

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5年度及び令和6年度実施分)(案)

I. 令和5年度及び令和6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4年度に信頼性評価を実施する対象として選定した12物質群(表1参照)のうち、3物質について令和5年度において信頼性評価を実施した(参考資料3-1参照)。

また、令和5年度に信頼性評価を実施する対象として選定した11物質(表2参照)のうち、3物質について令和6年度に信頼性評価を実施した(参考資料3-2参照)。

表1 令和4年度に信頼性評価の対象とする12物質群

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		
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)
報告済		
ケトプロフェン	医薬品(消炎剤、鎮痛剤) <sup>1)</sup>	3.(1)
塩素化テトラデカン類(C=14、Cl=4~9)	中鎖塩素化パラフィン類(C=14~17、Cl=4~9)として防水防火塗料、樹脂可塑剤、路面ペイント、印刷インキ、潤滑油 <sup>1)</sup>	3.(1)
塩素化ペンタデカン類(C=15、Cl=4~9)	同上	3.(1)
塩素化ヘキサデカン類(C=16、Cl=4~9)	同上	3.(1)
塩素化ヘプタデカン類(C=17、Cl=4~9)	同上	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)
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)
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

表 2 令和 5 年度に信頼性評価の対象とする 11 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-3 (別名: 2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン)	紫外線吸収剤 <sup>1)</sup>	3.（1）
p-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル	医薬部外品添加物（化粧品配合剤、紫外線吸収剤） <sup>2)</sup>	3.（1）
TRIAC (別名: チラトリコール又は 3,3',5'-トリヨードサイロ酢酸)	甲状腺ホルモン補充薬 <sup>4)</sup>	3.（7）
実施中		
イソブチルパラベン	防カビ剤(化粧品、医薬、食品)、保存料 <sup>1)</sup>	3.（6）
フタル酸ジシクロヘキシル	可塑剤（防湿セロハン、アクリルラッカー、感熱接着）、ブロッキング防止剤（プラスチック表面） <sup>2)</sup>	3.（6）
ジノテフラン	農薬(殺虫剤) <sup>1)</sup>	3.（4）
ジベンゾチオフェン	医薬中間体 <sup>1)</sup>	3.（1）
ビスフェノール S (別名: 4,4'-スルホニルジフェノール)	染色助剤、難燃剤、写真用カプラー原料 <sup>1)</sup>	3.（6）
フタル酸ブチルベンジル	可塑剤（ポリサルファイド用シーリング、セラミックバインダー用、アクリル系塗料用） <sup>2)</sup>	3.（6）
ブチルパラベン	防カビ剤(化粧品、医薬、食品)、保存料 <sup>1)</sup>	3.（6）
レボフロキサシン	医薬品(抗菌薬) <sup>3)</sup>	3.（1）

\*化管法第一種指定化学物質

- 1) 化学工業日報社、17423 の化学商品（2023）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) 環境省、令和 4 年度版 化学物質と環境及びバックナンバー  
(<http://www.env.go.jp/chemi/kurohon/2023/index.html>)
- 4) PubChem, National Center for Biotechnology Information  
(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tiratricol>)

\*\*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. (4) 農薬残留対策総合調査
- 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5年度及び令和6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5年度及び令和6年度に信頼性評価を実施した6物質について、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ごとに表3に示した。

### 1. 信頼性評価の実施

令和5年度及び令和6年度に実施した6物質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(令和6年1月17日開催、同7月24日開催、同7月31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5年度及び令和6年度に実施した6物質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

- ベンラファキシシ：動物試験の報告において、抗エストロゲン様作用、アロマトーゼ活性化によるエストロゲン産生亢進作用、アンドロゲン様作用、アンドロゲン産生亢進作用、脳における甲状腺ホルモン代謝への影響、コルチゾールへの影響、視床下部一下垂体—副腎皮質軸への作用、ミネラルコルチコイド受容体及びグルココルチコイド受容体への作用、副腎髄質—生殖腺(アドレナリン—ライディッヒ細胞)への作用、抗グルココルチコイド作用、神経系への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エピネフリン作用の抑制作用、エストロゲン合成能への影響を示すことが示唆された。
- フタル酸ジエチル：動物試験の報告において、エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用によるステロイド代謝亢進作用、卵巣でのエストロゲン合成能の低下、精巣でのステロイドホルモン産生影響を示すこと、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、抗アンドロゲン作用、テストステロン産生の低下を示すこと、疫学的調査の報告において、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。
- フタル酸ジブチル：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、エストロゲン産生抑制作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、性ホルモン合成系への影響、アンドロゲン産生抑制作用、精巣におけるテストステロン産生抑制作用、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用

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、抗アンドロゲン作用、甲状腺ホルモン作用を示すこと、疫学的調査の報告において、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、抗甲状腺ホルモン様作用、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。

- *p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル：動物試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、甲状腺ホルモン代謝への影響、脱皮ホルモン様作用を示すこと、試験管内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、抗プロゲステロン作用、副腎皮質由来ホルモン合成への作用を示すことが示唆された。
- ベンゾフェノン-3：動物試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、甲状腺ホルモン代謝への影響、脱皮ホルモン様作用を示すこと、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、抗アンドロゲン作用、抗プロゲステロン作用を示すことが示唆された。
- TRIAC：ヒトへの投与試験の報告において、肝臓及び骨代謝における甲状腺ホルモン様作用を示すこと、試験管内試験の報告において、甲状腺ホルモン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物質

\*今回は得られなかった。

表3 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 ベンラファキシン	—	○	○	—	—	—	—	
2 フタル酸ジエチル	○	○	○	○	○	○	—	
3 フタル酸ジブチル	○	○	○	○	○	○	—	
4 <i>p</i> -メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル	○	○	○	○	○	○	○	
5 ベンゾフェノン-3	○	○	○	○	○	○	○	
6 TRIAC	—	—	—	—	○	—	—	
計	29 試験	4 試験	5 試験	5 試験	4 試験	5 試験	4 試験	2 試験

○：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. ベンラファキシン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ベンラファキシ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、脳神経系への影響、ニジマス肝細胞への影響、ヒト胎盤絨毛がん細胞又はヒト栄養膜細胞への影響、マウス生殖細胞への影響、抗グルココルチコイド作用、ヒトへの投与試験に関する報告がある。

#### (1) 生態影響

①Rodrigues ら(2020)によって、ベンラファキシン(Cayman Chemical、European Pharmacopoeia Reference Standard) 0.016、0.08、0.4、2.0、10 $\mu$ g/L(設定濃度)に受精後 1 時間(1 hpf)未滿から 80hpf までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(mRNA 相対発現量はセロトニン及びドーパミン作動系のモノアミン核内受容体及び伝達物質、その他の核内受容体及び ABC 伝達物質関連遺伝子を対象)が検討されている。その結果として、0.08 $\mu$ g/L 以上のばく露区で総奇形率の高値、0.08、0.4 $\mu$ g/L のばく露区で *drb1b* mRNA 相対発現量の低値、0.4 $\mu$ g/L 以上のばく露区で *adra2b* mRNA 相対発現量の高値、0.4 $\mu$ g/L のばく露区で *rxrga* mRNA 相対発現量、*pparb* mRNA 相対発現量、*pparg* mRNA 相対発現量、*abcg2a* mRNA 相対発現量の低値、10 $\mu$ g/L のばく露区で *net* mRNA 相対発現量、*mao* mRNA 相対発現量、*rxrgb* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、累積死亡率、*5-ht2c* mRNA 相対発現量、*serta* mRNA 相対発現量、*dat* mRNA 相対発現量、*rmat2* mRNA 相対発現量、*ppara* mRNA 相対発現量、*abcc1* mRNA 相対発現量、*abcc2* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16105】(評価結果の略号：△?)

