	①OPP EDSP Consortium (2012)	○	○P	○
(9)抗アンドロゲン作用	①Orton ら(2011)	△	○P	○
	②Krüger ら(2008)	△	○P	○
(10)ステロイド産生影響	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 ①OPP EDSP Consortium (2012)	○	○P	○
(11)アロマターゼ活性への作用	アロマターゼ活性阻害 ①OPP EDSP Consortium (2012)	○	○P	○
今後の対応案	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ため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

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

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

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

参考文献

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 CrI: 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 $\mu\text{g/L}$ (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 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で孵化率(受精後 72 時間)の低値、2,160 $\mu\text{g/L}$ 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 $\mu\text{g/L}$ 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: $\Delta\times$)
想定される作用メカニズム: 一般毒性

※追加 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 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度 15、150、1,500 $\mu\text{g/L}$ 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、15 $\mu\text{g/L}$ 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 $\mu\text{g/L}$ 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)($\Delta\times$)
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 $\mu\text{L/L}$ 使用)との比較も実施している点に注意を要する。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 OP)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、視床下部—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)(Δ OP)

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—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、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表6に示した。

表6 信頼性評価のまとめ

物質名：フルトラニル

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(1)生態影響	一般毒性	①Yang ら(2016)	△	×	×
	不明	②日本農薬株式会社(2011)	△	×	×
	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	③日本農薬株式会社(2011)	△	○P	○
(2)エストロゲン作用	①Oh ら(2007)	△	○P	○	
今後の対応案	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ため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。				

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

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

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

参考文献

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.

Ⅶ. プロパルギット

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

プロパルギットの内分泌かく乱作用に関連する報告は得られなかったため、米国環境保護庁が公表している EDSP での検討結果を参照した。

なお、EDSP においては、プロパルギットについて甲状腺ホルモン様作用または抗甲状腺ホルモン様作用を確認するために幼生期両生類成長発達試験 LAGDA を実施する対象物質としている。

※追加 (1)生態影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

①Chemtura Corporation (2011)によって、プロパルギッド(Chemtura Corporation と思われる、89.1%) 0.088、0.87、8.7 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度 0.08、0.8、8 $\mu\text{g/L}$ 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、0.088 $\mu\text{g/L}$ 以上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(21 日後)、0.088、0.87 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で体重(7 日後)の高値、0.088 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で体長(SVL: snout-vent length、7 日後)の高値、8.7 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で後肢長(HLL: hind-limb length、7、21 日後)の低値が認められた。なお、到達 NF ステージ(7、21 日後)、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(21 日後)における所見には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48618901)(評価結果の略号: ○○P)

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

EDSP では、甲状腺経路への影響が認められるとの判断を示している。

②Chemtura Corporation (2011)によって、プロパルギッド(Chemtura Corporation と思われる、89.1%) 0.2、1.8、18 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度 0.2、2、20 $\mu\text{g/L}$ 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、0.2、18 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌体重の高値、0.2 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌生殖腺体指数の低値、18 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雌血漿中ビテロゲニン濃度の高値、雌生殖腺発達ステージの遅延が認められた。なお、雌雄生存率、雌雄結節スコア(tubercle score)、雌体重、雌体長、雄生殖腺体指数、雄血漿中ビテロゲニン濃度、成熟卵胞閉塞率、産卵数、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 48618906)(Δ ?)

想定される作用メカニズム: 不明

EDSP では、認められた影響は限定的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(溶媒としてアセトン 13 $\mu\text{L/L}$ 使用)との比較も実施している点に注意を要する。

※追加 (2)生殖及び甲状腺影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

①Chemtura Corporation (2011)によって、プロパルギッド(Chemtura Corporation、89.1%) 62.5、125 mg/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、62.5 mg/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、血清中総サイロキシン濃度、下垂体相対重量、腎臓相対重量、甲状腺・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、125mg/kg/day のばく露群で体重、増加体重、肝臓絶対及び補正重量、副腎絶対及び補正重量、精嚢＋凝固腺絶対及び補正重量(内容液重量を含む)、精嚢＋凝固腺絶対重量(内容液重量含まず)、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、肛門挙筋＋球海綿体筋絶対重量、甲状腺絶対及び補正重量の低値、包皮分離開始日の遅延が認められた。なお、臨床的兆候、左右精巣上体絶対及び補正重量、左右精巣絶対及び補正重量、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48618908)(○?)

