

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(令和4年度実施分)(案)

I. 令和4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

令和3年度に信頼性評価を実施する対象として選定した10物質群(表1参照)のうち、表2に記載された5物質群について令和4年度に信頼性評価を実施した。

また、令和4年度に信頼性評価を実施する対象として選定した9物質群(表3参照)のうち、表2に記載された2物質群について令和4年度に信頼性評価を実施した。

表1 令和3年度に信頼性評価の対象とする10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		
ベンジルパラベン(別名:4-ヒドロキシ安息香酸ベンジル)	感熱紙用顔色剤 <sup>1)</sup>	3.(1)
イソシアヌル酸	水中塩素安定剤、シアヌル酸誘導体原料 <sup>1)</sup>	3.(1)
ドデカメチルシクロヘキサシロキサン	医薬部外品添加物(化粧品保湿剤) <sup>2)</sup>	3.(1)
マラカイトグリーン塩酸塩	顔料 <sup>1)</sup>	3.(1)
デカメチルシクロペンタシロキサン	原料(シリコンオイル、化粧品) <sup>1)</sup>	3.(1)
今回報告		
N,N-ジメチルビグアニド(別名:メトホルミン)	医薬品(血糖降下剤)(塩酸塩として) <sup>2)</sup>	3.(1)
オクタメチルシクロテトラシロキサン	原料(化粧品) <sup>1)</sup>	3.(1)
チアベンダゾール	食品添加物(柑橘類の防カビ剤)、駆虫剤(動物用)、殺菌剤(失効農薬) <sup>1)</sup>	3.(1)
バルプロ酸	原料(医薬品) <sup>1)</sup>	3.(1)
ピリドスチグミン	医薬品(抗コリンエステラーゼ剤)(ピリドスチグミン臭化物として) <sup>2)</sup>	3.(1)

1) 化学工業日報社、17221の化学商品(2021)及びバックナンバー

2) 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  
([https://www.nite.go.jp/chem/chrip/chrip\\_search/systemTop](https://www.nite.go.jp/chem/chrip/chrip_search/systemTop))

\*\*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

表2 令和4年度に信頼性評価を実施した7物質群

	物質名	選定年度	信頼性評価の実施年度
1	N,N-ジメチルピグアニド (別名:メトホルミン)	令和3年度	令和4年度
2	オクタメチルシクロテトラシロキサン	令和3年度	令和4年度
3	チアベンダゾール	令和3年度	令和4年度
4	バルプロ酸	令和3年度	令和4年度
5	ピリドスチグミン	令和3年度	令和4年度
6	ベンゾフェノン-4 (別名:2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン-5-スルホン酸)	令和4年度	令和4年度
7	ロイコマラカイトグリーン (別名:4,4'-ビス(ジメチルアミノ)トリフェニルメタン)	令和4年度	令和4年度

表3 令和4年度に信頼性評価の対象とする9物質

名称	主な用途	選定根拠となった調査区分の記号**
今回報告		
ベンゾフェノン-4 (別名:2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン-5-スルホン酸)	医薬部外品添加物 (化粧品等) <sup>2)</sup>	3.(1)
ロイコマラカイトグリーン (別名:4,4'-ビス(ジメチルアミノ)トリフェニルメタン)	マラカイトグリーン (顔料) <sup>1)</sup> 代謝物	3.(7)
実施中		
ケトプロフェン	医薬品(消炎剤、鎮痛剤) <sup>1)</sup>	3.(1)
中鎖塩素化パラフィン類 (C=14~17 かつ Cl=4~9)	防水防火塗料、樹脂可塑剤、路面ペイント、印刷インキ、潤滑油 <sup>1)</sup>	3.(1)
ビスフェノールB (別名:4,4'-(1-メチルプロピリデン)ビスフェノール)	有機合成中間体 <sup>1)</sup>	3.(6)
フタル酸ジエチル*	可塑剤 <sup>1)</sup>	3.(1)
フタル酸ジ-n-ブチル*	塗料、顔料、接着剤、合成レザー及び塩化ビニル樹脂の可塑剤、香料の溶剤、織物用潤滑剤、ゴム練り加工剤及び農薬の補助剤 <sup>2)</sup>	3.(1)
ベンラファキシン	医薬 (抗うつ剤) <sup>3)</sup>	3.(1)
りん酸(2-エチルヘキシル)ジフェニル	可塑剤 <sup>1)</sup>	3.(1)

\*化管法第一種指定化学物質

1) 化学工業日報社、17322の化学商品(2022)及びバックナンバー

2) 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  
([https://www.nite.go.jp/chem/chrip/chrip\\_search/systemTop](https://www.nite.go.jp/chem/chrip/chrip_search/systemTop))

- 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](http://www.info.pmda.go.jp/psearch/html/menu_tenpu_base.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. (6) 欧州化学品庁において高懸念物質とされた物質
- 3. (7) 専門家から提案された物質

## II. 令和4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

令和4年度に信頼性評価を実施した7物質群について、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群ごとに表4に示した。

### 1. 信頼性評価の実施

令和4年度に実施した7物質群の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について、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作業班会議(第2回:同8月22日開催、第3回:同9月12日開催、第4回:同10月19日開催、第5回:令和5年1月30日開催、非公開)において評価を実施し、信頼性評価のまとめと今後の対応案について検討を行った。(信頼性評価の結果は別添参照)

### 2. 令和4年度に実施した7物質群の信頼性評価のまとめ

#### (1)内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る6物質

- \*オクタメチルシクロテトラシロキサシロキサン: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、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、抗エストロゲン作用を示すことが示唆された。
- \*チアベンダゾール:試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、アロマターゼ活性阻害によるエストラジオール合成阻害作用を示すことが示唆された。
- \*バルプロ酸:動物試験の報告において、視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用、雌ラットに対する抗エストロゲン様作用、視床下部一下垂体一副腎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、エストロゲン受容体 $\alpha$ 発現促進作用、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、アンドロゲンとの複合作用、抗プロゲステロン作用、前立腺がん細胞における細胞増殖抑制作用及びアポトーシス促進作用、前立腺がん細胞への影響(エストロゲン受容体への影響は間接的と考えられた事例も含む)、ステロイド産生影響、ラット莢膜/間質細胞でのステロイド合成への間接的な影響、メラトニン受容体への影響を示すこと、ヒトへの投与試験において、成長ホルモンへの影響、視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用、メラトニン分泌調節機能の低下、視床下部一下垂体一甲状腺軸への作用、インスリン抵抗性促進、テストステロン合成系への影響、プロラクチン分泌抑制、ステロイド合成系へ

の影響、アンドロゲン作用、アンドロステンジオン濃度上昇作用、黄体形成ホルモン分泌阻害作用を示すことが示唆された。

\*メトホルミン：動物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、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、インスリン様作用、インスリンシグナル伝達への影響、糖代謝の改善を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン受容体発現抑制作用、ER $\alpha$  発現抑制作用、ER $\beta$  発現促進作用、アンドロゲン受容体発現抑制作用、プロゲステロン受容体発現促進作用、がん細胞増殖抑制作用、抗グルカゴン作用、抗インスリン作用、インスリンによるグリコーゲン合成作用の促進を示すこと、ヒトへの投与試験において、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、アンドロゲン受容体の発現低下、遊離テストステロン濃度低下、インスリン感受性亢進、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が示唆された。

\*ロイコマラカイトグリーン：試験管内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が示唆された。

\*ベンゾフェノン-4：動物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、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用を示すことが示唆された。

## (2)現時点では試験対象物質としない1物質

\*ピリドスチグミン：ヒトへの投与試験の報告において、成長ホルモン放出ホルモンに対する作用を介した成長ホルモン放出作用をしめすことが示唆されたが、EXTEND2016 の枠組みにおいては試験対象とはしない作用（無脊椎動物の成長への作用を除く）のため、内分泌かく乱作用に関する試験対象物質としない。

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  
 (第1段階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	オクタメチ ルシクロテ トラシロキ サン	○	○	○	○	—	—	—
2	チアベンダ ゾール	○	—	—	—	—	—	—
3	バルプロ酸	○	○	○	○	○	○	—
4	メトホルミ ン	○	○	○	○	○	○	—
5	ロイコマラ カイトグリ ーン	—	—	—	—	○	○	—
6	ベンゾフェ ノン-4	○	○	—	—	○	○	—
合計	23 試験	5	4	3	3	4	4	0

○：既存知見から示唆された作用、—：試験管内試験を実施しない作用

## I. オクタメチルシクロテトラシロキサン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

オクタメチルシクロテトラシロキサンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響、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、プロゲステロン作用又は抗プロゲステロン作用、下垂体細胞への影響に関する報告がある。

#### (1) 生殖影響

①Siddiqui ら(2007)によって、オクタメチルシクロテトラシロキサン(Dow Corning、99.7%) 70、300、500、700 (チャンバー内空气中設定濃度)に交配前 70 日目以前から妊娠 21 日目まで (日毎 6 時間) 吸入ばく露(ただし、妊娠 21 日目から出産 4 日目までは中断)した SD ラット F<sub>0</sub> への影響が検討されている。その結果として、母動物において、300ppm 以上のばく露群で肝臓絶対及び相対重量の高値、700ppm のばく露群で同腹着床部位数の低値が認められた。なお、体重、腎臓絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、卵巣絶対及び相対重量、発情周期日数、交配に至るまでの所要日数、妊娠期間日数、妊娠期間増加体重、哺育期間増加体重、交配率、受胎率には影響は認められなかった。父動物において、70ppm 以上のばく露群で左精巣中精子数、右精巣中日毎精子産生速度の高値、300ppm 以上のばく露群で肝臓相対重量、腎臓相対重量の高値、500ppm 以上のばく露群で腎臓絶対重量の高値、700ppm のばく露群で肝臓絶対重量、下垂体相対重量の高値が認められた。なお、体重、左精巣上体中精子数、運動精子率(右精巣上体中精子)、形態異常精子率(右精巣上体中精子)、右精巣絶対及び相対重量、左精巣絶対及び相対重量、下垂体絶対重量、交配率、妊孕率には影響は認められなかった。新生仔(F<sub>1</sub>)において、500ppm 以上のばく露群で同腹生存新生仔数、同腹新生仔数の低値、700ppm のばく露群で新生仔体重(1 日齢)の低値が認められた。なお、新生仔生存率(0～21 日齢)、雌雄肛門生殖突起間距離(1 日齢)、雄新生仔包皮分離日、雌新生仔膈開口日、新生仔性比には影響は認められなかった。

また、オクタメチルシクロテトラシロキサン(Dow Corning、99.7%) 70、300、500、700 (チャンバー内空气中設定濃度)に 22 日齢(交配前ばく露 70 日間以上)から出産 21 日目まで (日毎 6 時間) 吸入ばく露(ただし、妊娠 21 日目から出産 4 日目までは中断)した SD ラット F<sub>1</sub> (前述 F<sub>0</sub> が出産及び哺育し 21 日齢で離乳)への影響(14～15 週齢で初交配後、更に 2 回の交配、妊娠、出産、哺育を終えた 28～29 週齢で剖検)が検討されている。その結果として、母動物において、500ppm 以上のばく露群で肝臓絶対及び相対重量の高値、700ppm のばく露群で妊娠期間増加体重、交配率、受胎率の低値、発情周期日数、妊娠期間日数、腎臓絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量の高値が認められた。なお、体重、卵巣絶対及び相対重量、交配に至るまでの所要日数、哺育期間増加体重には影響は認められなかった。父動物において、300ppm 以上のばく露群で肝臓相対重量の高値、500ppm 以上のばく露群で腎臓相対重量の高値、700ppm のばく露群で妊孕率の低値、肝臓絶対重量の高値が認められた。なお、体重、左精巣中精子数、左精巣上体中精子数、右精巣中日毎精子産生速度、運動精子率(右精巣上体中精子)、形態異常精子率(右精巣上体中精子)、右精巣絶対及び相対重量、左精巣絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、腎臓絶対重量、交配率には影響は認められなかった。新生仔(F<sub>2</sub>)において、500ppm 以上のばく露群で同腹生存新生仔数の低値、700ppm のばく露群で、同腹新生仔数、新生仔体重(1、4 日齢)の低値が認められた。なお、新生仔生存率(0～21 日

齡)、雌雄肛門生殖突起間距離(1日齡)、雄新生仔包皮分離日、雌新生仔膻開口日、新生仔性比には影響は認められなかった。(15847)(評価結果の略号：○?、以下同じ)

想定される作用メカニズム：毒性

- ②Burns-Naasら(2002)によって、オクタメチルシクロテトラシロキサン(Dow Corning, 99%) 35、122、488、898ppm(チャンバー内空气中設定濃度)に10週齢から3ヵ月間(週5日、日毎6時間)吸入ばく露(nose-only restraint チューブによる鼻経由のみ)した雌雄 F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、雌において、488ppm 以上のばく露群で胸腺絶対及び相対重量の低値、肝臓絶対及び相対重量、副腎絶対及び相対重量の高値、898ppm のばく露群で卵巣絶対及び相対重量の低値、肺相対重量の高値(絶対重量は有意差なし)、生殖系組織病理学的異常所見(卵巣での黄体不在、膻での粘液化)が認められた。なお、脳絶対重量、心臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量には影響は認められなかった。雌において、488ppm のばく露群で精巣絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、心臓絶対及び相対重量の高値、脾臓相対重量の高値(絶対重量は有意差なし)、898ppm のばく露群で脳絶対重量の低値(相対は有意差なし)、肺相対重量の高値(絶対は有意差なし)が認められた。なお、肝臓絶対及び相対重量、副腎絶対及び相対重量、胸腺絶対及び相対重量には影響は認められなかった。(15852)(○?)

想定される作用メカニズム：不明

- ③Jean と Plotzke (2017)によって、オクタメチルシクロテトラシロキサン(Dow Corning, 99%) 702±22ppm(チャンバー内空气中測定濃度であり、設定濃度 700ppm に相当)に11ヵ月齢(49～50週齢)から24ヵ月齢まで(週5日、日毎6時間)吸入ばく露した雌 F344 ラットへの影響(ばく露開始からの各週間後の他、45日毎の9 Time Period でも測定)が検討されている。その結果として、血清中エストラジオール濃度(2～57週間後)、血清中エストラジオール/プロゲステロン比(2～34、46～54週間後)の低値、発情周期に占める estrogenic state(発情前期及び発情期)日数比(Time Period 1～9)、発情周期に占める estrogenic state(発情前期及び発情期)日数(Time Period 1～6)、発情周期回数(Time Period 2、6～8)、血清中プロゲステロン濃度(2、6、10週間後)、血清中コルチコステロン濃度(2～38、50週間後)の高値が認められた。なお、血清中プロラクチン濃度には影響は認められなかった。(15839)(○P)

想定される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用

- ④Quinnら(2007a)によって、オクタメチルシクロテトラシロキサン(Dow Corning, 99.6%) 702±14、905±23ppm(チャンバー内空气中測定濃度であり、設定濃度 700、900ppm に相当)に13週齢の第3発情間期1、2日目に各6時間、発情前期日に2.5時間吸入ばく露した雌 SD ラットへの影響(最終ばく露終了時である 10:00 に断頭し体幹血を採取)が検討されている。その結果として、702ppm 以上のばく露群で体重の低値、血漿中エストロン濃度の高値、905ppm のばく露群で血漿中プロゲステロン濃度の高値が認められた。なお、脳絶対及び相対重量、子宮絶対及び相対重量、卵巣絶対及び相対重量、血漿中エストラジオール濃度、血漿中エストロン/エストラジオール濃度比、血漿中卵胞刺激ホルモン濃度には影響は認められなかった。

また、オクタメチルシクロテトラシロキサン(Dow Corning, 99.6%) 711±13、895±21ppm(チャンバー内空气中測定濃度であり、設定濃度 700、900ppm に相当)に13週齢の第3発情間期1、2日目に各6時間、発情前期日に6時間吸入ばく露した雌 SD ラット(頸静脈カテーテル挿入処置済)への影響(発情前期日の 14:00～22:00 に頸静脈血を採取、更に発情日に相当する翌朝に断頭し体幹血を採取)が検討されている。その結果として、711ppm 以上のばく露群で血漿中プロラクチン濃度(発情前

期日 14:00)、血漿中卵胞刺激ホルモン濃度、排卵率、右及び左卵管中排卵数、血漿中エストロン/エストラジオール濃度比の低値、血漿中エストラジオール濃度(排卵及び非排卵個体)、血漿中エストロン濃度、血漿中エストラジオール濃度の高値、895ppm のばく露群で体重、卵巢絶対及び相対重量体重、子宮相対重量の低値が認められた。なお、血漿中黄体形成ホルモン極大濃度(排卵及び非排卵個体群のそれぞれについて発情前期日 14:00~22:00)、血漿中黄体形成ホルモン濃度(排卵及び非排卵個体群のそれぞれについて発情前期日 14:00~22:00 の時間曲線下面積)、血漿中プロゲステロン濃度には影響は認められなかった。(15845)(○●P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、実施された試験の一部において体重の低値が認められている点に注意を要すると判断された。

- ⑤Lee ら(2015)によって、オクタメチルシクロテトラシロキサン(Sigma-Aldrich) 500、1,000mg/kg/day を 18 日齢から 4 日間皮下投与した雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、500mg/kg/day 以上のばく露群で子宮中エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 相対発現量の低値、子宮中カルシウム結合蛋白質 CABP-9K mRNA 相対発現量、肝臓中 CYP2B1 mRNA 相対発現量の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で子宮中プロゲステロン受容体 mRNA 相対発現量の低値、肝臓相対重量の高値が認められた。なお、子宮相対重量には影響は認められなかった。(15842)(△●P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用

## (2) 発達影響

- ①Meeks ら(2007)によって、オクタメチルシクロテトラシロキサン(Dow Corning, 99%) 72、301、503、698ppm (チャンバー内空气中測定濃度であり、設定濃度 70、300、500、700ppm に相当)に交配前 28 日目以前から妊娠 19 日目まで(日毎 6 時間)吸入ばく露した SD ラットへの影響(妊娠 20 日目)が検討されている。その結果として、301、503ppm のばく露群で同腹黄体数の低値、503ppm 以上のばく露群で同腹着床部位数、同腹生存胎仔数の低値、698ppm のばく露群で妊娠子宮重量の低値、着床前胚消失率の高値が認められた。なお、初期胚消失率、後期胚消失率、着床後胚消失率には影響は認められなかった。

また、オクタメチルシクロテトラシロキサン(Dow Corning, 99%) 696ppm (チャンバー内空气中測定濃度であり、設定濃度 700ppm に相当)に交配前 3 日目から妊娠 3 日目まで(受精期に相当)日毎 6 時間吸入ばく露した SD ラットへの影響(妊娠 20 日目)が検討されている。その結果として、母動物増加体重、妊娠子宮重量、同腹黄体数、同腹着床部位数、同腹生存胎仔数の低値、着床前胚消失率、着床後胚消失率、初期胚消失率の高値が認められた。なお、後期胚消失率には影響は認められなかった。

また、オクタメチルシクロテトラシロキサン(Dow Corning, 99%) 702ppm (チャンバー内空气中測定濃度であり、設定濃度 700ppm に相当)に交配前 31 日目から交配前 3 日目まで(卵巢発達期に相当)日毎 6 時間吸入ばく露した SD ラットへの影響(妊娠 20 日目)が検討されているが、母動物増加体重、妊娠子宮重量、同腹黄体数、同腹着床部位数、同腹生存胎仔数、着床前胚消失率、着床後胚消失率、初期胚消失率、後期胚消失率には影響は認められなかった。

また、オクタメチルシクロテトラシロキサン(Dow Corning, 99%) 702ppm (チャンバー内空气中測定濃度であり、設定濃度 700ppm に相当)に妊娠 2 日目から妊娠 5 日目まで(着床期に相当)日毎 6 時間吸入ばく露した SD ラットへの影響(妊娠 20 日目)が検討されているが、母動物増加体重、妊娠子

宮重量、同腹黄体数、同腹着床部位数、同腹生存胎仔数、着床前胚消失率、着床後胚消失率、初期胚消失率、後期胚消失率には影響は認められなかった。(15846)(○?)

想定される作用メカニズム：不明

### (3) エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用

①Quinn ら(2007b)によって、オクタメチルシクロテトラシロキササン(Dow Corning、99.9%) 900ppm (チャンバー内空气中設定濃度)でヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  による標識 17 $\beta$ -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、結合阻害が認められた。

また、オクタメチルシクロテトラシロキササン(Dow Corning、99.9%) 900ppm (チャンバー内空气中設定濃度)でヒトエストロゲン受容体  $\beta$  による標識 17 $\beta$ -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が、結合阻害は認められなかった。(15848)(○○P)

②He ら(2003)によって、オクタメチルシクロテトラシロキササン(Dow Corning) 0.0001、0.01、1、100 $\mu$ M(=0.0297、2.97、297、29,700 $\mu$ g/L)の濃度でヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  による標識 17 $\beta$ -エストラジオール 1 pM 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、100 $\mu$ M(=29,700 $\mu$ g/L)の濃度区で結合阻害が認められた。

また、オクタメチルシクロテトラシロキササン(Dow Corning) 0.0001、0.01、1、100 $\mu$ M(=0.0297、2.97、297、29,700 $\mu$ g/L)の濃度でヒトエストロゲン受容体  $\beta$  による標識 17 $\beta$ -エストラジオール 1 pM 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。(15850)(△○P)

### (4) エストロゲン作用

①Quinn ら(2007b)によって、オクタメチルシクロテトラシロキササン(Dow Corning、99.9%) 700ppm (チャンバー内空气中設定濃度)を3日間(日毎16時間)吸入ばく露した雌SDラット(卵巣摘出措置後2週間)への影響が検討されている。その結果として、子宮絶対重量(wet及びblotted)、子宮膜上皮細胞高さ、子宮内腔上皮細胞高さの高値が認められた。

また、オクタメチルシクロテトラシロキササン(Dow Corning、99.9%) 700ppm (チャンバー内空气中設定濃度)を3日間(日毎16時間)吸入ばく露した雌F344ラット(卵巣摘出措置済後2週間)への影響が検討されている。その結果として、子宮絶対重量(wet及びblotted)、子宮膜上皮細胞高さ、子宮内腔上皮細胞高さの高値が認められた。

また、オクタメチルシクロテトラシロキササン(Dow Corning、99.9%) 0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=0.0297、0.297、2.97、29.7、297、2,970 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(日数の記載なし)したヒト乳がん細胞MCF-7(エストロゲン受容体  $\alpha$  を発現)による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,970 $\mu$ g/L)の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。(15848)(△○P及び○○P)

②He ら(2003)によって、オクタメチルシクロテトラシロキササン(Dow Corning) 1、10、50、100、250、500、1,000mg/kg/day を6～7週齢から3日間経口投与した雌B6C3F1マウスへの影響が検討されている。その結果として、子宮絶対重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  $\alpha$  ノックアウトマウスにおいては認められなかった。

また、オクタメチルシクロテトラシロキササン(Dow Corning) 1,000mg/kg/day を6～7週齢から3日間経口投与した雌B6C3F1マウスへの影響が検討されている。その結果として、子宮絶対重量の高値が認められた。なお、この影響は、投与開始30分前にエストロゲン受容体アゴニストICI 182,780

20mg/kg/day を皮下投与すると消失した。

また、オクタメチルシクロテトラシロキサシ(Dow Corning) 1,000mg/kg/day を6～7週齢から3日間経口投与した雌 B6C3F1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、血清中エストラジオール濃度の低値、血清中コルチコステロン濃度の高値が認められた。

また、オクタメチルシクロテトラシロキサシ(Dow Corning) 1,000mg/kg/day を卵巣摘出措置2週間後から3日間経口投与した雌 B6C3F1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、子宮絶対重量、子宮中ペルオキシダーゼ比活性の高値が認められた。

また、オクタメチルシクロテトラシロキサシ(Dow Corning) 1,000mg/kg/day を副腎摘出措置2週間後から7日間経口投与した雌 B6C3F1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、血清中エストラジオール濃度、血清中コルチコステロン濃度の高値が認められた。

また、オクタメチルシクロテトラシロキサシ(Dow Corning) 1,000mg/kg/day を偽手術措置2週間後から7日間経口投与した雌 B6C3F1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、血清中エストラジオール濃度、血清中コルチコステロン濃度の高値が認められた。(15850)(△○P)

③McKim ら(2001)によって、オクタメチルシクロテトラシロキサシ(Dow Corning、98%) 10、50、100、250、500、1,000mg/kg/day を18日齢から4日間経口投与した幼若雌 SD ラット(投与開始日に離乳)への影響が検討されている。その結果として、250mg/kg/day 以上のばく露群で子宮絶対及び相対重量、子宮上皮細胞高さの高値、1,000mg/kg/day のばく露群で体重(21日齢)の低値が認められた。

また、オクタメチルシクロテトラシロキサシ(Dow Corning、98%) 10、50、100、250、500、1,000mg/kg/day を21日齢から4日間経口投与した幼若雌 F344 ラット(投与開始日に離乳)への影響が検討されている。その結果として、250mg/kg/day 以上のばく露群で子宮絶対及び相対重量、子宮上皮細胞高さの高値、1,000mg/kg/day のばく露群で体重(23、24、25日齢)の低値が認められた。(15853)(○○P)

## (5) 抗エストロゲン作用

①Quinn ら(2007b)によって、オクタメチルシクロテトラシロキサシ(Dow Corning、99.9%) 700ppm (チャンバー内空气中設定濃度)を3日間(日毎16時間)吸入ばく露(エチニルエストラジオール3µg/kg/day を3日間皮下投与)した雌 F344 ラット(卵巣摘出措置済)への影響が検討されている。その結果として、子宮絶対重量(wet 及び blotted)の低値が認められた。なお、子宮膜上皮細胞高さ、子宮内腔上皮細胞高さには影響は認められなかった。

また、オクタメチルシクロテトラシロキサシ(Dow Corning、99.9%) 700ppm (チャンバー内空气中設定濃度)を3日間(日毎16時間)吸入ばく露した雌 SD ラット(卵巣摘出措置済)への影響が検討されているが、子宮絶対重量(wet 及び blotted)、子宮膜上皮細胞高さ、子宮内腔上皮細胞高さには影響は認められなかった。(15848)(△○N)

③McKim ら(2001)によって、オクタメチルシクロテトラシロキサシ(Dow Corning、98%) 500mg/kg/day を18日齢から4日間経口投与(併せてエチニルエストラジオール1、3、10又は30µg/kg/day を経口投与)した幼若雌 SD ラット(投与開始日に離乳)への影響が検討されている。その結果として、子宮絶対及び相対重量の低値が認められた。なお、体重には影響は認められなかった。

また、オクタメチルシクロテトラシロキサシ(Dow Corning、98%) 500mg/kg/day を21日齢から4日間経口投与(併せてエチニルエストラジオール1、3、10又は30µg/kg/day を経口投与)した幼若雌 F344 ラット(投与開始日に離乳)への影響が検討されている。その結果として、子宮絶対及び相対

重量の低値が認められた。なお、体重には影響は認められなかった。(15853)(○●P)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、統計学的な有意差検定に言及されていない試験結果(子宮相対重量)がある点に注意を要すると判断された。

## (6) アンドロゲン作用

①Quinn ら(2007b)によって、オクタメチルシクロテトラシロキサン(Dow Corning、99.9%) 700ppm (チャンバー内空气中設定濃度)を10日間(日毎16時間)吸入ばく露した雄F344ラット(精巣摘出措置済)への影響が検討されているが、腹側前立腺絶対重量(fresh及びfixed)、精囊絶対重量、肛門挙筋+球海綿体筋絶対重量、陰茎絶対重量、カウパー腺絶対重量には影響は認められなかった。(15848)(△○N)

## (7) プロゲステロン作用又は抗プロゲステロン作用

①Quinn ら(2007b)によって、オクタメチルシクロテトラシロキサン(Dow Corning、99.9%) 1,000mM(=297g/L)までの濃度でプロゲステロン受容体 $\alpha$ によるHitHunterアッセイが検討されているが、結合は認められなかった。(15848)(○●N)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、ばく露濃度が極めて高く誤記載である可能性に注意を要すると判断された。

## (8) 下垂体細胞への影響

①Lee ら(2015)によって、オクタメチルシクロテトラシロキサン(Sigma-Aldrich) 10 $\mu$ M(=2,970 $\mu$ g/L)の濃度に1日間ばく露したラット下垂体細胞GH3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 $\alpha$  mRNA 相対発現量の低値、カルシウム結合蛋白質CABP-9K mRNA 相対発現量、プロゲステロン受容体 mRNA 相対発現量の高値が認められた。(15842)(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

## 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。

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、抗エストロゲン様作用、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、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1に示した。

表1 信頼性評価のまとめと今後の対応案

物質名：オクタメチルシクロテトラシロキサン

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 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	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 <sup>3)</sup>	
(1)生殖影響	毒性	①Siddiqui ら(2007)	○	?	—
	不明	②Burns-Naas ら(2002)	○	?	—
	抗エストロゲン様作用	③Jean と Plotzke (2017)	○	○P	○
	視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用	④Quinn ら(2007a)	○	○P	○
	エストロゲン様作用	⑤Lee ら(2015)	△	○P	○
(2)発達影響	不明	①Meeks ら(2007)	○	?	—
(3)エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用		①Quinn ら(2007b)	○	○P	○
		②He ら(2003)	△	○P	○
(4)エストロゲン作用		①Quinn ら(2007b)	△及び○	○P	○
		②He ら(2003)	△	○P	○
		③McKim ら(2001)	○	○P	○
(5)抗エストロゲン作用		①Quinn ら(2007b)	△	○N	×
		②McKim ら(2001)	○	○P	○
(6)アンドロゲン作用		①Quinn ら(2007b)	△	○N	×
(7)プロゲステロン作用又は抗プロゲステロン作用		①Quinn ら(2007b)	○	○N	×
(8)下垂体細胞への影響	エストロゲン作用	①Lee ら(2015)	△	○P	○
信頼性評価のまとめと今後の対応案	動物試験の報告において、エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、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、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

- 15847: Siddiqui WH, Stump DG, Plotzke KP, Holson JF and Meeks RG (2007) A two-generation reproductive toxicity study of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) in rats exposed by whole-body vapor inhalation. *Reproductive Toxicology*, 23 (2), 202-215.
- 15852: Burns-Naas LA, Meeks RG, Kolesar GB, Mast RW, Elwell MR, Hardisty JF and Thevenaz P (2002) Inhalation toxicology of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) following a 3-month nose-only exposure in Fischer 344 rats. *International Journal of Toxicology*, 21 (1), 39-53.
- 15839: Jean PA and Plotzke KP (2017) Chronic toxicity and oncogenicity of octamethylcyclotetrasiloxane (D4)

- in the Fischer 344 rat. *Toxicology Letters*, 279 Suppl 1, 75-97.
- 15845: Quinn AL, Dalu A, Meeker LS, Jean PA, Meeks RG, Crissman JW, Gallavan RH, Jr. and Plotzke KP (2007a) Effects of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) on the luteinizing hormone (LH) surge and levels of various reproductive hormones in female Sprague-Dawley rats. *Reproductive Toxicology*, 23 (4), 532-540.
- 15842: Lee D, Ahn C, An BS and Jeung EB (2015) Induction of the Estrogenic Marker Calbindin-D<sub>9k</sub> by Octamethylcyclotetrasiloxane. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12 (11), 14610-14625.
- 15846: Meeks RG, Stump DG, Siddiqui WH, Holson JF, Plotzke KP and Reynolds VL (2007) An inhalation reproductive toxicity study of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) in female rats using multiple and single day exposure regimens. *Reproductive Toxicology*, 23 (2), 192-201.
- 15848: Quinn AL, Regan JM, Tobin JM, Marinik BJ, McMahon JM, McNett DA, Sushynski CM, Crofoot SD, Jean PA and Plotzke KP (2007b) *In vitro* and *in vivo* evaluation of the estrogenic, androgenic, and progestagenic potential of two cyclic siloxanes. *Toxicological Sciences*, 96 (1), 145-153.
- 15850: He B, Rhodes-Brower S, Miller MR, Munson AE, Germolec DR, Walker VR, Korach KS and Meade BJ (2003) Octamethylcyclotetrasiloxane exhibits estrogenic activity in mice via ER $\alpha$ . *Toxicology and Applied Pharmacology*, 192 (3), 254-261.
- 15853: McKim JM, Jr., Wilga PC, Breslin WJ, Plotzke KP, Gallavan RH and Meeks RG (2001) Potential estrogenic and antiestrogenic activity of the cyclic siloxane octamethylcyclotetrasiloxane (D4) and the linear siloxane hexamethyldisiloxane (HMDS) in immature rats using the uterotrophic assay. *Toxicological Sciences*, 63 (1), 37-46.
- 15847: Siddiqui WH, Stump DG, Plotzke KP, Holson JF and Meeks RG (2007) A two-generation reproductive toxicity study of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) in rats exposed by whole-body vapor inhalation. *Reproductive Toxicology*, 23 (2), 202-215
- 15852: Burns-Naas LA, Meeks RG, Kolesar GB, Mast RW, Elwell MR, Hardisty JF and Thevenaz P (2002) Inhalation toxicology of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) following a 3-month nose-only exposure in Fischer 344 rats. *International Journal of Toxicology*, 21 (1), 39-53.
- 15839: Jean PA and Plotzke KP (2017) Chronic toxicity and oncogenicity of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) in the Fischer 344 rat. *Toxicology Letters*, 279 Suppl 1, 75-97.
- 15845: Quinn AL, Dalu A, Meeker LS, Jean PA, Meeks RG, Crissman JW, Gallavan RH, Jr. and Plotzke KP (2007a) Effects of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) on the luteinizing hormone (LH) surge and levels of various reproductive hormones in female Sprague-Dawley rats. *Reproductive Toxicology*, 23 (4), 532-540.
- 15842: Lee D, Ahn C, An BS and Jeung EB (2015) Induction of the Estrogenic Marker Calbindin-D<sub>9k</sub> by Octamethylcyclotetrasiloxane. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12 (11), 14610-14625.
- 15846: Meeks RG, Stump DG, Siddiqui WH, Holson JF, Plotzke KP and Reynolds VL (2007) An inhalation reproductive toxicity study of octamethylcyclotetrasiloxane (D4) in female rats using multiple and single day exposure regimens. *Reproductive Toxicology*, 23 (2), 192-201.
- 15850: He B, Rhodes-Brower S, Miller MR, Munson AE, Germolec DR, Walker VR, Korach KS and Meade BJ (2003) Octamethylcyclotetrasiloxane exhibits estrogenic activity in mice via ER $\alpha$ . *Toxicology and Applied Pharmacology*, 192 (3), 254-261.
- 15853: McKim JM, Jr., Wilga PC, Breslin WJ, Plotzke KP, Gallavan RH and Meeks RG (2001) Potential estrogenic and antiestrogenic activity of the cyclic siloxane octamethylcyclotetrasiloxane (D4) and the linear siloxane hexamethyldisiloxane (HMDS) in immature rats using the uterotrophic assay. *Toxicological Sciences*, 63 (1), 37-46.

