

クロトリマゾール (CAS no. 23593-75-1)

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

クロトリマゾール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、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、アロマターゼ活性化作用、精巣のステロイドホルモン合成への影響、アンドロゲン産生への影響、CYP19 阻害によるエストロゲン減少作用を示すこと、試験管内試験の報告において、インスリン分泌促進作用、テストステロン代謝影響作用を示すことが示唆された。

(1)生態影響

- Gyllenhammar ら(2009)によって、クロトリマゾール(Sigma-Aldrich)1.71、17.2、172µg/L(5、50、500nM に相当する設定濃度。半止水式における初期測定濃度としては 30、67、197µg/L)に Nieuwkoop-Faber stage 47~48 (産卵5日後)から最長 stage 66 (変態完了)までばく露したネッタイツメガエル(*Xenopus tropicalis*)への影響が検討されている。その結果として、17.2µg/L 以上のばく露区で雌雄生殖腺/腎臓複合体中アロマターゼ比活性の高値、172µg/L のばく露区で体重の低値が認められた。なお、生存率、Stage 66 到達までの所要日数、体長(SVL: snout-vent length)、雄生殖腺/腎臓複合体における精巣面積(組織画像当)、雄生殖腺/腎臓複合体における卵巣面積(組織画像当)、雄生殖腺/腎臓複合体における生殖細胞密度(精巣画像面積当)、雌生殖腺/腎臓複合体における生殖細胞密度(卵巣画像面積当)、雄性比、雌雄脳中アロマターゼ比活性には影響は認められなかった。

また、クロトリマゾール(Sigma-Aldrich)1.71、17.2、172µg/L(設定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 47~48 (産卵5日後)から最長 stage 56 までばく露したネッタイツメガエル(*X. tropicalis*)への影響が検討されている。その結果として、172µg/L のばく露区で脳中アロマターゼ比活性の低値が認められた。なお、生殖腺/腎臓複合体中アロマターゼ比活性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、アロマターゼ活性化作用

- Baudiffier ら(2012)によって、クロトリマゾール(Sigma-Aldrich) 71、159、258µg/L(設定濃度、測定値)に7日間ばく露した成熟雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(mRNA 相対発現量については視床下部—下垂体—生殖腺軸にてステロイド産生及び精子形成に関与する遺伝子群について)が検討されている。その結果として、71µg/L 以上のばく露区で精巣中 *cyp17a1a* mRNA 相対発現量の高値、159µg/L 以上のばく露区で精巣中 *star* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp11c1* mRNA 相対発現量の高値、159µg/L のばく露区で下垂体中 *fshr* mRNA 相対発現量、精巣中 *igf3* mRNA 相対発現量の高値、258µg/L のばく露区で精巣中 *cyp19a1a* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、体長、体重、生殖腺絶対重量、生殖腺体指数、血漿中 11-ケトテ

ストステロン濃度、精巣中 *hsd3b1* mRNA 相対発現量、精巣中 *hsd11b3a* mRNA 相対発現量、下垂体中 *fshβ* mRNA 相対発現量、下垂体中 *lhβ* mRNA 相対発現量、下垂体中 *lhcr* mRNA 相対発現量、精巣中 *amh* 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：視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、精巣のステロイドホルモン合成への影響