想定される作用メカニズム：一般毒性

EDSP では、甲状腺経路への影響を示す科学的根拠があるとの判断を示している。アンドロゲン経路への影響は認められないとの判断を示している。

②Chemtura Corporation (2011)によって、プロパルギッド(Chemtura Corporation と思われる、89.1%) 62.5、125mg/kg/day を 22 日齢から 42 日齢まで経口投与した雌 SD ラットへの影響(Female 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、62.5mg/kg/day 以上のばく露群で下垂体絶対及び補正重量の低値、腎臓相対重量、甲状腺・卵巣の組織病理学的異常所見率の高値、125mg/kg/day のばく露群で体重、増加体重、子宮絶対及び補正重量(blotted)、子宮絶対重量(wet)、卵巣絶対及び補正重量、黄体数の低値、肝臓相対重量、血清中総サイロキシン濃度、小型卵胞数、卵胞嚢胞数、子宮の組織病理学的異常所見率の高値、膣開口日、膣発情周期開始日の遅延が認められた。なお、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、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、発情周期、発情周期又は正常発情周期を有する個体率、腎臓の組織病理学的異常所見率には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48618908)(○?)

想定される作用メカニズム：一般毒性

EDSP では、甲状腺経路への影響が認められるが、エストロゲン経路への影響は認められないとの判断を示している。

※追加 (3)抗アンドロゲン作用(今回評価対象とする EDSP 試験)

①Chemtura Corporation (2011)によって、プロパルギッド(Chemtura Corporation、89.1%) 15、47、150mg/kg/day を 56～57 日齢から 10 日間日経口投与(及びテストステロンプロピオネート 0.4mg/kg/day を皮下投与)した雄 SD ラット(42 日齢で精巣摘出处置)への影響(Hershberger 試験)が検討されている。その結果として、15mg/kg/day 以上のばく露群で前立腺腹葉絶対重量、肛門挙筋＋球海綿体筋絶対重量の低値、47mg/kg/day 以上のばく露群で増加体重の低値、150mg/kg/day のばく露群で体重、精嚢絶対重量の低値が認められた。なお、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。

また、Chemtura Corporation (2011)によって、プロパルギッド(Chemtura Corporation、89.1%) 47、150mg/kg/day を 56～57 日齢から 10 日間日経口投与した雄 SD ラット(42 日齢で精巣摘出处置)への影響(Hershberger 試験)が検討されている。その結果として、150mg/kg/day のばく露群で体重、増加体重の低値が認められた。なお、精嚢絶対重量、前立腺腹葉絶対重量、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。(USEPA MRID 48618907)(△○P)

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン作用

EDSP では、高濃度群以外では抗アンドロゲン作用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、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表7に示した。

表7 信頼性評価のまとめ

物質名：プロパルギット

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(1)生態影響	抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	①Chemtura Corporation (2011)	○	○P	○
	不明	②Chemtura Corporation (2011)	△	?	—
(2)生殖及び甲状腺影響	一般毒性	①Chemtura Corporation (2011)	○	?	—
	一般毒性	①Chemtura Corporation (2011)	○	?	—
(3)抗アンドロゲン作用		①Chemtura Corporation (2011)	△	○P	○
今後の対応案	動物試験の報告において、抗アンドロゲン作用、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。				

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

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

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

参考文献

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 48618901: Lee M (2011) Endocrine Disruptor Screening Program - Amphibian Metamorphosis Assay with African Clawed Frog (*Xenopus laevis*) for Propargite. Unpublished study prepared by Smithers Viscient. Laboratory Project ID No. 41.6201. Study sponsored by Chemtura Corporation, Middlebury, CT 06749. Study completed October 25, 2011.

USEPA MRID 48618906: York DO (2011) Short-term Reproduction Assay with the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*), for Propargite Performed by Smithers Viscient (formerly Springborn Smithers Laboratories), Wareham, Massachusetts, Submitted by Chemtura Corporation. Study No.: 41.6202, October 27, 2011.

USEPA MRID 48618908: Davis JP (2011) Pubertal Development and Thyroid Function in Intact Juvenile/Peripubertal Female and Male Rats for Propargite. Integrated Laboratory Systems, Inc., Durham, NC. Laboratory Study No.: C187-300, October 26, 2011. Unpublished.

USEPA MRID 48618907: Davis J (2011) The Hershberger bioassay for propargite. Integrated Laboratory Systems, Inc., Durham, NC. Laboratory Project Study ID: C187-200, October 5, 2011. Unpublished.