## II. チアベンダゾール

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

チアベンダゾールの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖及び発達影響、エストロゲン作用、ステロイド代謝への影響、疫学的調査に関する報告がある。

#### ※参考 (1) 生殖及び発達影響(今回評価対象としなかった文献)

① Wise ら(1994)によって、チアベンダゾール(Merck、99%) 10、30、90mg/kg/day を8週齢から雄は14週間、雌は9週間経口投与した雌雄 SD ラット F<sub>0</sub> への影響(10週齢から交配試験)が検討されている。その結果として、30mg/kg/day 以上のばく露群で雄体重(投与終了時)の低値、90mg/kg/day のばく露群で雌体重(投与終了時)、雌雄新生仔体重(4、7、14、21日齢)の低値、同腹生存新生仔数の高値が認められた。なお、交配率、妊孕率、妊娠率、交配に至るまでの日数、妊娠期間、同腹着床数、着床から出産までの胚生存率、新生仔生存率(0、4、21日齢)には影響は認められなかった。

また、チアベンダゾール(Merck、99%) 10、30、90mg/kg/day を3週齢から雄は20週間、雌は13週間経口投与した雌雄 SD ラット F<sub>1</sub> への影響(16週齢から交配試験)が検討されている。その結果として、30mg/kg/day 以上のばく露群で雄体重(投与終了時)の低値、90mg/kg/day のばく露群で雌体重(投与終了時)、雌雄新生仔体重(14、21日齢)の低値が認められた。なお、交配率、妊孕率、妊娠率、交配に至るまでの日数、妊娠期間、同腹着床数、同腹生存新生仔数、着床から出産までの胚生存率、新生仔生存率(0、4、21日齢)には影響は認められなかった。(15817)

評価未実施の理由：一般毒性と考えられた評価項目以外、影響が認められなかった報告のため。

② Lankas と Wise (1993)によって、チアベンダゾール(Merck、98.9%) 10、40、80mg/kg/day を妊娠6日目から17日目まで経口投与した SD ラットへの影響(妊娠20日目に開腹)が検討されている。その結果として、40mg/kg/day 以上のばく露群で雌胎仔体重の低値、80mg/kg/day のばく露群で雄胎仔体重の低値が認められた。なお、母動物体重、同腹生存胎仔数、同腹着床数、同腹吸収胚+死亡胎仔数、胎仔外表異常率、胎仔内臓異常率、胎仔骨格異常率には影響は認められなかった。

また、チアベンダゾール(Merck、98.9%) 50、150、600mg/kg/day を妊娠6から18日目まで経口投与した NZW ウサギへの影響(妊娠28日目に開腹)が検討されている。その結果として、600mg/kg/day のばく露群で雌雄胎仔体重、同腹吸収胚+死亡胎仔数の低値が認められた。なお、母動物体重、同腹生存胎仔数、同腹着床数、胎仔外表異常率、胎仔内臓異常率、胎仔骨格異常率には影響は認められなかった。

また、チアベンダゾール(Merck、98.9%) 24、120、600mg/kg/day を妊娠6から18日目まで経口投与した NZW ウサギへの影響(妊娠28日目に開腹)が検討されているが、母動物体重、雌雄胎仔体重、同腹生存胎仔数、同腹着床数、同腹吸収胚+死亡胎仔数、胎仔外表異常率、胎仔内臓異常率、胎仔骨格異常率には影響は認められなかった。(15818)

評価未実施の理由：一般毒性と考えられた評価項目以外、影響が認められなかった報告のため。

③ Ogata ら(1984)によって、チアベンダゾール(Merck Sharp and Dohme International、98.5%) 30、60、120、240、480mg/kg を妊娠9日目に単回経口投与した ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、60、240、480mg/kg 以上のばく露群で雌雄胎仔体重の低値、240mg/kg 以上のばく露群で胎仔骨格奇形率の高値が認められた。なお、胎仔外表奇形率、同腹黄体数、同腹着床数、同腹生存胎仔数、初期及び後期胚吸収率には影響は認められなかった。

また、チアベンダゾール(Merck Sharp and Dohme International, 98.5%) 30、62、129、269、558mg/kg を妊娠 9 日目に単回経口投与した ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、269mg/kg 以上のばく露群で雌雄胎仔体重の低値、558mg/kg のばく露群で胎仔骨格奇形率の高値が認められた。なお、胎仔外表奇形率、同腹黄体数、同腹着床数、同腹生存胎仔数、初期及び後期胚吸収率には影響は認められなかった。(15822)

評価未実施の理由：一般毒性と考えられた評価項目以外、影響が認められなかった報告のため。

- ④Lankas ら(2001)によって、チアベンダゾール(Merck, 99.8%) 25、100、200mg/kg/day を妊娠 6 から 15 日目まで経口投与した ICR マウスへの影響(妊娠 18 日目に開腹)が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で雌雄生存胎仔体重、同腹着床数、同腹生存胎仔数の低値が認められた。なお、同腹吸収胚+死亡胎仔数、胎仔性比、胎仔骨格奇形率、胎仔外表奇形率、胎仔内臓奇形率には影響は認められなかった。(15816)

評価未実施の理由：一般毒性と考えられた評価項目以外、影響が認められなかった報告のため。

- ⑤Tada ら(2001)によって、チアベンダゾール(Sigma, 99%) 310、1,250、5,000ppm(餌中濃度)を 5 週齢から 78 週間混餌投与(33.2、146.3、605mg/kg/day に相当)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、5,000ppm のばく露群で体重、脾臓絶対重量、右腎臓絶対重量の低値、膀胱絶対及び相対重量、心臓相対重量、肝臓相対重量、精巣相対重量、脳相対重量の高値が認められた。なお、肺絶対及び相対重量、左腎臓絶対及び相対重量、右腎臓相対重量、脾臓相対重量、心臓絶対重量、肝臓絶対重量、精巣絶対重量、脳絶対重量、死亡率、腫瘍性病変発生数には影響は認められなかった。

また、チアベンダゾール(Sigma, 99%) 310、1,250、5,000ppm(餌中濃度)を 5 週齢から 78 週間混餌投与(40.0、178.8、615mg/kg/day に相当)した雌 CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、1,250ppm 以上のばく露群で体重、卵巣絶対重量の低値、1,250ppm のばく露群で卵巣相対重量の低値、5,000ppm のばく露群で子宮絶対及び相対重量の低値、肝臓相対重量、膀胱相対重量、脳相対重量の高値が認められた。なお、心臓絶対及び相対重量、肺絶対及び相対重量、右腎臓絶対及び相対重量、左腎臓絶対及び相対重量、肝臓絶対重量、膀胱絶対重量、脳絶対重量、死亡率、腫瘍性病変発生数には影響は認められなかった。(15814)

評価未実施の理由：有意な結果が得られた評価項目が一般毒性が認められている用量以上での影響であるため。

- ⑥Tanaka (2001)によって、チアベンダゾール(Sigma, 99%) 310、1,250、5,000ppm(餌中濃度)を 5 週齢から交配、出産、哺育終了まで混餌投与した CD-1 マウス F<sub>0</sub> への影響が検討されている。その結果として、5,000ppm のばく露群で同腹産仔数、総同腹出産仔体重、雌雄仔動物体重(21 日齢)の低値が認められた。なお、雌雄新生仔生存率(0、4、7、14、21 日齢)、新生仔性比には影響は認められなかった。

また、チアベンダゾール(Sigma, 99%) 310、1,250、5,000ppm(餌中濃度)を離乳後に混餌投与した雌雄 CD-1 マウス F<sub>1</sub> (上記の混餌投与を受けた F<sub>0</sub> が出産)への影響が検討されている。その結果として、310ppm 以上のばく露群で正向反射スコア(7 日齢雌雄)の低値、5,000ppm 以上のばく露群で雌雄仔動物体重(4、5、6、7、8、9 週齢)、遊泳行動試験における遊泳時脚運動スコア(14 日齢雌雄)、嗅覚性方向反応スコア(14 日齢雌雄)、探索行動試験における鉛直時間(vertical time)及び逃亡行動回数(No. of defecation)(3 週齢雌)の低値が認められた。なお、T 型水迷路試験スコア(7 週齢雌雄)は認められなかった。(15815)

評価未実施の理由：一般毒性と考えられた評価項目以外、影響が認められなかった報告のため。

## (2) エストロゲン作用

①Manabe ら(2006)によって、チアベンダゾール(CAS 148-78-8、和光純薬、99%) 0.0001、0.01、1、100、10,000 $\mu$ M(=0.0201、2.01、201、20,100、2,010,000 $\mu$ 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/Se (エストロゲン受容体  $\alpha$  及び  $\beta$  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、REC<sub>10</sub> 値(17 $\beta$ -エストラジオール 0.1nM が示す活性の 10%に相当する活性を示す濃度) 930 $\mu$ M(=18,700 $\mu$ g/L)で細胞増殖誘導が認められた。(12546)(評価結果の略号：○○P、以下同じ)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、細胞増殖率の高値が統計学的有意差に達していない点に注意を要すると判断された。

## (3) ステロイド代謝への影響

②Ayub と Levell (1988)によって、チアベンダゾール(Janssen Pharmaceutical、先行文献を引用) 50、100 $\mu$ M(=10,060、20,100 $\mu$ g/L)の濃度に15分間ばく露したヒト胎盤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、100 $\mu$ M(=20,100 $\mu$ g/L)の濃度区でアロマトラーゼ比活性(テストステロンを基質とする)、アロマトラーゼ比活性(アンドロステジオンを基質とする)の微小な阻害が認められた。(15819)(△○P)

想定される作用メカニズム：アロマトラーゼ活性阻害によるエストラジオール合成阻害作用

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 ステロイド代謝への影響(今回評価対象としなかった文献)

①Price ら(2008)によって、チアベンダゾール 2、5、20、50、100、200 $\mu$ M(=402、1,006、4,020、10,060、20,100、10,060 $\mu$ g/L)の濃度に72時間ばく露したヒト肝臓細胞への影響が検討されている。その結果として、2 $\mu$ M(=402 $\mu$ g/L)以上の濃度区で *CYP1A2* mRNA 相対発現量の高値、5 $\mu$ M(=1,006 $\mu$ g/L)以上の濃度区で *CYP2B6* mRNA 相対発現量の高値、50 $\mu$ M(=10,060 $\mu$ g/L)の濃度区で *CYP3A4* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、細胞生存率(MAT assay)には影響は認められなかった。

また、チアベンダゾール 2、50、100 $\mu$ M(=402、10,060、20,100 $\mu$ g/L)の濃度に72時間ばく露したヒト肝臓細胞への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu$ M(=10,060 $\mu$ g/L)以上の濃度区で EROD 比活性の高値が認められた。なお、テストステロン 6 $\beta$ -ヒドロキシラーゼ比活性には影響は認められなかった。(15812)

評価未実施の理由：内分泌かく乱作用と関連すると考えられた評価項目について、影響が認められなかった報告のため。その他の評価項目について、内分泌かく乱作用との関連性は低いと考えられたため。なお、本試験結果の解釈にあたっては、試薬又は製品の入手先及び純度の記載がない点に注意を要すると判断された。

③Ayub と Levell (1987)によって、チアベンダゾール(Janssen Pharmaceutical) 50、100 $\mu$ M(=10,060、20,100 $\mu$ g/L)の濃度に5～15分間ばく露したラット精巣ミクロソーム(成熟 Wistar ラット由来)への影響が検討されているが、ステロイド 17,20-リアーゼ比活性(17 $\alpha$ -ヒドロキシプロゲステロンを基質とする)、3 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼイソメラーゼ比活性(プレグネロンを基質とす

る)、3β-ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼイソメラーゼ比活性(デヒドロエピアンドロステロンを基質とする)、17β-ヒドロキシステロイドオキシドレダクターゼ比活性(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。(15820)

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 (4)疫学的調査(今回評価対象としなかった文献)

①Béranger ら(2020)によって、チアベンダゾールについて、フランス南西部(Aquitaine、Midi-Pyrénées、Poitou-Charente)及び北東部(Champagne-Ardenne、Bourgogne、Lorraine)地域にて、2011 年にかけて、母親 311 名(平均年齢 30.1±5.0 歳、男児 144 名、女児 160 名)を対象に農薬ばく露(母親毛髪中チアベンダゾール検出下限値 0.028pg/mg での検出率 90%、25 パーセンタイル値 0.20pg/mg、50 パーセンタイル値 0.68pg/mg、75 パーセンタイル値 2.42pg/mg)と出産状況との関連性影響が検討されている。その結果として、母親毛髪中チアベンダゾール検出濃度と男児の出生時体重、頭囲とに正の相関性が認められた。なお、男児の出生時身長、女児の出生時体重、身長、頭囲とは関連性は認められなかった。(15810)

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、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、アロマトラーゼ活性阻害による抗エストロゲン作用、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 2 示した。

表 2 信頼性評価のまとめと今後の対応案

物質名：チアベンダゾール

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 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	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 <sup>3)</sup>
(1)生殖及び発達影響	①Wise ら(1994) 評価未実施			
	②Lankas と Wise (1993) 評価未実施			
	③Ogata ら(1984) 評価未実施			
	④Lankas ら(2001) 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 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	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 <sup>3)</sup>
	⑤Tada ら(2001) 評価未実施			
	⑥Tanaka (2001) 評価未実施			
(2)エストロゲン作用	①Manabe ら(2006)	○	○P	○
(3)ステロイド代謝への影響	①Price ら(2008) 評価未実施			
	アロマトラーゼ活性阻害によるエストラジオール合成阻害 ②Ayub と Levell (1988)	△	○P	○
	③Ayub と Levell (1987) 評価未実施			
(4)疫学的調査	①Béranger ら(2020) 評価未実施			
信頼性評価のまとめと今後の対応案	試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、アロマトラーゼ活性阻害によるエストラジオール合成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

- 15817: Wise LD, Cartwright ME, Seider CL, Sachuk LA and Lankas GR (1994) Dietary two-generation reproduction study of thiabendazole in Sprague-Dawley rats. *Food and Chemical Toxicology*, 32 (3), 239-246.
- 15818: Lankas GR and Wise DL (1993) Developmental toxicity of orally administered thiabendazole in Sprague-Dawley rats and New Zealand white rabbits. *Food and Chemical Toxicology*, 31 (3), 199-207.
- 15822: Ogata A ando H, Kubo Y and Hiraga K (1984) Teratogenicity of thiabendazole in ICR mice. *Food and Chemical Toxicology*, 22 (7), 509-520.
- 15816: Lankas GR, Nakatsuka T, Ban Y, Komatsu T and Matsumoto H (2001) Developmental toxicity of orally administered thiabendazole in ICR mice. *Food and Chemical Toxicology*, 39 (4), 367-374.
- 15814: Tada Y, Fujitani T, Yano N, Yuzawa K, Nagasawa A, Aoki N, Ogata A and Yoneyama M (2001) Chronic toxicity of thiabendazole (TBZ) in CD-1 mice. *Toxicology*, 169 (3), 163-176.
- 15815: Tanaka T (2001) Reproductive and neurobehavioural effects of thiabendazole administered to mice in the diet. *Food Additives and Contaminants*, 18 (5), 375-383.
- 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.
- 15812: Price RJ, Scott MP, Giddings AM, Walters DG, Stierum RH, Meredith C and Lake BG (2008) Effect of

- butylated hydroxytoluene, curcumin, propyl gallate and thiabendazole on cytochrome P450 forms in cultured human hepatocytes. *Xenobiotica*, 38 (6), 574-586.
- 15819: Ayub M and Levell MJ (1988) Structure-activity relationships of the inhibition of human placental aromatase by imidazole drugs including ketoconazole. *Journal of Steroid Biochemistry*, 31 (1), 65-72.
- 15820: Ayub M and Levell MJ (1987) Inhibition of testicular 17 alpha-hydroxylase and 17,20-lyase but not 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase-isomerase or 17 beta-hydroxysteroid oxidoreductase by ketoconazole and other imidazole drugs. *Journal of Steroid Biochemistry*, 28 (5), 521-531.
- 15810: Béranger R, Hardy EM, Binter AC, Charles MA, Zaros C, Appenzeller BMR and Chevrier C (2020) Multiple pesticides in mothers' hair samples and children's measurements at birth: Results from the French national birth cohort (ELFE). *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 223 (1), 22-33.

### Ⅲ. ピリドスチグミン

#### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ピリドスチグミンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、生殖及び発達影響、成長ホルモン分泌への影響、免疫影響、神経行動影響、ヒトへの投与試験に関する報告がある。

#### (1) 生態影響

①Rocha ら(2014)によって、ピリドスチグミン(CAS 101-26-8、Sigma-Aldrich、98%) 1.5、2.2、2.9、5.7、11.4、17.1、22.8 $\mu$ g/L(設定濃度)に受精後 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、2.9 $\mu$ g/L 以上のばく露区で日毎成長速度の低値、11.4 $\mu$ g/L 以上のばく露区で総産仔数の低値、17.1 $\mu$ g/L のばく露区で産仔数(4 回目出産)の低値、22.8 $\mu$ g/L のばく露区で産仔数(3 回目出産)の低値が認められた。なお、個体数増加率、産仔体長(1 回目出産)、出産日(1、2、3、4 回目)には影響は認められなかった。(15774)(評価結果の略号：△?、以下同じ)

想定される作用メカニズム：毒性

#### ※参考 (2) 生殖及び発達影響(今回評価対象としなかった文献)

①Levine と Parker (1991)によって、ピリドスチグミン(98%) 5、15、45mg/kg/day を 7 週齢から交配前 70 日間以上経口投与した雄 SD ラットへの影響(非ばく露雌との交配試験も実施)が検討されている。その結果として、45mg/kg/day 以上のばく露群で体重の低値が認められた。なお、両精巣重量、両精巣上体重量、交配試験での非ばく露雌(妊娠 13 日目開腹)における測定項目(黄体数、生存及び死亡胎仔数、着床部位数、初期及び後期胚吸収率)、交配試験での非ばく露雌(自然出産)における測定項目(妊娠期間、新性仔性比、新生仔死亡率及び体重(0、4、7、14、21 日齢))には影響が認められなかった。

また、ピリドスチグミン(98%) 5、15、45mg/kg/day を 7 週齢から交配前 14 日間経口投与した雌 SD ラットへの影響(非ばく露雄との交配試験)が検討されている。その結果として、45mg/kg/day 以上のばく露群で新生仔体重(4、7 日齢)の低値が認められた。なお、母動物体重、妊娠期間、新性仔性比、新生仔死亡率(0、4、7、14、21 日齢)には影響が認められなかった。

また、ピリドスチグミン(98%) 3、10、30mg/kg/day を妊娠 15 日目から哺育 21 日目まで経口投与した SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、10mg/kg/day 以上のばく露群で新生仔体重(4 日齢)の低値、30mg/kg/day のばく露群で母動物体重(妊娠 19~21 日目)の低値が認められた。

また、ピリドスチグミン(98%) 3、10、30mg/kg/day を妊娠 6 日目から妊娠 15 日目まで経口投与した SD ラットへの影響(妊娠 20 日目に開腹)が検討されている。その結果として、3、30mg/kg/day のばく露群で胎仔肋骨欠損率の高値、30mg/kg/day のばく露群で母動物体重(妊娠 8~20 日目)の低値、上後頭骨肥大発生率、頸椎骨化不全発生率、初期胚吸収発生率の高値が認められた。(15794)

評価未実施の理由：一般毒性と考えられた評価項目以外、影響が認められなかった報告のため。なお、本試験結果の解釈にあたっては、試薬の入手先の記載がない点に注意を要すると判断された。

#### (3) 成長ホルモン分泌への影響

①Ismail ら(1995)によって、ピリドスチグミン(HBr 塩、Mestinin<sup>®</sup>、Roche) 0.2mg/kg を 16 週齢に単回

静脈内投与(更に 30 分後に成長ホルモン放出ホルモンを単回静脈内投与)した雄 Wistar ラット (Goto-Kakizaki ラット、糖尿病発症型)への影響が検討されている。その結果として、血漿中成長ホルモン濃度(投与後 1 時間曲線下面積)、血漿中成長ホルモン濃度(極大値)の高値が認められた。

また、ピリドスチグミン(HBr 塩、Mestinon<sup>®</sup>、Roche) 0.2mg/kg を 6 週齢に単回静脈内投与(更に 30 分後に成長ホルモン放出ホルモンを単回静脈内投与)した雄 Wistar ラット(Goto-Kakizaki ラット、糖尿病発症型)への影響が検討されているが、血漿中成長ホルモン濃度(投与後 1 時間曲線下面積)、血漿中成長ホルモン濃度(極大値)には影響は認められなかった。

また、ピリドスチグミン(HBr 塩、Mestinon<sup>®</sup>、Roche) 0.2mg/kg を 16 週齢に単回静脈内投与(更に 30 分後に成長ホルモン放出ホルモンを単回静脈内投与)した雄 Wistar ラット(正常型)への影響が検討されているが、血漿中成長ホルモン濃度(投与後 1 時間曲線下面積)、血漿中成長ホルモン濃度(極大値)には影響は認められなかった。

また、ピリドスチグミン(HBr 塩、Mestinon<sup>®</sup>、Roche) 0.2mg/kg を 6 週齢に単回静脈内投与(更に 30 分後に成長ホルモン放出ホルモンを単回静脈内投与)した雄 Wistar ラット(正常型)への影響が検討されているが、血漿中成長ホルモン濃度(投与後 1 時間曲線下面積)、血漿中成長ホルモン濃度(極大値)には影響は認められなかった。(15787)(△?)

想定される作用メカニズム：コリン作動性ニューロン活性化によるソマトスタチン分泌低下

#### ※参考 成長ホルモン分泌への影響(今回評価対象としなかった文献)

②Giustina ら(1995)によって、ピリドスチグミン(Regonol<sup>®</sup>、Organon) 0.1mg/kg を 10:45 に単回静脈内投与(更に血漿中成長ホルモン濃度が最低値となる 11:00 に成長ホルモン放出ホルモンを単回静脈内投与)した雄 SD ラット(投与開始に先立ち毎朝 9:00 に 7 日間のデキサメタゾン腹腔内投与処置)への影響が検討されているが、血漿中成長ホルモン濃度(10:45～11:30 時間曲線下面積)には影響は認められなかった。

また、ピリドスチグミン(Regonol<sup>®</sup>、Organon) 0.1mg/kg を 10:45 に単回静脈内投与(更に血漿中成長ホルモン濃度が最低値となる 11:00 に生理食塩水を単回静脈内投与)した雄 SD ラット(投与開始に先立ち毎朝 9:00 に 7 日間のデキサメタゾン腹腔内投与処置)への影響が検討されているが、血漿中成長ホルモン濃度(10:45～11:30 時間曲線下面積)には影響は認められなかった。

また、ピリドスチグミン(Regonol<sup>®</sup>、Organon) 0.1mg/kg を 10:45 に単回静脈内投与(更に血漿中成長ホルモン濃度が最低値となる 11:00 に成長ホルモン放出ホルモンを単回静脈内投与)した雄 SD ラット(投与開始に先立ち毎朝 9:00 に 7 日間の生理食塩水腹腔内投与処置)への影響が検討されているが、血漿中成長ホルモン濃度(10:45～11:30 時間曲線下面積)には影響は認められなかった。

また、ピリドスチグミン(Regonol<sup>®</sup>、Organon) 0.1mg/kg を 10:45 に単回静脈内投与(更に血漿中成長ホルモン濃度が最低値となる 11:00 に生理食塩水を単回静脈内投与)した雄 SD ラット(投与開始に先立ち毎朝 9:00 に 7 日間の生理食塩水腹腔内投与処置)への影響が検討されているが、血漿中成長ホルモン濃度(10:45～11:30 時間曲線下面積)には影響は認められなかった。(15786)

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 (4)免疫影響(今回評価対象としなかった文献)

①Peden-Adams ら(2004)によって、ピリドスチグミン(HBr 塩、Sigma) 1、5、10、20mg/kg/day を 8～9 週齢から 14 日間経口投与した成熟雌 B6C3F1 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 以上のばく露群でプラーク形成細胞反応(脾臓細胞当)の低値、20mg/kg/day のばく露群で増加体重、胸腺中 T-リンパ球組成(DN、DP の絶対数)の低値、総胸腺細胞数の高値が認められた。なお、脾臓相対重量、胸腺相対重量、肝臓相対重量、総脾臓細胞数、脾臓中 T-リンパ球組成(CD4+、CD8+、DN、DP の絶対数及び相対比)、ナチュラルキラー細胞活性(脾臓細胞当)、脾臓リンパ球細胞幼若化反応(コンカナバリン A 誘導性)、脾臓リンパ球細胞幼若化反応(リポポリサッカライド誘導性)には影響は認められなかった。(15777)

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 (5) 神経行動影響(今回評価対象としなかった文献)

①Barbier ら(2009)によって、ピリドスチグミン(HBr 塩、Sigma、98%) 1.5mg/kg/day を4週齢以上から12日間経口投与(非ストレス条件下)した雄 Wistar ラットへの影響(遺伝子はストレス応答関連遺伝子)が検討されている。その結果として、血漿中コリンエステラーゼ比活性の低値、海馬中 *Il-1α* (interleukin 1 alpha) mRNA 相対発現量、視床下部中 *MR* (mineralocorticoid) mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、体重、学習記憶機能試験(pole climbing avoidance test)における試行頻度、血漿中コルチコステロン濃度、視床下部及び海馬中 *Hsp70 II* (heat shock protein 70 inducible 1) mRNA 相対発現量、視床下部及び海馬中 *I-κB* (inhibitor of κB) mRNA 相対発現量、視床下部及び海馬中 *BDNF* (brain derived neurotrophic factor) mRNA 相対発現量、視床下部及び海馬中 *TrkB* (tropomyosin-related kinase B) mRNA 相対発現量、視床下部及び海馬中 *CamKIIα* (calcium/calmodulin protein kinase II alpha) mRNA 相対発現量、視床下部中 *Il-1α* mRNA 相対発現量、視床下部中 *GR* (glucocorticoid) mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、ピリドスチグミン(HBr 塩、Sigma、98%) 1.5mg/kg/day を4週齢以上から12日間経口投与(環境ストレスとして聴覚刺激による逃避条件付下)した雄 Wistar ラットへの影響(遺伝子はストレス応答関連遺伝子)が検討されている。その結果として、血漿中コリンエステラーゼ比活性の低値、海馬中 *BDNF* mRNA 相対発現量、海馬中 *TrkB* mRNA 相対発現量、海馬中 *CamKIIα* mRNA 相対発現量、視床下部中 *MR* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、体重、学習記憶機能試験(pole climbing avoidance test)における試行頻度、血漿中コルチコステロン濃度、視床下部及び海馬中 *Il-1α* mRNA 相対発現量、視床下部及び海馬中 *Hsp70 II* mRNA 相対発現量、視床下部及び海馬中 *I-κB* mRNA 相対発現量、海馬中 *BDNF* mRNA 相対発現量、海馬中 *TrkB* mRNA 相対発現量、海馬中 *CamKIIα* mRNA 相対発現量、視床下部中 *Il-1α* mRNA 相対発現量、視床下部中 *GR* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(15775)

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

#### (6) ヒトへの投与試験

①Corsello ら(1992)によって、イタリアにて、ピリドスチグミン 60mg を8:00 (一晩絶食後、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与60分前)に単回経口投与した健常男性8名(年齢19~28歳)への影響(盲検試験)が検討されている。その結果として、プラセボ投与群との比較において、血漿中成長ホルモン濃度(成長ホルモン放出ホルモン投与60、90、120分後及び120分間曲線下面積)の高値が認められた。

また、ピリドスチグミン 60mg を8:00 (一晩絶食後、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与60分

前)に単回経口投与した健常男性 8 名(年齢 57~65 歳)への影響(盲検試験)が検討されている。その結果として、プラセボ投与群との比較において、血漿中成長ホルモン濃度(成長ホルモン放出ホルモン投与 15、30、60、90、120 分後及び 120 分間曲線下面積)の高値が認められた。

また、ピリドスチグミン 60mg を 8:00 (一晩絶食後、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与 60 分前)に単回経口投与した健常女性 8 名(年齢 57~65 歳)への影響(盲検試験)が検討されている。その結果として、プラセボ投与群との比較において、血漿中成長ホルモン濃度(成長ホルモン放出ホルモン投与 30、60、90、120 分後及び 120 分間曲線下面積)の高値が認められた。

また、ピリドスチグミン 60mg を 8:00 (一晩絶食後、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与 60 分前)に単回経口投与した健常女性 8 名(年齢 18~25 歳)への影響(盲検試験)が検討されているが、プラセボ投与群との比較において、血漿中成長ホルモン濃度には影響は認められなかった。(15789)(△○P)

想定される作用メカニズム：成長ホルモン放出ホルモンに対する作用を介した成長ホルモン放出作用

- ②Ghigo ら(1990)によって、イタリアにて、ピリドスチグミン(Mestinin<sup>®</sup>、Hoffmann-La Roche) 60mg を 8:00 に単回経口投与した健常男性 8 名(年齢 22~30 歳)への影響が検討されている。その結果として、生理食塩水投与群との比較(無作為化試験)において、血漿中成長ホルモン濃度(極大値及び 8:00~11:00 時間曲線下面積)の高値が認められた。

また、ピリドスチグミン(Mestinin<sup>®</sup>、Hoffmann-La Roche) 60mg を 22:00 に単回経口投与した健常男性 8 名(年齢 22~30 歳)への影響が検討されているが、生理食塩水投与群との比較(無作為化試験)において、血漿中成長ホルモン濃度(極大値及び 22:00~01:00 時間曲線下面積)には影響は認められなかった。(15797)(○○P)

想定される作用メカニズム：成長ホルモン放出ホルモンに対する作用を介した成長ホルモン放出作用

- ⑨Castro ら(1990)によって、ブラジル São Paulo 州にて、ピリドスチグミン 120mg を 8:00 過ぎ(一晩絶食後、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与 60 分前)に単回経口投与した健常者 8 名(男性 2 名、女性 6 名、年齢 18~32 歳、平均年齢 26 歳)への影響が検討されている。その結果として、プラセボ投与群との比較(二重盲検無作為化試験)において、血清中成長ホルモン濃度(極大値)、血清中成長ホルモン濃度(極大値及び成の高値)が高値が認められた。

また、ピリドスチグミン 120mg を 8:00 過ぎ(一晩絶食後、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与 60 分前)に単回経口投与した肥満者 12 名(男性 3 名、女性 9 名、年齢 17~39 歳、平均年齢 27 歳)への影響が検討されている。その結果として、プラセボ投与群との比較(二重盲検無作為化試験)において、血清中成長ホルモン濃度(成長ホルモン放出ホルモン投与後 75~135 分)の高値が認められた。(15796)(△○P)

想定される作用メカニズム：成長ホルモン放出ホルモンに対する作用を介した成長ホルモン放出作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、一部の試験については結果の記述のみで測定データの提示がない点に注意を要すると判断された。

- ⑩Friend ら(1997)によって、米国 Virginia 州において、ピリドスチグミン 60mg を 8:00 過ぎから 6 時間間隔で 48 時間経口投与した健常男性 13 名(年齢 29~77 歳)への影響が検討されている。その結果として、血清中成長ホルモン濃度(Day 1、2 の 24 時間平均値)、成長ホルモン産生速度(Day 1、2 の 24

時間平均値)、成長ホルモン分泌バースト毎分泌量(Day 1 の 24 時間平均値)、成長ホルモン分泌バースト強度(Day 1、2 の 24 時間平均値)の高値が認められた。なお、血清中成長ホルモン半減期、分泌バースト頻度(24 時間平均値)、成長ホルモン分泌速度(基底状態、24 時間平均値)、血漿中インスリン様成長因子 IGF-I 濃度には影響は認められなかった。(15784)(△?)