想定される作用メカニズム：神経系への作用、催奇形性

②Melnyk-Lamont ら(2014)によって、ベンラファキシン(塩酸塩、Sigma-Aldrich) 0.2、1  $\mu$ g/L(設定濃度)に 7 日間(給餌なし)ばく露した未成熟(体重 89 $\pm$ 6g を 2 週間馴養)ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響が検討されている。その結果として、0.2 $\mu$ g/L 以上のばく露区で後脳中 3,4-ジヒドロキシフェノキシ酢酸/ドーパミン濃度比の低値、1  $\mu$ g/L のばく露区で中脳中 5-ヒドロキシインドール酢酸/セロトニン濃度比の低値、中脳中セロトニン濃度、中脳中ノルアドレナリン濃度の高値が認められた。なお、脳(下垂体、視床下部、視索前野、終脳、視蓋、後脳、小脳の各部位)中ドーパミン濃度には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(塩酸塩、Sigma-Aldrich) 1  $\mu$ g/L(設定濃度)に 7 日間(給餌なし)ばく露した未成熟(体重 89 $\pm$ 6g を 2 週間馴養)ニジマス(*O. mykiss*)への影響が検討されている。その結果として、海馬中 *CRF* (corticotropin-releasing factor) mRNA 相対発現量、中脳中 *GLUT2* (glucose transporter type 2) mRNA 相対発現量、後脳中 *POMCB* (pro-opiomelanocortin B) mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ベンラファキシン(塩酸塩、Sigma-Aldrich) 1  $\mu$ g/L(設定濃度)に 7 日間(給餌なし)+ 3 日間(摂餌試験)ばく露した未成熟(体重 89 $\pm$ 6g を 2 週間馴養)ニジマス(*O. mykiss*)への影響が検討されている。その結果として、日毎摂餌量の低値、subordinate 群の血漿中コルチゾール濃度の高値が認められた。なお、血漿中グルコース濃度、dominant 群の血漿中コルチゾール濃度には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(塩酸塩、Sigma-Aldrich) 1  $\mu$ g/L(設定濃度)に 7 日間(給餌なし)ばく露した未成熟(体重 89 $\pm$ 6g を 2 週間馴養)ニジマス(*O. mykiss*)への影響(ばく露期間終了 48 時間後に 10 分間

の敵対行動(Agonistic behavior)試験)が検討されているが、subordinate 群及び dominant 群の攻撃行動回数には影響は認められなかった。【16123】(△○P)

想定される作用メカニズム：神経系への作用、視床下部一下垂体一副腎軸への作用

- ③Hong ら(2022)によって、ベンラファキシン(塩酸塩、J&K Scientific、98%) 0.1、1、10、100 $\mu$ g/L(設定濃度)に受精後 2 時間(2 hpf)から受精後 180 日(180dpf)までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(181~190-192dpf の 8:30~9:30 にかけて産卵数、8:30~9:10 にかけて交配行動試験、mRNA 相対発現量は 180dpf 卵巢中)が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ g/L 以上のばく露区で交配行動間隔(交配行動間の中絶時間)の高値、0.1、1、10 $\mu$ g/L のばく露区で *ahsg2*(免疫系関連遺伝子) mRNA 相対発現量、*culla*(免疫系関連遺伝子) mRNA 相対発現量の低値、1  $\mu$ g/L 以上のばく露区で *arpc1b*(免疫系関連遺伝子) mRNA 相対発現量、*wasb*(免疫系関連遺伝子) mRNA 相対発現量、*itgb2*(免疫系関連遺伝子) mRNA 相対発現量、*gyglb*(免疫系関連遺伝子) mRNA 相対発現量の高値、10 $\mu$ g/L 以上のばく露区で産卵数の低値、*slc22a2*(Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>依存性神経伝達物質トランスポーターシグナル関連遺伝子)mRNA 相対発現量、*slc6a18*(Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>依存性神経伝達物質トランスポーターシグナル関連遺伝子) mRNA 相対発現量、*slc6a19b*(Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>依存性神経伝達物質トランスポーターシグナル関連遺伝子) mRNA 相対発現量、*cxcr1*(免疫系関連遺伝子) mRNA 相対発現量、*ckma*(クレアチニン代謝関連遺伝子) mRNA 相対発現量、*ckmb*(クレアチニン代謝関連遺伝子) mRNA 相対発現量の高値、100 $\mu$ g/L のばく露区で交配行動持続時間の低値、雌雄体重、雌体長、*slc6a14*(Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>依存性神経伝達物質トランスポーターシグナル関連遺伝子) mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、生存率、性比、雄体長、受精率、精子数(sperm concentration)、精子生存率(sperm viability)、交配率(交配試験において交配行動に費やした時間)、運動精子率、精子直線地点移動速度(VSL: Straight Line Velocity)、精子平均速度(VAP: Average Path Velocity)、精子曲線地点移動速度(VCL: Curvilinear Velocity)、精子直線性(LCN: Linearity)、精子ゆれ性(WOB: Wobble=VAP/VCL)、*ckbb*(クレアチニン代謝関連遺伝子) mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16087】(△?)

想定される作用メカニズム：不明

- ④Hodkovicova ら(2020)によって、ベンラファキシン(塩酸塩、Sigma-Aldrich、98%) 0.3、30 $\mu$ g/L(設定濃度)に 4~16 割球期から受精後 144 時間(144hpf)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、0.3 $\mu$ g/L 以上のばく露区で *gst p2*(Glutathione-S-transferase type p2) mRNA 相対発現量、*pxr*(Pregnane X receptor) mRNA 相対発現量の高値、30 $\mu$ g/L のばく露区で *cyp1a*(Cytochrome P450 family 1 subfamily A) mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、*abcb4*(Adenosine triphosphate-binding cassette subfamily B member 4) mRNA 相対発現量、*cyp3a65*(Cytochrome P450 family 3 subfamily A polypeptide) mRNA 相対発現量、*abcc1*(Adenosine triphosphate-binding cassette subfamily C member 1) mRNA 相対発現量、死亡、発達異常には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(塩酸塩、Sigma-Aldrich、98%) 0.3、30 $\mu$ g/L(設定濃度)に 4~16 割球期から受精後 96 時間(96hpf)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、0.3 $\mu$ g/L 以上のばく露区で *abcc1* mRNA 相対発現量、*pxr* mRNA 相対発現量の低値、0.3 $\mu$ g/L のばく露区で *abcb4* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、*cyp1a* mRNA 相対発現量、*cyp3a65* mRNA 相対発現量、*gst p2* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(塩酸塩、Sigma-Aldrich、98%) 0.3、30 $\mu$ g/L(設定濃度)に 4~16 割球期から受精後 24 時間(24hpf)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が、*abcb4* mRNA 相対発現量、*cyp1a* mRNA 相対発現量、*cyp3a65* mRNA 相対発現量、*gst p2* mRNA 相対

発現量、*abcc1* mRNA 相対発現量、*pxr* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16107】  
(△?)

想定される作用メカニズム：薬物代謝に関連する核内受容体への作用

- ⑤Minguez ら(2015)によって、ベンラファキシン(塩酸塩、CAS 99300-78-4、Interchim、99%) 0.3、30、100 $\mu$ g/L(設定濃度)に 24 時間未満齢から 21 日間ばく露したオオミジンコ、(*Daphnia magna*) F<sub>0</sub> への影響が検討されている。その結果として、0.3、100 $\mu$ g/L のばく露区で 2 回目出産における産仔数、3 回目出産における産仔数の低値、30 $\mu$ g/L 以上のばく露区で総産仔数、1 回目出産における産仔数、4 回目出産における産仔数、5 回目出産における産仔数の低値が認められた。なお、漸近的増殖速度(asymptotic population growth rate)には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(塩酸塩、CAS 99300-78-4、Interchim、99%) 0.3、30、100 $\mu$ g/L(設定濃度)に 24 時間未満齢から 14 日間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*) F<sub>1-B2</sub>(上記 F<sub>0</sub> が 2 回目出産した F<sub>1</sub>) への影響が検討されているが、総産仔数、初出産に至るまでの所要日数、漸近的増殖速度には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(塩酸塩、CAS 99300-78-4、Interchim、99%) 0.3、30、100 $\mu$ g/L(設定濃度)に 24 時間未満齢から 14 日間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*) F<sub>1-B5</sub>(上記 F<sub>0</sub> が 5 回目出産した F<sub>1</sub>) への影響が検討されているが、総産仔数、初出産に至るまでの所要日数、漸近的増殖速度には影響は認められなかった。【14434】(△?)