VIII. プロピザミド

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

プロピザミド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、抗アンドロゲン作用、ステロイド産生影響及びステロイド代謝酵素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、プロピザミドについて第 2 段階試験を実施する対象物質としていない。

※追加 (1)生態影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

①Dow Chemical Company (2011)によって、プロピザミド(Dow Chemical Company と思われる、96.2%) 94、1,100 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度 100、1,000 $\mu\text{g/L}$ に相当、10,000 $\mu\text{g/L}$ 区も設定したが高死亡率のため 8 日後に試験中断)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、94 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄結節スコア(tubercle score)の高値、1,100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で産卵率、受精率の低値、雄生殖腺発達ステージの軽度の異常所見(生殖細胞に占める精子率減少、間質細胞過形成及び蛋白質液発生率増加、精巣縮退増加)が認められた。なお、雌雄体重、雌雄体長、雌雄生殖腺体指数、雌雄血漿中ビテロゲニン濃度、雌雄生存率、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 48619106)(評価結果の略号: Δ OP) 想定される作用メカニズム: アンドロゲン作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用(産卵数の低下、ただし毒性の可能性高い)

EDSP では、因果関係に不確実性があるもののアンドロゲン経路への影響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 100 $\mu\text{L/L}$ 使用)との比較も実施している点に注意を要する。また、「scheduling conflict」のため試験期間が 22 日間である点に注意を要する。

②Dow Chemical Company (2011)によって、プロピザミド(Dow Chemical Company と思われる、96.2%) 220、1,010、4,800 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度 200、1,000、5,000 $\mu\text{g/L}$ 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、220 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で体重(21 日後)、体長(SVL: snout-vent length、21 日後)の低値、4,800 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で到達 NF ステージ(7、21 日後)、後肢長(HLL: hind-limb length、7、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 48619101)(Δ ×)

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。

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 100 $\mu\text{L/L}$ 使

用)との比較も実施している点に注意を要する。また、溶媒無添加対照区との比較において、溶媒対照区で体重(7、21日後)、SVL(7日後)、HLL(21日後)の有意な高値が検出されている点に注意を要する。

(2)生殖影響

①Rasoulpourら(2015)によって、プロピザミド(Dow AgroSciences、96.2%) 7、34、67mg/kg/day (餌中濃度 200、1,000、2,000ppm に相当)を 14~16 月齢以後から 90 日間混餌投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、34mg/kg/day 以上のばく露群で体重の低値(有意差検定なし)、肝臓細胞腫大率(有意差検定なし)、肝臓中 CYP mRNA 相対発現量(有意差検定なし)、血清中エストロン濃度の高値、肝臓ミクロソームのテストステロン代謝活性(6 α 、6 β 、16 β 水酸化)の高値、34mg/kg/day のばく露群で精巢中ライディッヒ細胞数の高値、67mg/kg/day のばく露群で血清中テストステロン代謝物(16 α -ヒドロキシテストステロン)濃度、血清中エストラジオール濃度、血清中黄体ホルモン濃度、肝臓絶対及び相対重量、精巢間質細胞過形成又は腺腫発生率の高値が認められた。なお、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には影響は認められなかった。(14399)(○×)

想定される作用メカニズム：一般毒性

※追加 (3)生殖及び甲状腺影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

①Dow AgroSciences (2012)によって、プロピザミド(Dow AgroSciences、96.2%) 2.5、10、25mg/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、10mg/kg/day 以上のばく露群で血清中総サイロキシン濃度の低値、25mg/kg/day のばく露群で肝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、甲状腺の組織病理学的検査における異常所見発生率の高値が認められた。なお、臨床的兆候、体重、増加体重、腎臓絶対及び補正及び相対重量、下垂体絶対及び補正及び相対重量、左右精巢絶対及び補正重量、左右精巢上体絶対及び補正重量、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、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、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、血清中テストステロン濃度、腎臓・右精巢・右精巢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 48688001)(○○P)

想定される作用メカニズム：甲状腺ホルモン様作用

EDSP では、認められたアンドロゲン関連影響が肝臓酵素テストステロン代謝の変化による可能性について言及している。

②Dow AgroSciences (2012)によって、プロピザミド(Dow AgroSciences とと思われる、96.2%) 25、100、300mg/kg/day を 22 日齢から 42 日齢まで経口投与した雌 SD ラットへの影響(Female 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、25mg/kg/day 以上のばく露群で血清中総サイロキシン濃度の低値、100mg/kg/day 以上のばく露群で甲状腺絶対及び補正重量、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、肝臓相対重量、腎臓相対重量、副腎の組織病理学的異常所見率の高値、300mg/kg/day のばく露群で甲状腺の組織病理学的異常所見率の高値が認められた。なお、体重、増加体重、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、子宮絶対及