想定される作用メカニズム：不明

#### ※参考 ヒトへの投与試験(今回評価対象としなかった文献)

③Ghigo ら(1989)によって、イタリアにて、ピリドスチグミン(Mestinin<sup>®</sup>、Hoffmann-La Roche) 60mg を 8:00 に単回経口投与した低身長児 7 名(男性 6 名、女性 1 名、年齢 10.7~16 歳)への影響(無作為化試験)が検討されている。その結果として、生理食塩水投与群との比較(無作為化試験)において、血漿中成長ホルモン濃度(極大値及び 8:00~12:00 時間曲線下面積)の高値が認められた。

また、ピリドスチグミン(Mestinin<sup>®</sup>、Hoffmann-La Roche) 60mg を 23:00 に単回経口投与した低身長児 7 名(男性 6 名、女性 1 名、年齢 10.7~16 歳)への影響が検討されているが、生理食塩水投与群との比較(無作為化試験)において、血漿中成長ホルモン濃度(極大値及び 23:00~03:00 時間曲線下面積)には影響は認められなかった。(15802)

評価未実施の理由：ほぼ同様の議論が他文献においてもなされており、既に評価した内容であるため。

④Loche ら(1989)によって、イタリアにて、ピリドスチグミン(Mestinin<sup>®</sup>、Hoffmann-La Roche) 60mg を単回経口投与(一晚絶食後、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与 60 分前)した肥満児 11 名(男性 8 名、女性 3 名、年齢 5.2~13.0 歳)への影響が検討されている。その結果として、健常児 8 名(男性 5 名、女性 3 名、年齢 6.8~11.3 歳)との比較において、血中成長ホルモン濃度(成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与後 120 分間曲線下面積)の低値が認められた。

また、ピリドスチグミン(Mestinin<sup>®</sup>、Hoffmann-La Roche) 60mg を単回経口投与(一晚絶食後、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与 60 分前)した肥満児 11 名(男性 8 名、女性 3 名、年齢 5.2~13.0 歳)への影響が検討されている。その結果として、対照群(同上、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与のみ)との比較において、血中成長ホルモン濃度(極大値、基底値、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与後 120 分間曲線下面積)の高値が認められた。

また、ピリドスチグミン(Mestinin<sup>®</sup>、Hoffmann-La Roche) 60mg を単回経口投与(一晚絶食後、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与 60 分前)した健常児 8 名(男性 5 名、女性 3 名、年齢 6.8~11.3 歳)への影響が検討されている。その結果として、対照群(同上、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与のみ)との比較において、血中成長ホルモン濃度(極大値、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与後 120 分間曲線下面積)の高値が認められた。なお、血中成長ホルモン濃度(基底値)には影響は認められなかった。(15800)

評価未実施の理由：ほぼ同様の議論が他文献においてもなされており、既に評価した内容であるため。なお、本試験結果の解釈にあたっては、肥満児及び健常児ともに低身長児である点に注意を要すると判断された。

⑤Massara ら(1986)によって、イタリアにて、ピリドスチグミン(Hoffmann-La Roche) 120mg を 8:00 過ぎ(一晚絶食後)に単回経口投与した健常男性 19 名(年齢 20~30 歳)への影響が検討されている。その結果として、生理食塩水投与群(同上中 9 名)との比較(無作為化試験)において、血漿中成長ホルモン濃度(投与 90、120、150 分後)の高値が認められた。

また、ピリドスチグミン(Hoffmann-La Roche) 120mg を 8:00 過ぎ(一晩絶食後、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与 15 分前)に単回経口投与した健常男性 9 名への影響が検討されている。その結果として、生理食塩水投与群(同上中 9 名)との比較(無作為化試験)において、血漿中成長ホルモン濃度(成長ホルモン放出ホルモン投与後曲線下面積)、血漿中成長ホルモン濃度(成長ホルモン放出ホルモン投与 15、30、45、60、90、120 分後)の高値が認められた。(15805)

評価未実施の理由：ほぼ同様の議論が他文献においてもなされており、既に評価した内容であるため。

- ⑥Arvat ら(1993)によって、スペインにて、ピリドスチグミン(Mestinin<sup>®</sup>, Hoffmann-La Roche) 60、120mg を 8:30 (一晩絶食後、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与 60 分前)に単回経口投与した健常男性 48 名(年齢 22~30 歳、このうち 26 名を 60mg 投与群、10 名を 120mg 投与群とする)への影響が検討されている。その結果として、プラセボ投与群との比較(無作為化試験)において、60mg 以上の投与群で血清中成長ホルモン濃度(極大値及び成長ホルモン放出ホルモン投与後 90 分間曲線下面積)の高値が認められた。

また、ピリドスチグミン(Mestinin<sup>®</sup>, Hoffmann-La Roche) 60、120mg を 8:30 過ぎ(一晩絶食後、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与 60 分前)に単回経口投与した健常女性 36 名(年齢 18~35 歳、このうち 20 名を 60mg 投与群、9 名を 120mg 投与群とする)への影響が検討されている。その結果として、プラセボ投与群との比較(無作為化試験)において、60mg/以上の投与群で血清中成長ホルモン濃度(極大値及び成長ホルモン放出ホルモン投与後 90 分間曲線下面積)の高値が認められた。(15788)

評価未実施の理由：ほぼ同様の議論が他文献においてもなされており、既に評価した内容であるため。

- ⑦Cordido ら(1989)によって、スペインにて、ピリドスチグミン 120mg を 9:00 過ぎ(一晩絶食後、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与 60 分前)に単回経口投与した健常者 13 名(男性 2 名、女性 11 名、年齢 20~42 歳)への影響(このうち 7 名(男性 1 名、女性 6 名)について)が検討されている。その結果として、プラセボ投与群との比較(無作為化試験)において、血漿中成長ホルモン濃度(成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与から 0、15、30、45、60、90、120 分後)の高値が認められた。

また、ピリドスチグミン 120mg を 9:00 過ぎ(一晩絶食後、生理食塩水経静脈投与 60 分前)に単回経口投与した健常者 13 名(男性 2 名、女性 11 名、年齢 20~42 歳)への影響(このうち 6 名について)が検討されている。その結果として、プラセボ投与群との比較(無作為化試験)において、血漿中成長ホルモン濃度(生理食塩水経静脈投与から 0、15、30、45、60、90、120 分後)の高値が認められた。

また、ピリドスチグミン 120mg を 9:00 過ぎ(一晩絶食後、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与 60 分前)に単回経口投与した肥満者 13 名(男性 2 名、女性 11 名、年齢 12~58 歳)への影響(このうち 7 名(男性 1 名、女性 6 名)について)が検討されている。その結果として、プラセボ投与群との比較(無作為化試験)において、血漿中成長ホルモン濃度(成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与から 0、15、30、45、60、90、120 分後)の高値が認められた。

また、ピリドスチグミン 120mg を 9:00 過ぎ(一晩絶食後、生理食塩水経静脈投与 60 分前)に単回経口投与した肥満者 13 名(男性 2 名、女性 11 名、年齢 12~58 歳)への影響(このうち 6 名について)が検討されている。その結果として、プラセボ投与群との比較(無作為化試験)において、血漿中成長ホルモン濃度(生理食塩水経静脈投与から 15、30、45、60、90、120 分後)の高値が認められた。(15803)

評価未実施の理由：ほぼ同様の議論が他文献においてもなされており、既に評価した内容であるため。なお、本試験結果の解釈にあたっては、臨床研究に関する倫理的な事項に関する記載がない点に注意を要すると判断された。

⑧Peñalva ら(1989)によって、スペインにて、ピリドスチグミン 120mg を 9:00 過ぎ(一晩絶食後、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与 60 分前)に単回経口投与した健常男性 7 名(年齢 20~25 歳)への影響が検討されている。その結果として、プラセボ投与群との比較(無作為化試験)において、血漿中成長ホルモン濃度(成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与から 15、30、45、60、90、120 分後)の高値が認められた。

また、ピリドスチグミン 120mg を 9:00 過ぎ(一晩絶食後、成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与 60 分前)に単回経口投与した健常男性 7 名(年齢 20~25 歳)への影響(成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与 45 分前グルコース 100g を単回経口投与)が検討されている。その結果として、プラセボ投与群との比較(無作為化試験)において、血漿中成長ホルモン濃度(成長ホルモン放出ホルモン経静脈投与から 60、90、120 分後)の高値が認められた。(15799)

評価未実施の理由：ほぼ同様の議論が他文献においてもなされており、既に評価した内容であるため。

## 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、ヒトへの投与試験の報告において、成長ホルモン放出ホルモンに対する作用を介した成長ホルモン放出作用、成長ホルモン軸に対する作用をしめ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と今後の対応案

物質名：ピリドスチグミン

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 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	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 <sup>3)</sup>	
(1)生態影響	毒性	①Rocha ら(2014)	○	?	—
(2)生殖及び発達影響		①Levine と Parker (1991) 評価未実施			
(3)成長ホルモン分泌への影響	コリン作動性ニューロン活性化によるソマトスタチン分泌低下	①Ismail ら(1995)	△	?	—

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 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	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 <sup>3)</sup>	
	②Giustina ら(1995) 評価未実施				
(4)免疫影響	①Peden-Adams ら(2004) 評価未実施				
(5)神経行動影響	①Barbier ら(2009) 評価未実施				
(6)ヒトへの投与試験	成長ホルモン放出ホルモンに対する作用を介した成長ホルモン放出作用	①Corsello ら(1992)	△	○P	○
	成長ホルモン放出ホルモンに対する作用を介した成長ホルモン放出作用	②Ghigo ら(1990)	○	○P	○
		③Ghigo ら(1989) 評価未実施			
		④Loche ら(1989) 評価未実施			
		⑤Massara ら(1986) 評価未実施			
		⑥Arvat ら(1993)			
		⑦Cordido ら(1989) 評価未実施			
		⑧Peñalva ら(1989) 評価未実施			
	成長ホルモン放出ホルモンに対する作用を介した成長ホルモン放出作用	⑨Castro ら(1990)	△	○P	○
	不明	⑩Friend ら(1997)	△	○P	○
信頼性評価のまとめと今後の対応案	ヒトへの投与試験の報告において、成長ホルモン放出ホルモンに対する作用を介した成長ホルモン放出作用をしめすことが示唆されたが、EXTEND2016の枠組みにおいては試験対象とはしない作用（無脊椎動物の成長への作用を除く）のため、内分泌かく乱作用に関する試験対象物質としない。				

- 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

- 15774: Rocha R, Gonçalves F, Marques C and Nunes B (2014) Environmental effects of anticholinesterasic therapeutic drugs on a crustacean species, *Daphnia magna*. *Environmental Science and Pollution Research International*, 21 (6), 4418-4429.
- 15794: Levine BS and Parker RM (1991) Reproductive and developmental toxicity studies of pyridostigmine bromide in rats. *Toxicology*, 69 (3), 291-300.
- 15787: Ismail I, Lewis M, Peters JR and Scanlon MF (1995) Hypothalamic mediation of reduced GH secretion in diabetic rats: evidence for reduced cholinergic inhibition of somatostatin release. *Journal of Neuroendocrinology*, 7 (4), 311-318.
- 15786: Giustina A, Misitano V, Voltz D, Piering A and Wehrenberg WB (1995) Adrenergic and cholinergic involvement in basal and growth hormone-releasing hormone-stimulated growth hormone secretion in glucocorticoid-treated rats. *Endocrine Research*, 21 (4), 719-732.
- 15777: Peden-Adams MM, Dudley AC, EuDaly JG, Allen CT, Gilkeson GS and Keil DE (2004) Pyridostigmine bromide (PYR) alters immune function in B6C3F1 mice. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 26 (1), 1-15.
- 15775: Barbier L, Diserbo M, Lamproglou I, Amourette C, Peinnequin A and Fauquette W (2009) Repeated stress in combination with pyridostigmine Part II: changes in cerebral gene expression. *Behavioural Brain Research*, 197 (2), 292-300.
- 15789: Corsello SM, Tofani A, Della Casa S, Rota CA, Sciuto R, Colasanti S, Barini A and Barbarino A (1992) Effects of sex and age on pyridostigmine potentiation of growth hormone-releasing hormone-induced growth hormone release. *Neuroendocrinology*, 56 (2), 208-213.
- 15797: Ghigo E, Arvat E, Mazza E, Mondardini A, Cappa M, Müller EE and Cammani F (1990) Failure of pyridostigmine to increase both basal and GHRH-induced GH secretion in the night. *Acta Endocrinologica*, 122 (1), 37-40.
- 15802: Ghigo E, Imperiale E, Mazza E, Goffi S, Procopio M, Müller EE and Camanni F (1989) Cholinergic enhancement of pyridostigmine potentiates spontaneous diurnal but not nocturnal growth hormone secretion in short children. *Neuroendocrinology*, 49 (2), 134-137.
- 15800: Loche S, Pintor C, Cappa M, Ghigo E, Puggioni R, Locatelli V and Müller EE (1989) Pyridostigmine counteracts the blunted growth hormone response to growth hormone-releasing hormone of obese children. *Acta Endocrinologica*, 120 (5), 624-628.
- 15805: Massara F, Ghigo E, Demisliis K, Tangolo D, Mazza E, Locatelli V, Müller EE, Molinatti GM and Camanni F (1986) Cholinergic involvement in the growth hormone releasing hormone-induced growth hormone release: studies in normal and acromegalic subjects. *Neuroendocrinology*, 43 (6), 670-675.
- 15788: Arvat E, Cappa M, Casanueva FF, Dieguez C, Ghigo E, Nicolosi M, Valcavi R and Zini M (1993) Pyridostigmine potentiates growth hormone (GH)-releasing hormone-induced GH release in both men and women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 76 (2), 374-377.
- 15803: Cordido F, Casanueva FF and Dieguez C (1989) Cholinergic receptor activation by pyridostigmine restores growth hormone (GH) responsiveness to GH-releasing hormone administration in obese subjects: evidence for hypothalamic somatostatinergic participation in the blunted GH release of obesity. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 68 (2), 290-293.
- 15799: Peñalva A, Burguera B, Casabiell X, Tresguerres JA, Dieguez C and Casanueva FF (1989) Activation of cholinergic neurotransmission by pyridostigmine reverses the inhibitory effect of hyperglycemia on growth hormone (GH) releasing hormone-induced GH secretion in man: does acute hyperglycemia act through hypothalamic release of somatostatin? *Neuroendocrinology*, 49 (5), 551-554.
- 15796: Castro RC, Vieira JG, Chacra AR, Besser GM, Grossman AB and Lengyel AM (1990) Pyridostigmine enhances, but does not normalise, the GH response to GH-releasing hormone in obese subjects. *Acta Endocrinologica*, 122 (3), 385-390.
- 15784: Friend K, Iranmanesh A, Login IS and Veldhuis JD (1997) Pyridostigmine treatment selectively amplifies the mass of GH secreted per burst without altering GH burst frequency, half-life, basal GH secretion or the orderliness of GH release. *European Journal of Endocrinology*, 137 (4), 377-386.

## IV. バルプロ酸

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

バルプロ酸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、発達影響、脳神経及び行動影響、免疫影響、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、エストロゲン受容体誘導作用、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、アンドロゲンとの複合作用、プロゲステロン作用、抗プロゲステロン作用、ヒト前立腺細胞への影響、ステロイド産生影響、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体との相互作用、メラトニン関連影響、ヒトへの投与試験に関する報告がある。

なお、本物質は、カルボン酸(CAS 99-66-1)、Na 塩(CAS 1069-66-5)又はその混合物として、錠剤からシロップまで多様な形態で入手可能であり、Depakin<sup>®</sup>、Depakine<sup>®</sup>、Divalproex (バルプロ酸の別名) sodium、Epilim<sup>®</sup>、Epival<sup>®</sup>、P4543 (Sigma-Aldrich 製品番号)、Valpakine<sup>®</sup>等と呼称される場合はNa 塩であるかNa 塩を含有する場合が多かった。

#### (1)生態影響

①Bouwmeester ら(2016)によって、バルプロ酸(Na 塩、CAS 1069-66-5、Sigma Aldrich) 1,440～46,100µg/L(=10～320µM)(設定濃度)に受精後0時間(0 hpf)から72 hpf 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、130µg/L(=0.9µM 以上のばく露区で *vtg1* 遺伝子 CpG1 配列メチル化率の低値、476µg/L(=3.3µM 以上のばく露区で *vasa* 遺伝子 CpG5 配列メチル化率の高値、808µg/L(=5.6µM 以上のばく露区で胚奇形率の高値、2,062µg/L(=14.3µM 以上のばく露区で *vasa* 遺伝子 CpG3 配列メチル化率の高値、11,100µg/L(=77.1µM 以上のばく露区で *cyp19a2* 遺伝子 CpG6 配列メチル化率の低値、12,700µg/L(=88.3µM 以上のばく露区で *vtg1* 遺伝子 CpG2 配列メチル化率の低値、39,700µg/L(=275µM 以上のばく露区で *vtg1* 遺伝子 CpG3 配列メチル化率の低値、41,700µg/L(=289.3µM 以上のばく露区で *cyp19a2* 遺伝子 CpG1 配列メチル化率の低値が認められた。なお、*vasa* 遺伝子 CpG4 配列メチル化率、*cyp19a2* 遺伝子 CpG2 配列メチル化率、*cyp19a2* 遺伝子 CpG3 配列メチル化率、*cyp19a2* 遺伝子 CpG7 配列メチル化率には影響は認められなかった。(15563)(評価結果の略号：△?)

想定される作用メカニズム：*vtg1*、*vasa*、*cyp19a2* 遺伝子のメチル化の修飾

なお、本試験結果の解釈にあたっては、作用濃度が critical effect concentrations (CEDs)と表記されており、近似曲線からの計算値と思われる点に注意を要すると判断された。

②Torres ら(2021)によって、バルプロ酸(Na 塩、CAS 1069-66-5、Sigma Aldrich、98%) 800、4,000、20,000、100,000µg/L (設定濃度)に受精後3時間(3 hpf)から80 hpf 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、800µg/L のばく露区で *dnmt1* (DNA メチルトランスフェラーゼ 1) mRNA 相対発現量の低値、4,000µg/L 以上のばく露区で総 DNA メチル化の低値、*dnmt3* mRNA 相対発現量、*dnmt4* mRNA 相対発現量、*dnmt5* mRNA 相対発現量、*dnmt7* mRNA 相対発現量、*hdac1* (ヒストンデアセチラーゼ 1) mRNA 相対発現量の高値、4,000、20,000µg/L のばく露区で *dnmt6* mRNA 相対発現量、*dnmt8* mRNA 相対発現量、*hdac3* mRNA 相対発現量の高値、20,000µg/L 以上のばく露区で *kat7b* (K(リシン)アセチラーゼ 7b) mRNA 相対発現量、*hat1* (ヒストンアセチルトランスフェラーゼ 1) mRNA 相対発現量の高値、100,000µg/L のばく露区で孵化率、心拍数の低値、心嚢浮腫発生率、出血発生率、総異常率、総 H4 ヒストンアセチル化率、*meaf6* (MYST-Esa1-associated factor 6) mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、死亡率、異常細胞増殖発生率、頭部異常発

生率、眼部異常発生率、卵黄囊異常発生率、尾部異常発生率、*kat6b* mRNA 相対発現量、*ezh2* (enhancer of zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit) mRNA 相対発現量、*setd7* (SET domain containing 7, histone lysine methyltransferase) mRNA 相対発現量、*phf8* (PHD finger protein 8) mRNA 相対発現量、*kdm7ab* (K(リシン)特異的デメチラーゼ 7Ab) mRNA 相対発現量、*riox1* (リボソーム内オキシゲナーゼ) mRNA 相対発現量、*sirt2* (silent mating type information regulation 2) mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(15509)(○?)

想定される作用メカニズム：DNA メチル化、ヒストンアセチル化の修飾作用

- ③Baronio ら(2018)によって、バルプロ酸(Sigma、P4543) 3,610 $\mu$ g/L(=25 $\mu$ M)(カルボン酸換算設定濃度)に受精後 10 時間(10 hpf)から 24 hpf までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(受精後 5 日(5 dpf))が検討されている。その結果として、自発運動試験(明条件)における移動距離、全身中 *hdc* (ヒスチジンデカルボキシラーゼ) mRNA 相対発現量、全身中 *th1* (チロシンヒドロキシラーゼ 1) mRNA 相対発現量、全身中 *dbh* (ドーパミン $\beta$ -ヒドロキシラーゼ) mRNA 相対発現量、全身中 *hrh1* (ヒスタミン H1 受容体) mRNA 相対発現量、全身中 *hrh2* mRNA 相対発現量、全身中 *hrh3* mRNA 相対発現量、脳中ヒスタミン濃度、脳中ヒスタミン産生ニューロン数、脳中チロシンヒドロキシラーゼ発現ニューロン数の低値、自発運動試験(第一暗条件刺激)における移動距離の高値が認められた。なお、全身中 *th2* mRNA 相対発現量、全身中 *pcna* (増殖細胞核抗原) mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Sigma、P4543) 3,610 $\mu$ g/L(=25 $\mu$ M)(カルボン酸換算設定濃度)に受精後 10 時間(10 hpf)から 24 hpf までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(受精後 6 ヶ月(6 mpf))が検討されている。その結果として、行動(社会的相互作用)試験における zone 2 (8 個体の魚群を格納)滞在時間、脳中 *hdc* mRNA 相対発現量、脳中 *th1* mRNA 相対発現量、脳中 *dbh* mRNA 相対発現量、脳中 *hrh3* mRNA 相対発現量、脳中ノルアドレナリン濃度、脳中 3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸濃度の低値、行動(社会的相互作用)試験における zone 3 (水草及び石を格納)滞在時間の高値が認められた。なお、行動(社会的相互作用)試験における zone 1 (zone 2 及び 3 の上部スペース)滞在時間、自発運動試験における総移動距離、脳中 *th2* mRNA 相対発現量、脳中 *hrh1* mRNA 相対発現量、脳中 *hrh2* mRNA 相対発現量、脳中 *pcna* mRNA 相対発現量、脳中ドーパミン濃度、脳中セロトニン濃度、脳中 5-ヒドロキシインドール酢酸濃度、脳中ホモバニリン酸濃度、脳中 3-メトキシチラミン濃度、脳中ヒスタミン濃度には影響は認められなかった。(15542)( $\Delta$ ?)

想定される作用メカニズム：不明

なお、本試験結果の解釈にあたっては、5 dpf において死亡率が 27%であり(有意差検定なし)、脊椎彎曲等が認められた点に注意を要すると判断された。

## (2)生殖影響

- ①Taubøll ら(1999)によって、バルプロ酸(Na 塩混合物と思われる、Desitin Pharma) 50、200mg/kg/day を約 80 日齢から 90 日間経口投与経口投与した雌 Wistar ラットへの影響(最終投与 4 時間後)が検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上のばく露群で血清中テストステロン濃度の低値、卵巣絶対重量、卵巣中卵胞数の高値、200mg/kg/day のばく露群で卵巣中卵胞数の高値が認められた。なお、体重、同腹黄体数、同腹卵胞数、血清中遊離テストステロン濃度、血清中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度、血清中プロゲステロン濃度には影響は認められなかった。(15640)( $\Delta$ ○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

②Ibrahim ら(2019)によって、バルプロ酸(Na 塩、local pharmacy) 200mg/kg/day を 21 週齢から 90 日間経口投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、同腹卵胞数、同腹卵胞状卵胞数、同腹黄体数、卵巣中形質転換増殖因子  $\beta 1$  (TGF $\beta 1$ : transforming growth factor  $\beta 1$ )蛋白質相対発現量、卵巣中増殖細胞核抗原(PCNA : Proliferating Cell Nuclear Antigen)蛋白質相対発現量、血清中エストラジオール濃度、血清中プロゲステロン濃度、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の低値、同腹閉鎖卵胞数、血清中テストステロン濃度の高値が認められた。(15526)(△○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

なお、本試験結果の解釈にあたっては、試薬の入手先の記載が不明瞭な点(local pharmacy)に注意を要すると判断された。

③Cansu ら(2011)によって、バルプロ酸(Depakine<sup>®</sup>, 200mg/1000mL solution, Sanofi Dogu) 300mg/kg/day を 21~24 日齢以降から 90 日間経口投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、精巣絶対及び相対重量の低値、精巣中アポトーシス細胞率、精巣中腫瘍抑制因子 p53 蛋白質相対発現量、精巣中トランスフォーミング増殖因子 TGF $\beta 1$  蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、体重、精巣上体絶対重量には影響は認められなかった。(15590)(○?)

想定される作用メカニズム：生殖毒性

なお、本試験結果の解釈にあたっては、ステージ II、V、XII における精原細胞、パキテン精母細胞、円形精子細胞の対セルトリ細胞当相対数が低値（ただし、有意差には至らず）であった点に注意を要すると判断された。

④Cansu ら(2008)によって、バルプロ酸(Depakine<sup>®</sup>, 200mg/1000mL solution, Sanofi Dogu) 300mg/kg/day を 21~24 日齢以降から 90 日間経口投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として卵胞数、トランスフォーミング増殖因子 TGF $\beta 1$  蛋白質発現スコア(二次卵胞、Graafian 卵胞)、インスリン様成長因子 IGF1 蛋白質発現スコア(二次卵胞、Graafian 卵胞)、増殖分化因子 GDF9 蛋白質発現スコア(二次卵胞、Graafian 卵胞)の低値、黄体数、アポトーシス卵胞数、腫瘍抑制因子 p53 蛋白質発現スコア(一次卵胞、二次卵胞、Graafian 卵胞)の高値が認められた。なお、アポトーシス顆粒細胞数には影響は認められなかった。(15604)(○?)

想定される作用メカニズム：卵巣への毒性作用

⑤Cho ら(2020)によって、バルプロ酸 400mg/kg を 4 週齢に単回腹腔内投与した雄 C57BL/6 マウスへの影響(24 時間後の大脳皮質)が検討されている。その結果として、テストステロン濃度、 $17\beta$ -エストラジオール濃度の低値、コルチゾール濃度、ジヒドロテストステロン濃度、ステロイド  $5\alpha$ -レダクターゼ活性指標(ジヒドロテストステロン/テストステロン濃度比)の高値が認められた。

また、バルプロ酸 400mg/kg を 4 週齢に単回腹腔内投与した雌 C57BL/6 マウスへの影響(24 時間後の大脳皮質)が検討されている。その結果として、 $17\beta$ -エストラジオール濃度の低値、コルチゾール濃度、ステロイド 4-ヒドロキシラーゼ活性指標(4-ヒドロキシエストラジオール/エストラジオール濃度比)の高値が認められた。(15516)(×-)

想定される作用メカニズム：大脳皮質における直接作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、試薬の入手先及び純度の記載がない点に注意を要すると判断された。

⑥Ourique ら(2016)によって、バルプロ酸(Valpakine<sup>®</sup> syrup, 200mg/mL, Sanofi Laboratories) 400mg/kg/day を 104 日齢から 28 日間腹腔内投与した雄 Wistar 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、精子運動性スコア、精巣中還元型グルタチオン濃度、精巣中反応性抗酸化物質総ポテンシャル、精巣上体中反応性抗酸化物質総ポテンシャルの低値、精巣中過酸化脂質濃度、精巣上体中過酸化脂質濃度、精巣中カルボニル蛋白質濃度、精巣上体中カルボニル蛋白質濃度、精巣中チオバルビツール酸反応性物質濃度、精巣上体中チオバルビツール酸反応性物質濃度の高値が認められた。なお、体重、精巣絶対及び相対重量、精巣上体絶対及び相対重量、前立腺絶対及び相対重量、精囊絶対及び相対重量、血清中テストステロン濃度、精巣上体中精子濃度、形態異常精子率、精巣中スーパーオキシドディスムターゼ比活性、精巣上体中スーパーオキシドディスムターゼ比活性、精巣中カタラーゼ比活性、精巣上体中カタラーゼ比活性、精巣中グルタチオン-S-トランスフェラーゼ比活性、精巣上体中グルタチオン-S-トランスフェラーゼ比活性、精巣上体中還元型グルタチオン濃度には影響は認められなかった。(15557)(○×)

想定される作用メカニズム：毒性

- ⑦Sveberg ら(2002)によって、バルプロ酸(Na 塩、60mg/mL、Desitin Pharma) 400、600mg/kg/day を約 80 日齢から 90 日間(日毎二等分割)経口投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、400mg/kg/day 以上のばく露群で血清中エストラジオール濃度の低値、血清中テストステロン/エストラジオール濃度比の高値、400mg/kg/day のばく露群で血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、600mg/kg/day のばく露群で卵巣絶対重量の低値が認められた。なお、体重、血清中テストステロン濃度、血清中プロゲステロン濃度、血清中卵巣刺激ホルモン濃度、血清中インスリン濃度には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Na 塩、60mg/mL、Desitin Pharma) 400、800mg/kg/day を約 80 日齢から 90 日間(日毎二等分割)経口投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、800mg/kg/day のばく露群で体重、精巣絶対重量の低値、血清中卵巣刺激ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度の高値が認められた。なお、血清中テストステロン濃度、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。(15630)(△?)

想定される作用メカニズム：毒性、雌ラットに対する抗エストロゲン様作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、雄においては、有意な結果が得られた評価項目が一般毒性が認められた用量以上での影響である点に注意を要すると判断された。

- ⑩Hamza と Amin (2007)によって、バルプロ酸(Na 塩と思われる、Sigma) 500mg/kg/day を3ヶ月齢以降(約 127 日齢と思われる)から7日間腹腔内投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、精巣絶対及び相対重量、精巣上体絶対及び相対重量、精巣上体中精子濃度、運動精子率、血清中テストステロン濃度、精巣中スーパーオキシドディスムターゼ比活性の低値、血清中卵巣刺激ホルモン濃度、精巣中過酸化脂質濃度、精巣中還元型グルタチオン濃度の高値が認められた。なお、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。(15611)(△×)

想定される作用メカニズム：精巣毒性

- ⑫Nishimura ら(2000)によって、バルプロ酸(Sigma) 250、500mg/kg/day (1,000/mg/kg/day 群も設定したが高死亡率のため中断)を9週齢から10週間経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、500mg/kg/day のばく露群で体重、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、前立腺絶対重量、精巣上体中精子数、運動精子率の低値、stage IX~XI 精細管中 step 19 精子細胞率の高値が認められた。なお、精囊絶対重量には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Sigma) 250、500mg/kg/day (1,000/mg/kg/day 群も設定したが高死亡率のため中断)を9週齢から10週間経口投与した雄 SD ラットへの影響(投与開始から7週間後に非ばく露雌と交

配、妊娠 14～17 日目雌について試験)が検討されているが、交配率、妊孕率、同腹黄体数、同腹着床数、着床率、同腹生存胎仔数、同腹死亡胎仔数、胎仔死亡率には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Sigma) 250、500mg/kg/day (1,000mg/kg/day 群も設定したが高死亡率のため中断)を 9 週齢から 7 週間経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、500mg/kg/day のばく露群で精巣上体絶対重量、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、運動精子率、精巣上体中精子数の低値、stage IX～XI 精細管中 step 19 精子細胞率の高値が認められた。なお、体重、精巣絶対重量には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Sigma) 250、500mg/kg/day (1,000mg/kg/day 群も設定したが高死亡率のため中断)を 9 週齢から 7 週間経口投与した雄 SD ラットへの影響(投与開始から 7 週間後に非ばく露雌と交配、妊娠 14～17 日目雌について試験)が検討されているが、交配率、妊孕率、同腹黄体数、同腹着床数、着床率、同腹生存胎仔数、同腹死亡胎仔数、胎仔死亡率には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Sigma) 250、500mg/kg/day (1,000mg/kg/day 群も設定したが高死亡率のため中断)を 9 週齢から 4 週間経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、500mg/kg/day のばく露群で精巣上体絶対重量の低値が認められた。なお、体重、精巣絶対重量、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、精巣上体中精子数、運動精子率、stage IX～XI 精細管中 step 19 精子細胞率には影響は認められなかった。(15638)(△×)

想定される作用メカニズム：精巣毒性

- ⑬Røste ら(2001)によって、バルプロ酸(Na 塩混合物と思われる、Desitin Pharma) 400、600mg/kg/day を約 80 日齢から 90 日間経口投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、600mg/kg/day のばく露群で卵巣絶対重量、卵巣中黄体数の低値、卵巣中嚢胞数の高値が認められた。なお、体重、体温、卵巣中二次卵胞数には影響は認められなかった。(15635)(△×)

想定される作用メカニズム：生殖毒性

#### ※参考 生殖影響(今回評価対象としなかった文献)

- ⑧Sveberg ら(2001)によって、バルプロ酸(Na 塩混合物と思われる、Desitin Pharma) 400、800mg/kg/day を約 80 日齢から 90 日間(日毎二等分割)経口投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、400mg/kg/day 以上のばく露群で体重、精巣絶対及び相対重量の低値、800mg/kg/day のばく露群で精巣委縮率の高値が認められた。(15633)

評価未実施の理由：有意な結果が得られた評価項目が、一般毒性が認められた用量以上での影響であるため。

- ⑨Iamsaard ら(2017)によって、バルプロ酸(Na 塩、Sigma-Aldrich) 500mg/kg/day を 10 日間腹腔内投与した成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、体重、右精巣絶対及び相対重量、右精巣上体+輸精管絶対重量、精囊+前立腺絶対及び相対重量、左精巣上体尾中精子濃度の低値が認められた。なお、右精巣上体+輸精管相対重量には影響は認められなかった。(15546)

評価未実施の理由：有意な結果が得られた評価項目が、一般毒性が認められた用量以上での影響であるため。

- ⑩Sukhorum と Iamsaard (2017)によって、バルプロ酸(Na 塩、Sigma-Aldrich) 500mg/kg/day を 10 日間腹腔内投与した成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、体重、右精巣絶対及び相対重量、右精巣上体+輸精管絶対及び相対重量、精囊絶対及び相対重量、陰茎絶対重量、左精巣上体尾中精子濃度、精細管直径、精細管上肥厚、血漿中テストステロン濃度、精巣中 CYP11A1

蛋白質相対発現量、精巣中 Ki-67 蛋白質相対発現量の低値、頭部形態異常精子率、アクロソーム損傷精子率、精巣中白膜厚、精巣中 StAR 蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、陰茎相対重量、精巣中コレステロール濃度には影響は認められなかった。(15556)

評価未実施の理由：有意な結果が得られた評価項目が、一般毒性が認められた用量以上での影響であるため。

- ⑭Lagace と Nachtigal (2003)によって、バルプロ酸(Na 塩、Sigma、P4543) 300mg/kg/day を 60～80 日齢から 30 日間経口投与(日毎 7:30～9:00、16:00～17:00、22:00～22:30 にて 3 分割投与と思われる)した雌 SD ラットへの影響が検討されているが、体重、血清中レプチン濃度、投与期間に占める発情前期及び発情期の日数、投与期間に占める発情後期及び発情間期の日数、黄体数、嚢状濾胞率、血清中  $17\beta$ -エストラジオール濃度、血清中テストステロン濃度、卵巣組織アロマトラーゼ活性には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(酸及び Na 塩の 1:1 混合物、Divalproex sodium 又は Epival<sup>®</sup>、Abbott) 330mg/kg/day を 60～80 日齢から 30 日間経口投与(日毎 7:30～9:00、16:00～17:00、22:00～22:30 にて 3 分割投与と思われる)した雌 SD ラットへの影響が検討されているが、体重、血清中レプチン濃度、投与期間に占める発情前期及び発情期の日数、投与期間に占める発情後期及び発情間期の日数、黄体数、嚢状濾胞率、血清中  $17\beta$ -エストラジオール濃度、血清中テストステロン濃度、卵巣組織アロマトラーゼ活性には影響は認められなかった。(15628)

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 (3)発達影響(今回評価対象としなかった文献)

- ①Menegola ら(1996)によって、バルプロ酸(Na 塩、Sigma) 150、300mg/kg を妊娠 9 日目の 8:00、16:00、24:00 に皮下投与した CD ラットへの影響(妊娠 11 日目)が検討されている。その結果として、150mg/kg 以上のばく露群で胚総奇形率の高値、300mg/kg のばく露群で胚頭臀長、胚頭長、胚体節数の低値が認められた。なお、着床後胚消失率、同腹生存胚数には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Na 塩、Sigma) 150、300mg/kg を妊娠 9 日目の 8:00、16:00、24:00 に皮下投与した CD ラットへの影響(妊娠 21 日目)が検討されている。その結果として、150mg/kg 以上のばく露群で胎仔内臓奇形率、胎仔骨格奇形率の高値、300mg/kg のばく露群で胎仔体重の低値、着床後胚消失率の高値が認められた。なお、同腹生存胎仔数、同腹着床数、胎盤重量、胎仔外表奇形率には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Na 塩、Sigma) 75、150、300mg/kg、妊娠 8 日目の 0:00、8:00、16:00 に皮下投与した NMRI マウスへの影響(妊娠 9.5 日目)が検討されている。その結果として、150mg/kg 以上のばく露群で胚総奇形率、胎仔骨格奇形率の高値、300mg/kg のばく露群で胚頭長の低値、着床後胚消失率の高値が認められた。なお、同腹生存胚数、胚頭臀長、胚体節数には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Na 塩、Sigma) 75、150、300mg/kg、妊娠 8 日目の 0:00、8:00、16:00 に皮下投与した NMRI マウスへの影響(妊娠 18 日目)が検討されている。その結果として、150mg/kg 以上のばく露群で着床後胚消失率、胎仔外表奇形率、胎仔骨格奇形率の高値、300mg/kg のばく露群で胎仔体重、同腹生存胎仔数の低値、胎仔内臓奇形率の高値が認められた。なお、同腹着床数、胎盤重量には影響は認められなかった。(15650)

評価未実施の理由：有意な結果が得られた評価項目が、一般毒性が認められている用量以上での影響であるため。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。

②Narotsky ら(1994)によって、バルプロ酸(Aldrich、98%) 100、200、400mg/kg/day を妊娠6日目から15日目まで経口投与したSDラットへの影響(妊娠20日目)が検討されている。その結果として、200mg/kg/day以上のばく露群で胎仔体重の低値、400mg/kg/dayのばく露群で母動物増加体重(妊娠6～20日目)の低値、胎仔骨格異常発生率の高値が認められた。なお、母動物相対肝臓重量、同腹黄体数、同腹着床数、同腹生存胎仔数、着床前胚消失率、着床後胚消失率には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Aldrich、98%) 150、300、600mg/kg/day を妊娠6日目から15日目まで経口投与したSDラットへの影響(妊娠18日目)が検討されている。その結果として、300mg/kg/day以上のばく露群で胎仔体重の低値、胎仔骨格異常発生率の高値、600mg/kg/dayのばく露群で母動物増加体重(妊娠6～18日目)、母動物絶対及び相対肝臓重量、同腹生存胎仔数の低値、胚消失率の高値が認められた。なお、同腹着床数には影響は認められなかった。(15653)

評価未実施の理由：有意な結果が得られた評価項目が、一般毒性が認められている用量以上での影響であるため。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。

③Vorhees ら(1987)によって、バルプロ酸(Saber Laboratories) 150、200、300、400、600mg/kg/day を妊娠7日目から18日目まで経口投与したSDラットへの影響(妊娠20日目)が検討されている。その結果として、200mg/kg/day以上のばく露群で胎仔総奇形率、胎仔内臓奇形率の高値、300mg/kg/day以上のばく露群で胎仔体重の低値、胎仔骨格奇形率の高値、400mg/kg/dayのばく露群で胎仔生存率の低値、胚死亡又は吸収率の高値が認められた。なお、同腹着床数には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Saber Laboratories) 150、200mg/kg/day を、妊娠7日目から18日目まで経口投与したSDラットへの影響(妊娠21日目に産ませ生後70日齢まで)が検討されているが、同腹産仔数、新生仔性比、母動物体重(産後7、14、20日目)、新生仔生存率(0、1～21、22～70日齢)、雌雄新生仔体重(0、21、42、70日齢)には影響は認められなかった。(15659)

評価未実施の理由：有意な結果が得られた評価項目が、一般毒性が認められている用量以上での影響であるため。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。

④Lin ら(2019)によって、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 1.8、2.7mmol/kg(=260、389mg/kg)を妊娠8日目に単回腹腔内投与したSWVマウスへの影響(妊娠18日目)が検討されている。その結果として、1.8mmol/kg(=260mg/kg)以上のばく露群で胎仔死亡率、吸収胚率、胎仔内臓奇形率、胎仔骨格奇形率の高値、2.7mmol/kg(=389mg/kg)のばく露群で母動物体重、母動物増加体重、胎仔生存率の低値、胎仔外表奇形率の高値が認められた。なお、胎仔体重、胎仔性比には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 2.7mmol/kg(=389mg/kg)を妊娠8日目に単回腹腔内投与したSWVマウスへの影響(妊娠18日目の母動物子宮内遺伝子発現)が検討されている。その結果として、*Heyl* (Hairy/enhancer-of-split related with YRPW motif-like) mRNA 相対発現量、*Ndp* (Norrie disease) mRNA 相対発現量の低値、*Grin1* (Glutamate receptor, ionotropic, NMDA1) mRNA 相対発現量、*Mtap2* (Microtubule-associated protein 2) mRNA 相対発現量、*Bmp8b* (Bone morphogenetic protein 8b) mRNA 相対発現量、*Stat3* (Signal transducer and activator of transcription 3) mRNA 相対発現量、*Alk* (Anaplastic lymphoma kinase) mRNA 相対発現量、*Odz1* (Odd Oz/ten-m homolog 1) mRNA 相対発現量、*Bmp4* (Bone morphogenetic protein) mRNA 相対発現量、*Creb1* (CAMP responsive element binding protein 1) mRNA 相対発現量、*Adora2a* (Adenosine A2a receptor) mRNA 相対発現量、*Ep300* (E1A binding protein p300) mRNA 相対発現量、*Bmp2* (Bone morphogenetic protein 2) mRNA 相対発現量の高値が認められた。(15532)

評価未実施の理由：有意な結果が得られた評価項目が、一般毒性が認められている用量以上での影響であるため。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)脳神経及び行動影響

③Douma ら(2014)によって、バルプロ酸(Na 塩、Sigma-Aldrich) 60、120、240mg/kg/day を9～16週齢にて単回腹腔投与した野生型 C57BL/6J マウスへの影響(投与終了 30 分後に聴覚驚愕反応試験)が検討されている。その結果として、240mg/kg/day のばく露群で驚愕強度の低値、血清中コルチコステロン濃度の高値が認められた。なお、プレパルス阻害(PPI: prepulse inhibition)率には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Na 塩、Sigma-Aldrich) 60、120、240mg/kg/day を9～16週齢にて単回腹腔投与した遺伝子組み換え C57BL/6J マウス(コルチコトロピン放出因子を過剰発現した双極性障害モデル)への影響(投与終了 30 分後に聴覚驚愕反応試験)が検討されている。その結果として、120、240mg/kg/day のばく露群血清中コルチコステロン濃度の高値、240mg/kg/day のばく露群で PPI 率の低値が認められた。なお、驚愕強度には影響は認められなかった。(15573)(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体—副腎軸への作用

④Qiu ら(2014)によって、バルプロ酸(Wuhan Shengtianyu Technology) 300mg/kg/day を9週齢から28日間経口投与した雄 SD ラットへの影響(慢性予測不能ストレス(CUS: chronic unpredicted stress)負荷条件下)が検討されている。その結果として、血清中コルチコステロン濃度、海馬中コルチコトロピン放出因子(*crf*: corticotropin releasing factor) mRNA 相対発現量、海馬 CRF 蛋白質相対発現量、行動試験における不動時間の低値、海馬中脳由来神経栄養因子(*bdnf*: brain-derived neurotrophic factor) mRNA 相対発現量、海馬中 BDNF 蛋白質相対発現量、行動試験における垂直運動スコア、行動試験における水平運動スコアの高値が認められた。

また、バルプロ酸(Wuhan Shengtianyu Technology) 300mg/kg/day を9週齢から28日間経口投与した雄 SD ラットへの影響(CUS 負荷なし)が検討されているが、血清中コルチコステロン濃度、海馬中 *crf* mRNA 相対発現量、海馬中 CRF 蛋白質相対発現量、海馬中 *bdnf* mRNA 相対発現量、海馬中 BDNF 蛋白質相対発現量、行動試験における垂直運動スコア、行動試験における水平運動スコア、行動試験における不動時間には影響は認められなかった。(15574)(△?)

