

# ジフェノコナゾール (CAS no. 119446-68-3)

## 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

ジフェノコナ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、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、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、甲状腺ホルモン、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、成長ホルモン系への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、アロマターゼ活性阻害作用を示すことが示唆された。

### (1)生態影響

- Dong ら(2018)によって、ジフェノコナゾール(Sigma Aldrich、96%) 0.001、0.01、0.1、1 µg/L(設定濃度)に受精後 1 時間から 180 日間(ばく露終了前 2 週間の生殖試験も実施) ばく露した雄インドメダカ(*Oryzias melastigma*)への影響が検討されている。その結果として、0.001µg/L 以上のばく露区で精巣中精子数、生殖試験における孵化後の遊泳率、精巣中アンドロゲン受容体 *ARα* mRNA 相対発現量、精巣中アンドロゲン受容体 *ARβ* mRNA 相対発現量、脑中黄体形成ホルモン受容体 *LHβ* mRNA 相対発現量、脑中サケ型性腺刺激ホルモン放出ホルモン *sGnRH* mRNA 相対発現量の低値、精巣中精原細胞数の高値、0.01µg/L 以上のばく露区で精巣中精母細胞数、精巣中エストロゲン受容体 *ERβ* mRNA 相対発現量、肝臓中 *cyp19α* mRNA 相対発現量の高値、0.01、1 µg/L のばく露区で生殖試験における受精率の低値、0.01µg/L のばく露区で脑中卵胞刺激ホルモン受容体 *FSHβ* mRNA 相対発現量の低値、0.1µg/L 以上のばく露区で肝臓中 *cyp19β* mRNA 相対発現量の高値、1 µg/L のばく露区で生殖試験における孵化率、生殖腺体指数の低値、精巣中 *cyp19β* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、精巣中エストロゲン受容体 *ERα* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp19α* 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

- Dong ら(2017)によって、ジフェノコナゾール(Sigma Aldrich、96%) 0.001、0.01、0.1、1 µg/L(設定濃度)に受精後 1 時間から 180 日間(ばく露終了前 2 週間の生殖試験も実施)ばく露した雌インドメダカ(*Oryzias melastigma*)への影響が検討されている。その結果として、0.001、0.01、0.1µg/L のばく露区で肝臓中エストロゲン受容体 *ERα* mRNA 相対発現量、卵巣中エストロゲン受容体 *ERα* mRNA 相対発現量、卵巣中エストロゲン受容体 *ERγ* mRNA 相対発現量、卵巣中 *cyp19A* mRNA 相対発現量、卵巣中 *cyp19B* mRNA 相対発現量、肝臓中ビテロゲニン *VTG2* mRNA 相対発現量の低値(1 µg/L 区では高値)、生殖腺体指数、卵巣細胞に占める成熟卵胞の率、脑中卵胞刺激ホルモン受容体 *FSHβ* mRNA 相対発現量、卵巣中グルタチオン S-トランスフェラーゼ比活性の低値、0.001、0.01µg/L 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 *cyp19B* mRNA 相対発現量の低値(1 µg/L 区では高値)、肝臓中エストロゲン受容体 *ERβ* mRNA 相対発現量、肝臓中エストロゲン受容体 *ERγ* mRNA 相対発現量の低値、0.01µg/L 以上のばく露区で脳中 *cyp19B* mRNA 相対発現量の低値、脳中 *cyp19A* mRNA 相対発現量の高値、0.01、0.1µg/L のばく露区で生殖試験における孵化率、筋肉中 17β-エストラジオール/テストステロン濃度比の低値、脳中グルタチオン *S*-トランスフェラーゼ比活性、肝臓中アンドロゲン受容体 *ARβ* mRNA 相対発現量の高値、0.01µg/L のばく露区で生殖試験における総産卵数の低値、0.1µg/L 以上のばく露区で生殖試験における受精率の低値、筋肉中テストステロン濃度の高値、0.1µg/L のばく露区で肝臓中アンドロゲン受容体 *ARα* mRNA 相対発現量の高値、1 µg/L のばく露区で肝臓中 *cyp19A* mRNA 相対発現量、脳中サケ型性腺刺激ホルモン放出ホルモン *sGnRH* mRNA 相対発現量、脳中黄体形成ホルモン受容体 *LHβ* mRNA 相対発現量、筋肉中 17β-エストラジオール濃度の高値が認められた。なお、卵巣細胞に占める前卵黄形成期卵胞及び卵黄形成期卵胞の率、生殖試験における孵化後の遊泳率、卵巣中及び脳中 EROD 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：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、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用

