

1,7,7-トリメチル 3-(フェニルメチレン)ビジクロ[2.2.1]ヘプタン-2-オン (3-ベンジリ
 デン=カンファー) (CAS no. 15087-24-8)

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

3-ベンジリデン=カンファー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、幼若ホルモン様作用、脱皮ホルモン様作用示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗プロゲステロン作用を示すことが示唆された。

(1)生態影響

- Kunz ら(2006)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Induchem、99%) 1、10、100、250、500µg/L(設定濃度)に8～9ヵ月齢(成熟)から21日間ばく露した雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、10µg/L以上のばく露区で雄精巣内生殖細胞に占める精母細胞の率の低値、雄精巣内生殖細胞に占める精細胞の率の低値、10、100、500µg/Lのばく露区で雌卵巣内生殖細胞に占める閉塞卵胞の率の高値、100µg/L以上のばく露区で雌卵巣内生殖細胞に占める後期卵黄形成卵胞の率の低値、250µg/L以上のばく露区で放卵回数、日毎産卵数、放卵毎産卵数、雄 nuptial tubercles 数の低値、雄血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。なお、体重(雌雄混合)、体長(雌雄混合)、肥満度(雌雄混合)、雄生殖腺体指数、雌生殖腺体指数、累積産卵数、雄精巣内生殖細胞に占める精原細胞の率、雌血漿中ビテロゲニン濃度、雌卵巣内生殖細胞に占める前期卵黄形成卵胞の率、雌卵巣内生殖細胞に占める卵源細胞の率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

- Kunz と Fent (2009)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Induchem、99%) 10、50、100、250、400、500µg/L(設定濃度)に2～3ヵ月齢(性分化前幼若期)から14日間ばく露したファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、EC₅₀値 244µg/Lの濃度(おそらく設定濃度換算)で全身中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用

- Kunz ら(2006)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Merck、99%) 10、100、500、1,000µg/L(設定濃度)に2～3ヵ月齢(性分化前幼若期)から14日間ばく露したファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、500µg/L以上のばく露区で体重、体長の低値、全身中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用

(2)生殖影響

- Faass ら(2009)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Indochem、97%) 0.24、0.7、2.4、7 mg/kg/day (餌中濃度 10、33、100、330ppm に相当)を5～6週齢 F₀ (投与開始 10 週間後に交配を開始し妊娠、哺育中も投与継続)から 11～13 週齢 F₁まで混餌投与した雌雄 LE ラットへの影響(11～13 週齢雌 F₁)が検討されている。その結果として、0.24mg/kg/day 以上のばく露群で発情周期に占める発情期の割合の低値、発情周期異常率(遅延又は不規則を示す個体率)、発情周期に占める発情間期の割合の高値、0.24mg/kg/day のばく露群で視床下部腹内側核(VMH: Ventromedial hypothalamus)中ステロイド受容体コアクチベータ(*SRC-1*) mRNA 相対発現量の低値(0.7mg/kg/day 群では高値)、0VMH 中プロゲステロン受容体(*PR*) mRNA 相対発現量の高値(2.4、7 mg/kg/day 群では低値)、0.7mg/kg/day 以上のばく露群で発情周期に占める発情前期の割合の低値、内側視索前野(MPOA: medial preoptic area)中エストロゲン受容体(*ER*) α mRNA 相対発現量の高値、0.7mg/kg/day のばく露群で MPOA 中 *SRC-1* mRNA 相対発現量の高値、2.4mg/kg/day 以上のばく露群で性行動試験における求愛行動(proceptive behavior)頻度、性行動試験におけるロードシス行動頻度、性行動試験におけるロードシス行動を示す個体率、MPO 中 *ER* β mRNA 相対発現量の低値、VMH 中 *ER* α mRNA 相対発現量、性行動試験における拒否行動を示す個体率の高値、7 mg/kg/day のばく露群で体重の低値が認められた。なお、VMH 中 *ER* β mRNA 相対発現量、MPOA 中 *PR* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、上記ばく露後の 11～13 週齢雄 F₁においては、0.24、0.7mg/kg/day のばく露群で VMH 中 *ER* β mRNA 相対発現量、VMH 中 *SRC-1* mRNA 相対発現量の低値(2.4、7mg/kg/day 群では高値)、VMH 中 *PR* mRNA 相対発現量、MPOA 中 *SRC-1* mRNA 相対発現量の高値、0.7mg/kg/day 以上のばく露群で MPOA 中 *PR* mRNA 相対発現量、MPOA 中 *ER* α mRNA 相対発現量の高値、2.4mg/kg/day のばく露群で VMH 中 *ER* α mRNA 相対発現量の高値、7 mg/kg/day のばく露群で体重の低値が認められた。なお、MPOA 中 *ER* β 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、抗エストロゲン様作用