想定される作用メカニズム：内分泌かく乱作用との関連性は不明、慢性予測不能ストレスへの応答の軽減作用

⑤Perez-Pouchoulen ら(2016)によって、バルプロ酸(Na 塩、Sigma-Aldrich) 600mg/kg を妊娠 12 日目に腹腔内投与した Wistar ラットへの影響(7、14、22 日齢雄仔動物について試験)が検討されている。その結果として、小脳 8 葉中アンドロゲン受容体蛋白質相対発現量(7 日齢)の低値及び高値(14 日齢)が認められた。

また、バルプロ酸(Na、Sigma-Aldrich) 600mg/kg を妊娠 12 日目に腹腔内投与した Wistar ラットへの影響(7、14、22 日齢雄仔動物について試験)が検討されている。その結果として、小脳 6 葉中アンドロゲン受容体蛋白質相対発現量(14 日齢)の低値、小脳 9 葉中アンドロゲン受容体蛋白質相対発現量(14 日齢)の高値が認められた。(15559)(△?)

想定される作用メカニズム：内分泌かく乱作用との関連性は不明、アンドロゲン受容体発現への作用

## ※参考 脳神経及び行動影響(今回評価対象としなかった文献)

①Rahimi ら(2018)によって、バルプロ酸(Na 塩、Pharma Chem) 10、20mg/kg/day、妊娠7日目から18日目(12日間毎朝10:00)腹腔内投与したWistarラット(Sedentary群として母動物ケージ内にランニングホイールなし)への影響(雄仔動物について試験、記憶保持試験においてはMorris水迷路を使用)が検討されている。その結果として、10mg/kg/day以上のばく露群で海馬中TrkB (Tyrosine receptor kinase B, the receptor for BDNF)蛋白質相対発現量(1日齢)、海馬中血管内皮細胞増殖因子受容体(VEGFR2: vascular endothelial growth factor receptor 2)蛋白質相対発現量(1日齢)の低値、海馬中脳由来神経栄養因子(BDNF: brain-derived neurotrophic factor)蛋白質相対発現量(30日齢)、海馬中血管内皮細胞増殖因子(VEGF: vascular endothelial growth factor)蛋白質相対発現量(30日齢)の高値、20mg/kg/dayのばく露群で記憶保持試験におけるプラットホーム到達潜時(30~35日齢)、記憶保持試験におけるプラットホーム平均接近距離(36日齢)の高値が認められた。なお、記憶保持試験におけるターゲットゾーン滞在時間(36日齢)、記憶保持試験における遊泳速度(36日齢)、記憶保持試験における遊泳距離(36日齢)には影響は認められなかった。(15534)

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。

なお、本試験結果の解釈にあたっては、上記の記憶保持試験が記憶力低下を示唆している点、また別途Voluntary Exercise群(母動物ケージ内にランニングホイールあり)も設定されており母動物のバルプロ酸投与による雄仔動物での記憶力低下が母動物の運動によって改善することを示唆している点に注意を要すると判断された。

②Worley ら(2019)によって、バルプロ酸(Na 塩、Sigma-Aldrich) 50mg/kg/day を0日齢(誕生直後)及び1日齢に腹腔内投与した雄Wistarラットへの影響(35日齢脳)が検討されている。その結果として、後部分界条床核面積の低値が認められた。なお、後部分界条床核中オキシトシン受容体密度には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Na 塩、Sigma-Aldrich) 50mg/kg/day を0日齢(誕生直後)及び1日齢に腹腔内投与した雌Wistarラットへの影響(35日齢脳)が検討されているが、後部分界条床核面積、後部分界条床核中オキシトシン受容体密度には影響は認められなかった。(15527)

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。

⑥Ingram ら(2000)によって、バルプロ酸(Na 塩、Sigma) 600mg/kg を妊娠12.5日目に単回腹腔内投与した雄LEラットへの影響が検討されている。その結果として、小脳中プルキンエ細胞数(虫部、前葉、後葉の各部位について)、小脳体積(半球、虫部、前葉、後葉の各部位について)の低値が認められた。なお、小脳中プルキンエ細胞密度(半球、虫部、前葉、後葉の各部位について)には影響は認められなかった。(15639)

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 (5)免疫影響(今回評価対象としなかった文献)

①Naama ら(2020)によって、バルプロ酸(Na 塩混合物、Depakine® Chrono、Sanofi-Aventis) 50mg/kg/day を妊娠8日目から出産後21日目まで経口投与したWistarラットへの影響が検討されている。その結果として、増加体重、日毎摂餌量の低値、血清中副腎皮質刺激ホルモン濃度、血清中コルチゾール濃度、血清中コルチコステロン濃度の高値が認められた。

また、バルプロ酸(Na 塩混合物、Depakine® Chrono、Sanofi-Aventis) 50mg/kg/day を妊娠8日目から出産後21日目まで経口投与したWistarラットへの影響が検討されている。その結果として、血

清中アディポネクチン濃度、血清中副腎皮質刺激ホルモン濃度、血清中コルチゾール濃度、血清中コルチコステロン濃度、血清中アドレナリン濃度、血清中ノルアドレナリン濃度、血清中ニューロペプチド Y 濃度、血清中腫瘍壊死因子 TNF- $\alpha$  濃度、血清中インターロイキン IL-1 $\beta$  濃度、血清中 IL-17 濃度、血清中 IL-4 濃度、血清中 IL-6 濃度、血清中 IL-2 濃度、血清中トランスフォーミング増殖因子 TGF- $\beta$  濃度、血清中プロスタグランジン PGE2 濃度、大脳及び小脳中過酸化脂質濃度、大脳及び小脳中過酸化 NO 濃度の高値が認められた。(15514)

評価未実施の理由：内容全体の信憑性に注意を要すると判断された報告のため（これまで他の複数の文献でも捏造が強く疑われた著者が責任編集著者であるため）。

## (6) エストロゲン作用

① Stempin ら(2013)によって、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 1、10、100、500、1,000、2,000、3,000 $\mu$ M(=144、1,440、14,400、72,100、144,000、288,000、433,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト胎仔腎細胞 HEC293 (ヒトエストロゲン受容体  $\beta$  を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(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、1,000 $\mu$ M(=144,000 $\mu$ 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。

また、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 1、10、100、500、1,000、2,000、3,000 $\mu$ M(=144、1,440、14,400、72,100、144,000、288,000、433,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト胎仔腎細胞 HEC293 (ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(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、2,000 $\mu$ M(=288,000 $\mu$ 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。

また、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 1、10、100、500、1,000、2,000、3,000 $\mu$ M(=144、1,440、14,400、72,100、144,000、288,000、433,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 1 nM 共存下)したヒト胎仔腎細胞 HEC293 (ヒトエストロゲン受容体  $\beta$  を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(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  $\mu$ M(=144 $\mu$ 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。なお、エストロゲン受容体アンタゴニストである ICI 182,780 0.1 $\mu$ M 共存下では、ルシフェラーゼ発現誘導はほぼ完全に抑制された。

また、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 1、10、100、500、1,000、2,000、3,000 $\mu$ M(=144、1,440、14,400、72,100、144,000、288,000、433,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 1 nM 共存下)したヒト胎仔腎細胞 HEC293 (ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(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  $\mu$ M(=144 $\mu$ 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。なお、エストロゲン受容体アンタゴニストである ICI 182,780 0.1 $\mu$ M 共存下では、ルシフェラーゼ発現誘導はほぼ完全に抑制された。(15576)( $\Delta$ OP)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、バルプロ酸の受容体結合以外のメカニズムの存在を示唆している点に注意を要すると判断された。

② Graziani ら(2003)によって、バルプロ酸(Sigma) 120、250、500、1,000、2,000 $\mu$ M(=17,300、36,100、72,100、144,000、288,000 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト子宮内膜がん細胞 IK (ヒトエストロゲン受容体を発現)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。

(15627)(△○N)

- ③Death ら(2005)によって、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 100 $\mu$ M(=14,400 $\mu$ 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を発現)によるレポータージーンアッセイ(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  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導は認められなかった。(15617)(△○N)

## (7)抗エストロゲン作用

- ①Death ら(2005)によって、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 100 $\mu$ M(=14,400 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 26pM 共存下)した酵母(ヒトエストロゲン受容体を発現)によるレポータージーンアッセイ(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  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導の阻害は認められなかった。(15617)(△○N)

## (8)エストロゲン受容体発現促進作用

- ①Graziani ら(2003)によって、バルプロ酸(Sigma) 120、250、500、1,000、2,000 $\mu$ M(=17,300、36,100、72,100、144,000、288,000 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 10nM 共存下)したヒト子宮内膜がん細胞 IK による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、250 $\mu$ M(=36,100 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。

また、バルプロ酸(Sigma) 500 $\mu$ M(=72,100 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 0.1、1、10nM 共存下)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、250 $\mu$ M(=36,100 $\mu$ g/L)の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。

また、バルプロ酸(Sigma) 500、1,000 $\mu$ M(=72,100、144,000 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト子宮内膜がん細胞 IK による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、500 $\mu$ M(=72,100 $\mu$ g/L)以上の濃度区でエストロゲン受容体 ER $\alpha$  mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、バルプロ酸(Sigma) 500 $\mu$ M(=72,100 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト子宮内膜がん細胞 IK によるエストロゲン受容体蛋白質相対発現量が認められた。(15627)(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン依存性細胞増殖促進作用、エストロゲン受容体  $\alpha$  発現促進作用

## (9)アンドロゲン作用

- ①Stempin ら(2013)によって、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 2,000、4,000 $\mu$ M(=28,800、57,700 $\mu$ g/L)の濃度に 16 時間ばく露したヒト胎仔腎細胞 HEC293 (ヒトアンドロゲン受容体  $\alpha$  を発現)によるレポータージーンアッセイ(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、2,000 $\mu$ M(=28,800 $\mu$ 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。(15576)(△○P)

- ②Death ら(2005)によって、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 100 $\mu$ M(=14,400 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した酵母(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポータージーンアッセイ(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  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導は認められなかった。(15617)(△○N)

## (10)抗アンドロゲン作用

①Death ら(2005)によって、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 100 $\mu$ M(=14,400 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(テストステロン 5nM 共存下)した酵母(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポータージーンアッセイ(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  $\beta$ -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、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導の抑制が認められた。(15617)( $\Delta$ OP)

②Stempin ら(2013)によって、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 1、10、100、1,000、2,000、4,000 $\mu$ M(=144、1,440、14,400、144,000、288,000、577,000 $\mu$ g/L)の濃度に 16 時間ばく露(ジヒドロテストステロン 1 nM 共存下)したヒト胎仔腎細胞 HEC293 (ヒトアンドロゲン受容体  $\alpha$  を発現)によるレポータージーンアッセイ(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、1,000 $\mu$ M(=144,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の抑制が認められた。なお、アンドロゲン受容体アンタゴニストであるフルタミド 0.3 $\mu$ M 共存下では、ルシフェラーゼ発現誘導はほぼ完全に抑制された。(15576)( $\Delta$ OP)

## (11)アンドロゲンとの複合作用

①Death ら(2005)によって、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 10、100、200 $\mu$ M(=144014,400、28,800 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(ジヒドロテストステロン 400nM 共存下)したヒト子宮頸がん細胞 HeLa (ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポータージーンアッセイ(核内因子 NF $\kappa$ B 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、200 $\mu$ M(=28,800 $\mu$ g/L)以上の濃度区で、NF $\kappa$ B の高値が認められた。(15617)( $\Delta$ OP)  
想定される作用メカニズム：アンドロゲンとの複合作用

## (12)プロゲステロン作用

①Death ら(2005)によって、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 100 $\mu$ M(=14,400 $\mu$ 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)によるレポータージーンアッセイ(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  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導は認められなかった。(15617)( $\Delta$ ON)

## (13)抗プロゲステロン作用

①Death ら(2005)によって、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 100 $\mu$ M(=14,400 $\mu$ g/L)の濃度に 4 時間ばく露(プロゲステロン 1.6nM 共存下)した酵母(ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポータージーンアッセイ(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  $\beta$ -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、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導の抑制が認められた。(15617)( $\Delta$ OP)

## (14)ヒト前立腺細胞への影響

①Tran ら(2017)によって、バルプロ酸(Sigma、P4543-10G) 100,000 $\mu$ M(=14,400,000 $\mu$ g/L)までの濃度に 72 時間ばく露したヒト前立腺上皮細胞 PrEC(正常細胞)への影響が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 2,400 $\mu$ M(=346,000 $\mu$ g/L)の濃度で、細胞増殖率の低値が認められた。  
また、バルプロ酸(Sigma、P4543-10G) 1,000、2,500 $\mu$ M(=144,000、360,000 $\mu$ g/L)の濃度に 72 時間ば

く露したヒト前立腺上皮細胞 PrEC(正常細胞)への影響が検討されている。その結果として、2,500 $\mu$ M(=360,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で、アポトーシス率の高値が認められた。

また、バルプロ酸(Sigma、P4543-10G) 100,000 $\mu$ M(=14,400,000 $\mu$ g/L)までの濃度に 72 時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 LNCaP (アンドロゲン受容体 AR 及び非ヒストン蛋白質の一種 p53 を発現)への影響が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 2,700 $\mu$ M(=389,000 $\mu$ g/L)の濃度で、細胞増殖率の低値が認められた。

また、バルプロ酸(Sigma、P4543-10G) 1,000、2,500 $\mu$ M(=144,000、360,000 $\mu$ g/L)の濃度に 72 時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 LNCaP (AR 及び p53 を発現)への影響が検討されている。その結果として、1,000 $\mu$ M(=144,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で、アポトーシス率の高値が認められた。

また、バルプロ酸(Sigma、P4543-10G) 100,000 $\mu$ M(=14,400,000 $\mu$ g/L)までの濃度に 72 時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 PC3 (AR も p53 も発現していない)への影響が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 6,500 $\mu$ M(=937,000 $\mu$ g/L)の濃度で、細胞増殖率の低値が認められた。

また、バルプロ酸(Sigma、P4543-10G) 1,000、2,500 $\mu$ M(=144,000、360,000 $\mu$ g/L)の濃度に 72 時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 PC3 (AR も p53 も発現していない)への影響が検討されている。その結果として、2,500 $\mu$ M(=360,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で、アポトーシス率の高値が認められた。

(15548)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：前立腺がん細胞における細胞増殖抑制作用及びアポトーシス促進作用

②Iacopino ら(2008)によって、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 450、1,000、5,000、10,000、25,000 $\mu$ M(=64,900、144,000、721,000、3,610,000 $\mu$ g/L)の濃度に 6 日間ばく露したヒト前立腺がん細胞 LNCaP(アンドロゲン感受性)への影響が検討されている。その結果として、450 $\mu$ M(=64,900 $\mu$ g/L)以上の濃度区で、細胞増殖率の低値が認められた。

また、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 450、1,000、5,000、10,000、25,000 $\mu$ M(=64,900、144,000、721,000、3,610,000 $\mu$ g/L)の濃度に 6 日間ばく露したヒト前立腺がん細胞 PC3(アンドロゲン非感受性)への影響が検討されている。その結果として、450 $\mu$ M(=64,900 $\mu$ g/L)以上の濃度区で、細胞増殖率の低値が認められた。

また、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 450 $\mu$ M(=64,900 $\mu$ g/L)の濃度にばく露したヒト前立腺がん細胞 LNCaP(アンドロゲン感受性)への影響が検討されている。その結果として、細胞増殖率(ジヒドロテストステロン 0.1、1、10、100nM 共存下、6 日間)の低値、アンドロゲン受容体蛋白質相対発現量(4 日間)の高値が認められた。なお、アンドロゲン受容体蛋白質相対発現量(ジヒドロテストステロン 1 nM 共存下、4 日間)、E カドヘリン蛋白質相対発現量(ジヒドロテストステロン 1 nM 共存下、1 日間)には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 450 $\mu$ M(=64,900 $\mu$ g/L)の濃度にばく露したヒト前立腺がん細胞 PC3(アンドロゲン非感受性)への影響が検討されている。その結果として、アンドロゲン受容体蛋白質相対発現量(1 日間)、E カドヘリン蛋白質相対発現量(1 日間)、アンドロゲン受容体蛋白質相対発現量(ジヒドロテストステロン 1 nM 共存下、1 日間)、E カドヘリン蛋白質相対発現量(ジヒドロテストステロン 1 nM 共存下、1 日間)の高値が認められた。(15602)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：前立腺がん細胞への影響

③Stettner ら(2007)によって、バルプロ酸(Na 塩、Sigma) 1,000、5,000、10,000 $\mu$ M(=144,000、721,000、1,440,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 LNCaP への影響が検討されている。その結果として、1,000 $\mu$ M(=144,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞増殖率の低値が認められた。

また、バルプロ酸(Na 塩、Sigma) 5,000 $\mu$ M(=721,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 LNCaP への影響が検討されている。その結果として、1,000 $\mu$ M(=144,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区でエストロゲン受容体 ER $\alpha$  mRNA 相対発現量の低値、エストロゲン受容体 ER $\beta$  mRNA 相対発現量、エストロゲン受容体 ER $\beta$  蛋白質相対発現量の高値が認められた。(15607)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム:前立腺がん細胞への影響(エストロゲン受容体への影響は間接的影響と考えられた)

#### (15)ステロイド産生影響

①Kühn-Velten ら(1990)によって、バルプロ酸(Na 塩、Sigma) 100、200、400 $\mu$ M(=14,400、28,800、57,700 $\mu$ g/L)の濃度に 2 時間ばく露したラットライディッヒ細胞(10~12 週齢雄 Wistar ラット由来)への影響が検討されている。その結果として、200 $\mu$ M(=28,800 $\mu$ g/L)以上の濃度区でテストステロン産生速度(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 1 mg/L 共存下)の低値、P450XVII とプロゲステロンとの乖離定数  $K_s$  の高値が認められた。なお、テストステロン産生速度(基底状態)、テストステロン産生速度(ジブチリル cAMP 10 $\mu$ g/L 共存下)、テストステロン産生速度(25-ヒドロキシコレステロール 25 $\mu$ M 共存下)には影響は認められなかった。(15657)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム:ステロイド産生へのかなり弱い影響

②Fisseha ら(2010)によって、バルプロ酸(Sigma) 100,000、250,000、500,000 $\mu$ g/L の濃度に 36 時間ばく露したラット莖膜/間質細胞(25 日齢雌 SD ラット由来)への影響が検討されている。その結果として、250,000 $\mu$ g/L 以上の濃度区でアンドロステンジオン産生量(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 100ng/mL 及び HDL50 $\mu$ g/mL 共存下)の低値が認められた。なお、ヒト絨毛性ゴナドトロピン及び HDL 非共存下でのアンドロステンジオン産生量には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Sigma) 250,000 $\mu$ g/L の濃度に 36 時間ばく露したラット莖膜/間質細胞(25 日齢雌 SD ラット由来)への影響が検討されている。その結果として、アンドロステンジオン産生量(8-ブロモ-cAMP 1 mM 共存下)の低値が認められた。なお、8-ブロモ-cAMP 非共存下でのアンドロステンジオン産生量(同上、共存なし)には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Sigma) 500,000 $\mu$ g/L の濃度にヒト絨毛性ゴナドトロピン 100ng/mL 共存下 36 時間ばく露したラット莖膜/間質細胞(25 日齢雌 SD ラット由来)への影響(遺伝子はアンドロゲン生合成関連酵素)が検討されている。その結果として、17 $\beta$ -ヒドロキシプロゲステロン産生量、アンドロステンジオン産生量、CYP17A1 mRNA 相対発現量、17 $\beta$ -HSD mRNA 相対発現量の低値が認められた。

また、バルプロ酸(Sigma) 500,000 $\mu$ g/L の濃度に 36 時間ばく露したラット莖膜/間質細胞(25 日齢雌 SD ラット由来)への影響(遺伝子はアンドロゲン生合成関連酵素)が検討されている。その結果として、CYP17A1 mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、アンドロステンジオン産生量、17 $\beta$ -ヒドロキシプロゲステロン産生量、17 $\beta$ -HSD mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

(15591)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム:ラット莖膜/間質細胞でのステロイド合成への間接的な影響

#### (16)ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体との相互作用

①Lampen ら(1999)によって、バルプロ酸(Sigma) 500 $\mu$ M(=72,100 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO(ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(PPAR $\delta$ )及びヒトグル

コルチコイド受容体(GR)を発現)によるレポータージーンアッセイ(PPAR $\delta$  及び GR 応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたアルカリ性フォスファターゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、アルカリ性フォスファターゼ誘導が認められた。(15641)( $\Delta$ ?)

想定される作用メカニズム：内分泌かく乱作用との関連性は不明

## (17)メラトニン関連影響

①Jawed ら(2007)によって、バルプロ酸(Na 塩、Sigma-Aldrich) 100、500、1,000、3,000、5,000 $\mu$ M(=14,400、72,100、144,000、433,000、721,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCFA への影響が検討されている。その結果として、500、1,000 $\mu$ M(=72,100、144,000 $\mu$ g/L)の濃度区でメラトニン受容体 MT<sub>1</sub> 蛋白質(50kD)相対発現量の高値が認められた。なお、メラトニン受容体 MT<sub>1</sub> 蛋白質(37kD)相対発現量、MT<sub>1</sub> mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Na 塩、Sigma-Aldrich) 500、1,000、5,000 $\mu$ M(=72,100、144,000、721,000 $\mu$ g/L)の濃度に 96 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCFA への影響が検討されている。その結果として、500 $\mu$ M(=72,100 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞増殖率の低値が認められた。

また、バルプロ酸(Na 塩、Sigma-Aldrich) 500、1,000 $\mu$ M(=72,100、144,000 $\mu$ g/L)の濃度に 72 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCFA への影響が検討されている。その結果として、500 $\mu$ M(=72,100 $\mu$ g/L)以上の濃度区で MT<sub>1</sub> mRNA 相対発現量の高値が認められた。(15612)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：メラトニン受容体への影響

②Castro ら(2005)によって、バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 100、500、1,000、3,000、5,000 $\mu$ M(=14,400、72,100、144,000、433,000、721,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したラット神経膠腫細胞 C6 への影響が検討されている。その結果として、1,000 $\mu$ M(=144,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区でメラトニン受容体 MT<sub>1</sub> 蛋白質相対発現量の高値、3,000 $\mu$ M(=433,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で MT<sub>1</sub> mRNA、ヒストンデアセチラーゼ HDAC mRNA 相対発現量の高値、5,000 $\mu$ M(=721,000 $\mu$ g/L)の濃度区で脳由来神経栄養因子 BDNF mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、グリア細胞株由来神経栄養因子 GDNF mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

バルプロ酸(Sigma-Aldrich) 100、500、1,000、3,000、5,000 $\mu$ M(=14,400、72,100、144,000、433,000、721,000 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したラット神経膠腫細胞 C6 への影響が検討されている。その結果として、500 $\mu$ M(=72,100 $\mu$ g/L)以上の濃度区で BDNF mRNA 相対発現量の高値、1,000 $\mu$ M(=144,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で GDNF mRNA 相対発現量の高値、5,000 $\mu$ M(=721,000 $\mu$ g/L)の濃度区で MT<sub>1</sub> mRNA 相対発現量、HDAC mRNA 相対発現量の高値が認められた。(15616)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：メラトニン受容体への影響

## (18)ヒトへの投与試験

①Martin ら(2009)によって、米国 Louisiana 州にて、バルプロ酸 15mg/kg/day を 21 日間投与した健常者 26 名(男性 12 名、女性 14 名、年齢 28.2 $\pm$ 8.6 歳)への影響(昼食前 0.5 時間から昼食後 1 時間にかけて測定)が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、弛緩期血圧、血中グルコース濃度、血中アルブミン濃度、血中総コレステロール濃度、血中低密度リポ蛋白質濃度、血中高密度リポ蛋白質濃度、血小板濃度の低値、増加体重、血中グルカゴン様ペプチド GLP-1 濃度、摂食インベントリー(EI: eating inventory)スコア、食品渴望インベントリー(FCI: food craving inventory)スコア、摂食障害多因子評価スコア(MAEDS: Multifactorial Assessment of Eating Disorders Symptoms)の

高値が認められた。なお、エネルギー摂取量(EI: energy intake)スコア、身体運動量(PI: physical activity)スコア、血中グレリン濃度、血中レプチン濃度、血中ペプチド YY 濃度、収縮期血圧、血中トリグリセリド濃度、血中クレアチニン濃度、血中インスリン濃度には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸 15mg/kg/day を 21 日間投与した健常者 26 名(男性 12 名、女性 14 名、年齢 28.2±8.6 歳)への影響(昼食前 0.5 時間から昼食後 1 時間にかけて測定)が検討されている。その結果として、プラセボ投与群として健常者 26 名(男性 11 名、女性 15 名、年齢 32±10.2 歳)との比較において、血中グルコース濃度、血中インスリン濃度、血中アルブミン濃度、血中総コレステロール濃度、血中低密度リポ蛋白質濃度、血中高密度リポ蛋白質濃度、血小板濃度の低値、FCI スコアの高値が認められた。なお、増加体重、EI スコア、PI スコア、EI スコア、MAEDS スコア、血中グレリン濃度、血中グルカゴン様ペプチド GLP-1 濃度、血中レプチン濃度、血中ペプチド YY 濃度、弛緩期血圧、収縮期血圧、血中トリグリセリド濃度、血中クレアチニン濃度には影響は認められなかった。(15601)(○?)

想定される作用メカニズム：不明

- ②Shiah ら(1998)によって、カナダ British Columbia 州にて、バルプロ酸(酸及び Na 塩の 1:1 混合物、Divalproex sodium) 1,000mg/day (朝夕に 500mg)を 7 日間投与し、更に最終投与日の 8:30 にバクロフェン(GABA<sub>B</sub> 受容体アゴニスト) 20mg を投与し 10:00(一晩絶食、バルプロ酸最終投与後 12 時間に相当)から 180 分間測定した健常男性 10 名(年齢 25.9±5.8 歳、体重 79.0±14.5kg)への影響が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、血漿中成長ホルモン濃度(10:00~13:00 曲線下面積)、血漿中成長ホルモン濃度(最大変動値)の低値が認められた。なお、血漿中成長ホルモン濃度(基底値)、血漿中成長ホルモン濃度(極大値)には影響は認められなかった。(15644)(○○P)

想定される作用メカニズム：成長ホルモンへの影響

- ③Delva ら(2002)によって、カナダ Ontario 州にて、バルプロ酸(酸及び Na 塩の 1:1 混合物、Sodium divalproex) 250~625mg/day を 14 日間投与(250mg から開始し最初の 3 日目までに 500mg に増量、5 日目までに 625mg に増量)投与し、更に最終投与前日の 9:30(一晩絶食、バルプロ酸投与後 12.5 時間に相当)にアポモルフィン(ドーパミン受容体アゴニスト) 5 µg/kg を皮下投与し投与し 90 分間測定した健常男性 8 名(年齢 38±12 歳、体重 83.3±9.2kg)への影響が検討されているが、投与前(アポモルフィンのみ投与)との比較において、血漿中プロラクチン濃度(アポモルフィン投与後の基底値、最大変動値、曲線化面積)、血漿中成長ホルモン濃度(アポモルフィン投与後の基底値、最大変動値、曲線化面積)には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(酸及び Na 塩の 1:1 混合物、Sodium divalproex) 250~625mg/day を 14 日間投与(250mg から開始し最初の 3 日目までに 500mg に増量、5 日目までに 625mg に増量)投与し、更に最終投与前日の 12:00(一晩絶食、バルプロ酸最終投与後 4 時間に相当)にイブサピロン塩酸塩(5-HT<sub>1A</sub> 受容体アゴニスト) 20mg を経口投与し 180 分間測定した健常男性 8 名(年齢 38±12 歳、体重 83.3±9.2kg)への影響が検討されているが、投与前(イブサピロンのみ投与)との比較において、血漿中副腎皮質刺激ホルモン濃度(イブサピロン投与後の基底値、最大変動値、曲線化面積)、血漿中コルチゾール濃度(イブサピロン投与後の基底値、最大変動値、曲線化面積)、体温(イブサピロン投与後の基底値、最大変動値、曲線化面積)には影響は認められなかった。(15629)(○?)

想定される作用メカニズム：影響は認められなかった。

- ④Shiah ら(1997)によって、カナダ British Columbia 州にて、バルプロ酸(酸及び Na 塩の 1:1 混合物、Divalproex sodium) 1,000mg/day (朝夕に 500mg)を 7 日間投与、更に 8 日目 9:00 にバルプロ酸 500mg

を投与、11:00 にイプサピロン塩酸塩(5-HT<sub>1A</sub> 受容体アゴニスト) 0.3mg/kg を経口投与し 180 分間試験した健常男性 10 名(年齢 29.4±10.5 歳、体重 71.6±7.3kg)への影響が検討されている。その結果として、投与前(14:00 にイプサピロン塩酸塩 0.3mg/kg を経口投与し 180 分間試験)との比較において、体温(最大変動値)の低値が認められた。なお、血漿中副腎皮質刺激ホルモン濃度(最大変動値)、血漿中コルチゾール濃度(最大変動値)には影響は認められなかった。(15645)(○?)