び補正重量(wet 又は blotted)、卵巣絶対及び補正重量、甲状腺絶対及び補正重量、膻開口日、膻発情周期開始日、発情周期、発情周期を有する個体率、正常発情周期を有する個体率、肝臓・腎臓・卵巣・甲状腺・子宮の組織病理学的異常所見率には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48673402)(〇〇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

EDSP では、甲状腺影響が認められるとの判断を示している。

(4)甲状腺影響

①Flippin ら(2009)によって、プロピザミド(Chem Service、98.3%) 3.90、7.80、15.6、31.3、62.5、125、250、500mg/kg/day を 27 日齢から 4 日間経口投与した雌 LE ラットへの影響が検討されている。その結果として、EC₅₀ 値 116mg/kg/day の用量で血清中サイロキシン濃度の低値が認められた。(14401)(〇〇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

※追加 (5)抗アンドロゲン作用(今回評価対象とする EDSP 試験)

①Dow AgroSciences (2012)によって、プロピザミド(Dow AgroSciences、95.7%) 40、200、1,000mg/kg/day を 55 日齢から 10 日間日経口投与(及びテストステロンプロピオネート 0.4mg/kg/day を皮下投与)した雄 SD ラット(42 日齢で精巣摘出处置)への影響(Hershberger 試験)が検討されている。その結果として、200mg/kg/day 以上のばく露群で肛門挙筋+球海綿体筋絶対重量、前立腺腹葉絶対重量、精囊絶対重量の低値、肝臓絶対重量、肝臓マイクロームのテストステロン水酸化活性の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で体重、増加体重、摂餌量の低値、副腎絶対重量の高値が認められた。なお、血清中テストステロン濃度、腎臓絶対重量、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。

また、Dow AgroSciences (2012)によって、プロピザミド(Dow AgroSciences、95.7%) 40、200、1,000mg/kg/day を 55 日齢から 10 日間日経口投与した雄 SD ラット(42 日齢で精巣摘出处置)への影響(Hershberger 試験)が検討されている。その結果として、200mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓絶対重量の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で副腎絶対重量の高値が認められた。なお、体重、増加体重、摂餌量、腎臓絶対重量、カウパー腺絶対重量、陰茎絶対重量、肛門挙筋+球海綿体筋絶対重量、前立腺腹葉絶対重量、精囊絶対重量には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48673401)(〇〇P)

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン作用

EDSP では、潜在的抗アンドロゲン作用が示唆されるものの、作用機構としては肝臓影響を経由する可能性があるとの見解を示している。

※追加 (6)ステロイド産生影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

①Dow Chemical Company (2011)によって、プロピザミド(Dow Chemical Company と思われる、96.2%) 0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10、100 μ M(=0.0256、0.256、2.56、25.6、256、2,560、25,600 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(=256 μ g/L)の濃度区でテストステロン産生量、エストラジオール産生量の高値

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 48619107)(△?)
想定される作用メカニズム：エストロゲン産生促進

EDSP では不明瞭又はエストラジオールの極微な増加との判断を示している。

※参考 (7)アロマトラーゼ活性への作用(今回評価対象としなかった文献)

- ①Vinggaard ら(2000)によって、プロピザミド(USEPA、97.0~99.9%) 50 μ M(=12,800 μ g/L)の濃度でヒト胎盤ミクロソームによる CYP19 アロマトラーゼ活性(標識アンドロステンジオンを基質とする)への影響が検討されているが、影響は認められなかった。(2665)
評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

※参考 アロマトラーゼ活性への作用(今回評価対象としなかった EDSP 試験)

- ②Dow AgroSciences (2012)によって、プロピザミド(Dow AgroSciences と思われる、96.2%) 0.0001~1,000 μ M(=0.0256~256,000 μ g/L)の濃度でヒト遺伝子組み換え CYP19 アロマトラーゼ活性(Gentest 製ミクロソームを使用し、標識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が、明瞭な酵素活性阻害は認められなかった。(USEPA MRID 48619103)
EDSP では、阻害は不明瞭との判断を示している。
評価未実施の理由：明瞭な影響が認められなかった報告のため

2. 総合的判断(案)

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

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、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、甲状腺ホルモン様作用、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を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表8に示した。