- Schlumpf ら(2004)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Indochem、100%) 0.8、2、4、9.4、18.75、37.5、75、150、300mg/kg/day を 20 日齢から 3 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、4 mg/kg/day 以上のばく露群で子宮絶対重量の高値が認められた。なお、体重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

(3)エストロゲン作用

- Schlumpf ら(2004)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Indochem、100%) 0.001、0.01、0.1、0.3、0.6、1、3、6、10 μ M(=0.240、2.40、24.0、72.0、144、240、720、1,440、2,400 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が検討されている。その結果として、EC₅₀値 0.684 μ M(=164 μ g/L)の濃度で細胞増殖誘導が認められた。
- Jiménez-Díaz ら(2013)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Indochem、98%) 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10 μ M(=2.4、7.2、24、72、240 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が検討されている。その結果として、EC₅₀値 1.70 μ M (=409 μ g/L)の濃度で細胞増殖誘導が認められた。
- Schreurs ら(2005)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Unisol S-22、Permcos GmbH) 0.1～

10 μ M(=24~2,400 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト胎児腎細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容体 β 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 10 μ M(=2,400 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、3-ベンジリデン=カンファー(Unisol S-22、Permcos GmbH) 0.1~10 μ M(=24~2,400 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト胎児腎細胞 HEK293 (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。その結果として、EC₅₀ 値 13 μ M(=3,120 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

- Kunz ら(2006)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Merck、99%) 0.1~100 μ M(=240~24,000 μ g/L)の濃度にばく露した酵母(ニジマス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 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、EC₅₀ 値 12.2 μ M(=2,930 μ g/L)の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。

また、3-ベンジリデン=カンファー(Merck、99%) 0.1~100 μ M(=240~24,000 μ g/L)の濃度にばく露した酵母(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 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、EC₅₀ 値 310 μ M(=74,500 μ g/L)の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。

- Schmitt ら(2008)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Schlumpf M より譲渡) 0.01、0.1、0.3、1、3、10、30、100、300 μ M(=2.4、24、72、240、720、2,400、7,200、24,000、72,000 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した酵母(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 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、EC₅₀ 値 44.2 μ M(=10,600 μ g/L)の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。

なお、本試験結果の解釈にあたっては、図の一部にエラーバー表示及び有意差表記の記載がない点に注意を要すると判断された。

- Kunz と Fent (2006)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Merck、99%) 0.01~10,000 μ M(=2.4~2,400,000 μ g/L)の濃度に 72 時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体 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 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、EC₅₀ 値 310 μ M(=7,450 μ g/L)の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。

(4)エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用

- Schlumpf ら(2004)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Indochem、100%) 0.6、1、3、6、10、30、60、100、300、600 μ M(=144、240、720、1,440、2,400、7,200、14,400、24,000、72,000、144,000 μ g/L)の濃度でヒトエストロゲン受容体 β による標識 17 β -エストラジオール(濃度未記載)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 35.3 μ M(=8,980 μ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。

また、3-ベンジリデン=カンファー(Indochem、100%) 0.1、1、3、6、10、30、60、100、300 μ M(=25.4、254、763、1,530、2,540、7,300、15,300、25,400、73,000 μ g/L)の濃度でブタ子宮サイトゾルによる標識 17 β -エストラジオール(濃度未記載)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 14.5μM(=3,480μg/L)の濃度で結合阻害が認められた。