想定される作用メカニズム：不明

- ⑤Prabhakar ら(2007)によって、インドにて、バルプロ酸 724±150.8mg/day (開始時)から 736±211.9mg/day (終了時)を 1 年間投与した女性てんかん患者 25 名(年齢 18.3±3.7 歳、初単剤治療)への影響が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、体重、ボディマス指数、血清中テストステロン濃度、肥満発生率、月経周期異常発生率、男性型多毛症発症率の高値が認められた。なお、多嚢胞性卵巣症候群(PCOS: polycystic ovary syndrome)発症率、血清中ジヒドロステロン濃度、血清中プロラクチン濃度、血清中デヒドロエピアンドロステロン濃度、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、血清中黄体形成ホルモン/卵胞刺激ホルモン濃度比には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸 724±150.8mg/day(開始時)から 736±211.9mg/day (2 年目開始時)を 2 年間投与した女性てんかん患者 11 名(上記 25 名中)への影響が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、体重、ボディマス指数、血清中テストステロン濃度の高値が認められた。なお、肥満発生率、月経周期異常発生率、男性型多毛症発症率、PCOS 発症率、血清中ジヒドロステロン濃度、血清中プロラクチン濃度、血清中デヒドロエピアンドロステロン濃度、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、血清中黄体形成ホルモン/卵胞刺激ホルモン濃度比には影響は認められなかった。(15609)(○○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

なお、本試験結果の解釈にあたっては、採血時刻が記載されていない点に注意を要すると判断された。

- ⑥Nag ら(1997)によって、インドにて、バルプロ酸 887.5±186.7mg /day を 1 年間投与した男性てんかん患者 25 名(年齢 26.9±7.8 歳)への影響が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、血清中テストステロン濃度の低値が認められた。なお、血清中プロラクチン濃度、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には影響は認められなかった。

なお、バルプロ酸 887.5±186.7mg /day を 1 年間投与した男性てんかん患者 25 名(年齢 26.9±7.8 歳)への影響が検討されているが、健常男性 20 名(年齢 27.8±9.2 歳)との比較において、血清中テストステロン濃度、血清中プロラクチン濃度、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には影響は認められなかった。(15646)(△○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

なお、本試験結果の解釈にあたっては、採血時刻が記載されていない点に注意を要すると判断された。

- ⑦Hallam ら(2005)によって、オーストラリアにて、バルプロ酸(Na 塩)400mg/day(日毎二等分割) 5 日間投与した健常者 12 名(男性 5 名、女性 7 名、年齢 22.9±5.6 歳)への影響(20:00～02:30 にかけて試験)が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、メラトニン分泌抑制率(24:00～01:00 にかけて眼に 200 ルクス光を照射)の低値が認められた。なお、薄明下メラトニン分泌開始時刻(DLMO: dim light melatonin onset)、メラトニン分泌量(20:00～02:30 曲線下面積)には影響は認め

られなかった。(15619)(△○P)

想定される作用メカニズム：メラトニン分泌調節機能の低下

- ⑧Kafadar ら(2015)によって、トルコにて、バルプロ酸 20~30mg/kg/day(日毎二分割)を 12 ヶ月間投与したてんかん患者 40 名(男性 26 名、女性 14 名、年齢 9.7±4.16 歳)への影響が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値が認められた。なお、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、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度、血清中遊離サイロキシン濃度には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸 20~30mg/kg/day(日毎二分割)を 6 ヶ月間投与したてんかん患者 40 名(男性 26 名、女性 14 名、年齢 9.7±4.16 歳)への影響が検討されているが、投与開始前との比較において、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、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、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度、血清中遊離サイロキシン濃度には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸 20~30mg/kg/day(日毎二分割)を 12 ヶ月間投与したてんかん患者 40 名(男性 26 名、女性 14 名、年齢 9.7±4.16 歳)への影響が検討されている。その結果として、同病院にて痙攣以外の症状による患者 36 名(男性 20 名、女性 16 名、年齢 10.1±3.17 歳)との比較において、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値が認められた。なお、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、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度、血清中遊離サイロキシン濃度には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸 20~30mg/kg/day(日毎二分割)を 6 ヶ月間投与したてんかん患者 40 名(男性 26 名、女性 14 名、年齢 9.7±4.16 歳)への影響が検討されているが、同病院にて痙攣以外の症状による患者 36 名(男性 20 名、女性 16 名、年齢 10.1±3.17 歳)との比較において、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、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、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度、血清中遊離サイロキシン濃度には影響は認められなかった。(15176)(△○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

なお、本試験結果の解釈にあたっては、採血時刻が記載されていない点に注意を要すると判断された。また、試験実施機関が明確でない、ホルモン濃度に単位がない、採血時間の記載がない等の点にも注意を要すると判断された。

- ⑨Doneray ら(2012)によって、トルコにて、バルプロ酸 20mg/kg/day(日毎二分割)を 6 ヶ月間投与したてんかん患者 28 名(男性 20 名、女性 8 名、平均月齢 98.33±44.69 月)への影響(8:00~10:00 絶食血)が検討されている。その結果として、全身症状以外の理由による患者との比較において、血清中サイロキシン濃度、血清中銅濃度の低値、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値が認められた。なお、血清中遊離サイロキシン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度、血清中サイログロブリン濃度、血清中セレン濃度、血清中亜鉛濃度には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸 20mg/kg/day(日毎二分割)を 6 ヶ月間投与したてんかん患者 41 名(年齢 2~15 歳)への影響(8:00~10:00 絶食血)が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、血清中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が認められた。なお、血清中遊離サイロキシン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度、血清中サイログロブリン濃度、血清中セレン濃度、血清中亜鉛濃度、血清中銅濃度には影響は認められなかった。(15581)(△○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

⑩Tan ら(2005)によって、トルコにて、バルプロ酸 15~40mg/kg/day を6ヶ月~9年間投与した女性てんかん患者 14名(年齢 9.4±1.8歳)への影響が検討されている。その結果として、健常女性 15名(年齢 8.9±1.6歳)との比較において、血漿中遊離テストステロン濃度、血漿中アンドロステジオン濃度、血漿中プロラクチン濃度の低値、血漿中性ホルモン結合グロブリン濃度、血漿中インスリン濃度、血漿中グルコース濃度、恒常性モデル評価によるインスリン耐性(HOMA-IR: homeostatic model assessment-insulin resistance)の高値が認められた。なお、血漿中高密度リポ蛋白質濃度、血漿中低密度リポ蛋白質濃度、血漿中トリグリセリド濃度、血漿中コレステロール濃度、血漿中デヒドロエピアンドロステロン濃度、ボディマス指数、左右卵巣体積には影響は認められなかった。(15615)(△○P)

想定される作用メカニズム：インスリン抵抗性促進、テストステロン合成系への影響、プロラクチン分泌抑制

なお、本試験結果の解釈にあたっては、採血時刻が記載されていない点に注意を要すると判断された。

⑪Mikkonen ら(2004)によって、フィンランドにて、バルプロ酸 16.0±3.9mg/kg/day を3.5±3.0年間投与した男性てんかん患者 25名のうち前思春期 8名(平均年齢 8.9±1.8歳)への影響(8:00~10:00 絶食血)が検討されている。その結果として、健常男性 23名(平均年齢 9.7±1.4歳)との比較において、血清中アンドロステジオン濃度、精巣体積の高値が認められた。なお、血清中テストステロン濃度、血清中デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度、血清中デヒドロエピアンドロステロン濃度、血清中性ホルモン結合グロブリン濃度、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、血清中インヒビン B 濃度には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸 16.0±3.9mg/kg/day を3.5±3.0年間投与した男性てんかん患者 25名のうち思春期 12名(平均年齢 14.3±1.7歳)への影響(8:00~10:00 絶食血)が検討されている。その結果として、33名(平均年齢 13.6±2.3歳)との比較において、血清中アンドロステジオン濃度の高値が認められた。なお、血清中テストステロン濃度、血清中デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度、血清中デヒドロエピアンドロステロン濃度、血清中性ホルモン結合グロブリン濃度、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、血清中インヒビン B 濃度、精巣体積には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸 16.0±3.9mg/kg/day を3.5±3.0年間投与した男性てんかん患者 25名のうち後思春期 5名(平均年齢 18.3±1.3歳)への影響(8:00~10:00 絶食血)が検討されている。その結果として、14名(平均年齢 19.8±0.9歳)との比較において、血清中アンドロステジオン濃度の高値が認められた。なお、血清中テストステロン濃度、血清中デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度、血清中デヒドロエピアンドロステロン濃度、血清中性ホルモン結合グロブリン濃度、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、血清中インヒビン B 濃度、精巣体積には影響は認められなかった。(15622)(○●P)

想定される作用メカニズム：ステロイド合成系への影響

⑫Vainionpää ら(1999)によって、フィンランドにて、バルプロ酸 17.2±4.4mg/kg/day を平均 2.3 (範囲 0.8~9.3)年間投与した女性てんかん患者 16名(前思春期、平均年齢 9.5±0.9歳)への影響(8:00 絶食血)が検討されている。その結果として、健常女性 20名(平均年齢 9.2±0.9歳)との比較において、血清中テストステロン濃度、遊離アンドロゲン指数の高値が認められた。なお、血清中デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度、血清中アンドロステジオン濃度、血清中性ホルモン結合グロブリン

ン濃度、血清中エストラジオールホルモン濃度、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には影響は認められなかった。

このばく露群の内、特にアンドロゲン過剰症の6名については、血清中インスリン濃度、血清中インスリン様成長因子 IGF-1 濃度、血清中インスリン様成長因子結合蛋白質 IGFBP-1 濃度、血清中インスリン様成長因子結合蛋白質 IGFBP-3 濃度、ボディマス指数には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸  $15.9 \pm 3.7 \text{ mg/kg/day}$  を平均 3.6 (範囲 0.9~10.3)年間投与した女性てんかん患者 11名(思春期、平均年齢  $12.3 \pm 1.4$  歳)への影響(8:00 絶食血)が検討されている。その結果として、健常女性 13名(平均年齢  $11.8 \pm 1.3$  歳)との比較において、血清中テストステロン濃度、遊離アンドロゲン指数の高値が認められた。なお、血清中デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度、血清中アンドロステンジオン濃度、血清中性ホルモン結合グロブリン濃度、血清中エストラジオールホルモン濃度、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には影響は認められなかった。

このばく露群の内、特にアンドロゲン過剰症の3名については、血清中インスリン様成長因子 IGF-1 濃度の高値が認められた。なお、血清中インスリン濃度、血清中インスリン様成長因子結合蛋白質 IGFBP-1 濃度、血清中インスリン様成長因子結合蛋白質 IGFBP-3 濃度、ボディマス指数には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸  $15.6 \pm 3.9 \text{ mg/kg/day}$  を平均 3.1 (範囲 0.9~8.0)年間投与した女性てんかん患者 14名(後思春期、平均年齢  $16.0 \pm 1.7$  歳)への影響(8:00 絶食血)が検討されている。その結果として、健常女性 21名(平均年齢  $16.1 \pm 1.2$  歳)との比較において、血清中テストステロン濃度、遊離アンドロゲン指数の高値が認められた。なお、血清中デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度、血清中アンドロステンジオン濃度、血清中性ホルモン結合グロブリン濃度、血清中エストラジオールホルモン濃度、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には影響は認められなかった。

このばく露群の内、特にアンドロゲン過剰症の8名については、血清中インスリン様成長因子結合蛋白質 IGFBP-3 濃度の低値が認められた。なお、血清中インスリン様成長因子 IGF-1 濃度、血清中インスリン濃度、血清中インスリン様成長因子結合蛋白質 IGFBP-1 濃度、ボディマス指数には影響は認められなかった。(15643)(○○P)

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、ステロイド合成系への影響

⑭ Verrotti ら(2002)によって、イタリアにて、バルプロ酸(投与量の記載なし、血清中バルプロ酸濃度  $61.2 \pm 6.0 \mu\text{g/mL}$ (投与開始時)~ $61.7 \pm 6.2 \mu\text{g/mL}$ (投与終了時))を1年間投与した女性てんかん患者 7名(年齢  $9.4 \pm 1.5$  歳、ボディマス指数  $17.3 \pm 0.7 \rightarrow 25.2 \pm 0.8$  と投与期間中に肥満が認められた群)への影響(10:00~12:00 絶食血)が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、空腹時血清中インスリン濃度の高値が認められた。なお、空腹時血清中グルコース濃度、血清中テストステロン濃度、血清中アンドロステンジオン濃度、血清中デヒドロエピアンドロステロン濃度、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には影響は認められなかった。

なお、バルプロ酸(投与量の記載なし、血清中バルプロ酸濃度  $61.4 \pm 6.3 \mu\text{g/mL}$ (投与開始時)~ $61.5 \pm 5.9 \mu\text{g/mL}$ (投与終了時))を1年間投与した女性てんかん患者 3名(年齢  $9.2 \pm 1.7$  歳、ボディマス指数  $17.2 \pm 0.6 \rightarrow 17.4 \pm 0.5$  と投与期間中に肥満が認められなかった群)への影響(10:00~12:00 絶食血)が検討されているが、投与開始前との比較において、空腹時血清中インスリン濃度、空腹時血清中グルコース濃度、血清中テストステロン濃度、血清中アンドロステンジオン濃度、血清中デヒドロエ

ピアンドロステロン濃度、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には影響は認められなかった。(15631)(○?)

想定される作用メカニズム：不明

- ⑮Rauchenzauner ら(2010)によって、オーストリアにて、バルプロ酸 14.7±7.3mg/kg/day を6ヶ月間投与した特発性てんかん患者 10名(男性7名、女性3名、平均年齢 8.8±2.2歳、初単剤治療)への影響(9:00~10:00 絶食血)が検討されている。その結果として、健常者 10名(男性7名、女性3名、平均年齢 8.4±2.2歳、何らかの理由で採血した軽症外来患者)との比較において、血中アンドロステンジオン濃度の高値が認められた。なお、血中テストステロン濃度、血中遊離テストステロン濃度、血中黄体形成ホルモン濃度、血中卵胞刺激ホルモン濃度、血中黄体形成ホルモン/卵胞刺激ホルモン濃度比、血中プロラクチン濃度、血中エストラジオール濃度、血中 17-ヒドロキシプロゲステロン濃度、血中デヒドロエピアンドロステロン濃度、血中 5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン濃度、血中性ホルモン結合グロブリン濃度には影響は認められなかった。(15594)( $\Delta$ ○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、ステロイド合成系への影響、アンドロステンジオン濃度上昇作用

- ⑯Attilakos ら(2009)によって、ギリシャにて、バルプロ酸 16.4~36.5mg/kg/day を最長 24ヶ月間投与したてんかん患者 30名(男性15名、女性15名、平均年齢 9.03±3.69歳)への影響(8:00~9:00 絶食血)が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、血清中サイロキシン濃度、血清中遊離サイロキシン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度の低値、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値が認められた。(15598)( $\Delta$ ○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

- ⑰Popovic ら(1996)によって、旧ユーゴスラビア Belgrade 市にて、バルプロ酸(Apilepsin Krba tbl) 300、600、1,200mg を単回投与した女性 60名(年齢 50~60歳)中 10名(閉経後、ホルモン補充療法の実施なし)への影響(8:30 から 24時間断続的に採血)が検討されている。その結果として、プラセボ投与群との比較において、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値が認められた。

また、バルプロ酸(Apilepsin Krba tbl) 1,200mg を単回投与した女性 30名(年齢 25~40歳、正常月経周期)中 10名への影響(8:30 から 24時間断続的に採血)が検討されている。その結果として、プラセボ投与群との比較において、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値が認められた。

また、バルプロ酸(Apilepsin Krba tbl) 1,200mg を単回投与した女性 60名(年齢 50~60歳)中 10名(閉経後、エストロゲンによるホルモン補充療法中)への影響(8:30 から 24時間断続的に採血)が検討されているが、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。

また、バルプロ酸(Apilepsin Krba tbl) 1,200mg を 20日間投与した女性 60名(年齢 50~60歳)中 10名(閉経後、エストロゲンによるホルモン補充療法の実施なし)への影響(8:30 から 24時間断続的に採血)が検討されているが、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン分泌パルス数、血清中黄体形成ホルモン分泌パルス強度、血清中黄体形成ホルモン分泌パルス間隔には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Apilepsin Krba tbl) 1,200mg を 20日間投与した女性 30名(年齢 25~40歳、正常月経周期)中 10名への影響(8:30 から 24時間断続的に採血)が検討されているが、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン分泌パルス数、血清中黄体形成ホルモン分泌パルス強度、血清中黄体形成ホルモン分泌パルス間隔には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸(Apilepsin Krba tbl) 1,200mg を 20日間投与した女性 60名(年齢 50~60歳)中 10

名(閉経後、エストロゲンによるホルモン補充療法中)への影響(8:30 から 24 時間断続的に採血)が検討されているが、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン分泌パルス数、血清中黄体形成ホルモン分泌パルス強度、血清中黄体形成ホルモン分泌パルス間隔には影響は認められなかった。(15648)(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用、黄体形成ホルモン分泌阻害

- ⑱ Popovic と Spremovic (1995)によって、旧ユーゴスラビア Belgrade 市にて、バルプロ酸(Na 塩)1,200mg/day を 5 日間投与した多嚢胞性卵巣症候群(PCOS: polycystic ovary syndrome)女性患者 6 名(年齢  $25 \pm 2$  歳)への影響が検討されているが、投与開始前との比較において、血清中黄体形成ホルモン濃度(基底値)、血清中黄体形成ホルモン濃度(性腺刺激ホルモン放出ホルモン投与後)、血清中黄体形成ホルモン分泌パルス強度及び頻度、血清中黄体形成ホルモン分泌パルス数、血清中テストステロン濃度、血清中性ホルモン結合グロブリン濃度、血清中アンドロステンジオン濃度、血清中デヒドロエピアンドロステロン濃度、血清中エストラジオール濃度、血清中プロラクチン濃度、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。

また、バルプロ酸(Na 塩)1,200mg/day を 5 日間投与した健常女性 6 名(年齢  $26 \pm 2$  歳、卵胞期中期)への影響が検討されているが、投与開始前との比較において、血清中黄体形成ホルモン濃度(基底値)、血清中黄体形成ホルモン濃度(性腺刺激ホルモン放出ホルモン投与後)、血清中エストラジオール濃度、血清中プロゲステロン濃度、血清中プロラクチン濃度には影響は認められなかった。(15652)(△○N)

想定される作用メカニズム：影響は認められなかった。

#### ※参考 ヒトへの投与試験(今回評価対象としなかった文献)

- ⑲ Isojärvi ら(1993)によって、フィンランドにて、バルプロ酸  $1,043 \pm 306$ mg/kg/day を平均  $8 \pm 5$  年間投与した女性てんかん患者 29 名(平均年齢  $29 \pm 7$  歳)への影響が検討されている。その結果として、健常女性 51 名(平均年齢 35 歳)との比較において、血清中テストステロン濃度、血清中遊離テストステロン濃度、血清中デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度の高値が認められた。なお、血清中性ホルモン結合グロブリン濃度、血清中エストラジオール濃度、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には影響は認められなかった。(15654)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、採血時刻が記載されていない点に注意を要すると判断された。

評価未実施の理由：ほぼ同様の議論が他文献においてもなされており、既に評価した内容であるため。

- ⑳ Verrotti ら(2009)によって、イタリアにて、バルプロ酸  $27.2 \pm 7.4 \sim 31.1 \pm 8.8$ mg/kg/day を 12 ヶ月間投与したてんかん患者 14 名(男性 7 名、女性 7 名、平均年齢  $7.0 \pm 1.8$  歳)への影響(8:00～8:30 絶食血)が検討されているが、投与開始前との比較において、血清中サイロキシン濃度、血清中遊離サイロキシン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度、血清中遊離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(基底値)、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度(甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン投与後、極大値)、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度(甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン投与 1 時間後)、血清中甲状腺ペルオキシダーゼ抗体濃度、血清中サイログロブリン抗体濃度には影響は認められなかった。

また、バルプロ酸  $27.2 \pm 7.4 \sim 31.1 \pm 8.8$ mg/kg/day を 12 ヶ月間投与したてんかん患者 14 名(男性 7 名、

女性 7 名、平均年齢 7.0±1.8 歳)への影響(8:00～8:30 絶食血)が検討されているが、非ばく露群 32 名(同地域のてんかん以外の小児科入院患者、男性 15 名、女性 17 名、平均年齢 7.5±2.5 歳)との比較において、血清中サイロキシシン濃度、血清中遊離サイロキシシン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度、血清中遊離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(基底値)、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度(甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン投与後、極大値)、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度(甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン投与 1 時間後)、血清中甲状腺ペルオキシダーゼ抗体濃度、血清中サイログロブリン抗体濃度には影響は認められなかった。(15193)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

- ⑳ Verrotti ら(2000)によって、イタリアにて、バルプロ酸(投与量の記載なし、血清中バルプロ酸濃度 61.2±6.0µg/mL)を 2 年以上投与した男性てんかん患者 40 名(平均年齢 16.8±1.8 歳)への影響が検討されているが、健常男性 50 名(年齢 15.2～18.3 歳)との比較において、血清中テストステロン濃度、血清中遊離テストステロン濃度、血清中アンドロステンジオン濃度、血清中デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度、血清中性ホルモン結合グロブリン濃度、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、血清中プロラクチン濃度、血清中エストラジオール濃度、血清中プロゲステロン濃度には影響は認められなかった。(15211)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、採血時刻が記載されていない点に注意を要すると判断された。

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

- ㉑ Abraham ら(1985)によって、United Kingdom London 市にて、バルプロ酸(Na 塩、Epilim<sup>®</sup>、Labaz : Sanofi UK) 600mg/day を 3 週間経口投与した健常者 12 名(男性 6 名、女性 6 名、年齢 22～41 歳)への影響(9:00 以降絶食血)が検討されているが、投与開始前との比較において、血漿中グルコース濃度、血漿中副腎皮質刺激ホルモン濃度、血漿中コルチゾール濃度、血漿中プロラクチン濃度、血漿中成長ホルモン濃度には影響は認められなかった。(15664)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

- ㉒ Lado-Abeal ら(1996)によって、スペインにて、バルプロ酸(Na 塩、Depakine<sup>®</sup>、Labaz)投与量 400mg を日毎 8 時間毎に 7 日間投与した卵巣摘出女性 12 名(年齢 32～46 歳、悪性腫瘍による摘出を除く)への影響(10:00～18:00 にかけて 480 分間試験)が検討されているが、投与開始前との比較において、血清中黄体形成ホルモン濃度(平均値)、血清中黄体形成ホルモン濃度パルス強度、血清中黄体形成ホルモン濃度パルス間隔、血清中黄体形成ホルモン濃度パルス頻度には影響は認められなかった。(15647)

評価未実施の理由：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、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、雌ラットに対する抗エストロゲン様作用、視床下部一下垂体—副腎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、エストロゲン受容体  $\alpha$  発現促進作用、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、アンドロゲンとの複合作用、抗プ

ロゲステロン作用、前立腺がん細胞における細胞増殖抑制作用及びアポトーシス促進作用、前立腺がん細胞への影響(エストロゲン受容体への影響は間接的と考えられた事例も含む)、ステロイド産生影響、ラット莢膜/間質細胞でのステロイド合成への間接的な影響、メラトニン受容体への影響を示すこと、ヒトへの投与試験において、成長ホルモンへの影響、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、メラトニン分泌調節機能の低下、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、インスリン抵抗性促進、テストステロン合成系への影響、プロラクチン分泌抑制、ステロイド合成系への影響、アンドロゲン作用、アンドロステンジオン濃度上昇作用、黄体形成ホルモン分泌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4に示した。

表4 信頼性評価のまとめと今後の対応案

物質名：バルプロ酸

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 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	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 <sup>3)</sup>	
(1)生態影響	<i>vtg1</i> , <i>vasa</i> , <i>cyp19a2</i> 遺伝子のメチル化の修飾	①Bouwmeester ら(2016)	△	?	—
	DNA メチル化、ヒストンアセチル化の修飾作用	②Torres ら(2021)	○	?	—
	不明	③Baronio ら(2018)	△	?	—
(2)生殖影響	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	①Taubøll ら(1999)	△	○P	○
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	②Ibrahim ら(2019)	△	○P	○
	生殖毒性	③Cansu ら(2011)	○	?	—
	卵巣への毒性作用	④Cansu ら(2008)	○	?	—
	大脳皮質における直接作用	⑤Cho ら(2020)	×	—	×
	精巣毒性	⑥Ourique ら(2016)	○	×	×
	毒性、雌ラットに対する抗エストロゲン様作用	⑦Sveberg ら(2002)	△	○P	○
		⑧Sveberg ら(2001) 評価未実施			
		⑨Iamsaard ら(2017) 評価未実施			
		⑩Sukhorum と Iamsaard (2017)			
	精巣毒性	⑪Hamza と Amin (2007)	△	×	×
	精巣毒性	⑫Nishimura ら(2000)	△	?	—
	生殖毒性	⑬Røste ら(2001)	△	×	×
		⑭Lagace と Nachtigal (2003) 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 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	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 <sup>3)</sup>	
(3)発達影響	①Menegola ら(1996) 評価未実施				
	②Narotsky ら(1994) 評価未実施				
	③Vorhees ら(1987) 評価未実施				
	④Lin ら(2019) 評価未実施				
(4)脳神経及び行動影響	①Rahimi ら(2018) 評価未実施				
	②Worley ら(2019) 評価未実施				
	視床下部一下垂体—副腎軸への作用	③Douma ら(2014)	△	○P	○
	内分泌かく乱作用との関連性は不明、慢性予測不能ストレスへの応答の軽減作用	④Qiu ら(2014)	△	?	—
	内分泌かく乱作用との関連性は不明、アンドロゲン受容体発現への作用	⑤Perez-Pouchoulen ら(2016)	△	?	—
		⑥Ingram ら(2000) 評価未実施			
(5)免疫影響	①Naama ら(2020) 評価未実施				
(6)エストロゲン作用	①Stempin ら(2013)	△	○P	○	
	②Graziani ら(2003)	△	○N	×	
	③Death ら(2005)	△	○N	×	
(7)抗エストロゲン作用	①Death ら(2005)	△	○N	×	
(8)エストロゲン受容体発現促進作用	①Graziani ら(2003)	△	○P	○	
(9)アンドロゲン作用	①Stempin ら(2013)	△	○P	○	
	②Death ら(2005)	△	○N	×	
(10)抗アンドロゲン作用	①Death ら(2005)	△	○P	○	
	①Stempin ら(2013)	△	○P	○	
(11)アンドロゲンとの複合作用	①Death ら(2005)	△	○P	○	
(12)プロゲステロン作用	①Death ら(2005)	△	○N	×	
(13)抗プロゲステロン作用	①Death ら(2005)	△	○P	○	
(14)ヒト前立腺細胞への影響	前立腺がん細胞における細胞増殖抑制作用及びアポトーシス促進作用 ①Tran ら(2017)	△	○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 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	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 <sup>3)</sup>	
響	前立腺がん細胞への影響	②Iacopino ら(2008)	△	○P	○
	前立腺がん細胞への影響(エストロゲン受容体への影響は間接的影響と考えられた)	③Stettner ら(2007)	△	○P	○
(15)ステロイド産生影響	ステロイド産生へのかなり弱い影響	①Kühn-Velten ら(1990)	△	○P	○
	ラット莢膜/間質細胞でのステロイド合成への間接的な影響	②Fisseha ら(2010)	△	○P	○
(16)ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体との相互作用	内分泌かく乱作用との関連性は不明	①Lampen ら(1999)	△	?	—
(17)メラトニン関連影響	メラトニン受容体への影響	①Jawed ら(2007)	△	○P	○
	メラトニン受容体への影響	②Castro ら(2005)	△	○P	○
(18)ヒトへの投与試験	不明	①Martin ら(2009)	○	?	—
	成長ホルモンへの影響	②Shiah ら(1998)	○	○P	○
	不明	③Delva ら(2002)	○	?	—
	不明	④Shiah ら(1997)	○	?	—
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	⑤Prabhakar ら(2007)	○	○P	○
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	⑥Nag ら(1997)	△	○P	○
	メラトニン分泌調節機能の低下	⑦Hallam ら(2005)	△	○P	○
	視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用	⑧Kafadar ら(2015)	△	○P	○
	視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用	⑨Doneray ら(2012)	△	○P	○
	インスリン抵抗性促進、テストステロン合成系への影響、プロラクチン分泌抑制	⑩Tan ら(2005)	△	○P	○
	ステロイド合成系への影響	⑪Mikkonen ら(2004)	○	○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 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	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 <sup>3)</sup>
アンドロゲン作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、ステロイド合成系への影響	⑫Vainionpää ら(1999)	○	○P	○
	⑬Isojärvi ら(1993) 評価未実施			
不明	⑭Verrotti ら(2002)	○	?	—
視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、ステロイド合成系への影響、アンドロステンジオン濃度上昇作用	⑮Rauchenzauner ら(2010)	△	○P	○
視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用	⑯Attilakos ら(2009)	△	○P	○
視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、黄体形成ホルモン分泌阻害作用	⑰Popovic ら(1996)	△	○P	○
影響は認められなかった。	⑱Popovic と Spremovic (1995)	△	○N	×
	⑲Verrotti ら(2009) 評価未実施			
	⑳Verrotti ら(2000) 評価未実施			
	㉑Abraham ら(1985) 評価未実施			
	㉒Lado-Abeal ら(1996) 評価未実施			
信頼性評価のまとめと今後の対応案	動物試験の報告において、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、雌ラットに対する抗エストロゲン様作用、視床下部一下垂体—副腎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、エストロゲン受容体 $\alpha$ 発現促進作用、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、アンドロゲンとの複合作用、抗プロゲステロン作用、前立腺がん細胞における細胞増殖抑制作用及びアポトーシス促進作用、前立腺がん細胞への影響(エストロゲン受容体への影響は間接的と考えられた事例も含む)、ステロイド産生影響、ラット莢膜/間質細胞でのステロイド合成への間接的な影響、メラトニン受容体への影響を示すこと、ヒトへの投与試験において、成長ホルモンへの影響、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、メラトニン分泌調節機能の低下、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、インスリン抵抗性促進、テストステロン合成系への影響、プロラクチン分泌抑制、ステロイド合成系への影響、アンドロゲン作用、アンドロステンジオン濃度上昇作用、黄体形成ホルモン分泌阻害作用を示すことが示唆された。			

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

- 15176: Kafadar İ, Kılıç BA, Arapoglu M, Yalçın K and Dalgıç N (2015) Evaluation of thyroid hormones in children receiving carbamazepine or valproate: a prospective study. *Journal of Child Neurology*, 30 (1), 63-68.
- 15193: Verrotti A, Laus M, Scardapane A, Franzoni E and Chiarelli F (2009) Thyroid hormones in children with epilepsy during long-term administration of carbamazepine and valproate. *European Journal of Endocrinology of the European Federation of Endocrine Societies*, 160 (1), 81-86.
- 15211: Verrotti A, Basciani F, Morresi S, Cutarella R, Morgese G and Chiarelli F (2000) Serum sex hormone levels in young male patients with epilepsy receiving carbamazepine and valproic acid and after their withdrawal. *European Journal of Pediatrics*, 159 (11), 871-872.
- 15509: Torres T, Ruivo R and Santos MM (2021) Epigenetic biomarkers as tools for chemical hazard assessment: Gene expression profiling using the model *Danio rerio*. *Science of the Total Environment*, 773, 144830.
- 15514: Naama AG, El-Bakry A, Rasha E and Ahmed R (2020) Maternal sodium valproate exposure alters neuroendocrine cytokines and oxido-inflammatory axes in neonatal albino rats. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets*.
- 15516: Cho SH, Chai JH, Chang SY and Kim SA (2020) Acute valproate exposure induces sex-specific changes in steroid hormone metabolism in the cerebral cortex of juvenile mice. *Neurochemical Research*, 45 (9), 2044-2051.
- 15526: Ibrahim IH, Aboregela AM, Gouda RHE and Eid KA (2019) Chronic valproate treatment influences folliculogenesis and reproductive hormones with possible ameliorating role for folic acid in adult albino rats. *Acta Histochemica*, 121 (7), 776-783.
- 15527: Worley NB, Dumais KM, Yuan JC, Newman LE, Alonso AG, Gillespie TC, Hobbs NJ, Breedlove SM, Jordan CL, Bredewold R and Veenema AH (2019) Oestrogen and androgen receptor activation contribute to the masculinisation of oxytocin receptors in the bed nucleus of the stria terminalis of rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 31 (8), e12760.
- 15532: Lin YL, Bialer M, Cabrera RM, Finnell RH and Wlodarczyk BJ (2019) Teratogenicity of valproic acid and its constitutional isomer, amide derivative valnoctamide in mice. *Birth Defects Res*, 111 (14), 1013-1023.
- 15534: Rahimi R, Akhavan MM, Kamyab K and Ebrahimi SA (2018) Maternal voluntary exercise ameliorates learning deficit in rat pups exposed, in utero, to valproic acid; role of BDNF and VEGF and their receptors. *Neuropeptides*, 71, 43-53.
- 15542: Baronio D, Puttonen HAJ, Sundvik M, Semenova S, Lehtonen E and Panula P (2018) Embryonic exposure to valproic acid affects the histaminergic system and the social behaviour of adult zebrafish (*Danio rerio*). *British Journal of Pharmacology*, 175 (5), 797-809.
- 15546: Iamsaard S, Sukhorum W, Arun S, Phunchago N, Uabundit N, Boonruangsri P and Namking M (2017) Valproic acid induces histologic changes and decreases androgen receptor levels of testis and epididymis in rats. *International Journal of Reproductive Biomedicine*, 15 (4), 217-224.
- 15548: Tran LNK, Kichenadasse G, Butler LM, Centenera MM, Morel KL, Ormsby RJ, Michael MZ, Lower KM and Sykes PJ (2017) The combination of metformin and valproic acid induces synergistic apoptosis in the presence of p53 and androgen signaling in prostate cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*, 16 (12), 2689-2700.
- 15556: Sukhorum W and Iamsaard S (2017) Changes in testicular function proteins and sperm acrosome status in rats treated with valproic acid. *Reproduction, Fertility and Development*, 29 (8), 1585-1592.
- 15557: Ourique GM, Pês TS, Saccol EM, Finamor IA, Glanzner WG, Baldisserotto B, Pavanato MA, Gonçalves PB and Barreto KP (2016) Resveratrol prevents oxidative damage and loss of sperm motility induced by long-term treatment with valproic acid in Wistar rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 68 (8), 435-443.
- 15559: Perez-Pouchoulen M, Miquel M, Saft P, Brug B, Toledo R, Hernandez ME and Manzo J (2016) Prenatal exposure to sodium valproate alters androgen receptor expression in the developing cerebellum in a region and age specific manner in male and female rats. *International Journal of Developmental Neuroscience*, 53, 46-52.
- 15563: Bouwmeester MC, Ruiter S, Lommelaars T, Sippel J, Hodemaekers HM, van den Brandhof EJ, Pennings JL, Kamstra JH, Jelinek J, Issa JP, Legler J and van der Ven LT (2016) Zebrafish embryos as a screen for DNA

- methylation modifications after compound exposure. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 291, 84-96.
- 15573: Douma TN, Millan MJ, Verdouw PM, Oosting RS, Olivier B and Groenink L (2014) Valproate improves prepulse inhibition deficits induced by corticotropin-releasing factor independent of GABA(A) and GABA(B) receptor activation. *Neuropharmacology*, 79, 66-74.
- 15574: Qiu HM, Yang JX, Liu D, Fei HZ, Hu XY and Zhou QX (2014) Antidepressive effect of sodium valproate involving suppression of corticotropin-releasing factor expression and elevation of BDNF expression in rats exposed to chronic unpredicted stress. *Neuroreport*, 25 (4), 205-210.
- 15576: Stempin S andres S, Bumke Scheer M, Rode A, Nau H, Seidel A and Lampen A (2013) Valproic acid and its derivatives enhanced estrogenic activity but not androgenic activity in a structure dependent manner. *Reproductive Toxicology*, 42, 49-57.
- 15581: Doneray H, Kara IS, Karakoc A, Tan H and Orbak Z (2012) Serum thyroid hormone profile and trace elements in children receiving valproic acid therapy: a longitudinal and controlled study. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 26 (4), 243-247.
- 15590: Cansu A, Ekinci O, Serdaroglu A, Gürgen SG, Ekinci O, Erdogan D, Coskun ZK and Tunc L (2011) Effects of chronic treatment with valproate and oxcarbazepine on testicular development in rats. *Seizure*, 20 (3), 203-207.
- 15591: Fisseha S, Towns R, Harada M, Peegel H and Menon KM (2010) Inhibitory effect of valproic acid on ovarian androgen biosynthesis in rat theca-interstitial cells. *Endocrine*, 37 (1), 187-193.
- 15594: Rauchenzauner M, Bitsche G, Svalheim S, Tauboll E, Haberlandt E, Wildt L, Rostasy K and Luef G (2010) Effects of levetiracetam and valproic acid monotherapy on sex-steroid hormones in prepubertal children--results from a pilot study. *Epilepsy Research*, 88 (2-3), 264-268.
- 15598: Attilakos A, Katsarou E, Prassouli A, Mastroianni S, Voudris K, Fotinou A and Garoufi A (2009) Thyroid function in children with epilepsy treated with sodium valproate monotherapy: a prospective study. *Clinical Neuropharmacology*, 32 (1), 32-34.
- 15601: Martin CK, Han H, Anton SD, Greenway FL and Smith SR (2009) Effect of valproic acid on body weight, food intake, physical activity and hormones: results of a randomized controlled trial. *Journal of Psychopharmacology*, 23 (7), 814-825.
- 15602: Iacopino F, Urbano R, Graziani G, Muzi A, Navarra P and Sica G (2008) Valproic acid activity in androgen-sensitive and -insensitive human prostate cancer cells. *International Journal of Oncology*, 32 (6), 1293-1303.
- 15604: Cansu A, Giray SG, Serdaroglu A, Erdogan D, Coskun ZK, Korucuoglu U and Biri AA (2008) Effects of chronic treatment with valproate and oxcarbazepine on ovarian folliculogenesis in rats. *Epilepsia*, 49 (7), 1192-1201.
- 15607: Stettner M, Kaulfuss S, Burfeind P, Schweyer S, Strauss A, Ringert RH and Thelen P (2007) The relevance of estrogen receptor-beta expression to the antiproliferative effects observed with histone deacetylase inhibitors and phytoestrogens in prostate cancer treatment. *Molecular Cancer Therapeutics*, 6 (10), 2626-2633.
- 15609: Prabhakar S, Sahota P, Kharbanda PS, Siali R, Jain V, Lal V and Khurana D (2007) Sodium valproate, hyperandrogenism and altered ovarian function in Indian women with epilepsy: a prospective study. *Epilepsia*, 48 (7), 1371-1377.
- 15611: Hamza AA and Amin A (2007) *Apium graveolens* modulates sodium valproate-induced reproductive toxicity in rats. *Journal of Experimental Zoology. Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 307 (4), 199-206.
- 15612: Jawed S, Kim B, Ottenhof T, Brown GM, Werstiuk ES and Niles LP (2007) Human melatonin MT1 receptor induction by valproic acid and its effects in combination with melatonin on MCF-7 breast cancer cell proliferation. *European Journal of Pharmacology*, 560 (1), 17-22.
- 15615: Tan H, Orbak Z, Kantarci M, Koçak N and Karaca L (2005) Valproate-induced insulin resistance in prepubertal girls with epilepsy. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 18 (10), 985-989.
- 15616: Castro LM, Gallant M and Niles LP (2005) Novel targets for valproic acid: Up-regulation of melatonin receptors and neurotrophic factors in C6 glioma cells. *Journal of Neurochemistry*, 95 (5), 1227-1236.
- 15617: Death AK, McGrath KC and Handelsman DJ (2005) Valproate is an anti-androgen and anti-progestin. *Steroids*, 70 (14), 946-953.
- 15619: Hallam KT, Olver JS and Norman TR (2005) Effect of sodium valproate on nocturnal melatonin