想定される作用メカニズム：微弱な繁殖毒性

- ⑧Tang ら(2022)によって、ベンラファキシン(TCI、98%) 1、10、100 $\mu$ g/L(設定濃度)に 20 日間ばく露した成熟雌雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(求愛行動試験は非ばく露異性魚を用いて実施、mRNA 相対発現量はセロトニン及びドーパミン作動系遺伝子を対象)が検討されている。その結果として、雄において、1  $\mu$ g/L 以上のばく露区で Selecting index (SI: 求愛行動試験における異性に接近する際の縦方向遊泳速度)、Time in proximity area (ROA: 求愛行動試験における異性近接領域での総滞在時間)、Courtship index (CI: 求愛行動試験における異性追跡行動潜時)、脳中ドーパミン濃度、脳中 *th1* mRNA 相対発現量、脳中 *th2* mRNA 相対発現量、脳中 *drd1b* mRNA 相対発現量、脳中 *drd2b* mRNA 相対発現量の低値、脳中 *5-ht1a* mRNA 相対発現量、脳中 *5-ht2c* mRNA 相対発現量の高値、10 $\mu$ g/L 以上のばく露区で Attracting index (AI: 求愛行動試験における異性に接近する際の横方向遊泳速度)の低値、100 $\mu$ g/L のばく露区で脳中セロトニン濃度の高値が認められた。なお、脳中 *dat* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

雌において、1  $\mu$ g/L 以上のばく露区で ROA、CI、脳中 *th1* mRNA 相対発現量、脳中 *th2* mRNA 相対発現量、脳中 *drd1b* mRNA 相対発現量、脳中 *drd2b* mRNA 相対発現量の低値、脳中 *5-ht1a* mRNA 相対発現量、脳中 *5-ht2c* mRNA 相対発現量の高値、10 $\mu$ g/L 以上のばく露区で脳中ドーパミン濃度の低値、脳中セロトニン濃度の高値、100 $\mu$ g/L のばく露区で SI の低値が認められた。なお、脳中 *dat* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、交配試験(ばく露雌と非ばく露雄との交配による産卵と思われる)において、1  $\mu$ g/L 以上のばく露区で平均遊泳速度(120hpf 明暗自発運動試験)、行動頻度(120hpf 明暗自発運動試験)、総遊泳距離(120hpf 明暗自発運動試験)の低値、10 $\mu$ g/L 以上のばく露区で孵化率(72hpf)の低値、100 $\mu$ g/L 以上のばく露区で体長(96hpf)の低値が認められた。なお、孵化率(96hpf)、頭部面積(96hpf)、眼部面積(96hpf)、最大遊泳速度(120hpf 明暗自発運動試験)には影響は認められなかった。

また、交配試験(ばく露雌と非ばく露雄との交配による産卵と思われる)において、1  $\mu$ g/L 以上の

ばく露区で孵化率(72hpf)、体長(96hpf)、頭部面積(96hpf)、平均遊泳速度(120hpf 明暗自発運動試験)、行動頻度(120hpf 明暗自発運動試験)、総遊泳距離(120hpf 明暗自発運動試験)の低値が認められた。なお、孵化率(96hpf)、眼部面積(96hpf)、最大遊泳速度(120hpf 明暗自発運動試験)には影響は認められなかった。【16088】(△?)

想定される作用メカニズム：神経系への作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、原著中の記載に不整合、不明瞭な箇所が散見される点に注意を要すると判断された。

- ⑨Tang ら(2021)によって、ベンラファキシン(塩酸塩、TCI、98%) 1 µg/L(設定濃度)に受精後 2 時間(2 hpf)から 120hpf 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、全身中セロトニン濃度、全身中ノルアドレナリン濃度、全身中 cAMP 濃度、全身中コルチゾール濃度、全身中 CREB (cAMP response element binding protein)リン酸化率、全身中 *star* mRNA 相対発現量、全身中 *cyp11a1* mRNA 相対発現量、全身中 *cyp11b1* mRNA 相対発現量、自発運動試験における総移動距離、自発運動試験における行動頻度、自発運動試験における明条件での移動距離、自発運動試験における暗条件での移動距離の高値が認められた。なお、自発運動試験における接触走性、自発運動試験における最大遊泳速度、自発運動試験における平均遊泳速度には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(塩酸塩、TCI、98%) 1 µg/L(設定濃度)に受精後 2 時間(2 hpf)から 72hpf 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、体長、頭部面積、眼部面積の高値が認められた。【16100】(△?)

想定される作用メカニズム：神経系への作用、催奇形性

- ⑩Parrott と Metcalfe (2017)によって、ベンラファキシン(塩酸塩、SynFine Research、99.9%) 1.00±0.04、9.26±1.9、75.2±19.5 µg/L(測定濃度)(設定濃度 0.88、8.8、88 µg/L に相当)に受精後から 162~163 日齢まで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、1.00 µg/L のばく露区で雌産卵管(ovipositor)面積の低値、雄生殖突起(genital papillae)面積の高値、9.29 µg/L のばく露区で雌肥満度の高値が認められた。なお、生存率、雌雄体重、雌雄体長、雌雄生殖腺体指数、雌雄肝臓体指数、雌雄ヘマトクリット値、雄肥満度、雄二次性徴指数(tubercle index 及び male index)には影響は認められなかった。

また、交配試験において、77~99 日齢から 125 日齢にかけての産卵において、75.2 µg/L のばく露区で総産卵数(雌魚一個体当)の高値が認められた。なお、産卵数(産卵一回当)、産卵回数、未受精卵率、卵死亡率、孵化までの所要日数、孵化率、卵稚仔死亡率、卵稚仔奇形率には影響は認められなかった。【16118】(○○P)

想定される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用又はアンドロゲン様作用

- ⑪Vera-Chang ら(2019)によって、ベンラファキシン(Sigma、98%) 5 µg/L(設定濃度)に受精後 0 日目(0 dpf)から 6 dpf までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*) F<sub>0</sub> への影響 (6 ヶ月齢雄 F<sub>4</sub> について測定) が検討されている。その結果として、全身中コルチゾール濃度(障害物としての網を用いたストレス条件下)の低値が認められた。なお、全身中コルチゾール濃度(非ストレス条件下)には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(Sigma、98%) 5 µg/L(設定濃度)に受精後 0 日目(0 dpf)から 6 dpf までばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*) F<sub>0</sub> への影響 (6 ヶ月齢雌 F<sub>4</sub> について測定) が検討されているが、全身中コルチゾール濃度(障害物としての網を用いたストレス条件下)、全身中コルチゾール濃度(非

ストレス条件下)には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(Sigma, 98%) 5 µg/L(設定濃度)に受精後 0 日目(0 dpf)から 6 dpf までばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*) F<sub>0</sub> への影響(6 ヶ月齢 F<sub>4</sub> 交配試験)が検討されているが、産卵率、受精率には影響は認められなかった。【16111】(○●P)

想定される作用メカニズム：コルチゾールへの影響

- ⑬Tang ら(2019)によって、ベンラファキシン(塩酸塩、TCI, 98%) 25µg/L(設定濃度)に 6 ヶ月齢から 7 日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、脳中 *serta* (serotonin transporters) mRNA 相対発現量、行動試験におけるフリージング行動回数(freezing bouts)、行動試験におけるフリージング持続時間の低値、脳中 *vmat2* (vesicular monoamine transporter 2) mRNA 相対発現量、脳中セロトニン濃度、脳中ノルアドレナリン濃度の高値が認められた。なお、脳中ドーパミン濃度、脳中 *net* (norepinephrine transporters) mRNA 相対発現量、脳中 *dat* (dopamine transporters) mRNA 相対発現量、脳中 *mao* (monoamine oxidase) mRNA 相対発現量、行動試験における総移動距離、行動試験における上層滞在時間、行動試験における上層移動潜時、行動試験における上層移動距離には影響は認められなかった。【16109】(△×)

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、換水条件等、曝露条件の記載が不明瞭な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)

