

ベンジルパラベン（別名：4-ヒドロキシ安息香酸ベンジル）（CAS no. 94-18-8）

文献信頼性評価結果

示唆された作用							
エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモン	抗甲状腺ホルモン	脱皮ホルモン	その他*
○	○	—	—	—	—	○	○

○：既存知見から示唆された作用

—：既存知見から示唆されなかった作用

*その他：視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用等

ベンジルパラベンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、動物試験の報告において、エストロゲン様作用、ミジンコの産仔数の低値が認められ、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、エストロゲン関連受容体 γ に対するインバーサアゴニスト作用、脂肪酸アミド加水分解酵素阻害、PPAR γ に関連した脂肪細胞分化促進、グルココルチコイドによる脂肪細胞分化促進作用、グルココルチコイド受容体活性化作用を示すことが示唆された。

（１）生態影響

- Terasaki ら(2015)によって、ベンジルパラベン(東京化成工業、特級)70、160、310、630、1,250、2,500、5,000 $\mu\text{g/L}$ （設定濃度）に4時間未満齢から7日間ばく露したニセネコゼミジンコ (*Ceriodaphnia dubia*)への影響が検討されている。その結果として、70 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で総出産仔数の低値、160、310、630、1,250 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で初出産に至るまでの所要日数、母動物生存率の低値が認められた。

想定される作用メカニズム：不明であるが産仔数の低値は内分泌かく乱作用のエンドポイントであり(OECD)、幼若ホルモン作用及び脱皮ホルモン作用の有無について確認する必要がある。

なお、本試験結果の解釈にあたっては、160 $\mu\text{g/L}$ 以上の濃度区での母動物の生存率の低下は毒性とみなされる点に注意を要すると判断された。

（２）エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用

- Terasaki ら(2009)によって、ベンジルパラベン(東京化成工業、特級) 0.0038~38 μM (=0.867~8,670 $\mu\text{g/L}$)の濃度でヒトエストロゲン受容体 α を用いた競合的酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)が検討されている。その結果として、IC₅₀ 値 13 μM (=29.7 $\mu\text{g/L}$)の濃度で結合阻害が認められた。

（３）エストロゲン作用

- Hu ら(2013a)によって、ベンジルパラベン(東京化成工業、98%) 0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10、100 μM (=0.0228、0.228、2.28、22.8、228、2,280、22,800 $\mu\text{g/L}$)の濃度でヒトエストロゲン受容体 α リガンド結合ドメイン(グルタチオン-S-トランスフェラーゼをタグ化)による coactivator recruiting assay が検討されている。その結果として、EC₅₀ 値 0.101 μM (=23.1 $\mu\text{g/L}$)の濃度で結合が認められた。

また、ベンジルパラベン(東京化成工業、98%) 0.16、0.8、4、20、100 mg/kg/day を21日齢か

ら3日間経口投与した雌SDラットへの影響が検討されている。その結果として、0.16mg/kg/day以上のばく露群で子宮相対重量の高値が認められた。なお、体重には影響は認められなかった。

また、ベンジルパラペン(東京化成工業、98%) 0.0064、0.032mg/kg/dayを21日齢から3日間経口投与した雌SDラットへの影響が検討されているが、体重、子宮相対重量には影響は認められなかった。

- Terasaki ら(2009)によって、ベンジルパラペン(東京化成工業、特級) 0.016~1 μ M(=3.65~228 μ g/L)の濃度に4時間ばく露した酵母(メダカエストロゲン受容体 α 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 β -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、EC $\times$ 10値(対照区の10倍に相当する測定値を誘導する濃度) 0.14 μ M(=32.0 μ g/L)の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。

また、ベンジルパラペン(東京化成工業、特級) 0.16~10 μ M(=36.5~2,280 μ g/L)の濃度に4時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体 α を発現)によるレポータージーンアッセイ(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 β -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、EC $\times$ 10値(対照区の10倍に相当する測定値を誘導する濃度) 1.2 μ M(=274 μ g/L)の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。

- Sasaki と Terasaki (2018)によって、ベンジルパラペン(東京化成工業、98%) 0.0051~40 μ M(=1.16~9,130 μ g/L)の濃度に18時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体 α を発現)によるレポータージーンアッセイ(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 β -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、REC₁₀値(陽性対照物質17 β -エストラジオールによる最大活性の10%に相当する活性を誘導する濃度) 0.44 μ M(=100 μ g/L)の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。

- Darbre ら(2003)によって、ベンジルパラペン(Sigma) 0.001、0.01、0.1、1、10、100 μ M(=0.228、2.28、22.8、228、2,280、22,800 μ g/L)の濃度に7日間ばく露したヒト乳がん細胞MCF7(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クロラムフェニコールアセチルトランス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、10 μ M(=228、2,280 μ g/L)の濃度区でクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ発現誘導が認められた。