- sensitivity to light in healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology*, 30 (7), 1400-1404.
- 15622: Mikkonen K, Tapanainen P, Pakarinen AJ, Päivänsalo M, Isojärvi JI and Vainionpää LK (2004) Serum androgen levels and testicular structure during pubertal maturation in male subjects with epilepsy. *Epilepsia*, 45 (7), 769-776.
- 15627: Graziani G, Tentori L, Portarena I, Vergati M and Navarra P (2003) Valproic acid increases the stimulatory effect of estrogens on proliferation of human endometrial adenocarcinoma cells. *Endocrinology*, 144 (7), 2822-2828.
- 15628: Lagace DC and Nachtigal MW (2003) Valproic acid fails to induce polycystic ovary syndrome in female rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 27 (4), 587-594.
- 15629: Delva NJ, Brooks DL, Franklin M, al-Said K, Hawken ER, Merali Z, Lawson JS and Ravindran AV (2002) Effects of short-term administration of valproate on serotonin-1A and dopamine receptor function in healthy human subjects. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 27 (6), 429-437.
- 15630: Sveberg Røste L, Taubøll E, Isojärvi JI, Pakarinen AJ, Huhtaniemi IT, Knip M and Gjerstad L (2002) Effects of chronic valproate treatment on reproductive endocrine hormones in female and male Wistar rats. *Reproductive Toxicology*, 16 (6), 767-773.
- 15631: Verrotti A, Basciani F, De Simone M, Trotta D, Morgese G and Chiarelli F (2002) Insulin resistance in epileptic girls who gain weight after therapy with valproic acid. *Journal of Child Neurology*, 17 (4), 265-268.
- 15633: Sveberg Røste L, Taubøll E, Berner A, Berg KA, Aleksandersen M and Gjerstad L (2001) Morphological changes in the testis after long-term valproate treatment in male Wistar rats. *Seizure*, 10 (8), 559-565.
- 15635: Røste LS, Taubøll E, Berner A, Isojärvi JI and Gjerstad L (2001) Valproate, but not lamotrigine, induces ovarian morphological changes in Wistar rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 52 (6), 545-552.
- 15638: Nishimura T, Sakai M and Yonezawa H (2000) Effects of valproic acid on fertility and reproductive organs in male rats. *Journal of Toxicological Sciences*, 25 (2), 85-93.
- 15639: Ingram JL, Peckham SM, Tisdale B and Rodier PM (2000) Prenatal exposure of rats to valproic acid reproduces the cerebellar anomalies associated with autism. *Neurotoxicology and Teratology*, 22 (3), 319-324.
- 15640: Taubøll E, Isojärvi JI, Harbo HF, Pakarinen AJ and Gjerstad L (1999) Long-term valproate treatment induces changes in ovarian morphology and serum sex steroid hormone levels in female Wistar rats. *Seizure*, 8 (8), 490-493.
- 15641: Lampen A, Siehler S, Ellerbeck U, Göttlicher M and Nau H (1999) New molecular bioassays for the estimation of the teratogenic potency of valproic acid derivatives *in vitro*: activation of the peroxisomal proliferator-activated receptor (PPARdelta). *Toxicology and Applied Pharmacology*, 160 (3), 238-249.
- 15643: Vainionpää LK, Rättyä J, Knip M, Tapanainen JS, Pakarinen AJ, Lanning P, Tekay A, Myllylä VV and Isojärvi JI (1999) Valproate-induced hyperandrogenism during pubertal maturation in girls with epilepsy. *Annals of Neurology*, 45 (4), 444-450.
- 15644: Shiah IS, Yatham LN, Lam RW and Zis AP (1998) Divalproex sodium attenuates growth hormone response to baclofen in healthy human males. *Neuropsychopharmacology*, 18 (5), 370-376.
- 15645: Shiah IS, Yatham LN, Lam RW and Zis AP (1997) Effects of divalproex sodium on 5-HT1A receptor function in healthy human males: hypothermic, hormonal and behavioral responses to ipsapirone. *Neuropsychopharmacology*, 17 (6), 382-390.
- 15646: Nag D, Garg RK and Banerjee A (1997) Sodium valproate monotherapy and sex hormones in men. *Neurology India*, 45 (4), 240-243.
- 15647: Lado-Abeal J, Liz JL, Rey C, Febrero M and Cabezas-Cerrato J (1996) Effects of valproate-induced alteration of the GABAergic system on pulsatile luteinizing hormone secretion in ovariectomized women. *European Journal of Endocrinology of the European Federation of Endocrine Societies*, 135 (3), 293-298.
- 15648: Popovic V, Spremovic-Radjenovic S, Eric-Marinkovic J and Grossman A (1996) Effect of sodium valproate on luteinizing hormone secretion in pre- and postmenopausal women and its modulation by naloxone infusion. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 81 (7), 2520-2524.
- 15650: Menegola E, Broccia ML, Nau H, Prati M, Ricolfi R and Giavini E (1996) Teratogenic effects of sodium valproate in mice and rats at midgestation and at term. *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis*, 16 (2), 97-108.
- 15652: Popovic V and Spremovic S (1995) The effect of sodium valproate on luteinizing hormone secretion in women with polycystic ovary disease. *Journal of Endocrinological Investigation*, 18 (2), 104-108.

- 15653: Narotsky MG, Francis EZ and Kavlock RJ (1994) Developmental toxicity and structure-activity relationships of aliphatic acids, including dose-response assessment of valproic acid in mice and rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 22 (2), 251-265.
- 15654: Isojärvi JI, Laatikainen TJ, Pakarinen AJ, Juntunen KT and Myllylä VV (1993) Polycystic ovaries and hyperandrogenism in women taking valproate for epilepsy. *New England Journal of Medicine*, 329 (19), 1383-1388.
- 15657: Kühn-Velten WN, Herzog AG and Müller MR (1990) Acute effects of anticonvulsant drugs on gonadotropin-stimulated and precursor-supported androgen production in the rat testis. *European Journal of Pharmacology*, 181 (1-2), 151-155.
- 15659: Vorhees CV (1987) Teratogenicity and developmental toxicity of valproic acid in rats. *Teratology*, 35 (2), 195-202.
- 15664: Abraham RR, Dornhorst A, Wynn V, Altaher AR, Campbell EA, Beckford U, Watts SM, Nicholson SA, Gillham B, Thody A and *et al.* (1985) Corticotrophin, cortisol, prolactin and growth hormone responses to insulin-induced hypoglycaemia in normal subjects given sodium valproate. *Clinical Endocrinology*, 22 (5), 639-644.

## V. メトホルミン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

メトホルミ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、抗腫瘍影響、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、がん細胞への影響、AMP 活性化プロテインキナーゼ経由でのがん細胞への影響、両生類卵母細胞への影響、哺乳類細胞の糖代謝への影響、ヒトへの投与試験に関する報告がある。

#### (1)生態影響

②Ussery ら(2018)によって、メトホルミン(塩酸塩、Toronto Search Chemicals)  $0.94\pm 0.131$ 、 $3.18\pm 0.441$ 、 $11.9\pm 1.35$ 、 $36.5\pm 3.59$ 、 $108\pm 8.29\mu\text{g/L}$  (測定濃度)に受精後 118 時間齢から 28 日間ばく露したメダカ (*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、 $3.18\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で体重の低値、 $11.9\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で体長の低値が認められた。

また、メトホルミン(塩酸塩、Toronto Search Chemicals)  $3.22\pm 0.237\mu\text{g/L}$  (測定濃度)に受精後 118 時間齢から 28 日間ばく露したメダカ(*O. latipes*)への影響(全身中 mRNA 相対発現量及び代謝物相対濃度の解析)が検討されている。その結果として、*hgs* (HMG-CoA synthesis) mRNA 相対発現量、*hcd* ( $\beta$ -hydroxyacyl-CoA dehydrogenase) mRNA 相対発現量、L-リシン相対濃度、DL-3-アミノイソ酪酸相対濃度、L-プロリン相対濃度の低値、ステアリン相対濃度、パルミチン酸相対濃度、りん酸相対濃度、アラキドン酸相対濃度、L-メチルニコチンアミド相対濃度の高値が認められた。なお、*ac2* (acetyl-CoA carboxylase-2) mRNA 相対発現量、*scd* (stearoyl-CoA desaturase) mRNA 相対発現量、*elo* (elongation of very long chain fatty acids protein 1-like) mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、メトホルミン(塩酸塩、Toronto Search Chemicals)  $3.22\pm 0.237\mu\text{g/L}$  (測定濃度)に受精後 118 時間齢から 165 日間ばく露したメダカ(*O. latipes*)への影響が検討されている。その結果として、雌肝臓中 11-ケトテストステロン濃度の高値が認められた。なお、雌雄体重、雌雄体長、雌雄肝臓中エストラジオール濃度、雄肝臓中 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。(15681)(評価結果の略号：△?、以下同じ)

想定される作用メカニズム：不明

なお、受精後 118 時間齢から 165 日間のばく露で内分泌関連影響が認められている濃度範囲で、受精後 118 時間齢から 28 日間のばく露で体重の低値も認められている点に注意を要すると判断された。また、著者らの考察では、サンプルサイズが小さく統計的な感度が低いため、さらなる検討が必要と記述している点に注意を要すると判断された。

③Niemuth と Klaper (2015)によって、メトホルミン(CAS 1115-70-4、塩酸塩、Sigma-Aldrich)  $40\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 30 日齢から 360 又は 365 日間ばく露したファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(320 日後から 40 日間交配試験、交配雌雄については 40 日後に組織学的検査、未交配雌雄については 45 日後に組織学的検査)が検討されている。その結果として、雄体重、雄肥満度、総産卵回数、平均産卵数の低値、雄間性度スコア、雄における間性出現率の高値が認められた。なお、雌体重、雌体長、雌肥満度、雌間性度スコア、雄二次性徴スコアには影響は認められなかった。(15705)(△○P)

想定される作用メカニズム：インスリンシグナル伝達への影響

④Niemuth ら(2015)によって、メトホルミン(CAS 1115-70-4、塩酸塩、Sigma-Aldrich)  $40\mu\text{g/L}$ (設定濃度、

半止水式における測定濃度は $41\pm 8\mu\text{g/L}$ )に28日間ばく露した成熟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、雄肝臓中 *VTG* (vitellogenin) mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、雌肝臓中 *VTG* mRNA 相対発現量、雌雄血漿中ビテロゲン濃度、雄血漿中テストステロン濃度、総産卵数、産卵回数、平均産卵数、雌雄肝臓中 *CYP17* mRNA 相対発現量、雌雄肝臓中 *CYP19A* mRNA 相対発現量、雌雄肝臓中 *CYP3A4* mRNA 相対発現量、雌雄肝臓中 *CYP11A* mRNA 相対発現量、雌雄肝臓中  $3\beta$ -*HSD* mRNA 相対発現量、雌雄肝臓中 *PXR* (pregnane X receptor) mRNA 相対発現量、雌雄肝臓中 *GK* (glucokinase) mRNA 相対発現量、雌雄肝臓中 *FBPase* (fructose-1,6-bisphosphatase) mRNA 相対発現量、雌雄肝臓中 *FASN* (fatty acid synthase) mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(15707)( $\Delta$ ○P)

想定される作用メカニズム:エストロゲン作用(雄肝臓中 *VTG* (vitellogenin)mRNA 相対発現量の高値)

⑤Lee ら(2019)によって、メトホルミン(塩酸塩、Sigma-Aldrich)  $49.86\pm 2.46$ 、 $139.96\pm 6.6$ 、 $373.06\pm 16.8\mu\text{g/L}$  (測定濃度)に13週齢以上から4週間ばく露したメダカ(*Oryzias latipes*)  $F_0$ への影響(最後の1週間に交配、採卵)が検討されている。その結果として、雄において、 $139.96\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で肝臓中グルタチオン濃度の低値、 $373.06\mu\text{g/L}$  のばく露区で肝臓中活性酸素種濃度、肝臓中 *CYP19a* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ER $\alpha$*  mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、肝臓中 *ER $\beta$ 1* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ER $\beta$ 2* mRNA 相対発現量、肝臓中 *VTG1* mRNA 相対発現量、肝臓中 *VTG2* mRNA 相対発現量、生殖腺組織検査における間性発現率、肝臓中カタラーゼ相対活性、肝臓中グルタチオン-S-トランスフェラーゼ相対活性には影響は認められなかった。雌において、 $49.86\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で生殖腺組織検査における間性発現率の高値、 $49.86\pm 2.46$ 、 $139.96\pm 6.6$ 、 $373.06\pm 16.8\mu\text{g/L}$  のばく露区で肝臓中 *ER $\beta$ 1* mRNA 相対発現量の低値( $139.96\mu\text{g/L}$  区では有意差なし)、肝臓中カタラーゼ相対活性の低値( $139.96\mu\text{g/L}$  区では高値)、 $373.06\mu\text{g/L}$  のばく露区で肝臓中 *VTG2* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、肝臓中 *CYP19a* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ER $\alpha$*  mRNA 相対発現量、肝臓中 *ER $\beta$ 2* mRNA 相対発現量、肝臓中 *VTG1* mRNA 相対発現量、肝臓中グルタチオン-S-トランスフェラーゼ相対活性、肝臓中グルタチオン濃度、肝臓中活性酸素種濃度には影響は認められなかった。

また、メトホルミン(塩酸塩、Sigma-Aldrich)  $49.86\pm 2.46$ 、 $139.96\pm 6.6$ 、 $373.06\pm 16.8\mu\text{g/L}$  (測定濃度)に $F_0$ による産卵後から15週間ばく露したメダカ(*O. latipes*)  $F_1$ への影響(最後の1週間に交配、採卵)が検討されている。その結果として、雄において、 $49.86\mu\text{g/L}$  のばく露区で肝臓中 *VTG1* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、肝臓中 *VTG2* mRNA 相対発現量、肝臓中 *CYP19a* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ER $\alpha$*  mRNA 相対発現量、肝臓中 *ER $\beta$ 1* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ER $\beta$ 2* mRNA 相対発現量、肝臓中カタラーゼ相対活性、肝臓中グルタチオン-S-トランスフェラーゼ相対活性、肝臓中グルタチオン濃度、肝臓中活性酸素種濃度には影響は認められなかった。雌において、 $49.86\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で生殖腺組織検査における間性発現率の高値、 $373.06\mu\text{g/L}$  のばく露区で肝臓中 *VTG1* mRNA 相対発現量の低値、肝臓中 *ER $\alpha$*  mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、肝臓中 *VTG2* mRNA 相対発現量、肝臓中 *CYP19a* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ER $\beta$ 1* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ER $\beta$ 2* mRNA 相対発現量、肝臓中カタラーゼ相対活性、肝臓中グルタチオン-S-トランスフェラーゼ相対活性、肝臓中グルタチオン濃度、肝臓中活性酸素種濃度には影響は認められなかった。(15679)( $\times$ -)

想定される作用メカニズム:不明

なお、本試験結果の解釈にあたっては、死亡率、総産卵数、孵化率、卵稚仔形態異常率、生殖腺体指数、肝臓体指数、肥満度、組織病理学的変化(肝臓、脳、腎臓、鰓、甲状腺)については二世代とも有意差なしとの言及があるが、実測データを含む詳細な記載がない点に注意を要すると判断

された。また、認められた影響について統一的な解釈が現時点では得られない点に注意を要すると判断された。

- ⑥Capiotti ら(2014)によって、メトホルミン(塩酸塩、Merck) 1,290 $\mu\text{g/L}$ (=10 $\mu\text{M}$ )(設定濃度)に4日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)(試験開始前に14日間の111mM グルコース含有水中飼育処置)への影響が検討されている。その結果として、血中グルコース濃度の低値が認められた。

また、メトホルミン(塩酸塩、Merck) 1,290 $\mu\text{g/L}$ (=10 $\mu\text{M}$ )(設定濃度)に4日間ばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)(試験開始前に14日間の111mM グルコース含有水中飼育処置、更に7日間のグルコースばく露中断ウォッシュアウト処置)への影響が検討されている。その結果として、血中グルコース濃度の低値が認められた。

(15712)(○?)

想定される作用メカニズム：インスリン受容体の活性化

なお、本試験結果の解釈にあたっては、メトホルミン投与前に高グルコースばく露処置を受けた試験である点に注意を要すると判断された。

#### ※参考 生態影響(今回評価対象としなかった文献)

- ①Alla ら(2021)によって、メトホルミン(CAS 1115-70-4、塩酸塩、USP、100%) 1.29、12.9、129、1,290、12,900 $\mu\text{g/L}$ (=0.01、0.1、1、10、100 $\mu\text{M}$ )(設定濃度)に受精後4日齢から24時間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(行動試験)が検討されている。その結果として、1.29、129、1,290、12,900 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で総最大移動距離(maximum accumulated distance)の低値、平均移動角度(mean angle)の高値が認められた。

また、メトホルミン(CAS 1115-70-4、塩酸塩、USP、100%) 1.29、12.9、129、1,290、12,900 $\mu\text{g/L}$ (=0.01、0.1、1、10、100 $\mu\text{M}$ )(設定濃度)に24時間ばく露した成熟雌ミジンコ(*Daphnia pulex*)への影響(行動試験)が検討されているが、総最大移動距離(maximum accumulated distance)、平均移動角度(mean angle)には影響は認められなかった。(15666)

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。

- ⑦Zang ら(2017)によって、メトホルミン(塩酸塩、Enzo Life Sciences) 2,580 $\mu\text{g/L}$ (=20 $\mu\text{M}$ )(設定濃度)に7日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)(遺伝子組み換えによる糖尿病発症型 ins-EGFP 系統、4~6ヶ月齢、通常6倍に相当する日毎給餌量を6週間投与による給餌誘導性肥満(DIO: diet-induced obesity)処置)への影響が検討されている。その結果として、血中グルコース濃度の低値が認められた。(15697)

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)生殖影響

- ①Tas ら(2013)によって、メトホルミン(Glukofen、Sandoz) 50mg/kg/day を14日間経口投与した雌 Wistar ラット(9週齢で正中線開腹及び両卵巣摘出処置し17 $\beta$ -エストラジオール半水和物 4 mg/kg/day を経口投与)への影響が検討されている。その結果として、子宮内膜高、子宮内宮上皮細胞高、子宮内膜腺密度の低値が認められた。(15721)(×)

想定される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、製品(純度を含む成分の記載なし)を使用している点、試験生物の入手先の記載がない点に注意を要すると判断された。

②Yan ら(2015)によって、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 100mg/kg/day を3ヶ月齢以上から8週間経口投与した雄SDラットへの影響(高脂肪餌飼育し12時間絶食後に試験)が検討されている。その結果として、体重、増加体重、恒常性モデル評価によるインスリン耐性(HOMA-IR: homeostatic model assessment-insulin resistance)、血中グルコース濃度、血清中インスリン濃度、血清中レプチン濃度、血清中エストラジオール濃度、精巣中アポトーシス細胞率の低値、精巣絶対・相対重量、精巣中精原細胞数、精巣中ライディッヒ細数、精巣中セルトリ細胞数、精巣上体中精子濃度、生存精子率、運動精子率、正常形態精子率、血清中テストステロン濃度の高値が認められた。なお、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には影響は認められなかった。(15703)(△○P)

想定される作用メカニズム：糖代謝の改善

なお、本試験結果の解釈にあたっては、疾病モデル動物への症状改善効果を報告した論文である点に注意を要すると判断された。

③Derkach ら(2020)によって、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 120mg/kg/day を4週間経口投与した雄Wistarラット(9週間高脂肪餌投与後にストレプトゾトシン投与、更に3週間高脂肪餌投与し2型糖尿病を発症)への影響が検討されている。その結果として、体重、脂肪重量、体脂肪率、血中グルコース濃度(絶食後)、血中グルコース濃度(グルコース耐性試験120分後及び曲線下面積)、血清中インスリン濃度(グルコース耐性試験120分後)、血清中レプチン濃度(グルコース耐性試験120分後)、精巣中レプチン濃度、ヘモグロビンA1c値、血清中トリグリセリド濃度、血清中遊離脂肪酸濃度、形態異常精子率の低値、精巣相対重量、血清中テストステロン濃度(投与終了3日前の11:00~15:00)、精巣中テストステロン濃度、精巣中17-ヒドロキシプロゲステロン濃度、精巣中アンドロステンジオン濃度、精巣中*Star* mRNA相対発現量、精巣中*Lhr* mRNA相対発現量、精巣上体尾中精子濃度、精巣精細管中黄体形成ホルモン受容体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、血清中インスリン濃度(絶食後)、血清中レプチン濃度(絶食後)、血清中黄体形成ホルモン濃度(絶食後)、精巣中*Cyp11a1* mRNA相対発現量、精巣中プログネロン濃度、精巣中プロゲステロン濃度、運動精子率には影響は認められなかった。(15668)(△?)

想定される作用メカニズム：不明

なお、本試験結果の解釈にあたっては、疾病モデル動物への症状改善効果を報告した論文である点に注意を要すると判断された。

④Hu ら(2017)によって、メトホルミン(Bristol-Myers) 500mg/kg/day を8週間経口投与した雄Wistarラット(9週齢から試験期間中を通して高脂肪餌投与、5週間後に一晚絶食後ストレプトゾトシンを腹腔内投与して2型糖尿病を発症)への影響が検討されている。その結果として、恒常性モデル評価によるインスリン耐性(HOMA-IR: homeostatic model assessment-insulin resistance)、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値、血清中遊離サイロキシン濃度、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度の高値が認められた。なお、体重、血漿中グルコース濃度(絶食後)、血漿中インスリン濃度(絶食後)には影響は認められなかった。

また、メトホルミン(Bristol-Myers) 500mg/kg/day を8週間経口投与した雄Wistarラット(健常)への影響が検討されている。その結果として、体重、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値、血清中遊離サイロキシン濃度、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度の高値が認められた。なお、HOMA-IR、血漿中グルコース濃度(絶食後)、血漿中インスリン濃度(絶食後)には影響は認められなかった。(15686)(△○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

なお、本試験結果の解釈にあたっては、疾病モデル動物への症状改善効果を報告した論文である点に注意を要すると判断された。また、健常動物を用いた試験においては体重の低値が認められている点に注意を要すると判断された。

- ⑤ Brill と Moenter (2009)によって、メトホルミン(Sigma) 500mg/kg/day (飲水中濃度 2.5mg/mL に相当)を 21 日齢から 35~38 日齢まで経口投与した雌 C57B16/J マウス(離乳後高脂肪餌で飼育)への影響が検討されている。その結果として、膣開口率(27 日齢)、血清中インスリン濃度(27 日齢)の低値、膣開口日の遅延が認められた。なお、体重(膣開口日)、血清中遊離脂肪酸濃度(35~38 日齢)、血清中インスリン濃度(35~38 日齢)には影響は認められなかった。なお、メトホルミン(Sigma) 500mg/kg/day (飲水中濃度 2.5mg/mL に相当)を 21 日齢から 35~38 日齢まで経口投与した雌 C57B16/J マウス(離乳後普通餌で飼育)への影響が検討されているが、体重(膣開口日)、膣開口率(27 日齢)、膣開口日、血清中インスリン濃度、血清中遊離脂肪酸濃度には影響は認められなかった。(15746)(△○P)

想定される作用メカニズム：インスリン様作用

なお、疾病モデル動物への症状改善効果を報告した論文である点に注意を要すると判断された。

### (3)抗腫瘍影響

- ② Zou ら(2016)によって、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 200mg/kg/day を 6 週齢から 2 週間経口投与した雌 BALB/c マウス(ヒト子宮内膜がん細胞 HEC-1B を異種移植片処置)への影響(投与終了から 21 日後に試験、測定対象蛋白質はアポトーシス抑制分子又は増殖促進分子)が検討されている。その結果として、腫瘍体積、腫瘍重量、増殖促進因子 Ki67 蛋白質相対発現量の低値、アディポジェネシス関連蛋白質(human Forkhead box O1: FOXO1)相対発現量(核内)、りん酸化 AMP 活性化プロテインキナーゼ(phosphorylated AMP-activated protein kinase: p-AMPK)蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、FOXO1 蛋白質相対発現量(細胞質内)には影響は認められなかった。(15698)(△?)

想定される作用メカニズム：ヒト子宮内膜がん細胞の増殖抑制作用

### ※参考 抗腫瘍影響(今回評価対象としなかった文献)

- ① Gu ら(2017)によって、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 100mg/kg/day を 4~5 週齢から 19 日間腹腔内投与したマウス(系統の記載なし、ヒト子宮内膜がん細胞 Ishikawa を皮下移植処置)への影響(測定対象蛋白質はアポトーシス抑制分子又は増殖促進分子)が検討されている。その結果として、腫瘍体積、Ki-67 蛋白質(細胞増殖促進因子)相対発現量、Bcl-2 蛋白質(アポトーシス抑制因子)相対発現量、Bcl-xL(アポトーシス抑制因子)蛋白質相対発現量の低値、Fas 蛋白質(アポトーシス促因子)相対発現量の高値、が認められた。なお、FasL 蛋白質(アポトーシス促進因子)相対発現量には影響は認められなかった。(15692)

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)抗エストロゲン作用

- ① Jung ら(2011)によって、メトホルミン(Sigma) 10、100、1,000、10,000 $\mu$ M(=1,290、12,900、129,000、1,290,000 $\mu$ g/L)の濃度に基づ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、1,000 $\mu$ M(=129,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞増殖率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。

また、メトホルミン(Sigma) 1,000、10,000 $\mu$ M(=129,000、1,290,000 $\mu$ g/L)の濃度に基づく露(17 $\beta$ -エストラジオール 10nM 共存下)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、1,000 $\mu$ M(=129,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で、腫瘍様塊(mammosphere)発生率、がん幹細胞マーカー OCT4 mRNA 相対発現量、がん幹細胞マーカー OCT4 mRNA のエストロゲン応答配列(ERE)相対発現量(エストロゲン受容体  $\alpha$  共存下)の低値が認められた。(15727)( $\times$ -)

想定される作用メカニズム：細胞増殖抑制作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、培養時間(ばく露時間)を含む記載全般が不明瞭である点に注意を要すると判断された。

## (5)抗アンドロゲン作用

①Wang ら(2015)によって、メトホルミン(Sigma) 2,000 $\mu$ M(=258,000 $\mu$ g/L)の濃度に7日間ばく露したヒト前立腺がん細胞 LNCaP への影響が検討されている。その結果として、細胞増殖率の低値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma) 1,000、5,000、10,000、20,000 $\mu$ M(=129,000、646,000、1,290,000、2,580,000 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(ジヒドロテストステロン 10nM 共存下)したヒト前立腺がん細胞 LNCaP への影響が検討されている。その結果として、5,000 $\mu$ M(=646,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で PSA (アンドロゲン受容体(AR)応答因子の一種) mRNA 相対発現量、NKX3.1 (AR 応答因子の一種) mRNA 相対発現量の低値、10,000 $\mu$ M(=1,290,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区でアンドロゲン受容体蛋白質相対発現量の低値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma) 2,000 $\mu$ M(=258,000 $\mu$ g/L)の濃度に7日間ばく露したヒト前立腺がん細胞 CWR22Rv1 への影響が検討されている。その結果として、細胞増殖率の低値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma) 1,000、5,000、10,000、20,000 $\mu$ M(=129,000、646,000、1,290,000、2,580,000 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 CWR22Rv1 への影響が検討されている。その結果として、5,000 $\mu$ M(=129,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で AR 蛋白質発現量、AR-V7 蛋白質発現量、PSA (AR 応答因子の一種) mRNA 相対発現量の低値、1,000、5,000、20,000 $\mu$ M(=129,000、646,000、2,580,000 $\mu$ g/L)の濃度区で NKX3.1 (AR 応答因子の一種) mRNA 相対発現量の低値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma) 10,000 $\mu$ M(=1,290,000 $\mu$ g/L)の濃度に48時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 CWR22Rv1 への影響が検討されている。その結果として、アポトーシス率の高値が認められた。(15706)( $\Delta$ ?)

想定される作用メカニズム：細胞増殖抑制作用

②Tran ら(2017)によって、メトホルミン(Sigma、PHR1084-500MG) 100,000 $\mu$ M(=12,900,000 $\mu$ g/L)までの濃度に72時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 LNCaP (アンドロゲン受容体 AR 及び非ヒストン蛋白質の一種 p53 を発現)への影響が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 2,900 $\mu$ M(=375,000 $\mu$ g/L)の濃度で、細胞増殖率の低値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma、PHR1084-500MG) 1,000、2,500 $\mu$ M(=129,000、323,000 $\mu$ g/L)の濃度に72時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 LNCaP (AR 及び p53 を発現)への影響が検討されている。その結果として、1,000 $\mu$ M(=129,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で、アポトーシス率の高値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma、PHR1084-500MG) 100,000 $\mu$ M(=12,900,000 $\mu$ g/L)までの濃度に72時間ばく露したヒト前立腺上皮細胞 PrEC(正常細胞)への影響が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub>

値 3,400 $\mu$ M(=439,000 $\mu$ g/L)の濃度で、細胞増殖率の低値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma、PHR1084-500MG) 1,000、2,500 $\mu$ M(=129,000、323,000 $\mu$ g/L)の濃度に 72 時間ばく露したヒト前立腺上皮細胞 PrEC(正常細胞)への影響が検討されている。その結果として、2,500 $\mu$ M(=323,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で、アポトーシス率の高値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma、PHR1084-500MG) 100,000 $\mu$ M(=12,900,000 $\mu$ g/L)までの濃度に 72 時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 PC3 (AR も p53 も発現していない)への影響が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 16,500 $\mu$ M(=2,130,000 $\mu$ g/L)の濃度で、細胞増殖率の低値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma、PHR1084-500MG) 1,000、2,500 $\mu$ M(=129,000、323,000 $\mu$ g/L)の濃度に 72 時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 PC3 (AR も p53 も発現していない)への影響が検討されている。その結果として、2,500 $\mu$ M(=323,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で、アポトーシス率の高値が認められた。

(15548)( $\Delta$ ?)