- ⑥Schultz ら(2011)によって、ベンラファキシン(塩酸塩、Bosche Scientific, 98%) 0.305±0.032、1.104±0.089µg/L(測定濃度)に 6 ヶ月以上齢から 21 日間ばく露した成熟雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、0.305µg/L 以上のばく露区で生存率の低値が認められた。なお、生殖腺体指数、肝臓体指数、肥満度、血漿中ビテロゲン濃度、精巣における間質細胞顕在化度、二次性徴(nuptial tubercles, dorsal pad, color expression) 総合スコア、精巣中精原細胞数、精巣中精子数、肝臓中脂肪細胞量、肝臓細胞の液胞化度には影響は認められなかった。【14452】

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。

- ⑦Painter ら(2009)によって、ベンラファキシン(塩酸塩、US Geological Survey にて調製、98%)0.5、2.5、5 µg/L(設定濃度)に受精後 12 時間未満齢から孵化(受精後 5 日目)までばく露したファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(12 日齢にて逃避行動(C-start behavior)試験)が検討されている。その結果として、0.5µg/L のばく露区で逃避時総遊泳速度(体長補正值、刺激後から行動開始後 40 ミリ秒まで)、反応潜時の低値が認められた。なお、体長、遊泳速度(体長補正值、行動開始直後の 40 ミリ秒間)には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(塩酸塩、US Geological Survey にて調製、98%) 0.5、2.5、5 µg/L(設定濃度)に孵化後 48 時間未満齢から 12 日間ばく露したファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(逃避行動(C-start behavior)試験)が検討されている。その結果として、5 µg/L のばく露区で逃避時総遊泳速度(体長補正值、刺激後から行動開始後 40 ミリ秒まで)の低値、反応潜時の高値が認められた。なお、体長、遊泳速度(体長補正值、行動開始直後の 40 ミリ秒間)には影響は認められなかった。【14457】

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。

⑩Ikert ら(2020)によって、ベンラファキシシ(Sigma-Aldrich) 1 µg/L(設定濃度)に 21 日間ばく露した成熟雌雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、雄において(精巣中マイクロ RNA 相対発現量)、miR-22b、miR-301a の低値が認められた。なお、let-7d-5p、miR-140-5p、miR-210-5p、miR-457b には影響は認められなかった。

また、雌において(卵巣中マイクロ RNA 相対発現量)、miR-22b、miR-301a の低値が認められた。なお、let-7d-5p、miR-140-5p、miR-210-5p、miR-457b には影響は認められなかった。【16108】  
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。

⑭Parrott と Metcalfe (2018)によって、ベンラファキシシ(塩酸塩、SynFine Research、99.9%) 1.00、9.26±1.9、75.2±19.5µg/L(測定濃度)(設定濃度 0.88、8.8、88µg/L に相当)に受精卵から 162~163 日齢までばく露したファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(90~162 日齢にかけては産卵観察)が検討されている。その結果として、75.2µg/L のばく露区で巣が空の条件(Empty Net)における偽侵入者(dummy intruder)に対する接触率の高値が認められた。なお、巣に卵がある条件(Eggs in Nest)における偽侵入者に対する接触率、巣が空の条件における偽侵入者に対する短時間(10 秒間以下)接触率、巣に卵がある条件における偽侵入者に対する短時間(10 秒間以下)接触率、巣が空の条件における偽侵入者に対する接触頻度、巣に卵がある条件における偽侵入者に対する接触頻度には影響は認められなかった。【16116】

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。

⑮Rivetti ら(2019)によって、ベンラファキシシ(塩酸塩、Sigma-Aldrich、98%) 0.1µg/L(設定濃度)に 24 時間未満齢から 4 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が、全身中セロトニン濃度、全身中ドーパミン濃度、全身中オクタパミン濃度、全身中アドレナリン濃度、全身中ノルアドレナリン濃度、全身中アセチルコリン濃度には影響は認められなかった。【16112】  
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) 生殖影響

①de Santi ら(2022)によって、ベンラファキシシ(PharmaNostra) 30mg/kg/day を 35 日間経口投与した雄 Holtzman ラット(入手時 90 日齢)への影響(mRNA 相対発現量はアドレナリン作動性シグナル伝達経路関連遺伝子を対象)が検討されている。その結果として、精細管断面積、精細管上皮断面積、精細管内腔断面積の低値、血清中テストステロン濃度、血清中エストロゲン濃度、精細管中 UCHL1 (Ubiquitin Carboxy-Terminal Hydrolase L1)蛋白質発現量、精巣中 UCHL1 蛋白質発現量、精巣中ライディッヒ細胞核面積、精巣間質細胞における Ki-67 蛋白質発現率、精巣中 StAR 蛋白質相対発現量、精巣中アロマターゼ蛋白質発現量、精巣中 EGF 蛋白質相対発現量、精巣中 *Ndr2* mRNA 相対発現量、精巣中 *Nur77* mRNA 相対発現量、精巣中 *Adrala* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、精巣中亜硝酸濃度、精巣中過酸化脂質濃度には影響は認められなかった。【16091】(△○P)  
想定される作用メカニズム：アンドロゲン様作用、副腎髄質—生殖腺(アドレナリン—ライディッヒ細胞)への作用

②de Santi ら(2021)によって、ベンラファキシシ(PharmaNostra) 30mg/kg/day を 35 日間経口投与した雄 Holtzman ラット(入手時 90 日齢)への影響(mRNA 相対発現量はアドレナリン作動性シグナル伝達経路関連遺伝子を対象)が検討されている。その結果として、正常形態精子率、前進運動精子率、ミトコンドリア活性、右精巣上体尾中精子濃度、精細管当セルトリ細胞数の低値、精巣内液中テストステロン濃度、精巣中エストロゲン濃度、頭部奇形精子率、尾部奇形精子率、非前進運動精子率、右精巣

中 step 19 精子細胞濃度、セルトリ細胞のアポトーシス率、精細管の精子保有率、精細管中 Connexin 43 mRNA 相対発現量、精細管中アロマターゼ蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、総運動精子率には影響は認められなかった。

また、投与後 30 日間の非投与期間後(回復試験)において、前進運動精子率、ミトコンドリア活性、精細管当セルトリ細胞数の低値、非前進運動精子率、セルトリ細胞のアポトーシス率の高値が認められた。なお、精巣内液中テストステロン濃度、精巣中エストロゲン濃度、正常形態精子率、総運動精子率、頭部奇形精子率、尾部奇形精子率、右精巣中 step 19 精子細胞濃度、右精巣上体尾中精子濃度、精細管の精子保有率、精細管中 Connexin 43 mRNA 相対発現量、精細管中アロマターゼ蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。【16104】(△○P)

想定される作用メカニズム：アロマターゼ活性化によるエストロゲン産生亢進作用

- ③Saleem ら(2020)によって、ベンラファキシン(塩酸塩、CCL Pharmaceuticals) 40、150mg/kg/day を 70 日間経口投与した雄ラット(入手時体重 200~250g)への影響が検討されている。その結果として、40mg/kg/day 以上のばく露群で正常形態精子率、血中卵胞刺激ホルモン濃度の低値、体重、血中テストステロン濃度の高値、40mg/kg/day のばく露群で不動精子率、右精巣絶対重量、血中黄体形成ホルモン濃度の低値、150mg/kg/day のばく露群で前進運動精子率の高値が認められた。なお、左精巣絶対重量、精巣上体尾中精子数、運動精子率には影響は認められなかった。【16103】(△○P)