また、ベンジルパラペン(Sigma) 0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10、100 μ M(=0.0228、0.228、2.28、22.8、228、2,280、22,800 μ g/L)の濃度に14日間ばく露したヒト乳がん細胞MCF7による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10 μ M(=0.0228、0.228、2.28、22.8、228、2,280 μ g/L)の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。この影響は、10 μ Mの濃度区でエストロゲン受容体アンタゴニストICI 182,780 0.1 μ M共存下で消失した。なお、100 μ Mの濃度区では全細胞死が認められた。

また、ベンジルパラペン(Sigma) 3.3、10、33、100mg/day (200~7,500mg/kg/dayに相当)を18日齢から3日間経皮投与(背部に塗布)した雌CD1マウスへの影響が検討されている。その結果として、33mg/day以上のばく露群で子宮相対重量の高値、100mg/day以上のばく露群で子宮絶対重量の高値が認められた。

また、ベンジルパラペン(Sigma) 3.3、10、33、100mg/day (200~7,500mg/kg/dayに相当)を18日齢から3日間経皮投与(背部に塗布)した雌CD1マウスへの影響が検討されている。その結果として、10、33mg/dayのばく露群で子宮絶対重量の高値、33mg/dayのばく露群で子宮相対重量の高値が認められた。

- Pelch ら(2019)によって、ベンジルパラペン(Sigma-Aldrich、99%) 0.003、0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10 μ M(=0.685、2.28、6.85、22.8、68.5、228、685、2,280 μ g/L)の濃度に 18 時間ばく露したヒト肝臓がん細胞 HepG2 (ヒトエストロゲン受容体 β 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、10 μ M(=2,280 μ g/L)の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

また、ベンジルパラペン(Sigma-Aldrich、99%) 0.003、0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10 μ M(=0.685、2.28、6.85、22.8、68.5、228、685、2,280 μ g/L)の濃度に 18 時間ばく露したヒト肝臓がん細胞 HepG2 (ヒトエストロゲン受容体 α 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、10 μ M(=2,280 μ g/L)の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

なお、本試験結果の解釈にあたっては、ヒトエストロゲン受容体 α による試験においては認められた影響が微弱であったため、著者らが不活性と判断している点に注意を要すると判断された。

(4) 抗エストロゲン作用

- Sasaki と Terasaki (2018)によって、ベンジルパラペン(東京化成工業、98%) 0.0051~40 μ M(=1.16~9,130 μ g/L)の濃度に 18 時間ばく露(17 β -エストラジオール 0.2nM 共存下)した酵母(ヒトエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(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 β -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、REC₆₀ 値(陽性対照物質 4-ヒドロキシタモキシフェンによる最大活性の 60%に相当する活性を誘導する濃度) 2.7 μ M(=616 μ g/L)の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導の阻害が認められた。

(5) エストロゲン関連受容体 γ との相互作用

- Zhang ら(2013)によって、ベンジルパラペン(東京化成工業、98%) 0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10、100 μ M(=0.0228、0.228、2.28、22.8、228、2,280、22,800 μ g/L)の濃度でヒトエストロゲン関連受容体 γ リガンド結合ドメインとグルタチオン-S-トランスフェラーゼとの融合蛋白質による coactivator recruiting assay (4-ヒドロキシタモキシフェン 1 μ M 共存下、1 時間)が検討されている。その結果として REC₅₀ 値(陽性対照物質 4-ヒドロキシタモキシフェンによる最大活性の 50%に相当する活性を誘導する濃度) 0.588 μ M(=134 μ g/L)の濃度で結合が認められた。

想定される作用メカニズム：エストロゲン関連受容体 γ に対するインバースアンタゴニスト作用

(6) 脂肪前駆細胞への影響

- Kodani ら(2016)によって、ベンジルパラペン(Acros Chemicals) 1、10、50 μ M(=228、2,280、11,400 μ g/L)の濃度に 7 日間ばく露したマウス繊維芽細胞(脂肪前駆細胞) 3T3-L1 への影響が検討されている。その結果として、10 μ M(=2,280 μ g/L)以上の濃度区で脂肪酸結合蛋白質(FABP4: fatty acid-binding protein 4) mRNA 相対発現量の高値、50 μ M(=11,400 μ g/L)の濃度区で脂質濃度、転写因子 C/EBP α (CCAAT/ enhancer binding protein) mRNA 相対発現量、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(PPAR γ : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ) mRNA 相対発現量の高値が認められた。