表8 信頼性評価のまとめ

物質名：プロピザミド

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を 検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(1)生態影響	アンドロゲン作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用（産卵数の低下、ただし毒性の可能性高い）	①Dow Chemical Company (2011)	△	○P	○
	一般毒性	②Dow Chemical Company (2011)	△	×	×
(2)生殖影響	一般毒性	①Rasoulpour ら (2015)	○	×	×
(3)生殖及び甲状腺影響	甲状腺ホルモン様作用	①Dow AgroSciences (2012)	○	○P	○
	視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用	②Dow AgroSciences (2012)	○	○P	○
(4)甲状腺影響	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	①Flippin ら(2009)	○	○P	○
(5)抗アンドロゲン作用		①Dow AgroSciences (2012)	○	○P	○
(6)ステロイド産生影響	エストロゲン産生促進	①Dow Chemical Company (2011)	△	?	—
(7)アロマターゼ活性への作用への影響		①Vinggaard ら(2000) 評価未実施			
		②Dow AgroSciences (2012) 評価未実施			
今後の対応案	動物試験の報告において、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、甲状腺ホルモン様作用、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を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。				

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

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

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

ー：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

参考文献

14399: Rasoulpour RJ, Andrus AK, Marty MS, Zhang F, Thomas J, LeBaron MJ, Papineni S, Pottenger LH and Eisenbrandt DL (2015) Pronamide: Human relevance of liver-mediated rat leydig cell tumors. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 72 (2), 394-404.

14401: Flippin JL, Hedge JM, DeVito MJ, LeBlanc GA and Crofton KM (2009) Predictive modeling of a mixture of thyroid hormone disrupting chemicals that affect production and clearance of thyroxine. *International Journal of Toxicology*, 28 (5), 368-381.

2665: Vinggaard AM, Hnida C, Breinholt V and Larsen JC (2000) Screening of selected pesticides for inhibition of CYP19 aromatase activity *in vitro*. *Toxicology in Vitro*, 14 (3), 227-234.

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 48619106: York DO (2012) Pronamide - Short-term Reproduction Assay with the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*), for Propargite Performed by Smithers Viscient (formerly Springborn Smithers Laboratories), Wareham, Massachusetts, Submitted by Dow Chemical Company. Study No.: 12550.6649, January 4, 2012.

USEPA MRID 48619101: Currie RJ, Coady KK, Hutchinson KL, Lehman CM, Malowinski NA and Thomas J (2011) Pronamide: The Amphibian Metamorphosis Assay with the African Clawed Frog, *Xenopus laevis*. Unpublished study conducted by Toxicology and Environmental Research and Consulting, The Dow Chemical Company, Midland, Michigan 48674. Laboratory report number 101153. Study sponsored by Dow AgroSciences LLC, Indianapolis, Indiana 46268. Study completed September 8, 2011.

USEPA MRID 48688001: Marty MS, Andrus AK and Thomas J (2012) Pronamide: Pubertal Development and Thyroid Function in Intact Juvenile/Peripubertal Male CrI: CD(SD) Rats. Toxicology and Environmental Research and Consulting, The Dow Chemical Company, Midland, MI. Laboratory Project Study ID No.: 111081 ; August 31, 2012. Unpublished.

USEPA MRID 48673402: Marty MS, Zablonty CL and Stebbins KE (2012) Pronamide: Pubertal Development and Thyroid Function in Intact Juvenile/Peripubertal Female CrI:CD(SD) Rats. Toxicology & Environmental Research and Consulting, Midland, MI. Laboratory Report No.: 111080, June 21, 2012. Unpublished.

USEPA MRID 48673401: Marty MS, Marshall VA and Zhang F (2012) Pronamide Technical: Hershberger Assay in Castrated Adult Male Crl:CD(SD) Rats. Toxicology & Environmental Research and Consulting, Midland, MI. Laboratory Report No. 101010, June 22, 2012. Unpublished.

USEPA MRID 48619103: Coady KK and Kan HL (2012) Evaluation of Pronamide in the Human Recombinant Aromatase Assay. Toxicology & Environmental Research and Consulting (The Dow Chemical Company [Midland, MI 48674, USA]) Laboratory Study ID: 101012. 04 Jan 2012. Unpublished.

USEPA MRID 48619107: LeBaron MJ, Kan HL and Perala AW (2011) Evaluation of pronamide in the *in vitro* steroidogenesis assay. Toxicology & Environmental Research and Consulting, The Dow Chemical Company, Midland, MI. Laboratory Study No.: 101181, December20, 2011. Unpublished.