- Teng ら(2018a)によって、ジフェノコナゾール(China Ministry of Agriculture, 96%) 0.5、5、50、500µg/L(設定濃度)に受精直後(時間の記載は見当たらない)から 168 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、0.5µg/L 以上のばく露区でテストステロン濃度の高値、5 µg/L 以上のばく露区で 17β-エストラジオール濃度、ビテロゲン濃度の高値、500µg/L のばく露区で体長の低値が認められた。

また、ジフェノコナゾール(China Ministry of Agriculture, 96%) 0.5、5、50、500µg/L(設定濃度)に受精直後(時間の記載は見当たらない)から最長 96 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、0.5、5、500µg/L のばく露区で自発運動頻度(24 時間)の低値、5 µg/L 以上のばく露区で心拍数(48 時間)の低値、50µg/L 以上のばく露区で心拍数(72 時間)の低値、500µg/L のばく露区で体長(96 時間)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

- Teng ら(2018b)によって、ジフェノコナゾール(China Ministry of Agriculture, 96%) 0.5、5、50、500µg/L(設定濃度)に 4 ヶ月 + 2 週齢から 21 日間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、雄において、0.5µg/L 以上のばく露区で血漿中テストステロン濃度、精巣中 *cyp3c1* mRNA 相対発現量、肝臓中エストロゲン受容体 *era* mRNA 相対発現量の低値、血漿中エストラジオール濃度、血漿中 11-ケトテストステロン濃度、精巣中ステロイド産生急性調節蛋白質 *star* mRNA 相対発現量、精巣中コレステロール側鎖切断 *cyp11a* mRNA 相対発現量、精巣中 3β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *3βhsd* mRNA 相対発現量の高値、0.5、50、500µg/L のばく露区で精巣中黄体形成ホルモン受容体 *lhr* mRNA 相対発現量、精巣中 17β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *17βhsd* mRNA 相対発現量、肝臓中エストロゲン受容体 *erβ* mRNA 相対発現量の高値、0.5、50µg/L のばく露区で脳中性腺刺激ホルモン放出ホルモン受容体 *gnrhr3* mRNA 相対発現量の高値、0.5、500µg/L のばく露区で肝臓中油滴発生率、脳中黄体形成ホルモン *lhβ* mRNA 相対発現量、精巣中卵胞刺激ホルモン受容体 *fshr* mRNA 相対発現量、精巣中ヒドロキシメチルグルタリル CoA レダクターゼ *hmgr* mRNA 相対発現量の高値、精巣中 11β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *11βhsd* mRNA 相対発現量の高値(5、50µg/L 区では低値)、0.5µg/L のばく露区で脳中性腺刺激ホルモン放出ホルモン *gnrh2*

