

## アゾキシストロビン (CAS no. 131860-33-8)

### 文献信頼性評価結果

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	その他*
○	○	○	○	—	—	—	○

○：既存知見から示唆された作用

—：既存知見から示唆されなかった作用

\*その他：視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用等

アゾキシストロビンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、動物試験の報告において、エストロゲン作用、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、エストロン産生抑制作用、エストロン産生阻害作用を示すことが示唆された。

#### (1) 生態影響

- Jiang ら(2018)によって、アゾキシストロビン(Shanghai Taihe, 96%) 0.1、1、10、100µg/L(設定濃度)に受精後3日から72時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、生殖腺軸関連遺伝子(脳中 mRNA 相対発現量)として、0.1、100µg/L のばく露区で *fsh* の高値、0.1µg/L のばく露区で *gnrh2*、*gnrh3* の高値(10µg/L 区では低値)、1 µg/L 以上のばく露区で *cyp19b*、*erβ1*、*erβ2*、*gnrhr2* の低値、*lh*、*gnrhr1* の高値、1 µg/L のばく露区で *era* の高値、10µg/L 以上のばく露区で *gnrhr3*、*gnrhr4* の高値が認められた。また、生殖腺軸関連遺伝子(生殖腺中 mRNA 相対発現量)として、0.1µg/L 以上のばく露区で *17β-hsd*、*vtg* の高値、0.1、1、100µg/L のばく露区で *3β-hsd* の低値、1 µg/L 以上のばく露区で *star*、*cyp11* の低値、1、10µg/L のばく露区で *cyp17* の低値、1 µg/L のばく露区で *hmgrb* の低値、*cyp19a* の高値、10µg/L のばく露区で *fshr* の低値(100µg/L 区では高値)、100µg/L のばく露区では *hmgra* の高値が認められた。また、抗酸化及びストレス応答関連遺伝子(全身中 mRNA 相対発現量)として、0.1、1 µg/L のばく露区で *mf2* の高値、0.1µg/L のばく露区で *cz-sod*、*mn-sod*、*gpx* の高値(1、10、100µg/L 区では低値)、*ucp2* の高値(1、10µg/L 区では低値)、*cox* の高値(10µg/L 区では低値)、1 µg/L 以上のばく露区で *cat* の低値、10µg/L 以上のばく露区で *keap1* の低値が認められた。また、全身中濃度又は酵素比活性として、0.1、1、100µg/L のばく露区で活性酸素種濃度の高値、1 µg/L 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の高値が認められた。なお、グルタチオンペルオキシダーゼ、ペルオキシダーゼ、スーパーオキシドディスムターゼ、カタラーゼには影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用

- Cao ら(2019a)によって、アゾキシストロビン(Shenyang Chemical Industry Research Institute, 98%) 0.2、2、20µg/L(設定濃度)に受精後2～4時間から最長120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、雄について2 µg/L 以上のばく露区で脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp17* mRNA 相対発現量、精巣中ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *hsd3b* mRNA 相対発現量、精巣中ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *hsd17b* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp19a* mRNA 相対発現量、肝臓中ビテログニン *vtg1* mRNA

相対発現量、肝臓中ビテロゲニン *vtg2* mRNA 相対発現量の高値、20 $\mu$ g/L のばく露区で体長、体重、生殖腺体指数、血漿中テストステロン濃度の低値、精巢中生殖細胞に占める精子の割合の低値(成熟遅延)、血漿中エストラジオール濃度、血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。なお、肥満度、脳中エストロゲン受容体 *esr1* mRNA 相対発現量、脳中エストロゲン受容体 *esr2b* RNA 相対発現量、脳中アンドロゲン受容体 *ar* mRNA 相対発現量、精巢中 *cyp11a* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、雌について、2 $\mu$ g/L 以上のばく露区で肝臓中ビテロゲニン *vtg1* mRNA 相対発現量、肝臓中ビテロゲニン *vtg2* mRNA 相対発現量、卵巢中 *cyp19a* mRNA 相対発現量の低値、卵巢中 *cyp17* mRNA 相対発現量、卵巢中ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *hsd3b* mRNA 相対発現量、卵巢中ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *hsd17b* mRNA 相対発現量の高値、20 $\mu$ g/L のばく露区で体長、体重、生殖腺体指数、血漿中エストラジオール濃度、血漿中ビテロゲニン濃度、脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量の低値、卵巢中生殖細胞に占める卵黄形成期後期卵母細胞の割合の低値(成熟遅延)、血漿中テストステロン濃度の高値が認められた。なお、肥満度、脳中エストロゲン受容体 *esr1* mRNA 相対発現量、脳中エストロゲン受容体 *esr2b* RNA 相対発現量、脳中アンドロゲン受容体 *ar* mRNA 相対発現量、卵巢中 *cyp11a* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、雌雄混合において、20 $\mu$ g/L のばく露区で産卵数、受精率、受精後 96 時間後 F<sub>1</sub> 孵化率の低値、受精後 96 時間後 F<sub>1</sub> 死亡率、受精後 96 時間後 F<sub>1</sub> 奇形率の高値が認められた。なお、雄性比には影響は認められなかった(ただしばく露 42、60 日後において間性の出現他、一過的変動あり)。