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。

※追加 (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)(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。

(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孕率、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、膻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)(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、視床下部一下垂体—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)(△〇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

※追加 (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囊+凝固腺絶対及び補正重量(内容液重量を含む)、精囊+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

- ① Okubo ら(2004)によって、ミクロブタニル(Dr.Ehrenstorfer GmbH) 1 ~ 100 μ M(=289 ~ 28,900 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

- ① Okubo ら(2004)によって、ミクロブタニル(Dr.Ehrenstorfer GmbH) 1 ~ 100 μ M(=289 ~ 28,900 μ g/L)の濃度に6日間ばく露(17 β -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)(△○P)

(7)アンドロゲン作用又は抗アンドロゲン作用

- ① Okubo 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)(△○P)

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。

※追加 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)

- ② Dow 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)(○●P)

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。

※追加 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 OP)

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。

※追加 (9)アロマトーゼ活性への作用(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)の濃度でアロマトラーゼ(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：アロマトラーゼ活性阻害作用

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、アロマトラーゼ活性阻害作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表9に示した。

表9 信頼性評価のまとめ

物質名：ミクロブタニル

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(1)生態影響	不明	①Dow AgroSciences (2011)	○	?	—
	毒性	②Dow AgroSciences (2011)	Δ	?	—
(2)生殖影響	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	①Goetz ら(2007)	Δ	OP	○
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	②Rockett ら(2006)	Δ	OP	○
	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	③Tully ら(2006)	○	OP	○
	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	④Goetz と Dix (2009)	Δ	OP	○
(3)生殖及び甲状腺影響	抗アンドロゲン様作用	①Dow AgroSciences (2011)	○	OP	○

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を 検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(4)甲状腺影響	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	①Wolf ら(2006)	△	○P	○
	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、PXR 活性促進作用	②Martin ら(2007)	△	○P	○
(5)エストロゲン作用		①Okubo ら(2004)	△	○N	×
(6)抗エストロゲン作用		①Okubo ら(2004)	△	○P	○
(7)アンドロゲン作用又は抗アンドロゲン作用		①Okubo ら(2004)	△	○P	○
		②Dow AgroSciences (2011)	○	○P	○
(8)ステロイド産生影響	エストロン産生阻害	①Prutner ら(2013)	△	○P	○
	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	②Goetz ら(2009)	△	○P	○
	テストステロン及びエストラジオールの合成抑制作用	③Dow AgroSciences (2011)	○	○P	○
(9)アロマトラーゼ活性への作用	アロマトラーゼ活性阻害作用	①Dow AgroSciences (2011)	△	○P	○
今後の対応案	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、アロマトラーゼ活性阻害作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。				

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

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

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

—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

参考文献

- 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、5,000 $\mu\text{g/L}$ (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、1,000 $\mu\text{g/L}$ 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、5,000 $\mu\text{g/L}$ (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、1,000 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で出産回数の低値、2,000 $\mu\text{g/L}$ 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： Δ ?)

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、200,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度。300,000、400,000、500,000、600,000 $\mu\text{g/L}$ 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、100,000 $\mu\text{g/L}$ 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、200,000 $\mu\text{g/L}$ 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、200,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度。300,000、400,000、500,000、600,000 $\mu\text{g/L}$ 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、200,000 $\mu\text{g/L}$ 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)($\Delta\times$)

想定される作用メカニズム：発生毒性

※追加 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、104,000 $\mu\text{g/L}$ (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 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雄体重の低値、104,000 $\mu\text{g/L}$ 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)(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(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、95,000 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度 1,000、10,000、100,000 $\mu\text{g/L}$ に相当)に 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、95,000 $\mu\text{g/L}$ 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)(○ \times)

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。

※参考 (2)生殖影響(今回評価対象としなかった EDSP 試験)

①Metalaxyl EDSP Consortium (2012)によって、メタラキシル(Metalaxyl EDSP Consortium と思われる、98.2%及び 100.4%) 125、250、350 mg/kg/day を 22 日齢から 42 日齢まで経口投与した雌 SD ラットへの影響(Female 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、125 mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓絶対及び相対重量の高値、250 mg/kg/day 以上のばく露群で一次卵胞数の高値が認められた。なお、体重、増加体重、腎臓絶対及び補正及び相対重量、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、卵巣絶対及び補正重量、子宮絶対及び補正重量(wet 又は blotted)、甲状腺絶対及び補正重量、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、膣開口日、膣発情周期開始日、発情周期、発情周期又は正常発情周期を有する個体率、閉塞卵胞数、甲状腺・腎臓の組織病理学的異常所見率には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48701301)

EDSP では、閉鎖卵胞数等その他のエストロゲン経路エンドポイントで影響が認められないことから、総じてエストロゲン経路関連影響は認められないとの判断を示している。