なお、3-ベンジリデン=カンファー(Indochem、100%) 1、3、6、10、30、60、100、300、600μM(=240、720、1,440、2,400、7,200、14,400、24,000、72,000、144,000μg/L)の濃度でヒトエストロゲン受容体αによる標識17β-エストラジオール(濃度未記載)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。

(5)抗エストロゲン作用

- Kunz と Fent (2006)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Merck、99%) 0.01~10,000μM(=2.4~2,400,000μg/L)の濃度に72時間ばく露(17β-エストラジオール 0.17nM 共存下)した酵母(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、IC₅₀値 8,460μM(=2,030,000μg/L)の濃度でβ-ガラクトシダーゼ発現誘導の阻害が認められた。

(6)抗アンドロゲン作用

- Schreurs ら(2005)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Unisol S-22、Permcos GmbH) 0.1、1、10μM(=24、240、2,400μg/L)の濃度に24時間ばく露(ジヒドロテストステロン 0.1nM 共存下)したヒト胎児腎細胞 HEK293 (ヒトアンドロゲン受容体α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 4.6μM(=1,110μg/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。
- Kunz と Fent (2006)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Merck、99%) 0.01~10,000μM(=2.4~2,400,000μg/L)の濃度に72時間ばく露(ジヒドロテストステロン 1.3nM 共存下)した酵母(ヒトアンドロゲン受容体αを発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたβ-ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC₅₀値 18.5μM(=4,450μg/L)の濃度でβ-ガラクトシダーゼ発現誘導の阻害が認められた。
- Nashev ら(2010)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Merck、98%) 20μM(=4,800μg/L)までの濃度に24時間ばく露(テストステロン 0.2nM 共存下)したヒト胎児腎細胞 HEK293 (ヒトアンドロゲン受容体α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、20μM(=4,800μg/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。

また、3-ベンジリデン=カンファー(Merck、98%) 0.1~20μM(=24~4,800μg/L)の濃度に40分ばく露したヒト胎児腎細胞 HEK-293(試験対象酵素を細胞中で大量発現した非破壊細胞)への影響が検討されている。その結果として、IC₅₀値 6.3μM(=1,510μg/L)の濃度で、ヒト2型17β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ比活性(標識17β-エストラジオール 200nM のエストロンへの変換)の阻害が認められた。

また、3-ベンジリデン=カンファー(Merck、98%) 0.1~20μM(=24~4,800μg/L)の濃度に30~60分ばく露したヒト胎児腎細胞 HEK-293(試験対象酵素を細胞中で大量発現した非破壊細胞)への影響が検討されている。その結果として、IC₅₀値 33.3μM(=8,000μg/L)の濃度で、ヒト3型17β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ比活性(標識アンドロステンジオン 200nM のテストステロンへの変換)の阻害が認められた。

また、3-ベンジリデン=カンファー(Merck、98%) 20μM(=4,800μg/L)までの濃度でヒト胎児腎細胞 HEK-293(試験対象酵素を細胞中で大量発現したサイトゾル)への影響が検討されている。

その結果として、20 μ M(=4,800 μ g/L)の濃度で、ヒト1型17 β -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ比活性(標識エストロン200nMの17 β -エストラジオールへの変換)の阻害が認められた。

なお、3-ベンジリデン=カンファー(Merck、98%)0.1~20 μ M(=24~4,800 μ g/L)の濃度に3~5時間ばく露したヒト胎児腎細胞HEK-293(試験対象酵素を細胞中で大量発現した非破壊細胞)への影響が検討されているが、ヒト5型17 β -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ比活性(標識アンドロステンジオン200nMのテストステロンへの変換)には阻害は認められなかった。

(7)抗プロゲステロン作用

- Schreursら(2005)によって、3-ベンジリデン=カンファー(Unisol S-22、Permcos GmbH)0.001、0.01、0.1、1、3、10 μ M(=0.24、2.4、24、240、720、2,400 μ g/L)の濃度に24時間ばく露(プロゲステロンアゴニストORG205820pM共存下)したヒト骨肉腫細胞U2-OS(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。その結果として、IC₅₀値0.4 μ M(=96 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。