mRNA 相対発現量、脳中性腺刺激ホルモン放出ホルモン受容体 *gnrhr2* mRNA 相対発現量、脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量の高値、精巣中 *cyp17* mRNA 相対発現量、肝臓中アンドロゲン受容体 *ar* mRNA 相対発現量の高値(50 $\mu$ g/L では低値)、5  $\mu$ g/L 以上のばく露区で肝臓体指数の低値、血漿中ビテロゲニン濃度の高値、5、500 $\mu$ g/L のばく露区で脳中卵胞刺激ホルモン *fsh $\beta$*  mRNA 相対発現量の高値、50 $\mu$ g/L のばく露区で生殖腺体指数、精巣中成熟精細胞(精細胞、精子)率の低値、精巣中未成熟精細胞(精原細胞、精母細胞)率の高値が認められた。なお、肥満度、脳体指数、脳中性腺刺激ホルモン放出ホルモン *gnrh3* 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、血漿中テストステロン濃度、卵巣中 17 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *17 $\beta$ hsd* mRNA 相対発現量の低値、血漿中ビテロゲニン濃度、血漿中エストロジオール濃度、脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量、卵巣中黄体形成ホルモン受容体 *lhr* mRNA 相対発現量、卵巣中ステロイド産生急性調節蛋白質 *star* mRNA 相対発現量、卵巣中 *cyp17* mRNA 相対発現量、卵巣中 11 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *11 $\beta$ hsd* mRNA 相対発現量、肝臓中エストロゲン受容体 *era* mRNA 相対発現量、肝臓中エストロゲン受容体 *er $\beta$*  mRNA 相対発現量の高値、0.5、5、50 $\mu$ g/L のばく露区で脳中性腺刺激ホルモン放出ホルモン *gnrh2* mRNA 相対発現量、卵巣中ヒドロキシメチルグルタルル CoA レダクターゼ *hmgr* mRNA 相対発現量、脳中性腺刺激ホルモン放出ホルモン *gnrh3* mRNA 相対発現量の高値、0.5、500 $\mu$ g/L のばく露区で肝臓中アンドロゲン受容体 *ar* mRNA 相対発現量の低値(50 $\mu$ g/L 区で高値)、0.5、5  $\mu$ g/L のばく露区で生殖腺体指数、脳中性腺刺激ホルモン放出ホルモン受容体 *gnrhr2* mRNA 相対発現量の高値、0.5 $\mu$ g/L、500 $\mu$ g/L のばく露区で脳中卵胞刺激ホルモン *fsh $\beta$*  mRNA 相対発現量、脳中黄体形成ホルモン *lh $\beta$*  mRNA 相対発現量、卵巣中コレステロール側鎖切断 *cyp11a* mRNA 相対発現量の高値、5  $\mu$ g/L 以上のばく露区で血漿中 11-ケトテストステロン濃度の低値、卵巣中未成熟卵胞率の高値、5、500 $\mu$ g/L のばく露区で卵巣中 3 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ *3 $\beta$ hsd* mRNA 相対発現量、卵巣中 *cyp3c1* mRNA 相対発現量の低値(50 $\mu$ g/L 区では高値)、5、50 $\mu$ g/L のばく露区で脳中性腺刺激ホルモン放出ホルモン受容体 *gnrhr3* mRNA 相対発現量の高値、5  $\mu$ g/L のばく露区で卵巣中卵胞刺激ホルモン受容体 *fshr* mRNA 相対発現量の低値、500 $\mu$ g/L のばく露区で卵巣中卵黄形成期卵胞率、肝臓中油滴発生率の高値が認められた。なお、肥満度、肝臓体指数、脳体指数には影響は認められなかった。

また更に、ジフェノコナゾール(China Ministry of Agriculture、96%) 0.5、5、50、500 $\mu$ g/L(設定濃度)に最長 168 時間ばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)受精卵(上記雌雄がばく露開始 8 日目に産卵)への影響が検討されている。その結果として、0.5 $\mu$ g/L 以上のばく露区で心拍数(受精後 72 時間)の低値、0.5、5、500 $\mu$ g/L のばく露区で心拍数(受精後 48 時間)の高値、5  $\mu$ g/L 以上のばく露区で体長(受精後 168 時間)の低値、50 $\mu$ g/L 以上のばく露区で自発運動頻度(受精後 24 時間)の高値、500 $\mu$ g/L のばく露区で孵化率(受精後 72 時間)、体長(受精後 96 時間)の低値が認められた。

また、ジフェノコナゾール(China Ministry of Agriculture、96%) 0.5、5、50、500 $\mu$ g/L(設定濃度)に最長 168 時間ばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)受精卵(非ばく露雌雄が産卵)への影響が検討されている。その結果として、0.5 $\mu$ g/L 以上のばく露区で体長(受精後 168 時間)の低値、0.5、500 $\mu$ g/L のばく露区で自発運動頻度(受精後 24 時間)の高値、5  $\mu$ g/L 以上のばく露区で心拍数(受精後 48 時間)、心拍数(受精後 72 時間)の低値、500 $\mu$ g/L のばく露区で体長(受精後 96 時間)の低値が認められた。なお、孵化率(受精後 72 時間)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、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用