想定される作用メカニズム：アンドロゲン産生亢進作用

- ④Eid ら(2019)によって、ベンラファキシン(塩酸塩、CCL Pharmaceuticals) 50mg/kg/day を 21 日間経口投与した成熟雄 SD ラット(加熱殺菌した結核菌である Freund's complete adjuvant 皮下投与による関節炎誘導処置済)への影響が検討されている。その結果として、形態異常精子率、精細管数(画像中密度)、精巣中 AST (aspartate transaminase)比活性、精巣中 ALT (alanine transaminase)比活性、精巣中 ミエロペルオキシダーゼ比活性、精巣中 TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor-alpha)蛋白質発現量、精巣中 NK- $\kappa$ B (nuclear factor kappa B)蛋白質発現率(画像面積)、精巣中過酸化脂質濃度、精巣中窒素酸化物濃度、精巣中カスパーゼ発現率(画像面積)、精巣中 p53 蛋白質相対発現量、精巣中 Bax (Bcl-2 associated x protein)蛋白質相対発現量、精巣中 cleaved PARP (poly(ADP-ribose) polymerase)蛋白質相対発現量、精巣中 cleaved カスパーゼ 3 蛋白質相対発現量、精巣中 AMPK (AMP-activated protein)りん酸化率、肢(paw)直径の低値、生殖腺体指数、精巣上体尾中精子数、運動精子率、精細管直径、精細管上肥厚、精巣中 ACP (acid phosphatase)比活性、精巣中 ALP (alkaline phosphatase)比活性、血清中テストステロン濃度、精巣中  $3\beta$ -HSD (hydroxy steroid dehydrogenase) mRNA 相対発現量、精巣中  $17\beta$ -HSD mRNA 相対発現量、精巣中 *StAR* (steroidogenic acute regulatory protein) mRNA 相対発現量、精巣中 IL-10 (interleukin-10)蛋白質発現量、精巣中還元型グルタチオン濃度、精巣中 ERK1/2 (extracellular signal-regulated protein kinase 1/2)りん酸化率、精巣中 AKT (protein kinase B)りん酸化率、精巣中 m-TOR (mammalian target of rapamycin)りん酸化率、精巣中 PI3K (phosphoinositide 3 kinase)蛋白質相対発現量の高値が認められた。【16114】(△○P)

想定される作用メカニズム：アンドロゲン産生亢進作用

### (3) 脳神経系への影響

- ①Yau ら(2001)によって、ベンラファキシン(Wyeth Ayerst Research) 10mg/kg/day を最長 9 日間(日毎 9:00 ~9:30 にかけて)経口投与した雄 LH ラットへの影響が検討されている。その結果として、海馬(CA3 野)中 *GR* (グルココルチコイド受容体) mRNA 相対発現量、海馬(歯状回、CA1 野、CA2 野、CA3 野、

CA4 野)中 MR (ミネラルコルチコイド受容体) mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、水迷路空間学習試験における逃避行動潜時(投与 2、3、4 日後)には影響は認められなかった。【16138】(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体—副腎皮質軸への作用、ミネラルコルチコイド受容体及びグルココルチコイド受容体への作用

- ②Connor ら(2000)によって、ベンラファキシン(塩酸塩、Wyeth-Ayerst laboratories) 10mg/kg/day を 24 日間腹腔内投与した成熟雄 SD ラットへの影響(23 日目投与の 5 時間後に 15 分間又は 24 日目投与 1 時間後に 5 分間の強制遊泳試験を実施し、強制遊泳試験終了 45 分後に剖検)が検討されている。その結果として、前頭皮質中 5-ヒドロキシインドール酢酸濃度、扁桃体中 5-ヒドロキシインドール酢酸濃度、前頭皮質中 5-ヒドロキシインドール酢酸/セロトニン濃度比、扁桃体中 5-ヒドロキシインドール酢酸/セロトニン濃度比の低値が認められた。なお、前頭皮質中セロトニン濃度、扁桃体中セロトニン濃度、血清中コルチコステロン濃度、強制遊泳試験における無動時間には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(塩酸塩、Wyeth-Ayerst laboratories) 10mg/kg/day を 24 日間腹腔内投与した成熟雄 SD ラットへの影響(強制遊泳試験を実施せず、最終投与から 1 時間 50 分後に剖検)が検討されている。その結果として、前頭皮質中 5-ヒドロキシインドール酢酸濃度、扁桃体中 5-ヒドロキシインドール酢酸濃度、前頭皮質中 5-ヒドロキシインドール酢酸/セロトニン濃度比、扁桃体中 5-ヒドロキシインドール酢酸/セロトニン濃度比の低値が認められた。なお、前頭皮質中セロトニン濃度、扁桃体中セロトニン濃度、血清中コルチコステロン濃度には影響は認められなかった。【14509】(○?)

想定される作用メカニズム：不明

- ③Zhang ら(2015)によって、8~10 週齢から 6 週間の慢性的弱ストレス(CMS: chronic mild stress)条件下、ベンラファキシン(HaiShen) 15mg/kg/day を 3 週目から 3 週間(日毎 13:00)腹腔内投与した雄 Chinese Kun Ming マウスへの影響が検討されている。その結果として海馬(歯状回、CA1 野、CA3 野)中 DISC1 (disrupted in schizophrenia 1)蛋白質発現量、海馬(歯状回、CA1 野、CA3 野)中 PDE4B (phosphodiesterase 4B)蛋白質発現量の低値、蔗糖嗜好性試験におけるシュークロース絶対及び相対摂取量、蔗糖嗜好性試験におけるシュークロース嗜好率、海馬細胞増殖率、海馬(歯状回、CA1 野、CA3 野)中 NMDA (*N*-methyl-*D*-aspartate)受容体 2B 蛋白質発現量の高値が認められた。なお、体重、オープンフィールド試験における総移動距離、オープンフィールド試験における移動速度、オープンフィールド試験における Central Squares 滞在時間には影響は認められなかった。【16121】(△?)
- 想定される作用メカニズム：不明

- ④Franklin ら(1998)によって、ベンラファキシン(塩酸塩) 15mg/kg/day を 4 日間皮下投与した雄 SD ラット(入手時体重 250~300g)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、松果体中メラトニン濃度、松果体中ノルアドレナリン濃度の高値が認められた。

また、ベンラファキシン(塩酸塩) 15mg/kg を単回皮下投与した雄 SD ラット(入手時体重 250~300g)への影響(投与 4 時間後)が検討されている。その結果として、松果体中メラトニン濃度、松果体中ノルアドレナリン濃度の高値が認められた。

また、ベンラファキシン(塩酸塩) 2、7.5、15mg/kg を単回皮下投与した雄 SD ラット(入手時体重 250~300g)への影響(投与 4 時間後)が検討されている。その結果として、2 mg/kg のばく露群で松果体中メラトニン濃度の低値(15mg/kg 群では高値)、2、7.5mg/kg のばく露群で松果体中ノルアドレ

ナリン濃度の高値が認められた。

また、ベンラファキシン(塩酸塩) 15mg/kg を単回皮下投与した雄 SD ラット(入手時体重 250~300g)への影響(投与 1、2、4 時間後)が検討されている。その結果として、松果体中メラトニン濃度(投与 4 時間後)、松果体中ノルアドレナリン濃度(投与 2 時間後)の高値が認められた。【16140】(×)