想定される作用メカニズム：細胞増殖抑制作用、アポトーシス促進作用

## (6)がん細胞への影響

①Fuentes-Mattei ら(2014)によって、メトホルミン 100、1,000、10,000 $\mu$ M(=12,900、129,000、1,290,000 $\mu$ g/L)の濃度に 4 日間(成熟 3T3-L1 アジポサイト共存下)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、細胞増殖率の低値が認められた。

また、メトホルミン 10,000 $\mu$ M(=1,290,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した成熟 3T3-L1 アジポサイトへの影響が検討されている。その結果として、インスリン様増殖因子 IGF-1 蛋白質相対発現量、IGF-II 蛋白質相対発現量、レプチン蛋白質相対発現量、TIMP-1 (Mus musculus tissue inhibitor of metalloproteinase 1)蛋白質相対発現量の低値、アディポネクチン蛋白質相対発現量、線維芽細胞増殖因子 FGF-21 蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、Pref-1 (Preadipocyte factor 1)蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。(15711)( $\times$ -)

想定される作用メカニズム：がん細胞増殖抑制作用、アディポカイン分泌促進または抑制作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、試薬の入手先及び純度の記載がない点に注意を要すると判断された。

②Xie ら(2021)によって、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 1,000 $\mu$ M(=129,000 $\mu$ g/L)の濃度に 5 日間ばく露したヒト前立腺がん細胞 LNCaP への影響が検討されている。その結果として、細胞生存率、AR (アンドロゲン受容体) mRNA 相対発現量、Bcl2/Bax 蛋白質相対発現量比の低値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 1,000 $\mu$ M(=129,000 $\mu$ g/L)の濃度に 5 日間ばく露したヒト前立腺がん細胞 VCaP への影響が検討されている。その結果として、細胞生存率、AR mRNA 相対発現量、Arv7 (変異型アンドロゲン受容体) mRNA 相対発現量の低値、Bcl2/Bax 蛋白質相対発現量比の高値が認められた。(15665)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：アンドロゲン受容体発現抑制作用、アポトーシス促進作用、がん細胞増殖抑制作用

## ※参考 がん細胞への影響(今回評価対象としなかった文献)

③Gu ら(2017)によって、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 20,000 $\mu$ M(=2,520,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト子宮内膜がん細胞 Ishikawa への影響(p62 等はオートファジー関連蛋白質)が検討されている。その結果として、生存率、生存率(エストラジオール 100nM 共存下)、エストロゲン受容体

ER $\alpha$  蛋白質相対発現量、p62 蛋白質相対発現量の低値、Beclin-1 蛋白質相対発現量、LC3bI 蛋白質相対発現量、LC3bII 蛋白質相対発現量、アポトーシス率、初期アポトーシス率の高値が認められた。

メトホルミン(Sigma-Aldrich) 20,000 $\mu$ M(=2,520,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト子宮内膜がん細胞 RL95-2 への影響(p62 等はオートファジー関連蛋白質)が検討されている。その結果として、生存率、生存率(エストラジオール 100nM 共存下)、エストロゲン受容体 ER $\alpha$  蛋白質相対発現量、p62 蛋白質相対発現量の低値、Beclin-1 蛋白質相対発現量、LC3bI 蛋白質相対発現量、LC3bII 蛋白質相対発現量、アポトーシス率、初期アポトーシス率の高値が認められた。(15692)

評価未実施の理由：細胞死亡率の高値が認められる濃度での試験結果であるため。

## (7) AMP 活性化プロテインキナーゼ経路でのがん細胞への影響

①Xie ら(2011)によって、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 1、10、100 $\mu$ M(=129、1,290、12,900 $\mu$ g/L、細胞増殖率試験では 0.1 $\mu$ M 区も設定)の濃度に 72 時間ばく露したヒト子宮内膜がん細胞 Ishikawa (分化型)への影響が検討されている。その結果として、1  $\mu$ M(=129 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞増殖率の低値(IC<sub>50</sub> 値 21.4 $\mu$ M)、プロゲステロン受容体(PR) A 蛋白質発現量、総 PR mRNA 相対発現量の高値、10 $\mu$ M(=129 $\mu$ g/L)以上の濃度区で PRB 蛋白質発現量、PRB mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 1、10、100 $\mu$ M(=129、1,290、12,900 $\mu$ g/L、細胞増殖率試験では 0.1 $\mu$ M 区も設定)の濃度に 72 時間ばく露したヒト子宮内膜がん細胞 HEC-1B (中程度の分化型)への影響が検討されている。その結果として、1  $\mu$ M(=129 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞増殖率の低値(IC<sub>50</sub> 値 18.9 $\mu$ M)、PRA 蛋白質発現量、PRB 蛋白質発現量、PRB mRNA 相対発現量、総 PR mRNA 相対発現量の高値が認められた。

なお、これらの影響は、AMP 活性化プロテインキナーゼ(AMP-activated protein kinase: AMPK)阻害剤である Compound C 前処理によって抑制された。

(15735)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：がん細胞増殖抑制作用、プロゲステロン受容体発現促進作用

②Saguyod ら(2020)によって、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 10、100 $\mu$ M(=1,290、12,900 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 10nM で 24 時間前処理後)したヒト子宮内膜がん細胞 Ishikawa (標準的グルコース濃度 5.5mM にて培養)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=1,290 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞増殖率の低値、100 $\mu$ M(=12,900 $\mu$ g/L)の濃度区でサイクリン D1 (cyclin D1: CCND1) mRNA 相対発現量の低値、プロゲステロン受容体(PGR) mRNA 相対発現量、プロゲステロン受容体-B (PGR-B) mRNA 相対発現量、PGR-B/PGR mRNA 相対発現量比の高値が認められた。なお、非接着性細胞(endosphere)率には影響は認められなかった。

また、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 10、100 $\mu$ M(=1,290、12,900 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 10nM で 24 時間前処理後)したヒト子宮内膜がん細胞 Ishikawa (高グルコース濃度 17.5mM にて培養)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu$ M(=12,900 $\mu$ g/L)の濃度区で PGR-B/PGR mRNA 相対発現量比の低値、PGR mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、細胞増殖率、CCND1 mRNA 相対発現量、PGR-B mRNA 相対発現量、endosphere 率には影響は認められなかった。

また、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 10、100 $\mu$ M(=1,290、12,900 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露(前処理なし)したヒト子宮内膜がん細胞 Ishikawa (標準的グルコース濃度 5.5mM にて培養)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu$ M(=12,900 $\mu$ g/L)の濃度区で endosphere 率の低値が認められた。

なお、細胞増殖率、*CCND1* mRNA 相対発現量、*PGR* mRNA 相対発現量、*PGR-B* mRNA 相対発現量、*PGR-B/PGR* mRNA 相対発現量比には影響は認められなかった。

また、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 10、100 $\mu$ M(=1,290、12,900 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露(前処理なし)したヒト子宮内膜がん細胞 Ishikawa (高グルコース濃度 17.5mM にて培養)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=1,290 $\mu$ g/L)の濃度区で細胞増殖率の高値、100 $\mu$ M(=12,900 $\mu$ g/L)の濃度区で *PGR-B/PGR* mRNA 相対発現量比の低値が認められた。なお、*CCND1* mRNA 相対発現量、*PGR* mRNA 相対発現量、*PGR-B* mRNA 相対発現量、endosphere 率には影響は認められなかった。

なお、これらの影響のうち *PGR-B* の発現誘導は、AMP 活性化プロテインキナーゼ(AMP-activated protein kinase: AMPK)阻害剤である Compound C の投与で抑制、活性化剤である AICA リボヌクレオチド(5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- $\beta$ -D-ribofuranoside: AICAR)の投与で活性化された。(15667)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：がん細胞増殖抑制作用、プロゲステロン受容体発現促進作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、細胞増殖率の測定以外は 100 $\mu$ M 区のデータのみ提示されている点に注意を要すると判断された。

- ③Collins ら(2019)によって、メトホルミン(塩酸塩、Sigma-Aldrich) 10、50、100、200 $\mu$ M(=1,290、6,460、12,900、25,800 $\mu$ g/L)の濃度に 72 時間ばく露したヒト子宮内膜がん細胞 EM2 への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=1,290 $\mu$ g/L)以上の濃度で細胞生存率(24 時間)、エストロゲン受容体  $\alpha$  (*ER $\alpha$* ) mRNA 相対発現量、*ER $\alpha$*  蛋白質相対発現量の低値、50 $\mu$ M(=6,460 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞生存率(72 時間)の低値、100 $\mu$ M(=12,900 $\mu$ g/L)以上の濃度区で切断型ポリ(ADP リボース)ポリメラーゼ蛋白質相対発現量、AMP 活性化プロテインキナーゼ(phosphorylated AMP-activated protein kinase: p-AMPK)蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、総プロゲステロン受容体(*PR*) mRNA 相対発現量、*PR-A* mRNA 相対発現量、*PR-B* mRNA 相対発現量、*PR-A* 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。

また、メトホルミン(塩酸塩、Sigma-Aldrich) 10、50、100、200 $\mu$ M(=1,290、6,460、12,900、25,800 $\mu$ g/L)の濃度に 72 時間ばく露したヒト子宮内膜がん細胞 EM3 への影響が検討されている。その結果として、10、100、200 $\mu$ M(=1,290、12,900、25,800 $\mu$ g/L)の濃度で細胞生存率(24 時間)の低値、切断型ポリ(ADP リボース)ポリメラーゼ蛋白質相対発現量の高値(50 $\mu$ M 区データは提示なし)、100 $\mu$ M(=12,900 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞生存率(72 時間)、*ER $\alpha$*  mRNA 相対発現量、*ER $\alpha$*  蛋白質相対発現量の低値、*PRA* 蛋白質相対発現量、総 *PR* mRNA 相対発現量、*PR-B* mRNA 相対発現量、りん酸化 p-AMPK 蛋白質相対発現量の高値、200 $\mu$ M(=25,800 $\mu$ g/L)の濃度区で *PR-A* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

なお、これらの影響の多くは、AMPK 阻害剤である Compound C 同時ばく露によって抑制された。(15683)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：がん細胞増殖抑制作用、エストロゲン受容体発現抑制作用、プロゲステロン受容体発現促進作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、細胞増殖率の測定以外は 50 $\mu$ M 区のデータを提示していない点に注意を要すると判断された。

- ④Zou ら(2016)によって、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 500、1,000、5,000 $\mu$ M(=64,600、129,000、646,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(細胞増殖率は 48、72 時間も実施)したヒト子宮内膜がん細胞 Ishikawa への影響が検討されている。その結果として、500 $\mu$ M(=64,600 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞増

殖率(72 時間)の低値、1,000 $\mu$ M(=129,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区でアポトーシス率の高値、5,000 $\mu$ M(=646,000 $\mu$ g/L)の濃度区で細胞増殖率(24 時間)の低値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 500、1,000、2,000 $\mu$ M(=64,600、129,000、258,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(細胞増殖率は 48、72 時間も実施)したヒト子宮内膜がん細胞 Ishikawa への影響が検討されている。その結果として、500 $\mu$ M(=64,600 $\mu$ g/L)以上の濃度区でアディポジェネシス関連蛋白質(human Forkhead box O1: FOXO1)りん酸化率の低値、2,000 $\mu$ M(=258,000 $\mu$ g/L)の濃度区で AMP 活性化プロテインキナーゼ(phosphorylated AMP-activated protein kinase: p-AMPK)りん酸化率、FOXO1 蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、FOXO1 mRNA 相対発現量、プロテインキナーゼ B (Akt)りん酸化率には影響は認められなかった。

また、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 2,000 $\mu$ M(=258,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(細胞増殖率は 48、72 時間も実施)したヒト子宮内膜がん細胞 HEC-IB への影響が検討されている。その結果として、細胞増殖率(24、48、72 時間)、FOXO1 りん酸化率の低値、p-AMPK りん酸化率、FOXO1 相対発現量の高値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 2,000 $\mu$ M(=258,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(細胞増殖率は 48、72 時間も実施)したヒト子宮内膜がん細胞 HHUA への影響が検討されている。その結果として、細胞増殖率(24、48、72 時間)の低値が認められた。なお、FOXO1 りん酸化率、p-AMPK りん酸化率、FOXO1 相対発現量には影響は認められなかった。

なお、これらの影響の多くは、AMPK 阻害剤である Compound C 同時ばく露によって抑制された。(15698)( $\Delta$ ?)

想定される作用メカニズム：細胞増殖抑制作用

- ⑤Zhang ら(2017)によって、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 1,000、5,000、15,000 $\mu$ M(=129,000、646,000、1,940,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト子宮内膜がん細胞 Ishikawa(分化型)への影響が検討されている。その結果として、1,000 $\mu$ M(=129,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区でエストロゲン受容体  $\alpha$  (ER $\alpha$ ) mRNA 相対発現量の低値、エストロゲン受容体  $\beta$  (ER $\beta$ ) mRNA 相対発現量の高値、5,000 $\mu$ M(=646,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で ER $\alpha$  蛋白質相対発現量、細胞増殖率、細胞増殖率(エストラジオール 1 $\mu$ M 共存下)、*c-fos* (proto-oncogene の一種) mRNA 相対発現量、*c-myc* (proto-oncogene の一種) mRNA 相対発現量の低値、ER $\beta$  蛋白質相対発現量の高値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 1,000、5,000、15,000 $\mu$ M(=129,000、646,000、1,940,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト子宮内膜がん細胞 HEC-1-A(未分化型)への影響が検討されている。その結果として、1,000 $\mu$ M(=129,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で ER $\alpha$  mRNA 相対発現量の低値、ER $\beta$  mRNA 相対発現量の高値、5,000 $\mu$ M(=646,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で ER $\alpha$  蛋白質相対発現量、細胞増殖率、細胞増殖率(エストラジオール 1 $\mu$ M 共存下)、*c-fos* mRNA 相対発現量、*c-myc* mRNA 相対発現量の低値、ER $\beta$  蛋白質相対発現量の高値が認められた。

なお、これらの影響の多くは、AMPK 阻害剤である Compound C 前処理によって抑制された。(15690)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：がん細胞増殖抑制作用、ER $\alpha$  発現抑制作用、ER $\beta$  発現促進作用

- ⑥Madsen ら(2015)によって、メトホルミン(塩酸塩、Sigma) 1,000、2,000、5,000 $\mu$ M(=129,000、258,000、646,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したラット肝臓がん細胞 FaO への影響(SRC は p160 ステロイド受容体コアクチベーター、G6pc はグルコース-6-フォスファターゼ、その他は脂質代謝関連蛋白質の各遺伝子)が検討されている。その結果として、1,000 $\mu$ M(=129,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で SRC-2

mRNA 相対発現量、*G6pc* mRNA 相対発現量、*Elov6* mRNA 相対発現量、*Egr1* mRNA 相対発現量、2,000 $\mu$ M(=258,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で *Fasn* mRNA 相対発現量、*Hmgcr* mRNA 相対発現量、*Hmgcs1* mRNA 相対発現量、*Cyp51* mRNA 相対発現量、*Nsdh1* mRNA 相対発現量、*Sqle* mRNA 相対発現量の低値、*Insr* mRNA 相対発現量、*lgfbp1* mRNA 相対発現量の高値、2,000 $\mu$ M(=258,000 $\mu$ g/L)の濃度区で *SRC-1* mRNA 相対発現量の高値(5,000 $\mu$ M 区では低値)が認められた。なお、*SRC-3* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、メトホルミン(塩酸塩、Sigma) 500、1,000、2,000 $\mu$ M(=64,600、129,000、258,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したラット肝臓がん細胞 FaO への影響が検討されている。その結果として、1,000 $\mu$ M(=129,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で *SRC-1* 蛋白質相対発現量の低値が認められた。

また、メトホルミン(塩酸塩、Sigma) 5,000 $\mu$ M(=646,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したラット肝臓がん細胞 FaO への影響が検討されている。その結果として、細胞内脂質量(Oil Red O 染色)の低値が認められた。

また、メトホルミン(塩酸塩、Sigma) 1,000、2,000、5,000 $\mu$ M(=129,000、258,000、646,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した肝臓がん細胞 HepG2 によるレポータージーンアッセイ(ヒト *SRC-2* 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、2,000 $\mu$ M(=258,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ相対発現量の低値が認められた。

また、メトホルミン(塩酸塩、Sigma) 5,000 $\mu$ M(=646,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した肝臓がん細胞 HepG2 への影響(RNA ポリメラーゼ II *SRC-2* によるクロマチン免疫沈降法(ChIP: Chromatin immunoprecipitation)による測定)が検討されている。その結果として、*G6Pc* DNA 中のプロモーター領域相対発現量、*FASN* DNA 中のプロモーター領域相対発現量、*ELOVL6* DNA 中のプロモーター領域相対発現量、*SPREBPI* DNA 中のプロモーター領域相対発現量、*HMGCR* DNA 中のプロモーター領域相対発現量、*HMGCSI* DNA 中のプロモーター領域相対発現量、*CYP51* DNA 中のプロモーター領域相対発現量、*NSDHL* DNA 中のプロモーター領域相対発現量、*SQLE* DNA 中のプロモーター領域相対発現量の低値が認められた。

なお、グルコース、脂質、コレステロール生合成酵素遺伝子の多くは *SRC-2* の発現をノックダウンすることによっても抑制された。(15702)( $\Delta$ ?)

想定される作用メカニズム：糖及び脂質の合成関連遺伝子の発現低下

⑦Kim ら(2016)によって、メトホルミン(Sigma) 15,000、20,000、25,000 $\mu$ M(=1,940,000、2,580,000、3,230,000 $\mu$ g/L)の濃度に 72 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、15,000 $\mu$ M(=1,940,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞増殖率、エストロゲン受容体  $\alpha$ (*ER $\alpha$* )蛋白質相対発現量の低値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma) 15,000、20,000、25,000 $\mu$ M(=1,940,000、2,580,000、3,230,000 $\mu$ g/L)の濃度に 72 時間ばく露したヒト乳がん細胞 TR MCF-7(タモキシフェン非感受性)への影響が検討されている。その結果として、15,000 $\mu$ M(=1,940,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞増殖率、*ER $\alpha$*  蛋白質相対発現量の低値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma) 25,000 $\mu$ M(=3,230,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 100nM 共存下)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、*ER $\alpha$*  mRNA 相対発現量の低値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma) 25,000 $\mu$ M(=3,230,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 100nM 共存下)したヒト乳がん細胞 TR MCF-7(タモキシフェン非感受性)への影響が検討されて

いる。その結果として、*ERα* mRNA 相対発現量の低値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma) 25,000 $\mu$ M(=3,230,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 100nM 共存下)したヒト乳がん細胞 MDA-MB-361 への影響が検討されている。その結果として、*ERα* mRNA 相対発現量の低値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma) 25,000 $\mu$ M(=3,230,000 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響(対象蛋白質はいずれも *ERα* 応答性)が検討されている。その結果として、c-Myc 蛋白質相対発現量、cyclin D1 蛋白質相対発現量、プロゲステロン受容体(PR)蛋白質相対発現量、pS2 蛋白質相対発現量の低値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma) 25,000 $\mu$ M(=3,230,000 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 TR MCF-7(タモキシフェン非感受性)への影響(対象蛋白質はいずれも *ERα* 応答性)が検討されている。その結果として、c-Myc 蛋白質相対発現量、cyclin D1 蛋白質相対発現量、PR 蛋白質相対発現量、pS2 蛋白質相対発現量の低値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma) 25,000 $\mu$ M(=3,230,000 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MDA-MB-361 への影響(対象蛋白質はいずれも *ERα* 応答性)が検討されている。その結果として、c-Myc 蛋白質相対発現量、cyclin D1 蛋白質相対発現量、PR 蛋白質相対発現量、pS2 蛋白質相対発現量の低値が認められた。(15701)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：抗エストロゲン作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、これらの影響について AMP 活性化プロテインキナーゼ (AMP-activated protein kinase: AMPK)を経由することが示唆されている点に注意を要すると判断された。

## (8)両生類卵母細胞への影響

①Detaile ら(1998)によって、メトホルミン(塩酸塩、LIPHA labs) 0.2、2、20、200、2,000 $\mu$ M(=25.8、258、2,580、25,800、258,000 $\mu$ g/L)の濃度に 90 分間ばく露したアフリカツメガエル由来卵母細胞(Stage III~IV)への影響が検討されている。その結果として、0.2、2、20 $\mu$ M(=25.8、258、2,580 $\mu$ g/L)の濃度区でグリコーゲンシンターゼ a 総比活性(インスリン 2 $\mu$ M 共存下)の高値、2、20 $\mu$ M(=258、2,580 $\mu$ g/L)の濃度区でグリコーゲンシンターゼ a 総比活性(インスリン 0.05 $\mu$ M 共存下)の高値が認められた。

また、メトホルミン(塩酸塩、LIPHA labs) 20 $\mu$ M(=2,580 $\mu$ g/L)の濃度に 90 分間ばく露したアフリカツメガエル由来卵母細胞(Stage III~IV)への影響が検討されている。その結果として、グルコース膜透過吸収速度(インスリン 2 $\mu$ M 共存下)、グルコースのグリコーゲンへの取り込み速度(インスリン 2 $\mu$ M 共存下)の高値が認められた。なお、グルコース膜透過吸収速度、グルコースのグリコーゲンへの取り込み速度には影響は認められなかった。(15759)( $\Delta$ ?)

想定される作用メカニズム：インスリンのグルコース取り込み増強作用

②Detaile ら(1999)によって、メトホルミン(塩酸塩、LIPHA labs) 0.01、0.1、0.5、1、10、20 $\mu$ M(=1.29、12.9、64.5、129、1,290、2,580 $\mu$ g/L)の濃度に 90 分間ばく露したアフリカツメガエル由来卵母細胞(Stage III~IV、哺乳類グルコーストランスポーター GLUT4 を一過的発現)への影響が検討されている。その結果として、0.5 $\mu$ M(=64.5 $\mu$ g/L)以上の濃度区で 2-デオキシ-D-グルコース吸収速度(インスリン 2 $\mu$ M 共存下)の高値が認められた。

また、メトホルミン(塩酸塩、LIPHA labs) 10 $\mu$ M(=1,290 $\mu$ g/L)の濃度に 90 分間ばく露したアフリカ

ツメガエル由来卵母細胞(Stage III~IV)への影響が検討されている。その結果として、2-デオキシ-D-グルコース吸収速度(インスリン 0.5~10 $\mu$ M 共存下)の高値が認められた。(15758)( $\Delta$ ?)

想定される作用メカニズム：インスリンによる GLUT4 関与のグルコース取込み促進

- ③Stith ら(1996)によって、メトホルミン(LIPHA labs) 0.0077、0.077、0.77、7.7 $\mu$ M(=1、10、100、1,000 $\mu$ g/L)の濃度に 30 分間ばく露したアフリカツメガエル由来卵母細胞への影響が検討されている。その結果として、0.77 $\mu$ M(=100 $\mu$ g/L)以上の濃度区でホスホリパーゼ C 活性(イノシトール 3 リン酸産生量)の高値が認められた。

また、メトホルミン(LIPHA labs) 0.0077、0.077、0.77、7.7、77 $\mu$ M(=1、10、100、1,000、10,000 $\mu$ g/L)の濃度に 7~10 時間(インスリン投与開始前にも 0.5 時間)ばく露したアフリカツメガエル由来卵母細胞への影響が検討されている。その結果として、7.7 $\mu$ M(=1,000 $\mu$ g/L)以上の濃度区でインスリン誘導性核胞崩壊(GVBD: germinal vesicle breakdown)率(インスリン 1 $\mu$ M 共存下)の高値が認められた。なお、GVBD 率(インスリンの共存なし)には影響は認められなかった。(15760)( $\Delta$ ?)

想定される作用メカニズム：インスリン誘導性卵母細胞の成熟促進作用

- ④Khan ら(1994)によって、メトホルミン(LIPHA labs) 20 $\mu$ M(=2,580 $\mu$ g/L)の濃度に 44 時間ばく露したアフリカツメガエル由来卵母細胞への影響が検討されている。その結果として、インスリン誘導性核胞崩壊(GVBD: germinal vesicle breakdown)率(インスリン 2 $\mu$ M 共存下)の高値が認められた。(15763)( $\Delta$ ?)

想定される作用メカニズム：インスリン誘導性卵母細胞の成熟促進作用

## (9)哺乳類細胞の糖代謝への影響

- ①Alengrin ら(1987)によって、メトホルミン(Aron Laboratory) 1、10、100、1,000 $\mu$ M(=129、1,290、12,900、129,000 $\mu$ g/L)の濃度に 20 時間ばく露したラット肝細胞(成熟雄 Wistar ラット由来)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=1,290 $\mu$ g/L)以上の濃度区でグルコースのグリコーゲンへの取り込み速度の低値が認められた。なお、アミノイソブチル酸吸収速度、インスリン蛋白質結合率には影響は認められなかった。

また、メトホルミン(Aron Laboratory) 1、100、500、1,000、5,000 $\mu$ M(=129、1,290、6,460、12,900、129,000、646,000 $\mu$ g/L)の濃度に 2 時間ばく露(cAMP 0.1mM 共存下)した成熟雄 Wistar ラット由来ラット肝細胞への影響が検討されている。その結果として、500 $\mu$ M(=6,460 $\mu$ g/L)以上の濃度区でアミノイソブチル酸吸収速度の低値が認められた。(15766)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：抗グルカゴン作用、抗インスリン作用

- ②Al-Khalili ら(2005)によって、メトホルミン(Sigma) 20 $\mu$ M(=2,580 $\mu$ g/L)の濃度に 20 分間ばく露した筋芽細胞(年齢 43 $\pm$ 6.7 歳、BMI 26 $\pm$ 2.4、空腹時血糖値 5.3 $\pm$ 0.43mmol/L の代謝疾患男女各 3 名由来)への影響が検討されている。その結果として、グリコーゲン合成速度の高値が認められた。

また、メトホルミン(Sigma) 20 $\mu$ M(=2,580 $\mu$ g/L)の濃度に 8 日間ばく露した筋芽細胞(年齢 43 $\pm$ 6.7 歳、BMI 26 $\pm$ 2.4、空腹時血糖値 5.3 $\pm$ 0.43mmol/L の代謝疾患男女各 3 名由来)への影響が検討されている。その結果として、PGC1 (ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体  $\gamma$  コアクチベーター1) mRNA 相対発現量、GLUT4 (グルコーストランスポーター4) mRNA 相対発現量、GLUT4 蛋白質相対発現量、MEF2a (筋細胞特異的エンハンサー因子 2a) mRNA 相対発現量、MEF2c mRNA 相対発現量、MEF2d mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、GLUT1 mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

(15753)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：インスリンによるグリコーゲン合成作用の促進

- ③Capp ら(2011)によって、メトホルミン(Sigma-Aldrich) 1,000 $\mu$ M(=129,000 $\mu$ g/L)の濃度にばく露した子宮内膜間質細胞(健常女性由来)への影響が検討されている。その結果として、プロラクチン濃度(17 $\beta$ -エストラジオール 10nM、プロゲステロン 1  $\mu$ M、インスリン様成長因子 20ng/mL 共存下、脱落まで 14 日間)、インスリン様成長因子 I 受容体 mRNA 相対発現量(24 時間)、インスリン受容体 mRNA 相対発現量(24 時間)、インスリン様成長因子 II 受容体 mRNA 相対発現量(24 時間)の低値が認められた。なお、Akt(セリン/スレオニンキナーゼ)りん酸化率(17 $\beta$ -エストラジオール 10nM、プロゲステロン 1 $\mu$ M、インスリン様成長因子 20ng/mL 共存下、脱落まで 14 日間)には影響は認められなかった。(15731)( $\Delta$ ?)

想定される作用メカニズム：インスリン、IGF I 及び IGF II 作用の増強

- ④Fuhrmeister ら(2014)によって、メトホルミン(Sigma) 10,000 $\mu$ M(=1,290,000 $\mu$ g/L)の濃度に 30 分間ばく露した黄体化莖膜細胞(年齢 34.5 $\pm$ 4.6 歳、BMI 23.36 $\pm$ 2.75 の不妊治療中女性患者 27 名由来)への影響が検討されている。その結果として、IGF1R (インスリン様成長因子 1 受容体) mRNA 相対発現量、IR (インスリン受容体) mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、IGF1R 蛋白質相対発現量、Aromatase (アロマトラーゼ) mRNA 相対発現量、Aromatase 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。(15715)( $\Delta$ ?)

想定される作用メカニズム：インスリン様成長因子 1 受容体及びインスリン受容体の mRNA 発現誘導

## (10)ヒトへの投与試験

- ①Ito-Yamaguchi ら(2019)によって、日本にて、メトホルミン 750mg/day を 3 ヶ月間投与した多嚢胞性卵巣症候群(PCOS: polycystic ovary syndrome)女性患者 10 名(平均年齢 28.1 $\pm$ 3.28 歳)への影響が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、恒常性モデル評価によるインスリン耐性(HOMA-IR: homeostatic model assessment-insulin resistance)の低値が認められた。なお、ボディマス指数、血中黄体形成ホルモン濃度、血中卵胞刺激ホルモン濃度、血中遊離テストステロン濃度、血中デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度、血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、上記 10 名の内、排卵が認められる 5 名(平均年齢 29.4 $\pm$ 3.78 歳)への影響が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、HOMA-IR、血中黄体形成ホルモン濃度の低値が認められた。なお、ボディマス指数、血中卵胞刺激ホルモン濃度、血中遊離テストステロン濃度、血中デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度、血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、上記 10 名の内、排卵が認められない 5 名(平均年齢 26.8 $\pm$ 2.39 歳)への影響が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、HOMA-IR の低値が認められた。なお、ボディマス指数、血中黄体形成ホルモン濃度、血中卵胞刺激ホルモン濃度、血中遊離テストステロン濃度、血中デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度、血中エストラジオール濃度には影響は認められなかった。(15708)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：アンドロゲン受容体の発現低下、遊離テストステロン濃度低下

- ②Liu ら(2019)によって、中国にて、メトホルミンメトホルミン 1,500mg/day (Metformin)を 6 ヶ月間投与(月経開始 3 ~ 5 日目から開始)投与した多嚢胞性卵巣症候群(PCOS: polycystic ovary syndrome)痩身

女性患者 34 名(年齢 25.2±4.4、BMI 21.3±2.4)への影響が検討されている。その結果として、健常女性 31 名(年齢 25.2±5.2、BMI 21.4±2.3)との比較において、血清中可溶性レプチン受容体濃度の低値、血清中インスリン濃度(絶食後)、恒常性モデル評価によるインスリン耐性(HOMA-IR: homeostatic model assessment-insulin resistance)、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中黄体ホルモン/卵胞刺激ホルモン濃度比、血清中テストステロン濃度の高値が認められた。なお、血清中アンドロステンジオン濃度、血清中デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度、血清中グルコース濃度(絶食後)には影響は認められなかった。

また、メトホルミンメトホルミン 1,500mg/day (Metforal)を 6 ヶ月間投与(月経開始 3～5 日目から開始)投与した PCOS 肥満女性患者 21 名(年齢 26.4±3.2、BMI 25.0±3.1)への影響が検討されている。その結果として、健常女性 31 名(年齢 25.2±5.2、BMI 21.4±2.3)との比較において、血清中可溶性レプチン受容体濃度の低値、血清中インスリン濃度(絶食後)、HOMA-IR、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中黄体ホルモン/卵胞刺激ホルモン濃度比、血清中テストステロン濃度の高値が認められた。なお、血清中アンドロステンジオン濃度、血清中デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度、血清中グルコース濃度(絶食後)には影響は認められなかった。(15674)(○●P)

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

- ④Campagnoli ら(2013)によって、イタリアにて、メトホルミン 500～1,500mg/day を 9 ヶ月間投与(500mg/day を 3 ヶ月、1,000mg/day を 1 ヶ月、1,500mg/day を 5 ヶ月)した女性乳がん患者 43 名(70 歳未満、閉経後 12 ヶ月以上、乳がん手術後 6 ヶ月以上、糖尿病発症なし、血清中テストステロンホルモン濃度 0.28ng/mL 以上)への影響が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、血清中遊離テストステロン濃度、血清中エストラジオール濃度、血清中インスリン様成長因子 1 濃度、血清中エストロン濃度の低値が認められた。なお、血清中アンドロステンジオン濃度、血清中でデヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度には影響は認められなかった。

また、メトホルミン 500～1,000mg/day を 9 ヶ月間投与(500mg/day を 3 ヶ月、1,000mg/day を 6 ヶ月)した女性乳がん患者 53 名(70 歳未満、閉経後 12 ヶ月以上、乳がん手術後 6 ヶ月以上、糖尿病発症なし、血清中テストステロンホルモン濃度 0.28ng/mL 以上)への影響が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、血清中でデヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度の高値が認められた。なお、血清中遊離テストステロン濃度、血清中エストラジオール濃度、血清中インスリン様成長因子 1 濃度、血清中エストロン濃度、血清中アンドロステンジオン濃度には影響は認められなかった。(15718)(△○P)

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

- ⑤Mari ら(2016)によって、オーストリアにて、メトホルミン 1,500～2,000mg/day を最長 52 週間投与した 2 型糖尿病患者 140 名(男性 63 名、女性 77 名、平均年齢 55.5±10.5 歳)への影響が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、血中グルコース濃度(空腹時)、血中グルコース濃度(食後 3 時間曲線化面積(AUC))、血中インスリン濃度(食後 3 時間 AUC)の低値、インスリン感受性(HOMA2-%S: homeostatic model assessment of insulin sensitivity)の高値が認められた。なお、β細胞機能(血中インスリン/グルコース AUC 比)、血中ヘモグロビン A1c 濃度、血中インスリン濃度(空腹時)、血中 C-ペプチド濃度(空腹時)、血中 C-ペプチド濃度(食後 3 時間 AUC)、血中グルカゴン濃度(空腹時)、血中グルカゴン濃度(食後 3 時間 AUC)には影響は認められなかった。(15700)(△○P)

想定される作用メカニズム：インスリン感受性亢進

- ⑥Krysiak ら(2020)によって、ポーランドにて、メトホルミン 2,550～3,000mg/day (日毎 3 分割、投与

開始時 850mg/day から 2～4 週間かけて漸増)を 16 週間投与したテストステロン濃度正常(血清中濃度 4～12ng/mL)男性患者(初発 2 型糖尿病及び無症候性甲状腺機能低下症)12 名(年齢 51±8 歳)への影響が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、血糖値、恒常性モデル評価によるインスリン耐性(HOMA-IR: homeostatic model assessment-insulin resistance)の低値が認められた。なお、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中遊離サイロキシシン濃度、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度、血清中プロラクチン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中テストステロン濃度、Jostel's thyrotropin index には影響は認められなかった。

また、メトホルミン 2,550～3,000mg/day (日毎 3 分割、投与開始時 850mg/day から 2～4 週間かけて漸増)を 16 週間投与したテストステロン濃度低下(過去に遅発性男性性腺機能低下症と診断され血清中テストステロン濃度 3.0ng/mL 未満)男性患者(初発 2 型糖尿病及び無症候性甲状腺機能低下症)11 名(年齢 52±8 歳)への影響が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、血糖値、HOMA-IR、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、Jostel's thyrotropin index の低値が認められた。なお、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中遊離サイロキシシン濃度、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度、血清中プロラクチン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、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、メトホルミン 2,550～3,000mg/day (日毎 3 分割、投与開始時 850mg/day から 2～4 週間かけて漸増)を 16 週間投与したテストステロン濃度低下(過去に遅発性男性性腺機能低下症と診断され血清中テストステロン濃度 3.0ng/mL 未満)男性患者(初発 2 型糖尿病及び無症候性甲状腺機能低下症)11 名(年齢 52±8 歳)への影響が検討されている。その結果として、テストステロン濃度正常男性患者 12 名との比較において、HOMA-IR、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、Jostel's thyrotropin index、血清中テストステロン濃度の低値が認められた。なお、血糖値、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中遊離サイロキシシン濃度、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度、血清中プロラクチン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、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。

(15673)(△○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

- ⑦Celik と Acbay (2012)によって、トルコにて、メトホルミン 2,000mg/day を 12 週間投与した多嚢胞性卵巣症候群(PCOS: polycystic ovary syndrome)女性患者 20 名(年齢 25.9±5.7 歳、高脂血症及びグルコース不耐性を既発症)への影響が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、ボディマス指数、血清中インスリン濃度、血清中グルコース濃度、恒常性モデル評価によるインスリン耐性(HOMA-IR: homeostatic model assessment-insulin resistance)、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中エストラジオール濃度、血清中テストステロン濃度、血清中遊離テストステロン濃度、血清中総コレステロール濃度、血清中トリグリセリド濃度、血清中低密度リポ蛋白質コレステロール濃度、血清中アラニンアミノトランスフェラーゼ活性の低値、血清中高密度リポ蛋白質コレステロール濃度の高値が認められた。なお、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度、血清中アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性には影響は認められなかった。(15725)(△○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

- ⑧Cheraghi ら(2013)によって、イランにて、2012 年 7 月から 2013 年 2 月にかけて、メトホルミン (Glucophage, Merck) 1,500mg/day(日毎 3 分割)を 6 ヶ月間投与した多嚢胞性卵巣症候群(PCOS: polycystic ovary syndrome)女性患者 80 名(年齢 25～35 歳)中 15 名への影響が検討されている。その結

果として、プラセボ投与群との比較において(ランダム化二重盲検試験)、未成熟卵胞中受容体型チロシンキナーゼ(*c-kit*: receptor tyrosine kinase) mRNA 相対発現量、未成熟卵胞中 *c-kit* 蛋白質相対発現量の低値、未成熟卵胞中成長分化因子 9 (*GDF-9*: growth differentiation factor-9) mRNA 相対発現量、未成熟卵胞中 *GDF-9* 蛋白質相対発現量、成熟卵胞率、正常 MII 卵胞率の高値が認められた。なお、卵胞液容量、卵胞液中エストラジオール濃度、卵胞液中プロゲステロン濃度、卵胞液中アンドロステンジオン濃度、卵胞液中 *c-kit* 可溶性蛋白質濃度、未成熟卵胞中骨形成因子 15 (*BMP-15*: bone morphogenetic factor-15) mRNA 相対発現量、未成熟卵胞中 *BMP-15* 蛋白質相対発現量、成熟卵胞中 *BMP-15* mRNA 相対発現量、成熟卵胞中 *BMP-15* 蛋白質相対発現量、成熟卵胞中 *GDF-9* mRNA 相対発現量、成熟卵胞中 *GDF-9* 蛋白質相対発現量、成熟卵胞中 *c-kit* mRNA 相対発現量、成熟卵胞中 *c-kit* 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。(15691)(○?)