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

※参考 (3)エストロゲン作用(今回評価対象としなかった EDSP 試験)

①Metalaxyl EDSP Consortium (2011 及び 2012)によって、メタラキシル(Chemtura Canada、98.2%) 0.0001~1,000 μ M(=0.0279~279,000 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 158 μ M(=44,100 μ g/L、原記載値は log IC₅₀-3.8M)の濃度で結合阻害が認められた。(USEPA MRID 48618102 及び 48617607)

EDSP では、3回の試験中1回のみでしか作用が検出されなかったことから、結合は不明瞭(equivocal)との判断を示している。

評価未実施の理由：明瞭な影響が認められなかった報告のため

2. 総合的判断(案)

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

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。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 10 に示した。

表 10 信頼性評価のまとめ

物質名：メタラキシル

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾	
(1)生態影響	毒性	①Chen と Liu (2008)	△	?	—
	発生毒性	②Zhang ら(2016)	△	×	—
	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)	③Metalaxyl EDSP Consortium (2012)	△	○P	○
	一般毒性	④Metalaxyl EDSP Consortium (2012)	○	×	×
(2)生殖影響	①Metalaxyl EDSP Consortium (2012) 評価未実施				

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(3)エストロゲン作用	①Metalaxyl EDSP Consortium (2011 及び 2012) 評価未実施			
今後の対応案	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(ステロイド産生阻害)を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

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

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

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

参考文献

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.

X I. メトリブジン

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

メトリブジン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、メトリブジンについて甲状腺ホルモン様作用または抗甲状腺ホルモン様作用を確認するために幼生期両生類成長発達試験 LAGDA を実施する対象物質としている。

(1)生態影響

- ①Plhalova ら(2012)によって、メトリブジン(AgroBio Opava, Sencor 70WG 700g/kg) 1,500、5,000、16,000、33,000、53,000 μ g/L (設定濃度)に 30 日齢から 28 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、33,000 μ g/L 以上のばく露区で体重、体長、比増殖速度の低値、53,000 μ g/L のばく露区で、死亡率の高値、肝臓細胞の変性が認められた。なお、全身中総 CYP 濃度、全身中 EROD 比活性には影響は認められなかった。(13128)(評価結果の略号： $\Delta\times$)

想定される作用メカニズム：一般毒性

※参考 生態影響(今回評価対象としなかった文献)

- ②Kashian と Dodson (2002)によって、メトリブジン(Chem Service) 10~100 μ g/L (設定濃度)に 6 日間ばく露した成熟雌オオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響が検討されているが、新生仔雄性比、親及び仔生存率、同腹産仔数、休眠卵産卵の有無、親体長、親及び仔形態には影響は認められなかった。(5095)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

※参考 生態影響(今回評価対象としなかった EDSP 試験)

- ③Bayer CropScience (2011)によって、メトリブジン(Bayer CropScience とと思われる、94.4%) 199、1,030、5,400 μ g/L(測定濃度)(設定濃度 200、1,000、5,000 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、5,400 μ g/L のばく露区で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、雌雄体重、雌雄体長、産卵数、受精率、雄結節スコア(tubercle score)、雌雄生殖腺体指数、雌雄血漿中ビテロゲニン濃度、成熟卵胞閉塞率、雌生殖腺発達ステージ、その他観察事項には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48672202)

EDSP では、一部の雄で生殖腺発達の軽度な早期化が認められたのみで、それ以外はアンドロゲン関連影響は認められないのとの判断を示している。

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

(2)生殖及び甲状腺影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

- ①Bayer CropScience (2011)によって、メトリブジン(Bayer CropScience、94.4%) 60、120mg/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、60mg/kg/day 以上のばく露群で血清中総サイロキシン濃度の低値、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、120mg/kg/day のばく露群で肝臓絶対及び補正及び相対重量、甲状腺絶対及び補正重量、甲状腺・肝臓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(流涎)発生率の高値の高値が認められた。なお、体重、増加体重、包皮分離開始日、腎臓絶対及び補正及び相対重量、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、精囊+凝固腺絶対及び補正重量、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、肛門挙筋+球海綿体筋絶対重量、左右精巣上体絶対及び補正重量、左右精巣絶対及び補正重量、血清中テストステロン濃度、腎臓・精巣・精巣上体の組織病理学的検査には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48672203)(〇〇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、神経毒性