想定される作用メカニズム：松果体のノルアドレナリン受容体への影響

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。

⑤Labaka ら(2021)によって、ベンラファキシン(Sigma-Aldrich) 20mg/kg/day を 9 週齢から 3 週間(日毎 9:00~10:00)腹腔内投与した雌 CD1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、海馬中 *GR* (グルココルチコイド受容体)/*MR* (ミネラルコルチコイド受容体) mRNA 相対発現量比の低値、海馬中 *GR* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、体重、蔗糖嗜好性試験におけるシュークローズ摂取量、蔗糖嗜好性試験におけるシュークローズ嗜好率、血漿中コルチコステロン濃度、海馬中 *MR* mRNA 相対発現量、海馬中 *IL-1β* mRNA 相対発現量、海馬中 *IL-6* mRNA 相対発現量、海馬中 *TNF-α* mRNA 相対発現量、海馬中 *IL-10* mRNA 相対発現量、海馬中 *IL-1β* / *IL-10* mRNA 相対発現量比、海馬中 *IL-6* / *IL-10* mRNA 相対発現量比、海馬中 *TNF-α* / *IL-10* mRNA 相対発現量比、海馬中トリプトファン濃度、海馬中 5-ヒドロキシインドール酢酸濃度、海馬中ノルアドレナリン濃度、海馬中 3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニルグリシドール濃度、海馬中キヌレニン/トリプトファン濃度比、視床下部中 *GR* mRNA 相対発現量、視床下部中 *MR* mRNA 相対発現量、視床下部中 *GR* / *MR* mRNA 相対発現量比、線条体中 *IL-1β* mRNA 相対発現量、線条体中 *IL-6* mRNA 相対発現量、線条体中 *TNF-α* mRNA 相対発現量、線条体中 *IL-10* mRNA 相対発現量、線条体中 *IL-1β* / *IL-10* mRNA 相対発現量比、線条体中 *IL-6* / *IL-10* mRNA 相対発現量比、線条体中 *TNF-α* / *IL-10* mRNA 相対発現量比には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(Sigma-Aldrich) 20mg/kg/day を 9 週齢から 7 週間の慢性的社会的不安(CSI: chronic social instability)ストレス条件下、4 週目から 3 週間(日毎 9:00~10:00)腹腔内投与した雌 CD1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、蔗糖嗜好性試験におけるシュークローズ摂取量、蔗糖嗜好性試験におけるシュークローズ嗜好率、海馬中 *GR* (グルココルチコイド受容体) / *MR* (ミネラルコルチコイド受容体) mRNA 相対発現量比、線条体中 *IL-6* / *IL-10* mRNA 相対発現量比の低値、海馬中 *GR* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、体重、血漿中コルチコステロン濃度、海馬中 *MR* mRNA 相対発現量、海馬中 *IL-1β* mRNA 相対発現量、海馬中 *IL-6* mRNA 相対発現量、海馬中 *TNF-α* mRNA 相対発現量、海馬中 *IL-10* mRNA 相対発現量、海馬中 *IL-1β* / *IL-10* mRNA 相対発現量比、海馬中 *IL-6* / *IL-10* mRNA 相対発現量比、海馬中 *TNF-α* / *IL-10* mRNA 相対発現量比、海馬中トリプトファン濃度、海馬中 5-ヒドロキシインドール酢酸濃度、海馬中ノルアドレナリン濃度、海馬中 3-メトキシ-4-ヒドロキシフェニルグリシドール濃度、海馬中キヌレニン/トリプトファン濃度比、視床下部中 *GR* mRNA 相対発現量、視床下部中 *MR* mRNA 相対発現量、視床下部中 *GR* / *MR* mRNA 相対発現量比、線条体中 *IL-1β* mRNA 相対発現量、線条体中 *IL-6* mRNA 相対発現量、線条体中 *TNF-α* mRNA 相対発現量、線条体中 *IL-10* mRNA 相対発現量、線条体中 *IL-1β* / *IL-10* mRNA 相対発現量比、線条体中 *TNF-α* / *IL-10* mRNA 相対発現量比には影響は認められなかった。【16095】(△○P)

想定される作用メカニズム：抗グルココルチコイド作用

⑥Nowakowsk と Kus (2005)によって、ベンラファキシシ(塩酸塩、Efectin<sup>®</sup>、Wyeth-Ayerst Laboratories) 20mg/kg/day を 14 日間経口投与(併せてゴマ油 0.2mL/day を皮下投与)した雌 Wistar ラット(ゴマ油皮下投与開始 24 時間前に両卵巣摘出处置済)への影響が検討されている。その結果として、Morris 水迷路試験における不動時間、Morris 水迷路試験における逃避行動潜時の低値が認められた。なお、Morris 水迷路試験における quadrants 滞在時間には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシシ(塩酸塩、Efectin<sup>®</sup>、Wyeth-Ayerst Laboratories) 20mg/kg/day を 14 日間経口投与(併せてゴマ油 0.2mL/day 中 17 $\beta$ -エストラジオール 5  $\mu$ g/day を皮下投与)した雌 Wistar ラット(ゴマ油皮下投与開始 24 時間前に両卵巣摘出处置済)への影響が検討されている。その結果として、Morris 水迷路試験における不動時間、Morris 水迷路試験における逃避行動潜時、Morris 水迷路試験における quadrants 滞在時間の低値が認められた。

また、ベンラファキシシ(塩酸塩、Efectin<sup>®</sup>、Wyeth-Ayerst Laboratories) 20mg/kg/day を 14 日間経口投与(併せてゴマ油 0.2mL/day を皮下投与)した雌 Wistar ラット(ゴマ油皮下投与開始 24 時間前に偽手術処置済)への影響が検討されている。その結果として、Morris 水迷路試験における quadrants 滞在時間の低値が認められた。なお、Morris 水迷路試験における不動時間、Morris 水迷路試験における逃避行動潜時には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシシ(塩酸塩、Efectin<sup>®</sup>、Wyeth-Ayerst Laboratories) 20mg/kg/day を 14 日間経口投与(併せてゴマ油 0.2mL/day 中 17 $\beta$ -エストラジオール 5  $\mu$ g/day を皮下投与)した雌 Wistar ラット(ゴマ油皮下投与開始 24 時間前に偽手術処置済)への影響が検討されている。その結果として、Morris 水迷路試験における逃避行動潜時、Morris 水迷路試験における quadrants 滞在時間の低値が認められた。なお、Morris 水迷路試験における不動時間には影響は認められなかった。【16134】(△?)

想定される作用メカニズム：不明

⑦Piacentini ら(2003)によって、ベンラファキシシ(WY-45030-W) 20mg/kg/day を単回腹腔内投与した雄 Wistar ラットへの影響(投与後 140 分間マイクロダイアリシス(脳内微小透析法 (microdialysis : MD) は脳内に挿入した微小な透析膜カテーテルを利用して透析の原理により脳組織の細胞外液を採取し、その中の化学物質の濃度を測定する生化学的脳モニタリング法である。)による海馬組織液採取)が検討されている。その結果として、海馬中ノルアドレナリン濃度(投与後 40、60、80 分)、海馬中セロトニン濃度(投与後 20、40、60、80 分)の高値が認められた。なお、海馬中ドーパミン濃度には影響は認められなかった。

ベンラファキシシ(WY-45030-W) 20mg/kg/day を単回腹腔内投与した雄 Wistar ラットへの影響(投与後 140 分間マイクロダイアリシスによる海馬組織液採取)が検討されている。その結果として、血漿中プロラクチン濃度(投与後 60 分)、血漿中副腎皮質刺激ホルモン濃度(投与後 60 分)の高値が認められた。なお、血漿中成長ホルモン濃度には影響は認められなかった。【16135】(×—)

想定される作用メカニズム：神経伝達物質を介した作用

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である点に注意を要すると判断された。

⑧Stout ら(2002)によって、ベンラファキシシ(塩酸塩、Wyeth-Ayerst) 21mg/kg/day を 27 日間皮下投与し、測定直前に 30 分間の拘束ストレス(immobilization stress)を負荷した成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、室傍核中 CRF(副腎皮質刺激ホルモン放出因子=副腎皮質刺激ホルモン放出ホルモン) hr(ヘテロ核)RNA 相対発現量の低値が認められた。なお、ストレスを負荷しない条件では、この影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(塩酸塩、Wyeth-Ayerst) 25mg/kg/day を 26 日間皮下投与し、測定直前に 15 分間の強制水泳ストレスを負荷した成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、室傍核中 *CRF hrRNA* 相対発現量の低値が認められた。なお、ストレスを負荷しない条件では、この影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(塩酸塩、Wyeth-Ayerst) 30mg/kg/day を 26 日間皮下投与し、測定直前に投与終了前 2 週間の強制遊泳等種々のストレスを負荷した成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、室傍核中 *CRF hrRNA* 相対発現量の低値が認められた。なお、脳(正中隆起、扁桃核、青斑核)中 *CRF* 濃度、脳(室傍核、前頭葉、扁桃核基底外側部)中 *CRF<sub>1</sub>R* (*CRF<sub>1</sub>* 受容体) mRNA 相対発現量、脳(室傍核、前頭葉、扁桃核基底外側部)中 *CRF<sub>2A</sub>R* (*CRF<sub>2A</sub>* 受容体) mRNA 相対発現量、血漿中副腎皮質刺激ホルモン濃度、血清中コルチコステロン濃度、副腎絶対重量には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(塩酸塩、Wyeth-Ayerst) 30mg/kg/day を 26 日間皮下投与した成熟雄 SD ラットへの影響(ストレスを負荷しない条件下)が検討されている。その結果として、脳(扁桃核)中 *CRF* 濃度の高値が認められた。なお、脳(室傍核、前頭葉、扁桃核基底外側部)中 *CRF<sub>1</sub>R* (*CRF<sub>1</sub>* 受容体) mRNA 相対発現量、脳(室傍核、前頭葉、扁桃核基底外側部)中 *CRF<sub>2A</sub>R* (*CRF<sub>2A</sub>* 受容体) mRNA 相対発現量、血漿中副腎皮質刺激ホルモン濃度、血清中コルチコステロン濃度、副腎絶対重量には影響は認められなかった。【16136】(△?)