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

- Cao ら(2016)によって、アゾキシストロビン(Shenyang Chemical Industry Research Institute, 98%) 2、20、200 $\mu$ g/L(設定濃度)に約 6.5 ヶ月齢から 21 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、雄において、2 $\mu$ g/L 以上のばく露区で精巢中 *cyp11a* mRNA 相対発現量、精巢中 *cyp19a* mRNA 相対発現量、肝臓中ビテロゲニン *vtg1* mRNA 相対発現量、肝臓中ビテロゲニン *vtg2* mRNA 相対発現量、精巢中ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *hsd3b* mRNA 相対発現量の高値、20 $\mu$ g/L 以上のばく露区で精巢中生殖細胞に占める成熟精母細胞の割合の低値(成熟遅延)、血漿中エストラジオール濃度、血漿中ビテロゲニン濃度、脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量、精巢中 *cyp17* mRNA 相対発現量、精巢中ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *hsd17b* mRNA 相対発現量の高値、200 $\mu$ g/L のばく露区で生殖腺体指数、肝臓体指数、血漿中テストステロン濃度、脳中卵胞刺激ホルモン *fshb* mRNA 相対発現量、脳中黄体形成ホルモン *lhb* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、脳中エストロゲン受容体 *esr1a* mRNA 相対発現量、脳中エストロゲン受容体 *er2b* RNA 相対発現量、脳中アンドロゲン受容体 *ar* mRNA 相対発現量、精巢中 *cyp11b* mRNA 相対発現量、精巢中卵胞刺激ホルモン受容体 *fshr* mRNA 相対発現量、精巢中黄体形成ホルモン受容体 *lhr* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、雌において、20 $\mu$ g/L 以上のばく露区で卵巢中 *cyp17* mRNA 相対発現量、卵巢中ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *hsd3b* mRNA 相対発現量、卵巢中ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *hsd17b* mRNA 相対発現量の高値、200 $\mu$ g/L のばく露区で生殖腺体指数、血漿中エストラジオール濃度、血漿中ビテロゲニン濃度、脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量、脳中黄体形成ホルモン *lhb* mRNA 相対発現量、卵巢中黄体形成ホルモン受容体 *lhr* mRNA 相対発現量、肝臓中ビテロゲニン *vtg1* mRNA 相対発現量、肝臓中ビテロゲニン *vtg2* mRNA 相対発現量、卵巢

中 *cyp19a* mRNA 相対発現量の低値、卵巣中生殖細胞に占める卵黄形成期後期卵母細胞の割合の低値(成熟遅延)、血漿中テストステロン濃度の高値が認められた。なお、肝臓体指数、脳中エストロゲン受容体 *esr1a* mRNA 相対発現量、脳中エストロゲン受容体 *er2b* RNA 相対発現量、脳中アンドロゲン受容体 *ar* mRNA 相対発現量、脳中卵胞刺激ホルモン *fshb* mRNA 相対発現量、卵巣中 *cyp11a* mRNA 相対発現量、卵巣中 *cyp11b* mRNA 相対発現量、卵巣中卵胞刺激ホルモン受容体 *fshr* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、200 $\mu$ g/L のばく露区で累積産卵数、受精率の低値が認められた。