EDSP では、甲状腺経路への潜在的作用を示す確定的な科学的根拠があるとの判断を示している。

②Bayer CropScience (2011)によって、メトリブジン(Bayer CropScience、94.4%) 60、120mg/kg/day を22日齢から42日齢まで経口投与した雌SDラットへの影響(Female 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、60mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓相対重量、臨床的兆候(流涎)発生率の高値、120mg/kg/day 以上のばく露群で血清中総サイロキシン濃度の低値、甲状腺補正重量の高値が認められた。なお、体重、増加体重、卵巣絶対及び補正重量、子宮絶対及び補正重量(wet 又は blotted)、腎臓絶対及び補正及び相対重量、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、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、膻開口日、膻発情周期開始日、発情周期、発情周期又は正常発情周期を有する個体率、甲状腺・肝臓・卵巣・子宮・腎臓の組織病理学的検査には影響は認められなかった。(USEPA MRID 48672203)(〇〇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、神経毒性

EDSP では、甲状腺軸への潜在的作用を示す確定的な科学的根拠があるとの判断を示している。

※参考 (3)アロマトラーゼ活性への作用(今回評価対象としなかった EDSP 試験)

①Bayer CropScience (2011)によって、メトリブジン(Bayer CropScience、94.4%) 0.0001～1,000µM(=0.0214～214,000µg/L)の濃度でアロマトラーゼ(CYP19)酵素活性(標識 17β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が、酵素活性阻害が認められなかった。(USEPA MRID 48617901)

EDSP では阻害は不明瞭との判断を示している。

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため

(4)ステロイド産生影響(今回評価対象とする EDSP 試験)

①Bayer CropScience (2011)によって、メトリブジン(Bayer CropScience とと思われる、94.2%) 0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10、100µM(=0.0214、0.214、2.14、2.14、214、2,140、21,400µg/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、10µM(=2,140µg/L)以上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 48617906)(〇〇P)

想定される作用メカニズム：エストラジオール産生誘導

EDSP では、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。

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、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、ステロイド産生影響を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 11 に示した。

表 11 信頼性評価のまとめ

物質名：メトリブジン

区分		著者	作業班会議における信頼性評価結果		
			報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 ³⁾
(1)生態影響	一般毒性	①Plhalova ら(2012)	△	×	×
		②Kashian と Dodson (2002) 評価未実施			
		③Bayer CropScience (2011) 評価未実施			
(2)生殖及び甲状腺影響	視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、神経毒性	①Bayer CropScience (2011)	○	○P	○
	視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、神経毒性	②Bayer CropScience (2011)	○	○P	○
(3)アロマターゼ活性への作用		①Bayer CropScience (2011) 評価未実施			
(4)ステロイド産生影響	エストラジオール産生誘導	①Bayer CropScience (2011)	○	○P	○
今後の対応案		動物試験の報告において、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、ステロイド産生影響を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

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

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

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

ー：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

参考文献

13128: Plhalova L, Stepanova S, Praskova E, Chromcova L, Zelnickova L, Divisova L, Skoric M, Pistekova V, Bedanova I and Svobodova Z (2012) The effects of subchronic exposure to metribuzin on *Danio rerio*. Scientific World Journal, Article ID 728189, doi:10.1100/2012/728189

5095: Kashian DR and Dodson SI (2002) Effects of common-use pesticides on developmental and reproductive processes in *Daphnia*. Toxicology and Industrial Health, 18 (5), 225-235.

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 48672202: Braune CB and Bruns E (2012) Short-term Reproduction Assay with the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*) Exposed to Metribuzin Technical Under Flow-Through Conditions. Performed by Bayer CropScience AG, Monheim, Germany, Report ID.: EBSEY003. Submitted by Bayer CropScience AG, Monheim, Germany. Completion date March 9, 2012.

USEPA MRID 48672203: Blanck M (2011) Metribuzin assessment of pubertal development and thyroid function in juvenile/peripubertal male and female rats. Bayer S.A.S., Sophia Antipolis Cedex, France. Laboratory Study No.: SA 10341, December 1, 2011. Unpublished.

USEPA MRID 48617901: Tinwell H (2011) Evaluation of metribuzin in the aromatase assay. Bayer S.A.S., Bayer CropScience, Sophia Antipolis Cedex, France. Laboratory Report No.: SA 11062, November 10, 2011. Unpublished.

USEPA MRID 48617906: Tinwell H (2011) Evaluation of metribuzin in the H295R steroidogenesis assay. Bayer S.A.S., Bayer CropScience, Sophia Antipolis Cedex, France. Laboratory Study No.: SA 11268, December 09, 2011. Unpublished.