- Baudiffier ら(2013)によって、クロトリマゾール(Sigma-Aldrich、98%) 30、67、197 μ g/L(半止水式における初期測定濃度)に 21 日間ばく露した成熟雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(mRNA 相対発現量については視床下部—下垂体—生殖腺軸にてステロイド産生及び精子形成に関与する遺伝子群について)が検討されている。その結果として、30 μ g/L 以上のばく露区で精巣中 *ar* mRNA 相対発現量の高値、67 μ g/L 以上のばく露区で精巣中 *star* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp17a1* mRNA 相対発現量の高値、67 μ g/L のばく露区で精巣中 *cyp19a1a* mRNA 相対発現量の低値、精巣中 *igf3* mRNA 相対発現量の高値、197 μ g/L のばく露区で生殖腺体指数、精巣中ライディッヒ細胞重量(組織画像単面積当)、生殖細胞に占める精祖細胞重量比(この濃度区についてのみデータ提示)、血漿中 11-ケトテストステロン濃度、精巣中 *fshr* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp11c1* mRNA 相対発現量、精巣中 *hsd11b3a* mRNA 相対発現量、精巣中 *piwil1* mRNA 相対発現量、下垂体中 *fshβ* mRNA 相対発現量(この濃度区についてのみデータ提示)の高値が認められた。なお、体長、体重、生殖腺絶対重量、精巣中 *lhcr* mRNA 相対発現量、精巣中 *hsd3b1* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp19a1b* mRNA 相対発現量、精巣中 *amh* mRNA 相対発現量、脳中 *star* mRNA 相対発現量、脳中 *hsd3b1* mRNA 相対発現量、脳中 *cyp17a1* mRNA 相対発現量、脳中 *cyp11c1* mRNA 相対発現量、脳中 *hsd11b3a* mRNA 相対発現量、脳中 *cyp19a1a* mRNA 相対発現量、脳中 *cyp19a1b* mRNA 相対発現量、脳中 *gnrh3* mRNA 相対発現量、脳中 *ar* mRNA 相対発現量、脳中 *esr1* mRNA 相対発現量、脳中 *esr2b* mRNA 相対発現量、脳中 *esr2a* mRNA 相対発現量、下垂体中 *lhβ* mRNA 相対発現量(この濃度区についてのみデータ提示)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、アンドロゲン産生への影響

(2)生殖影響

- Machado ら(2020)によって、クロトリマゾール(Sigma) 200mg/kg/day を 15 日間経口投与した雌 Wistar ラット(8 週齢、子宮内膜症誘発処置として子宮角を摘出し子宮内膜の腹壁への移植)への影響が検討されている。その結果として、血清中エストロゲン濃度、子宮内膜症病変組織中エストロゲン受容体 α 相対発現量、子宮内膜症病変組織中 CYP19 相対発現量の低値が認められた。

想定される作用メカニズム：CYP19 阻害によるエストロゲン減少作用

(3)膵臓組織への影響

- Chan ら(1997)によって、クロトリマゾール(Sigma) 1、10、50、100 μ M(=345、3,450、17,200、34,500 μ g/L)の濃度に 6 mM グルコース共存下、60 分ばく露したランゲルハンス島組織(雄 Wistar ラット膵臓由来)への影響が検討されている。その結果として、10 μ M(=3,450 μ g/L)の濃度区でインスリン分泌速度の高値が認められた。なお、クロトリマゾール(Sigma) 100 μ M(=34,500 μ g/L)の濃度による灌流試験においても、インスリン分泌の高値が認められ、その効果は二相性でありかつ可逆的であった。

(4)ステロイド代謝影響

- Turan ら(2001)によって、クロトリマゾール(Sigma)にばく露した肝臓ミクロソーム中 CYP(成熟雌 SD ラット由来)でのテストステロン 5 nM に対する水酸化活性阻害が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 0.95μM(=324μg/L)の濃度で CYP3A9/18 6β の活性阻害が認められた。

また、クロトリマゾール(Sigma)にばく露した肝臓ミクロソーム中 CYP(成熟雄 SD ラット由来)でのテストステロン 5 nM に対する水酸化活性阻害が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 3.15μM(=1,090μg/L)の濃度で CYP3A2 15β、IC₅₀ 値 5.96μM(=2,060μg/L)の濃度で CYP3A2 2β、IC₅₀ 値 6.73μM(=2,320μg/L)の濃度で CYP3A2 6β、IC₅₀ 値 597μM(=206,000μg/L)の濃度で 2C11 2α、IC₅₀ 値 745μM(=257,000μg/L)の濃度で 2C11 16α、IC₅₀ 値 1,120μM(=386,000μg/L)の濃度で 2A1 7α の活性阻害が認められた。