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

- Cao ら(2019b)によって、アゾキシストロビン(Shenyang Chemical Industry Research Institute, 98%) 2、20、200 $\mu$ g/L(設定濃度)に約 6.5 ヶ月齢から 21 日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*) F<sub>0</sub>が産卵した F<sub>1</sub>への影響(同濃度で受精後 2 時間から受精後 96 時間まで継続ばく露、mRNA 相対発現量は全身中)検討されている。その結果として、20 $\mu$ g/L 以上のばく露区で孵化率、体長の低値、死亡率、奇形率、*cyp19b* mRNA 相対発現量、ビテロゲニン *vtg1* mRNA 相対発現量、ビテロゲニン *vtg2* mRNA 相対発現量、腫瘍蛋白質 *p53* mRNA 相対発現量、カスパーゼ *caps3* mRNA 相対発現量、カスパーゼ *caps9* mRNA 相対発現量の高値、200 $\mu$ g/L のばく露区でスーパーオキシドディスムターゼ *sod1* mRNA 相対発現量の低値、スーパーオキシドディスムターゼ *sod2* mRNA 相対発現量、*cyp19a* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *hsd3b* mRNA 相対発現量、ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *hsd17b* mRNA 相対発現量、カタラーゼ *cat* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、F<sub>0</sub>が産卵した F<sub>1</sub>への影響(継続ばく露なし、mRNA 相対発現量は全身中)への影響が検討されている。その結果として、20 $\mu$ g/L 以上のばく露区で奇形率の高値、200 $\mu$ g/L のばく露区で孵化率、体長、スーパーオキシドディスムターゼ *sod1* mRNA 相対発現量、スーパーオキシドディスムターゼ *sod2* mRNA 相対発現量、死亡率、*cyp19a* mRNA 相対発現量、*cyp19b* mRNA 相対発現量、ビテロゲニン *vtg1* mRNA 相対発現量、ビテロゲニン *vtg2* mRNA 相対発現量、腫瘍蛋白質 *p53* mRNA 相対発現量、カスパーゼ *caps3* mRNA 相対発現量、カスパーゼ *caps9* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *hsd3b* mRNA 相対発現量、ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *hsd17b* mRNA 相対発現量、カタラーゼ *cat* mRNA 相対発現量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：エストロゲン作用及び毒性

## (2)ステロイド産生影響

- Prutner ら(2013)によって、アゾキシストロビン(Dr. Ehrenstorfer, 97.5~99.5%) 0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=4.03、40.3、403、4,030 $\mu$ 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、10 $\mu$ M(=4,030 $\mu$ g/L)の濃度区でエストロン産生量の低値が認められた。なお、健全細胞率(Homogeneous Membrane Integrity Assay)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：エストロン産生阻害

なお、本試験結果の解釈にあたっては、統計学的な検定が示されていない点に注意を要すると判断された。

## 参考文献

- Warming TP, Mulderij G and Christoffersen KS (2009) Clonal variation in physiological responses of *Daphnia magna* to the strobilurin fungicide azoxystrobin. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28 (2), 374-380.
- Jiang J, Shi Y, Yu R, Chen L and Zhao X (2018) Biological response of zebrafish after short-term exposure to azoxystrobin. *Chemosphere*, 202, 56-64.
- Cao F, Martyniuk CJ, Wu P, Zhao F, Pang S, Wang C and Qiu L (2019a) Long-Term Exposure to Environmental Concentrations of Azoxystrobin Delays Sexual Development and Alters Reproduction in Zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Science & Technology*, 53 (3), 1672-1679.
- Cao F, Zhu L, Li H, Yu S, Wang C and Qiu L (2016) Reproductive toxicity of azoxystrobin to adult zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Pollution*, 219, 1109-1121.
- Kunz JL, Ingersoll CG, Smalling KL, Elskus AA and Kuivila KM (2017) Chronic toxicity of azoxystrobin to freshwater amphipods, midges, cladocerans, and mussels in water-only exposures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36 (9), 2308-2315.
- Cao F, Li H, Zhao F, Wu P, Qian L, Huang L, Pang S, Martyniuk CJ and Qiu L (2019b) Parental exposure to azoxystrobin causes developmental effects and disrupts gene expression in F1 embryonic zebrafish (*Danio rerio*). *Science of the Total Environment*, 646, 595-605.
- Jia W, Mao L, Zhang L, Zhang Y and Jiang H (2018) Effects of two strobilurins (azoxystrobin and picoxystrobin) on embryonic development and enzyme activities in juveniles and adult fish livers of zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 207, 573-580.
- Cao F, Wu P, Huang L, Li H, Qian L, Pang S and Qiu L (2018) Short-term developmental effects and potential mechanisms of azoxystrobin in larval and adult zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*, 198, 129-140.
- Johansson M, Piha H, Kylin H and Merila J (2006) Toxicity of six pesticides to common frog (*Rana temporaria*) tadpoles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25 (12), 3164-3170.
- 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.

(令和元年度第2回 EXTEND2016 化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会 資料1より抜粋)