- Teng ら(2017)によって、ジフェノコナゾール(China Ministry of Agriculture、96%) 5、50、500 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に3ヶ月+2週齢から7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、5  $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で精巣中インスリン成長因子 *igfla* mRNA 相対発現量、精巣中インスリン成長因子 *igf2b* mRNA 相対発現量の低値、血漿中成長ホルモン濃度、血漿中成長ホルモン/成長ホルモン結合蛋白質濃度比、血漿中インスリン成長因子 IGF-1 濃度、脳中成長ホルモン *gh* mRNA 相対発現量の高値、5、50 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で精巣中インスリン成長因子 *igf2a* mRNA 相対発現量の高値、5  $\mu\text{g/L}$  のばく露区で脳中成長ホルモン放出ホルモン *ghrh* mRNA 相対発現量の高値、50 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で肥満度、肝臓中インスリン成長因子 *igfla* mRNA 相対発現量、肝臓中インスリン成長因子 *igf2a* mRNA 相対発現量の高値、50 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で肝臓中インスリン成長因子 *igf2b* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、生殖腺体指数、肝臓体指数、脳体指数、血漿中成長ホルモン結合蛋白質濃度には影響は認められなかった。また、雌において、5  $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で生殖腺体指数、肝臓中インスリン成長因子 *igfla* mRNA 相対発現量、肝臓中インスリン成長因子 *igf2a* mRNA 相対発現量、肝臓中インスリン成長因子 *igf2b* mRNA 相対発現量の低値、血漿中成長ホルモン濃度、血漿中成長ホルモン/成長ホルモン結合蛋白質濃度比、血漿中インスリン成長因子 IGF-1 濃度の高値、5、50 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で脳中成長ホルモン *gh* mRNA 相対発現量の高値、5、500 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で卵巣中インスリン成長因子 *igf2a* mRNA 相対発現量の高値、脳中成長ホルモン放出ホルモン *ghrh* mRNA 相対発現量の高値(50、500 $\mu\text{g/L}$  区では低値)、5  $\mu\text{g/L}$  のばく露区で卵巣中インスリン成長因子 *igfla* mRNA 相対発現量の低値(500 $\mu\text{g/L}$  区では高値)、500 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で肝臓体指数の低値が認められた。なお、肝臓体指数、肥満度、脳体指数、血漿中成長ホルモン結合蛋白質濃度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：成長ホルモン系への作用

- Liang ら(2015)によって、ジフェノコナゾール(Yangzhou Shuangyin Chemical、95%) 250、500、1,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に受精後2時間から受精後120時間までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(測定濃度は全身体重当)が検討されている。その結果として、250 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区でコルチコトロピン放出ホルモン *crh* mRNA 相対発現量、トランスサイレチン *ttr* mRNA 相対発現量、チロシンデヨージナーゼ *dio2* mRNA 相対発現量の高値、500 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で孵化率、生存率、チロシンデヨージナーゼ *dio1* mRNA 相対発現量の低値、奇形率、甲状腺刺激ホルモン *tsh $\beta$*  mRNA 相対発現量、ウリジン二りん酸グルクロノシルトランスフェラーゼ *utblab* mRNA 相対発現量の高値、1,000 $\mu\text{g/L}$  のばく露区でサイロキシン濃度の低値、甲状腺ホルモン受容体 *tr $\beta$*  mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、トリヨードサイロニン濃度、甲状腺ホルモン受容体 *tr $\alpha$*  mRNA 相対発現量、サイログロブリン *tg* mRNA 相対発現量、Na/I シンポータ *nis* 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：甲状腺ホルモン、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用