想定される作用メカニズム：不明

- ⑨Zhang ら(2010)によって、ベンラファキシン(Wyeth Medica) 30mg/kg/day を慢性予測不能ストレス (CUMS: chronic unpredictable mild stress)条件下 6 週間経口投与した成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として血漿中コルチコステロン濃度、蔗糖嗜好性試験におけるシュークロース嗜好率の低値、海馬(歯状回、CA1 野)中 BDNF (brain-derived neurotrophic factor)蛋白質発現量、前頭葉中 BDNF 蛋白質発現量の高値が認められた。なお、体重、血漿中副腎皮質刺激ホルモン濃度、海馬(CA3 野)中 BDNF 蛋白質発現量には影響は認められなかった。【16127】(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部—下垂体—副腎皮質軸への作用

- ⑩Pinna (2003)によって、ベンラファキシン(Wyeth) 30mg/kg/day を 14 日間腹腔内投与した成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、扁桃核ミエリン分画中トリヨードサイロニン濃度の高値が認められた。なお、扁桃核磨砕物中トリヨードサイロニン濃度、扁桃核分画中トリヨードサイロニン濃度、扁桃核ミトコンドリア分画中トリヨードサイロニン濃度、扁桃核シナプトソーム分画中トリヨードサイロニン濃度、扁桃核ミクロソーム分画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。【14500】(△○P)

想定される作用メカニズム：脳における甲状腺ホルモン代謝への影響

#### (4) ニジマス肝細胞への影響

- ①Ings ら(2012)によって、ベンラファキシン(Sigma) 0.0001、0.01、1  $\mu$ M(=0.0277、2.77、277 $\mu$ g/L)の濃度に 1 又は 24 時間ばく露したニジマス肝臓細胞(1 年齢未満幼若個体由来)への影響が検討されている。その結果として、1  $\mu$ M(=277 $\mu$ g/L)の濃度区でグルコース細胞外分泌濃度(アドレナリン 1  $\mu$ M 共存下 1 時間)の低値が認められた。なお、グルコース細胞外分泌濃度(コルチゾール 100ng/mL 共存下 24 時間)には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(Sigma) 0.0001、0.01、0.1、1  $\mu$ M(=0.0277、2.77、27.7、277 $\mu$ g/L)の濃度に

1 又は 24 時間ばく露したニジマス肝臓細胞(1 年齢未満幼若個体由来)への影響が検討されている。その結果として、1  $\mu\text{M}$ (=277 $\mu\text{g/L}$ )の濃度区でグルコース細胞外分泌濃度(24 時間)の低値が認められた。なお、グルコース細胞外分泌濃度(8-ブロモ cAMP 500 $\mu\text{M}$  共存下 1 時間)、グルコース細胞外分泌濃度(グルカゴン 0.1 又は 10 $\mu\text{M}$  共存下 1 間)には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(Sigma) 1  $\mu\text{M}$ (=277 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 1 又は 24 時間ばく露したニジマス肝臓細胞(1 年齢未満幼若個体由来)への影響が検討されているが、*GLUT2* (glucose transporter 2) mRNA 相対発現量(24 時間)、*GLUT2* mRNA 相対発現量(アドレナリン 1  $\mu\text{M}$  共存下 24 時間)には影響は認められなかった。【16126】(△○P)

想定される作用メカニズム：エピネフリン作用の抑制作用（1 時間ばく露の結果）

#### (5) ヒト胎盤絨毛がん細胞又はヒト栄養膜細胞への影響

①Hudon ら(2019)によって、ベンラファキシン(Sigma-Aldrich) 0.03、0.1、0.3、1  $\mu\text{M}$ (=8.32、27.7、83.2、277 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 24 時間ばく露したヒト栄養膜細胞(37~41 週間目の胎盤由来一次培養細胞)への影響が検討されている。その結果として、1  $\mu\text{M}$ (=277 $\mu\text{g/L}$ )の濃度区でアロマターゼ活性の低値が認められた。

また、ベンラファキシン(Sigma-Aldrich) 0.03、0.1、0.3、1、3  $\mu\text{M}$ (=8.32、27.7、83.2、277、832 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 24 時間ばく露したヒト胎盤絨毛がん細胞 BeWo への影響が検討されているが、アロマターゼ活性には影響は認められなかった。【16110】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン合成の抑制作用

#### (6) マウス生殖細胞への影響

①Solek ら(2021)によって、ベンラファキシン(塩酸塩、Thermo Fisher Scientific 又は Cayman Chemical) 250 $\mu\text{M}$ (=69,400 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 96 時間(48 時間でも測定)ばく露したマウス type B 精原細胞(GC-1 spg)への影響(mRNA 相対発現量は細胞分裂関連遺伝子、蛋白質は細胞内シグナル経路関連を対象)が検討されている。その結果として、SCP1 蛋白質相対発現量の低値、活性酸素種濃度、活性窒素種濃度、還元型グルタチオン濃度、*SCP1* mRNA 相対発現量、*NuMa* mRNA 相対発現量(48 時間のみ)、p-NF- $\kappa\text{B}$  蛋白質相対発現量、calnexin 蛋白質相対発現量、SERT 蛋白質相対発現量(48 時間のみ)の高値が認められた。なお、*SCP3* mRNA 相対発現量、FGF2 蛋白質相対発現量、*NuMa* 蛋白質相対発現量、alpha-2a 蛋白質相対発現量、*SCP3* 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。

また、ベンラファキシン(塩酸塩、Thermo Fisher Scientific 又は Cayman Chemical) 250 $\mu\text{M}$ (=69,400 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 96 時間(48 時間でも測定)ばく露したマウス精母細胞(GC-2 spd)への影響(mRNA 相対発現量は細胞分裂関連遺伝子、蛋白質は細胞内シグナル経路関連を対象)が検討されている。その結果として、*SCP3* 蛋白質相対発現量、*SCP3* mRNA 相対発現量の低値、*SCP1* 蛋白質相対発現量の低値(48 時間では高値)、活性酸素種濃度、活性窒素種濃度、還元型グルタチオン濃度、*SCP1* mRNA 相対発現量、*NuMa* mRNA 相対発現量(48 時間のみ)、p-NF- $\kappa\text{B}$  蛋白質相対発現量、calnexin 蛋白質相対発現量(48 時間のみ)、SERT 蛋白質相対発現量(48 時間のみ)の高値、FGF2 蛋白質相対発現量の高値(48 時間では低値)が認められた。なお、*NuMa* 蛋白質相対発現量、alpha-2a 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。【16090】(△?)