想定される作用メカニズム：不明

- ⑨Hamed ら(2013)によって、エジプトにて、2011 年 1 月から 2012 年 10 月にかけて、メトホルミン 1,500mg/day を 6 ヶ月間投与(開始から 2 週間は 1,000mg/day)した多嚢胞性卵巣症候群(PCOS: polycystic ovary syndrome)女性患者 62 名(年齢 29.3±4.2、クロミフェンクエン酸塩投与によっても無排卵)への影響が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、胸囲、恒常性モデル評価によるインスリン耐性(HOMA-IR: homeostatic model assessment-insulin resistance)、血清中テストステロン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン/卵胞刺激ホルモン濃度比の低値、血清中アディポネクチン濃度、血清中アディポネクチン受容体-1 濃度、正常月経周期被験者率、排卵被験者率の高値が認められた。なお、ボディマス指数、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。(15720)(△○P)

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、インスリン感受性の亢進

- ⑩Codner ら(2013)によって、チリにて、メトホルミン 1,700mg/day(日毎二分割投与)を 9 ヶ月間投与した 1 型糖尿病女性患者 13 名(平均年齢 17.7±1.6 歳、高アンドロゲン症)への影響が検討されている。その結果として、投与開始前との比較において、血清中エストラジオール濃度、血清中 17-ヒドロキシプロゲステロン濃度、血清中テストステロン濃度、血清中アンドロステンジオン濃度、遊離アンドロゲン指数の低値が認められた。なお、ボディマス指数、血中ヘモグロビン A1c 濃度、血清中デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体濃度、血清中性ホルモン結合グロブリン濃度、月経周期回数、月経周期所要日数、排卵率には影響は認められなかった。(15717)(△○P)

想定される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、対照群として 1 型糖尿病女性患者 11 名(平均年齢 16.7±1.7 歳、高アンドロゲン症)プラセボ投与との比較(ランダム化二重盲検試験)も実施しているが、記載が不明瞭な点に注意を要すると判断された。

#### ※参考 ヒトへの投与試験(今回評価対象としなかった文献)

- ③Crave ら(1995)によって、フランスにて、メトホルミン(Lipha Sahté)850~1,700mg/day を 16 週間投与(850mg/day を 1 週間、1,700mg/day を 15 週間、この間低脂肪及び低カロリー食摂取)した男性型多毛症女性患者 43 名(BMI 25kg/m<sup>2</sup> 超の肥満)への影響が検討されているが、血漿中グルコース濃度、血漿中インスリン濃度、血漿中コレステロール濃度、血漿中高密度リポ蛋白質(HDL)コレステロール濃度、血漿中トリグリセリド濃度、血漿中アポリポ蛋白質 A1 濃度、血漿中アポリポ蛋白質 B 濃度には影響は認められなかった。(15761)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

なお、本試験結果の解釈にあたっては、被験者の年齢の記載がない点に注意を要すると判断された。

## 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、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、インスリン様作用、インスリンシグナル伝達への影響、糖代謝の改善を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン受容体発現抑制作用、ER $\alpha$  発現抑制作用、ER $\beta$  発現促進作用、アンドロゲン受容体発現抑制作用、プロゲステロン受容体発現促進作用、がん細胞増殖抑制作用、抗グルカゴン作用、抗インスリン作用、インスリンによるグリコーゲン合成作用の促進を示すこと、ヒトへの投与試験において、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、アンドロゲン受容体の発現低下、遊離テストステロン濃度低下、インスリン感受性亢進、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と今後の対応案

物質名：メトホルミン

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 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	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 <sup>3)</sup>
(1)生態影響		①Alla ら(2021) 評価未実施		
	不明	②Ussery ら(2018)	△	?
	インスリンシグナル伝達への影響	③Niemuth と Klaper (2015)	△	○P
	エストロゲン作用(雄肝臓中 VTG (vitellogenin) mRNA 相対発現量の高値)	④Niemuth ら(2015)	△	○P
	不明	⑤Lee ら(2019)	×	—
	インスリン受容体の活性化	⑥Capiotti ら(2014)	○	?
		⑦Zang ら(2017) 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 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	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 <sup>3)</sup>	
(2)生殖影響	抗エストロゲン様作用	① Tas ら(2013)	×	—	×
	糖代謝の改善	②Yan ら(2015)	△	○P	○
	不明	③Derkach ら(2020)	△	?	—
	視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	④Hu ら(2017)	△	○P	○
	インスリン様作用	⑤Brill と Moenter (2009)	△	○P	○
(3)抗腫瘍影響		①Gu ら(2017) 評価未実施			
	ヒト子宮内膜がん細胞の増殖抑制作用	②Zou ら(2016)	△	?	—
(4)抗エストロゲン作用	細胞増殖抑制作用	① Jung ら(2011)	×	—	×
(5)抗アンドロゲン作用	細胞増殖抑制作用	①Wang ら(2015)	△	?	—
	細胞増殖抑制作用、アポトーシス促進作用	②Tran ら(2017)	△	?	—
(6)がん細胞への影響	がん細胞増殖抑制作用、アディポカイン分泌促進または抑制作用	① Fuentes-Mattei ら(2014)	×	—	×
	アンドロゲン受容体発現抑制作用、アポトーシス促進作用、がん細胞増殖抑制作用	②Xie ら(2021)	△	○P	○
		③Gu ら(2017) 評価未実施			
(7)AMP 活性化プロテインキナーゼ経路でのがん細胞への影響	がん細胞増殖抑制作用、プロゲステロン受容体発現促進作用	①Xie ら(2011)	△	○P	○
	がん細胞増殖抑制作用、プロゲステロン受容体発現促進作用	②Saguyod ら(2020)	△	○P	○
	がん細胞増殖抑制作用、エストロゲン受容体発現抑制作用、プロゲステロン受容体発現促進作用	③Collins ら(2019)	△	○P	○
	細胞増殖抑制作用	④Zou ら(2016)	△	?	—

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 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	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 <sup>3)</sup>	
	がん細胞増殖抑制作用、ER $\alpha$ 発現抑制作用、ER $\beta$ 発現促進作用	⑤Zhang ら(2017)	△	○P	○
	糖及び脂質の合成関連遺伝子の発現低下	⑥Madsen ら(2015)	△	?	—
	抗エストロゲン作用	⑦Kim ら(2016)	△	○P	○
(8)両生類卵母細胞への影響	インスリンのグルコース取り込み増強作用	①Detaile ら(1998)	△	?	—
	インスリンによるGLUT4 関与のグルコース取込み促進	②Detaile ら(1999)	△	?	—
	インスリン誘導性卵母細胞の成熟促進作用	③Stith ら(1996)	△	?	—
	インスリン誘導性卵母細胞の成熟促進作用	④Khan ら(1994)	△	?	—
(9)哺乳類細胞の糖代謝への影響	抗グルカゴン作用、抗インスリン作用	①Alengrin ら(1987)	△	○P	○
	インスリンによるグリコーゲン合成作用の促進	②Al-Khalili ら(2005)	△	○P	○
	インスリン、IGF I 及び IGF II 作用の増強	③Capp ら(2011)	△	?	—
	インスリン様成長因子1受容体及びインスリン受容体の mRNA 発現誘導	④Fuhrmeister ら(2014)	△	?	—
(10)ヒトへの投与試験	アンドロゲン受容体の発現低下、遊離テストステロン濃度低下	①Ito-Yamaguchi ら(2019)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	②Liu ら(2019)	○	○P	○
		③Crave ら(1995) 評価未実施			
	抗アンドロゲン様作用	④Campagnoli ら(2013)	△	○P	○
	インスリン感受性亢進	⑤Mari ら(2016)	△	○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 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	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 <sup>3)</sup>
視床下部一下垂体— 甲状腺軸への作用	⑥Krysiak ら(2020)	△	○P	○
視床下部一下垂体— 生殖腺軸への作用	⑦Celik と Acbay (2012)	△	○P	○
不明	⑧Cheraghi ら(2013)	○	?	—
抗アンドロゲン様作用、 インスリン感受性の亢進	⑨Hamed HO (2013)	△	○P	○
抗エストロゲン様作用、 抗アンドロゲン様作用	⑩Codner ら(2013)	△	○P	○
信頼性評価のまとめと今後の対応案	動物試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、インスリン様作用、インスリンシグナル伝達への影響、糖代謝の改善を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン受容体発現抑制作用、ER $\alpha$ 発現抑制作用、ER $\beta$ 発現促進作用、アンドロゲン受容体発現抑制作用、プロゲステロン受容体発現促進作用、がん細胞増殖抑制作用、抗グルカゴン作用、抗インスリン作用、インスリンによるグリコーゲン合成作用の促進を示すこと、ヒトへの投与試験において、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、アンドロゲン受容体の発現低下、遊離テストステロン濃度低下、インスリン感受性亢進、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

- 15548: Tran LNK, Kichenadasse G, Butler LM, Centenera MM, Morel KL, Ormsby RJ, Michael MZ, Lower KM and Sykes PJ (2017) The combination of metformin and valproic acid induces synergistic apoptosis in the presence of p53 and androgen signaling in prostate cancer. *Molecular Cancer Therapeutics*, 16 (12), 2689-2700.
- 15665: Xie Y, Wang L, Khan MA, Hamburger AW, Guang W, Passaniti A, Munir K, Ross DD, Dean M and Hussain A (2021) Metformin and androgen receptor-axis-targeted (ARAT) agents induce two PARP-1-dependent cell death pathways in androgen-sensitive human prostate cancer cells. *Cancers*, 13 (4) 633.
- 15666: Alla LNR, Monshi M, Siddiqua Z, Shields J, Alame K, Wahls A, Akemann C, Meyer D, Crofts EJ, Saad F, El-Nachef J, Antoon M, Nakhle R, Hijazi N, Hamid M, Gurdziel K, McElmurry SP, Kashian DR, Baker TR and Pitts DK (2021) Detection of endocrine disrupting chemicals in *Danio rerio* and *Daphnia pulex*: Step-one, behavioral screen. *Chemosphere*, 271, 129442.
- 15667: Saguyod SJU, Alhallak I, Simmen RCM and Velarde MC (2020) Metformin regulation of progesterone

- receptor isoform-B expression in human endometrial cancer cells is glucose-dependent. *Oncology Letters*, 20 (5), 249.
- 15668: Derkach KV, Bakhtyukov AA, Romanova IV, Zorina, II, Bayunova LV, Bondareva VM, Yu Morina I, Kumar Roy V and Shpakov AO (2020) The effect of metformin treatment on the basal and gonadotropin-stimulated steroidogenesis in male rats with type 2 diabetes mellitus. *Andrologia*, 52 (11), e13816.
- 15673: Krysiak R, Szkróbka W and Okopień B (2020) The impact of testosterone on metformin action on hypothalamic-pituitary-thyroid axis activity in men: A pilot study. *Journal of Clinical Pharmacology*, 60 (2), 164-171.
- 15674: Liu RB, Liu Y, Lv LQ, Xiao W, Gong C and Yue JX (2019) Effects of metformin treatment on soluble leptin receptor levels in women with polycystic ovary syndrome. *Current Medical Science*, 39 (4), 609-614.
- 15679: Lee JW, Shin YJ, Kim H, Kim H, Kim J, Min SA, Kim P, Yu SD and Park K (2019) Metformin-induced endocrine disruption and oxidative stress of *Oryzias latipes* on two-generational condition. *Journal of Hazardous Materials*, 367, 171-181.
- 15681: Ussery E, Bridges KN, Pandelides Z, Kirkwood AE, Bonetta D, Venables BJ, Guchardi J and Holdway D (2018) Effects of environmentally relevant metformin exposure on Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic Toxicology*, 205, 58-65.
- 15683: Collins G, Mesiano S and DiFeo A (2019) Effects of metformin on cellular proliferation and steroid hormone receptors in patient-derived, low-grade endometrial cancer cell lines. *Reproductive Sciences*, 26 (5), 609-618.
- 15686: Hu X, Liu Y, Wang C, Hou L, Zheng X, Xu Y, Ding L and Pang S (2017) Metformin affects thyroid function in male rats. *Oncotarget*, 8 (64), 107589-107595.
- 15690: Zhang J, Xu H, Zhou X, Li Y, Liu T, Yin X and Zhang B (2017) Role of metformin in inhibiting estrogen-induced proliferation and regulating ER $\alpha$  and ER $\beta$  expression in human endometrial cancer cells. *Oncology Letters*, 14 (4), 4949-4956.
- 15691: Cheraghi E, Soleimani Mehranjani M, Shariatzadeh SMA, Nasr Esfahani MH and Alani B (2018) *N*-Acetylcysteine compared to metformin, improves the expression profile of growth differentiation factor-9 and receptor tyrosine kinase c-kit in the oocytes of patients with polycystic ovarian syndrome. *International Journal of Fertility and Sterility*, 11 (4), 270-278.
- 15692: Gu CJ, Cheng J, Zhang B, Yang SL, Xie F, Sun JS, Huang LQ, Yu JJ and Li MQ (2017) Protopanaxadiol and metformin synergistically inhibit estrogen-mediated proliferation and anti-autophagy effects in endometrial cancer cells. *American Journal of Translational Research*, 9 (9), 4071-4082.
- 15697: Zang L, Shimada Y and Nishimura N (2017) Development of a Novel Zebrafish Model for Type 2 Diabetes Mellitus. *Scientific Reports*, 7 (1), 1461.
- 15698: Zou J, Hong L, Luo C, Li Z, Zhu Y, Huang T, Zhang Y, Yuan H, Hu Y, Wen T, Zhuang W, Cai B, Zhang X, Huang J and Cheng J (2016) Metformin inhibits estrogen-dependent endometrial cancer cell growth by activating the AMPK-FOXO1 signal pathway. *Cancer Science*, 107 (12), 1806-1817.
- 15700: Mari A, Del Prato S, Ludvik B, Milicevic Z, de la Peña A, Shurzinske L, Karanikas CA and Pechtner V (2016) Differential effects of once-weekly glucagon-like peptide-1 receptor agonist dulaglutide and metformin on pancreatic  $\beta$ -cell and insulin sensitivity during a standardized test meal in patients with type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity & Metabolism*, 18 (8), 834-839.
- 15701: Kim J, Lee J, Jang SY, Kim C, Choi Y and Kim A (2016) Anticancer effect of metformin on estrogen receptor-positive and tamoxifen-resistant breast cancer cell lines. *Oncology Reports*, 35 (5), 2553-2560.
- 15702: Madsen A, Bozickovic O, Bjune JJ, Mellgren G and Sagen JV (2015) Metformin inhibits hepatocellular glucose, lipid and cholesterol biosynthetic pathways by transcriptionally suppressing steroid receptor coactivator 2 (SRC-2). *Scientific Reports*, 5, 16430.
- 15703: Yan WJ, Mu Y, Yu N, Yi TL, Zhang Y, Pang XL, Cheng D and Yang J (2015) Protective effects of metformin on reproductive function in obese male rats induced by high-fat diet. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 32 (7), 1097-1104.
- 15705: Niemuth NJ and Klaper RD (2015) Emerging wastewater contaminant metformin causes intersex and reduced fecundity in fish. *Chemosphere*, 135, 38-45.
- 15706: Wang Y, Liu G, Tong D, Parmar H, Hasenmayer D, Yuan W, Zhang D and Jiang J (2015) Metformin

- represses androgen-dependent and androgen-independent prostate cancers by targeting androgen receptor. *Prostate*, 75 (11), 1187-1196.
- 15707: Niemuth NJ, Jordan R, Crago J, Blanksma C, Johnson R and Klaper RD (2015) Metformin exposure at environmentally relevant concentrations causes potential endocrine disruption in adult male fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34 (2), 291-296.
- 15708: Ito-Yamaguchi A, Suganuma R, Kumagami A, Hashimoto S, Yoshida-Komiya H and Fujimori K (2015) Effects of metformin on endocrine, metabolic milieu and endometrial expression of androgen receptor in patients with polycystic ovary syndrome. *Gynecological Endocrinology*, 31 (1), 44-47.
- 15711: Fuentes-Mattei E, Velazquez-Torres G, Phan L, Zhang F, Chou PC, Shin JH, Choi HH, Chen JS, Zhao R, Chen J, Gully C, Carlock C, Qi Y, Zhang Y, Wu Y, Esteva FJ, Luo Y, McKeehan WL, Ensor J, Hortobagyi GN, Pusztai L, Fraser Symmans W, Lee MH and Yeung SC (2014) Effects of obesity on transcriptomic changes and cancer hallmarks in estrogen receptor-positive breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 106 (7) dju158.
- 15712: Capiotti KM, Antonioli R, Jr., Kist LW, Bogo MR, Bonan CD and Da Silva RS (2014) Persistent impaired glucose metabolism in a zebrafish hyperglycemia model. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 171, 58-65.
- 15715: Fuhrmeister IP, Branchini G, Pimentel AM, Ferreira GD, Capp E, Brum IS and von Eye Corleta H (2014) Human granulosa cells: Insulin and insulin-like growth factor-1 receptors and aromatase expression modulation by metformin. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 77 (3), 156-162.
- 15717: Codner E, Iñiguez G, López P, Mujica V, Eyzaguirre FC, Asenjo S, Torrealba I and Cassorla F (2013) Metformin for the treatment of hyperandrogenism in adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Hormone Research in Paediatrics*, 80 (5), 343-349.
- 15718: Campagnoli C, Berrino F, Venturelli E, Abbà C, Biglia N, Brucato T, Cogliati P, Danese S, Donadio M, Zito G and Pasanisi P (2013) Metformin decreases circulating androgen and estrogen levels in nondiabetic women with breast cancer. *Clinical Breast Cancer*, 13 (6), 433-438.
- 15720: Hamed HO (2013) Role of adiponectin and its receptor in prediction of reproductive outcome of metformin treatment in patients with polycystic ovarian syndrome. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, 39 (12), 1596-1603.
- 15721: Tas M, Kutuk MS, Serin IS, Ozgun MT, Oner G and Ozturk F (2013) Comparison of antiproliferative effects of metformin and progesterone on estrogen-induced endometrial hyperplasia in rats. *Gynecological Endocrinology*, 29 (4), 311-314.
- 15725: Celik O and Acbay O (2012) Effects of metformin plus rosuvastatin on hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome patients with hyperlipidemia and impaired glucose tolerance. *Journal of Endocrinological Investigation*, 35 (10), 905-910.
- 15727: Jung JW, Park SB, Lee SJ, Seo MS, Trosko JE and Kang KS (2011) Metformin represses self-renewal of the human breast carcinoma stem cells via inhibition of estrogen receptor-mediated OCT4 expression. *PLoS One*, 6 (11), e28068.
- 15731: Capp E, Jauckus J, von Eye Corleta H, Toth B, Strowitzki T and Germeyer A (2011) Does metformin influence the insulin-, IGF I- and IGF II-receptor gene expression and Akt phosphorylation in human decidualized endometrial stromal cells? *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 158 (2), 248-253.
- 15735: Xie Y, Wang YL, Yu L, Hu Q, Ji L, Zhang Y and Liao QP (2011) Metformin promotes progesterone receptor expression via inhibition of mammalian target of rapamycin (mTOR) in endometrial cancer cells. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 126 (3-5), 113-120.
- 15746: Brill DS and Moenter SM (2009) Androgen receptor antagonism and an insulin sensitizer block the advancement of vaginal opening by high-fat diet in mice. *Biology of Reproduction*, 81 (6), 1093-1098.
- 15753: Al-Khalili L, Forsgren M, Kannisto K, Zierath JR, Lönnqvist F and Krook A (2005) Enhanced insulin-stimulated glycogen synthesis in response to insulin, metformin or rosiglitazone is associated with increased mRNA expression of GLUT4 and peroxisomal proliferator activator receptor gamma co-activator 1. *Diabetologia*, 48 (6), 1173-1179.
- 15758: Detaille D, Wiernsperger N and Devos P (1999) Metformin interaction with insulin-regulated glucose uptake, using the *Xenopus laevis* oocyte model expressing the mammalian transporter GLUT4. *European Journal of Pharmacology*, 377 (1), 127-136.

- 15759: Detaille D, Wiernsperger N and Devos P (1998) Potentiating effect of metformin on insulin-induced glucose uptake and glycogen metabolism with *Xenopus* oocytes. *Diabetologia*, 41 (1), 2-8.
- 15760: Stith BJ, Goalstone ML, Espinoza R, Mossel C, Roberts D and Wiernsperger N (1996) The antidiabetic drug metformin elevates receptor tyrosine kinase activity and inositol 1,4,5-trisphosphate mass in *Xenopus* oocytes. *Endocrinology*, 137 (7), 2990-2999.
- 15761: Crave JC, Fimbel S, Lejeune H, Cugnardey N, Déchaud H and Pugeat M (1995) Effects of diet and metformin administration on sex hormone-binding globulin, androgens, and insulin in hirsute and obese women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 80 (7), 2057-2062.
- 15763: Khan NA, Wiernsperger N, Quemener V and Moulinoux JP (1994) Internalization of metformin is necessary for its action on potentiating the insulin-induced *Xenopus laevis* oocyte maturation. *Journal of Endocrinology*, 142 (2), 245-250.
- 15766: Alengrin F, Grossi G, Canivet B and Dolais-Kitabgi J (1987) Inhibitory effects of metformin on insulin and glucagon action in rat hepatocytes involve post-receptor alterations. *Diabete & Metabolisme*, 13 (6), 591-597.

## VI. ロイコマラカイトグリーン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ロイコマラカイトグリーンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、発達影響、甲状腺影響、発がん影響、甲状腺ペルオキシダーゼへの作用に関する報告がある。

#### ※参考 (1)発達影響(今回評価対象としなかった文献)

①Wan ら(2011)によって、ロイコマラカイトグリーン(Sigma-Aldrich、99%) 10、80、160mg/kg/day を妊娠6日目から15日目まで経口投与したSDラットへの影響(妊娠20日目)が検討されている。その結果として、80mg/kg/day以上のばく露群で母動物体重、母動物増加体重(妊娠子宮重量を差し引いた補正值)、母動物日毎摂餌量(妊娠6、12、15日目)の低値、胎仔骨格異常発生率の高値、160mg/kg/dayのばく露群で母動物妊娠子宮重量、生存胎仔数、胎仔体重、胎盤重量の低値、胚吸収率、着床後胚消失率、胎仔内臓異常発生率の高値が認められた。なお、黄体数、着床部位数、着床前胚消失率、胎仔肝臓相対重量、胎仔腎臓相対重量、胎仔頭臀長、胎仔性比、胎仔外表異常発生率には影響は認められなかった。(16217)

評価未実施の理由：試験結果として示された評価項目のみからは内分泌かく乱作用との関連性を判断できないため。

#### (2)甲状腺影響

①Culp ら(1999)によって、ロイコマラカイトグリーン(Chemsyn、98%) 290、580、1,160ppm(餌中濃度)を6～7週齢から28日間混餌投与した雄F344ラットへの影響が検討されている。その結果として、290ppm以上のばく露群で肝臓相対重量の高値、580ppmのばく露群で体重の低値、1,160ppmのばく露群で血中 $\gamma$ -グルタミルトランスフェラーゼ活性の高値が認められた。

また、ロイコマラカイトグリーン(Chemsyn、98%) 1,160ppm(餌中濃度)を6～7週齢から4又は21日間混餌投与した雄F344ラットへの影響が検討されている。その結果として、血中サイロキシン濃度(4、21日後)の低値、血中甲状腺刺激ホルモン濃度(4、21日後)の高値が認められた。なお、血中トリヨードサイロニン濃度には影響は認められなかった。(15866)(評価結果の略号：○?、以下同じ)

想定される作用メカニズム：甲状腺濾胞細胞のアポトーシス

なお、本論文の解釈にあたっては、有意な結果が得られた評価項目が一般毒性が認められている用量以上での影響である点に注意を要すると判断された。

#### ※参考 (3)発がん影響(今回評価対象としなかった文献)

①Culp ら(2006)によって、ロイコマラカイトグリーン(Chemsyn Science Laboratories、99%) 91、272、543ppm(餌中濃度)を6週齢から104週間(2年間)混餌投与した雌F344ラットへの影響が検討されている。その結果として、91ppm以上のばく露群で体重(52週間後以降)の低値、272ppm以上のばく露群で単核球白血病発症率の低値、272ppmのばく露群で乳腺細胞カルシノーマ発症率の高値が認められた。なお、生存率、甲状腺濾胞細胞アデノーマ又はカルシノーマ発症率、肝細胞アデノーマ発症率、下垂体アデノーマ発症率には影響は認められなかった。

また、ロイコマラカイトグリーン(Chemsyn Science Laboratories、99%) 91、272、543ppm(餌中濃

度)を6週齢から104週間(2年間)混餌投与した雄 F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、91ppm以上のばく露群で体重(88週間後以降)、単核球白血病発症率、下垂体アデノーマ発症率の低値、精巣間質細胞アデノーマ発症率の高値、272ppmのばく露群で生存率の高値が認められた。なお、甲状腺濾胞細胞アデノーマ又はカルシノーマ発症率、肝細胞アデノーマ発症率には影響は認められなかった。

また、ロイコマラカイトグリーン(Chemsyn Science Laboratories、99%) 91、204、408ppm(餌中濃度)を6週齢から104週間(2年間)混餌投与した雌 B6C3F<sub>1</sub> マウスへの影響が検討されている。その結果として、408ppmのばく露群で肝細胞アデノーマ又はカルシノーマ発症率の高値が認められた。なお、体重、生存率には影響は認められなかった。(15864)

評価未実施の理由：試験結果として示された評価項目のみからは内分泌かく乱作用との関連性を判断できないため。

#### (4)甲状腺ペルオキシダーゼへの作用

①Doerge ら(1998)によって、ロイコマラカイトグリーン(Chemsyn Science Laboratories) 5、15、30 $\mu$ M(=1,700、50,00、9,900 $\mu$ g/L)の濃度区でブタ由来甲状腺ペルオキシダーゼへの影響が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub>値として約5 $\mu$ M(=1,700 $\mu$ g/L)の濃度でチロシンよう素化反応(チロシン $\rightarrow$ 3-よう素チロシン、60秒)の阻害が認められた。

また、IC<sub>50</sub>値として約17 $\mu$ M(=5,600 $\mu$ g/L)の濃度でカップリング反応(予めよう素化したサイログロブリン共存下、60分)によるサイロキシン及びトリヨードサイロニン産生阻害が認められた。(15867)( $\Delta$ 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

## 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、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6に示した。

表6 信頼性評価のまとめと今後の対応案

物質名：ロイコマラカイトグリーン

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 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	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 <sup>3)</sup>
(1)発達影響		①Wan ら(2011) 評価未実施			
(2)甲状腺影響	甲状腺濾胞細胞のアポトーシス	①Culp ら(1999)	△	?	—
(3)発がん影響		①Culp ら(2006) 評価未実施			
(4)甲状腺ペルオキシダーゼへの作用	視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	①Doerge ら(1998)	△	○P	○
信頼性評価のまとめと今後の対応案		試験管内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

15864: Culp SJ, Mellick PW, Trotter RW, Greenlees KJ, Kodell RL and Beland FA (2006) Carcinogenicity of malachite green chloride and leucomalachite green in B6C3F1 mice and F344 rats. Food and Chemical Toxicology, 44 (8), 1204-1212.  
 15866: Culp SJ, Blankenship LR, Kusewitt DF, Doerge DR, Mulligan LT and Beland FA (1999) Toxicity and metabolism of malachite green and leucomalachite green during short-term feeding to Fischer 344 rats and B6C3F1 mice. Chemico-Biological Interactions, 122 (3), 153-170.  
 15867: Doerge DR, Chang HC, Divi RL and Churchwell MI (1998) Mechanism for inhibition of thyroid peroxidase by leucomalachite green. Chemical Research in Toxicology, 11 (9), 1098-1104.  
 16217: Wan H, Weng S, Liang L, Lu Q and He J (2011) Evaluation of the developmental toxicity of leucomalachite green administered orally to rats. Food and Chemical Toxicology, 49 (12), 3031-3037.

## VII. ベンゾフェノン-4

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ベンゾフェノン-4 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、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、甲状腺関連遺伝子発現への影響に関する報告がある。

#### (1)生態影響

①Zucchi ら(2011)によって、ベンゾフェノン-4 (Sigma-Aldrich、97%) 30、3,000 $\mu$ g/L(設定濃度)に受精後 2～4 時間(胞胚期)から受精後 120 時間(自由遊泳)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、30 $\mu$ g/L 以上のばく露区で *esr2b* mRNA 相対発現量の高値、3,000 $\mu$ g/L のばく露区で *esr2b* mRNA 相対発現量、*vtg1* mRNA 相対発現量、*vtg3* mRNA 相対発現量、*esr1* mRNA 相対発現量、*had17 $\beta$ 3* mRNA 相対発現量、*cyp19b* mRNA 相対発現量、*cyp19a* mRNA 相対発現量、*hhex* (hematopoietically-expressed homeobox protein) mRNA 相対発現量、*pax8* (paired box 8) mRNA 相対発現量が認められた。

また、ベンゾフェノン-4 (Sigma-Aldrich、97%) 30、300、3,000 $\mu$ g/L(設定濃度)に約 5 ヶ月齢から 14 日間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、30 $\mu$ g/L 以上のばく露区で精巣中 *cyp19a* mRNA 相対発現量、精巣中 *igfbp1a* (insulin growth factor binding protein 1) mRNA 相対発現量の低値、脳中 *vtg1* mRNA 相対発現量、脳中 *vtg3* mRNA 相対発現量の高値、300 $\mu$ g/L 以上のばく露区で肝臓中 *vtg1* mRNA 相対発現量、肝臓中 *esr1* mRNA 相対発現量、肝臓中 *esr2b* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ar* mRNA 相対発現量、精巣中 *hsd17 $\beta$ 3* mRNA 相対発現量、脳中 *hsd17 $\beta$ 3* mRNA 相対発現量の低値、精巣中 *3 $\beta$ -hsd* mRNA 相対発現量の高値、300 $\mu$ g/L のばく露区で精巣中 *StAR* mRNA 相対発現量の高値、3,000 $\mu$ g/L のばく露区で精巣中 *vtg1* mRNA 相対発現量、肝臓中 *vtg3* mRNA 相対発現量、脳中 *esr1* mRNA 相対発現量、肝臓中 *hsd17 $\beta$ 3* mRNA 相対発現量の低値、脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、精巣中 *vtg3* mRNA 相対発現量、精巣中 *esr1* mRNA 相対発現量、脳中 *esr2b* mRNA 相対発現量、精巣中 *ar* mRNA 相対発現量、脳中 *ar* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(16187)(評価結果の略号：〇〇P、以下同じ)  
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

②Kunz ら(2006)によって、ベンゾフェノン-4 (Fluka、99%) 10、100、500、1,000、5,000 $\mu$ g/L(設定濃度)に 2～3 ヶ月齢(性分化前)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、5,000 $\mu$ g/L のばく露区で体重、体長の高値が認められた。なお、全身中ビテロゲニン濃度には影響は認められなかった。(14146)(〇〇N)  
想定される作用メカニズム：不明

#### ※参考 生態影響(今回評価対象としなかった文献)

③He ら(2019)によって、ベンゾフェノン-4 (Sigma-Aldrich、97%) 0.1、1、10、100、1,000 $\mu$ g/L (設定濃度)に 7 日間ばく露したフトトゲサンゴ(*Seriatopora caliendrum*)小断片(nubbins。健全サンゴ突起から採取した 2～3 g の小断片でポリープ数個を含む)への影響が検討されているが、死亡率、漂白率、褐虫藻密度、ポリープ減少率(総リトラクション率)には影響は認められなかった。

また、ベンゾフェノン-4 (Sigma-Aldrich、97%) 0.1、1、10、100、1,000 $\mu$ g/L (設定濃度)に 14 日間ばく露したフトトゲサンゴ(*S. caliendrum*)幼生(朝 9:00 前に夜間幼生放出(lunar larval release)された個

体を採水タンクからプランクトンネットで回収)への影響が検討されているが、ガラス表面定着率には影響は認められなかった。

また、ベンゾフェノン-4 (Sigma-Aldrich、97%) 0.1、1、10、100、1,000 $\mu\text{g/L}$  (設定濃度)に7日間ばく露したハナヤサイサンゴ(*Pocillopora damicornis*)小断片(nubbins。健全サンゴ突起から採取した2~3gの小断片でポリープ数個を含む)への影響が検討されているが、死亡率、漂白率、褐虫藻密度、ポリープ減少率(総リトラクション率)には影響は認められなかった。(16183)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。試験生物の入手先が野外であり、試験開始前ばく露の可能性が否定できない報告のため。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。

なお、本試験結果の解釈にあたっては、試験対象とされたベンゾフェノン-4以外のベンゾフェノン類に強い有害影響が認められている点に注意を要すると判断された。

## (2)エストロゲン作用

①Kunz ら(2006)によって、ベンゾフェノン-4 (Fluka、99%) 0.1~1,000 $\mu\text{M}$ (=30.8~308,000 $\mu\text{g/L}$ )の濃度にはばく露したエストロゲン応答性レポーター遺伝子を導入した酵母(ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(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  $\beta$ -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、 $\text{EC}_{50}$  値 94.8 $\mu\text{M}$ (=29,200 $\mu\text{g/L}$ )の濃度で  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。

また、ベンゾフェノン-4 (Fluka、99%) 0.1~1,000 $\mu\text{M}$ (=30.8~308,000 $\mu\text{g/L}$ )の濃度にはばく露したエストロゲン応答性レポーター遺伝子を導入した酵母(ニジマスエストロゲン受容体  $\alpha$  を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(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  $\beta$ -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、 $\text{EC}_{50}$  値 294 $\mu\text{M}$ (=91,800 $\mu\text{g/L}$ )の濃度で  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。(14146)( $\Delta$ OP)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、反応時間等の試験条件について詳細な記載がない点に注意を要すると判断された。

## ※参考 (3)アンドロゲン作用

①Ma ら(2003)によって、ベンゾフェノン-4 (Fluka、97%) 0.001、0.01、0.05、0.1、0.5、1、10 $\mu\text{M}$ (=0.308、3.08、15.4、30.8、154、308、3,080 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に終夜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)によるレポーター遺伝子アッセイ(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。(12228)

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 (4)抗アンドロゲン作用

①Ma ら(2003)によって、ベンゾフェノン-4 (Fluka、97%) 0.001、0.01、0.05、0.1、0.5、1、10 $\mu\text{M}$ (=0.308、3.08、15.4、30.8、154、308、3,080 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に終夜ばく露(ジヒドロテストステロン 0.5nM)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)によるレポーター遺伝子アッセイ(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。(12228)

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

## (5) 甲状腺関連遺伝子発現への影響

①Lee ら(2018)によって、ベンゾフェノン-4 (Sigma-Aldrich、97%) 10、32、100、320 $\mu$ M(=3,080、9,870、30,800、98,700 $\mu$ g/L)の濃度にばく露したラット下垂体細胞 GH3 への影響(遺伝子は甲状腺関連)が検討されている。その結果として、10、100、320 $\mu$ M(=3,080、30,800、98,700 $\mu$ g/L)の濃度区で *Tr $\beta$*  mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、細胞増殖率、*Trhr* (thyrotropin releasing hormone receptor) mRNA 相対発現量、*Tsh $\beta$*  mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

なお、ベンゾフェノン-4 (Sigma-Aldrich、97%) 10、32、100、320 $\mu$ M(=3,080、9,870、30,800、98,700 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したラット甲状腺濾胞細胞 FRTL-5 への影響(遺伝子は甲状腺関連)が検討されているが、細胞増殖率、*Tshr* (thyroid stimulating hormone receptor) mRNA 相対発現量、*Nis* mRNA 相対発現量、*Tg* mRNA 相対発現量、*Tpo* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。(16184)( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体一甲状腺軸への作用

## 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、抗エストロゲン作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、視床下部一下垂体一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と今後の対応案

物質名：ベンゾフェノン-4

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 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	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 <sup>3)</sup>	
(1)生態影響	エストロゲン作用、抗エストロゲン作用	①Zucchi ら(2011)	○	○P	○
	不明	②Kunz ら(2006)	○	○N	×
		③He ら(2019) 評価未実施			
(2)エストロゲン作用		①Kunz ら(2006)	$\Delta$	○P	○
(3)アンドロゲン作用		①Ma ら(2003) 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 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	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 <sup>3)</sup>
(4)抗アンドロゲン作用	①Ma ら(2003) 評価未実施			
(5)甲状腺関連遺伝子発現への影響	視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用 ①Lee ら(2018)	△	○P	○
信頼性評価のまとめと今後の対応案	動物試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、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

- 12228: 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.
- 14146: 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.
- 16183: He T, Tsui MMP, Tan CJ, Ng KY, Guo FW, Wang LH, Chen TH, Fan TY, Lam PKS and Murphy MB (2019) Comparative toxicities of four benzophenone ultraviolet filters to two life stages of two coral species. *Science of the Total Environment*, 651 (Pt 2), 2391-2399.
- 16184: Lee J, Kim S, Park YJ, Moon HB and Choi K (2018) Thyroid Hormone-Disrupting Potentials of Major Benzophenones in Two Cell Lines (GH3 and FRTL-5) and Embryo-Larval Zebrafish. *Environmental Science & Technology*, 52 (15), 8858-8865.
- 16187: Zucchi S, Blüthgen N, Ieronimo A and Fent K (2011) The UV-absorber benzophenone-4 alters transcripts of genes involved in hormonal pathways in zebrafish (*Danio rerio*) eleuthero-embryos and adult males. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 250 (2), 137-146.