想定される作用メカニズム：脂肪酸アミド加水分解酵素阻害、PPAR γ に関連した脂肪細胞分化促進

なお、本試験結果の解釈にあたっては、これらの影響がアラキドニルエタノールアミド(AEA: Arachidonylethanolamide) 10 μ M 共存下でも更なる誘導を受けなかった点に注意を要すると判断された。AEA はカンナビノイド受容体(cannabinoid receptors CB1 及び CB2)アゴニストであり脂肪産生(lipidogenesis)促進因子であることが知られている。

また、これらの影響は、CB1 アンタゴニストである Rimonabant 0.5 μ M 共存下でも阻害を受けなかった点に注意を要すると判断された。

また、ヒト遺伝子組み換え脂肪酸アミド加水分解酵素(FAAH: fatty acid amide hydrolase)を用いた活性阻害試験(5 及び 60 分間)において、ベンジルパラペンの IC₅₀ 値 0.14 μ M(=32.0 μ g/L)及び 0.28 μ M(=64.0 μ g/L)を確認している点に注意を要すると判断された。

- Hu ら(2013b)によって、ベンジルパラペン(MP Biomedicals) 1、10、100 μ M(=228、2,280、22,800 μ g/L)の濃度に 7 日間ばく露したマウス繊維芽細胞(脂肪前駆細胞) 3T3-L1 への影響が検討されている。その結果として、100 μ M(=22,800 μ g/L)の濃度区でペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(PPAR γ : Peroxisome Proliferator- Activated Receptor γ) mRNA 相対発現量、転写因子 C/EBP (CCAAT/ enhancer binding protein) mRNA 相対発現量、脂肪酸合成酵素(FAS: fatty acid synthase) mRNA 相対発現量、脂肪酸結合蛋白質(FAPB4: fatty acid-binding protein 4) mRNA 相対発現量、アディポネクチン mRNA 相対発現量、脂質濃度の高値が認められた。なお、レプチン mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

想定される作用メカニズム：グルココルチコイドによる脂肪細胞分化促進作用

(7) グルココルチコイド受容体活性化作用

- Hu ら(2013b)によって、ベンジルパラペン 100 μ M(=22,800 μ g/L)の濃度に 18 時間ばく露したマウス繊維芽細胞(脂肪前駆細胞) 3T3-L1 (グルココルチコイド受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(グルココルチコイド受容体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、ルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

参考文献

- Hu Y, Zhang Z, Sun L, Zhu D, Liu Q, Jiao J, Li J and Qi M (2013a) The estrogenic effects of benzylparaben at low doses based on uterotrophic assay in immature SD rats. *Food and Chemical Toxicology*, 53, 69-74.
- Terasaki M, Abe R, Makino M and Tatarazako N (2015) Chronic toxicity of parabens and their chlorinated by-products in *Ceriodaphnia dubia*. *Environmental Toxicology*, 30 (6), 664-673.
- Terasaki M, Kamata R, Shiraishi F and Makino M (2009) Evaluation of estrogenic activity of parabens and their chlorinated derivatives by using the yeast two-hybrid assay and the enzyme-linked immunosorbent assay. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28 (1), 204-208.
- Sasaki K and Terasaki M (2018) Estrogen agonistic/antagonistic activity of brominated parabens. *Environmental Science and Pollution Research International*, 25 (21), 21257-21266.
- Darbre PD, Byford JR, Shaw LE, Hall S, Coldham NG, Pope GS and Sauer MJ (2003) Oestrogenic activity of benzylparaben. *Journal of Applied Toxicology*, 23 (1), 43-51.
- Pelch KE, Li Y, Perera L, Thayer KA and Korach KS (2019) Characterization of Estrogenic and Androgenic Activities for Bisphenol A-like Chemicals (BPs): *In vitro* estrogen and androgen receptors transcriptional activation, gene regulation and binding profiles. *Toxicological Sciences*, 172 (1), 23-37.
- Zhang Z, Sun L, Hu Y, Jiao J and Hu J (2013) Inverse antagonist activities of parabens on human oestrogen-related receptor γ (ERR γ): *in vitro* and *in silico* studies. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 270 (1), 16-22.
- Kodani SD, Overby HB, Morisseau C, Chen J, Zhao L and Hammock BD (2016) Parabens inhibit fatty acid amide hydrolase: A potential role in paraben-enhanced 3T3-L1 adipocyte differentiation. *Toxicology Letters*, 262, 92-99.
- Hu P, Chen X, Whitener RJ, Boder ET, Jones JO, Porollo A, Chen J and Zhao L (2013b) Effects of parabens on adipocyte differentiation. *Toxicological Sciences*, 131 (1), 56-70.

(令和3年度第2回 EXTEND2016 化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会 資料1-3より抜粋)