参考文献

- Kunz PY, Gries T and Fent K (2006) The ultraviolet filter 3-benzylidene camphor adversely affects reproduction in fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Toxicological Sciences*, 93 (2), 311-321.
- Sieratowicz A, Kaiser D, Behr M, Oettken M and Oehlmann, J (2011) Acute and chronic toxicity four of four frequently used UV Filter substances for *Desmodesmus subspicatus* and *Daphnia magna*. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 1311-1319.
- Kunz PY and Fent K (2009) Estrogenic activity of ternary UV filter mixtures in fish (*Pimephales promelas*) - an analysis with nonlinear isobolograms. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 234 (1), 77-88.
- Kunz PY, Galicia HF and Fent K (2006) Comparison of *in vitro* and *in vivo* estrogenic activity of UV filters in fish. *Toxicological Sciences*, 90 (2), 349-361.
- Faass O, Schlumpf M, Reolon S, Henseler M, Maerkel K, Durrer S and Lichtensteiger W (2009) Female sexual behavior, estrous cycle and gene expression in sexually dimorphic brain regions after pre- and postnatal exposure to endocrine active UV filters. *Neurotoxicology*, 30 (2), 249-260.
- Schlumpf M, Jarry H, Wuttke W, Ma R and Lichtensteiger W (2004) Estrogenic activity and estrogen receptor beta binding of the UV filter 3-benzylidene camphor. Comparison with 4-methylbenzylidene camphor. *Toxicology*, 199 (2-3), 109-120.
- Hofkamp L, Bradley S, Tresguerres J, Lichtensteiger W, Schlumpf M and Timms B (2008) Region-specific growth effects in the developing rat prostate following fetal exposure to estrogenic ultraviolet filters. *Environmental Health Perspectives*, 116 (7), 867-872.
- Jiménez-Díaz I, Molina-Molina JM, Zafra-Gómez A, Ballesteros O, Navalón A, Real M, Sáenz JM, Fernández MF and Olea N (2013) Simultaneous determination of the UV-filters benzyl salicylate, phenyl salicylate, octyl salicylate, homosalate, 3-(4-methylbenzylidene) camphor and 3-benzylidene camphor in human placental tissue by LC-MS/MS. Assessment of their *in vitro* endocrine activity. *Journal of Chromatography. B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 936, 80-87.
- Schreurs RH, Sonneveld E, Jansen JH, Seinen W and van der Burg B (2005) Interaction of polycyclic musks and UV filters with the estrogen receptor (ER), androgen receptor (AR), and progesterone receptor (PR) in reporter gene bioassays. *Toxicological Sciences*, 83 (2), 264-272.
- Schmitt C, Oetken M, Dittberner O, Wagner M and Oehlmann J (2008) Endocrine modulation and toxic effects of two commonly used UV screens on the aquatic invertebrates *Potamopyrgus antipodarum* and *Lumbriculus variegatus*. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 152 (2), 322-329.
- Kunz PY and Fent K (2006) Multiple hormonal activities of UV filters and comparison of *in vivo* and *in*

in vitro estrogenic activity of ethyl-4-aminobenzoate in fish. *Aquatic Toxicology*, 79 (4), 305-324.

Nashev LG, Schuster D, Laggner C, Sodha S, Langer T, Wolber G and Odermatt A (2010) The UV-filter benzophenone-1 inhibits 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 3: Virtual screening as a strategy to identify potential endocrine disrupting chemicals. *Biochemical Pharmacology*, 79 (8), 1189-1199.

Ma R, Cotton B, Lichtensteiger W and Schlumpf M (2003) UV filters with antagonistic action at androgen receptors in the MDA-kb2 cell transcriptional-activation assay. *Toxicological Sciences*, 74 (1), 43-50.

Rehfeld A, Dissing S and Skakkebaek NE (2016) Chemical UV Filters Mimic the Effect of Progesterone on Ca(2+) Signaling in Human Sperm Cells. *Endocrinology*, 157 (11), 4297-4308.

Schiffer C, Müller A, Egeberg DL, Alvarez L, Brenker C, Rehfeld A, Frederiksen H, Wäschle B, Kaupp UB, Balbach M, Wachten D, Skakkebaek NE, Almstrup K and Strünker T (2014) Direct action of endocrine disrupting chemicals on human sperm. *EMBO reports*, 15, 758-765.

(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)