## (2)アロマターゼ活性阻害作用

- Sanderson ら(2002)によって、ジフェノコナゾール(Riedel-deHaen) 0.3、1、3、10、30 $\mu\text{M}$ (=122、406、1,220、4,060、12,200 $\mu\text{g/L}$ )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、IC<sub>50</sub> 値 4  $\mu\text{M}$ (=1,624 $\mu\text{g/L}$ )の濃度でアロマターゼ活性の阻害が認められた。
- Hinfray ら(2006)によって、ジフェノコナゾール(Acros Organics) 0.01～100 $\mu\text{M}$ (=4.06～

40,600 $\mu$ g/L)の濃度にはく露した雌ニジマス卵巣及び脳ミクロソームへの影響が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub>値 29 $\pm$ 6 $\mu$ M(=11,800 $\mu$ g/L)及び 70 $\pm$ 7 $\mu$ M(=28,400 $\mu$ g/L)の濃度でアロマトラーゼ活性の阻害が認められた。

また、ジフェノコナゾール(Acros Organics) 10 $\mu$ M(=4,060 $\mu$ g/L)の濃度にはく露した雌ニジマス卵巣及び脳ミクロソームへの影響が検討されている。その結果として、アロマトラーゼ活性の低値が認められた。

## 参考文献

- Dong X, Zhang L, Chen M, Yang Z, Zuo Z and Wang C (2018) Exposure to difenoconazole inhibits reproductive ability in male marine medaka (*Oryzias melastigma*). *Journal of Environmental Sciences (China)*, 63, 126-132.
- Dong X, Zuo Z, Guo J, Li H, Zhang L, Chen M, Yang Z and Wang C (2017) Reproductive effects of life-cycle exposure to difenoconazole on female marine medaka (*Oryzias melastigma*). *Ecotoxicology*, 26 (6), 772-781.
- Teng M, Zhu W, Wang D, Qi S, Wang Y, Yan J, Dong K, Zheng M and Wang C (2018a) Metabolomics and transcriptomics reveal the toxicity of difenoconazole to the early life stages of zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*, 194, 112-120.
- Teng M, Qi S, Zhu W, Wang Y, Wang D, Dong K and Wang C (2018b) Effects of the bioconcentration and parental transfer of environmentally relevant concentrations of difenoconazole on endocrine disruption in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Pollution*, 233, 208-217.
- Teng M, Qi S, Zhu W, Wang Y, Wang D, Yang Y, Li H, Li C, Dong K and Wang C (2017) Sex-specific effects of difenoconazole on the growth hormone endocrine axis in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 144, 402-408.
- Liang X, Yu L, Gui W and Zhu G (2015) Exposure to difenoconazole causes changes of thyroid hormone and gene expression levels in zebrafish larvae. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40 (3), 983-987.
- Mu X, Pang S, Sun X, Gao J, Chen J, Chen X, Li X and Wang C (2013) Evaluation of acute and developmental effects of difenoconazole via multiple stage zebrafish assays. *Environmental Pollution*, 175, 147-157.
- Mu X, Chai T, Wang K, Zhu L, Huang Y, Shen G, Li Y, Li X and Wang C (2016) The developmental effect of difenoconazole on zebrafish embryos: A mechanism research. *Environmental Pollution*, 212, 18-26.
- Lopez-Antia A, Ortiz-Santaliestra ME, Mougeot F and Mateo R (2013) Experimental exposure of red-legged partridges (*Alectoris rufa*) to seeds coated with imidacloprid, thiram and difenoconazole. *Ecotoxicology*, 22 (1), 125-138.
- Abd-Alrahman SH, Elhalwagy ME, Kotb GA, Farid H, Farag AA, Draz HM, Isa AM and Sabico S (2014) Exposure to difenoconazole, diclofop-methyl alone and combination alters oxidative stress and biochemical parameters in albino rats. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 7 (10), 3637-3646.
- Sanderson JT, Boerma J, Lansbergen GW and van den Berg M (2002) Induction and inhibition of aromatase (CYP19) activity by various classes of pesticides in H295R human adrenocortical carcinoma cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 182 (1), 44-54.
- Hinfray N, Porcher JM and Brion F (2006) Inhibition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) P450 aromatase activities in brain and ovarian microsomes by various environmental substances. *Comparative Biochemistry and Physiology: Toxicology & Pharmacology*, 144 (3), 252-262.