また、クロトリマゾール(Sigma)にばく露した CYP(ラット由来、遺伝子組み換えバキュロウイルスを昆虫細胞に感染させ大量発現)でのテストステロン 5 nM に対する水酸化活性阻害が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 4.90μM(=1,700μg/L)の濃度で 3A2 2β、IC₅₀ 値 5.50μM(=1,900μg/L)の濃度で 3A1 2β、IC₅₀ 値 6.50μM(=2,240μg/L)の濃度で 3A1 6β、IC₅₀ 値 7.90μM(=2,700μg/L)の濃度で 3A2 6β の活性阻害が認められた。

想定される作用メカニズム：テストステロン代謝阻害作用

- Antignac ら(1992)によって、クロトリマゾール(Sigma) 100mg/kg/day を 3 日間腹腔内注射した雄 Syrian ハムスター(入手時体重 90~100g)への影響(最終投与 24 時間後に肝臓ミクロソーム蛋白質のテストステロンヒドロキシラーゼ比活性について試験)が検討されている。その結果として、2α 水酸化、2β 水酸化、6β 水酸化、7α 水酸化、15β 水酸化比活性の低値、15α 水酸化、16α 水酸化、アンドロステンジオンへの変換比活性の高値が認められた。なお、6α 水酸化、16β 水酸化の比活性には影響は認められなかった。

また、クロトリマゾール(Sigma) 100mg/kg/day を 3 日間腹腔内注射した雄 Chinese ハムスター(入手時体重 27~30g)への影響(最終投与 24 時間後に肝臓ミクロソーム蛋白質のテストステロンヒドロキシラーゼ比活性について試験)が検討されている。その結果として、2α 水酸化、15α 水酸化、16α 水酸化、16β 水酸化、アンドロステンジオンへの変換比活性の高値が認められたが認められた。なお、6α 水酸化、2β 水酸化、6β 水酸化、7α 水酸化、15β 水酸化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：テストステロン代謝影響作用

参考文献

- Gyllenhammar I, Eriksson H, Söderqvist A, Lindberg RH, Fick J and Berg C (2009) Clotrimazole exposure modulates aromatase activity in gonads and brain during gonadal differentiation in *Xenopus tropicalis* frogs. *Aquatic Toxicology*, 91 (2), 102-109.
- Baudiffier D, Hinfrey N, Vosges M, Creusot N, Chadili E, Porcher JM, Schulz RW and Brion F (2012) A critical role of follicle-stimulating hormone (Fsh) in mediating the effect of clotrimazole on testicular steroidogenesis in adult zebrafish. *Toxicology*, 298 (1-3), 30-39.
- Baudiffier D, Hinfrey N, Ravaud C, Creusot N, Chadili E, Porcher JM, Schulz RW and Brion F (2013) Effect of *in vivo* chronic exposure to clotrimazole on zebrafish testis function. *Environmental Science and Pollution Research International*, 20 (5), 2747-2760.
- Machado DE, Alessandra-Perini J, Menezes de Mendonça E, Claudino MC, Nasciutti LE, Sola-Penna M, Zancan P and Perini JA (2020) Clotrimazole reduces endometriosis and the estrogen concentration by downregulating aromatase. *Reproduction*. 159 (6), 779-786.
- Chan SL, Pallett AL and Morgan NG (1997) Clotrimazole and efaroxan stimulate insulin secretion by different mechanisms in rat pancreatic islets. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 356 (6), 763-768.
- Turan VK, Mishin VM and Thomas PE (2001) Clotrimazole is a selective and potent inhibitor of rat cytochrome P450 3A subfamily-related testosterone metabolism. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 29 (6), 837-842.
- Antignac E, Fakahara M, Kimura M and Ushio F (1992) Clotrimazole-induced modulation of hepatic cytochrome P450 enzymes in Syrian and Chinese hamsters. *Biochemical Pharmacology*, 44 (11), 2266-2270.
- Wu SN, Li HF, Jan CR and Shen AY (1999) Inhibition of Ca²⁺-activated K⁺ current by clotrimazole in rat anterior pituitary GH3 cells. *Neuropharmacology*, 38 (7), 979-989.

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