想定される作用メカニズム：酸化ストレスによる細胞毒性

なお、本試験結果の解釈にあたっては、設定濃度が細胞毒性濃度の EC<sub>50</sub> 値にほぼ相当する点に注

意を要すると判断された。

※参考 (7) 抗グルココルチコイド作用 (今回評価対象としなかった文献)

①Otczyk ら(2008)によって、ベンラファキシン(塩酸塩、Wyeth-Ayerst Research) 3、10、30 $\mu$ M(=832、2,770、8,320 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(コルチコステロン 50nM 共存下)したマウス線維芽細胞 L929 (グルココルチコイド受容体を発現と)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クロラムフェニコールトランスフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、クロラムフェニコールトランスフェラーゼ発現誘導は認められなかった。【16131】

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 (8) ヒトへの投与試験 (今回評価対象としなかった文献)

①Paslakis ら(2010)によって、ドイツにて、ベンラファキシン 204 $\pm$ 58mg/day (最終日投与量)を 28 日間投与した大うつ病患者 33 名(男性 24 名、女性 9 名、年齢 51.0 $\pm$ 14.8 歳)への影響が検討されている。その結果として、寛解者 17 名において、投与開始前との比較(ランダム化オープンラベル試験)において、血清中デヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体(DHEA-S)濃度、唾液中コルチゾール(8:00 に測定)/血清中 DHEA-S 濃度比が認められた。なお、非寛解者 16 名においては、血清中 DHEA-S 濃度、唾液中コルチゾール(8:00 に測定)/血清中 DHEA-S 濃度比には影響は認められなかった。

なお、この大うつ病患者 33 名と健常者(投与群の年齢及び性別に対応)33 名との比較(ランダム化オープンラベル試験)において、血清中 DHEA-S 濃度には影響は認められなかった。【16129】

評価未実施の理由：健常者を対象にした試験ではない報告のため。

なお、本試験結果の解釈にあたっては、ロラゼパム、ゾルピデムの同時投与を許容している点に注意を要すると判断された。

②Scharmholz ら(2010)によって、ドイツにて、ベンラファキシン 202 $\pm$ 57mg/day (最終日投与量、最低投与量 75mg/day から漸増)を 4 週間(8:30 に単回又は、8:30 と 12:30 とに分割)投与した大うつ病患者 72 名(男性 49 名、女性 23 名、年齢 50.1 $\pm$ 15.5 歳)への影響が検討されている。その結果として、健常者(投与群の年齢及び性別に対応)32 名との比較(ランダム化オープンラベル試験)において、唾液中コルチゾール濃度(1、2、3、4 週間後の 8:00 に測定)、唾液中コルチゾール濃度(1、2、3、4 週間後の 16:00 に測定)の高値が認められた。

なお、この大うつ病患者 72 名中寛解者 19 名又は非寛解者 17 名においても、投与開始前との比較(ランダム化オープンラベル試験)において、唾液中コルチゾール濃度(1、2、3、4 週間後の 8:00 に測定)、唾液中コルチゾール濃度(1、2、3、4 週間後の 16:00 に測定)には影響は認められなかった。【16128】

評価未実施の理由：健常者を対象にした試験ではない報告のため。

なお、本試験結果の解釈にあたっては、ロラゼパム、ゾルピデムの同時投与を許容している点に注意を要すると判断された。また、統計処理において、年齢及び性別による補正を実施していない点に注意を要すると判断された。

③Araya ら(2006)によって、チリにて、ベンラファキシン 37.5mg/day を 1 週間、その後 75mg/day を 6 ヶ月間投与した大うつ病患者 18 名(男性 8 名、女性 10 名、年齢 18~60 歳)への影響が検討されている。その結果として、後期寛解者 7 名において、健常者 10 名(男性 4 名、女性 6 名)との比較におい

て、血中副腎刺激ホルモン濃度(8:30 にデスマプレシン 8 µg 投与後 120 分間曲線下面積)、血中副腎刺激ホルモン濃度(8:30 にデスマプレシン 8 µg 投与後極大値)の高値が認められた。なお、尿中遊離コルチゾール濃度(24 時間当)、唾液中遊離コルチゾール濃度(8:00、15:00、23:00 に測定)、唾液中遊離コルチゾール濃度(前夜 23:00 にデキサメタゾン 1 mg 投与後の 8:00 に測定)、ボディマス指数には影響は認められなかった。

なお、初期寛解者 11 名においては、健常者 10 名(男性 4 名、女性 6 名)との比較において、血中副腎刺激ホルモン濃度(8:30 にデスマプレシン) 8 µg 投与後 120 分間曲線下面積)、血中副腎刺激ホルモン濃度(8:30 にデスマプレシン 8 µg 投与後極大値)、尿中遊離コルチゾール濃度(24 時間当)、唾液中遊離コルチゾール濃度(8:00、15:00、23:00 に測定)、唾液中遊離コルチゾール濃度(前夜 23:00 にデキサメタゾン 1 mg 投与後の 8:00 に測定)、ボディマス指数には影響は認められなかった。【16133】  
評価未実施の理由：健常者を対象にした試験ではない報告のため。

- ④Rahman ら(2021)によって、米国及びカナダ(Incomplete Response in Late-Life Depression: Getting to Remission (IRL-Grey) Study)にて、2009 年から 2013 年にかけて、ベンラファキシン 285.00±39.85mg/day を 12 週間投与した治療抵抗性うつ病(TRD: treatment-resistant depression)女性患者 35 名(年齢 67.45±6.63 歳)への影響が検討されているが、投与開始前との比較(ランダム化二重盲検プラセボ対照試験)において、血清中エストロン濃度、血清中エストラジオール濃度、血清中プロラクチン濃度には影響は認められなかった。【16099】

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

- ⑤Hallam ら(2008)によって、オーストラリアにて、ベンラファキシン IR 75mg を単日二等分割(8:00～10:00 及び 20:00)投与した健常者 10 名(男性 5 名、女性 5 名、年齢 18～60 歳)への影響が検討されているが、プラセボ投与群との比較において、唾液中メラトニン濃度(投与当日 21:00、22:00、23:00、24:00、投与翌日 01:00、02:00 に測定)、血漿中メラトニン濃度(投与当日 21:00、22:00、23:00、24:00、投与翌日 01:00、02:00 に測定)、唾液中コルチゾール濃度(投与当日 20:00、21:00、22:00、23:00、24:00、投与翌日 01:00、02:00 に測定)、体温(投与当日 21:00、22:00、23:00、24:00、投与翌日 0:30、01:00、01:30、02:00、02:30 に測定)には影響は認められなかった。

ベンラファキシン XR 75mg を単日二等分割(8:00～10:00 及び 20:00)投与した健常者 10 名(男性 5 名、女性 5 名、年齢 18～60 歳)への影響が検討されているが、プラセボ投与群との比較において、唾液中メラトニン濃度(投与当日 21:00、22:00、23:00、24:00、投与翌日 01:00、02:00 に測定)、血漿中メラトニン濃度(投与当日 21:00、22:00、23:00、24:00、投与翌日 01:00、02:00 に測定)、唾液中コルチゾール濃度(投与当日 20:00、21:00、22:00、23:00、24:00、投与翌日 01:00、02:00 に測定)、体温(投与当日 21:00、22:00、23:00、24:00、投与翌日 0:30、01:00、01:30、02:00、02:30 に測定)には影響は認められなかった。【16132】

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

- ⑥Eker ら(2008)によって、トルコにて、ベンラファキシン XR (カプセル剤) 150mg/day を 11 週間(投与開始後一週間は 75mg/day)投与した大うつ病患者 76 名(男性 14 名、女性 48 名、平均年齢 44.1±11.3 歳)への影響が検討されているが、投与開始前との比較(ランダム化オープンラベル試験)において、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中総サイロキシン濃度、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。【14461】

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、抗エストロゲン様作用、アロマターゼ活性化によるエストロゲン産生亢進作用、アンドロゲン様作用、アンドロゲン産生亢進作用、脳における甲状腺ホルモン代謝への影響、コルチゾールへの影響、視床下部一下垂体—副腎皮質軸への作用、ミネラルコルチコイド受容体及びグルココルチコイド受容体への作用、副腎髄質—生殖腺(アドレナリン—ライディッシュ細胞)への作用、抗グルココルチコイド作用、神経系への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エピネフリン作用の抑制作用、エストロゲン合成能への影響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：ベンラファキシン

区分	著者 【引用文献番号】	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	神経系への作用、催奇形性	①Rodrigues ら(2020)【16105】	△	?	—
	神経系への作用、視床下部一下垂体—副腎軸への作用	②Melnyk-Lamont ら(2014)【16123】	△	○P	○
	不明	③Hong ら(2022)【16087】	○	?	—
	薬物代謝に関連する核内受容体への作用	④Hodkovicova ら(2020)【16107】	△	?	—
	微弱な繁殖毒性	⑤Minguez ら(2015)【14434】	△	?	—
		⑥Schultz ら(2011)【14452】評価未実施			
		⑦Painter ら(2009)【14457】評価未実施			
	神経系への作用	⑧Tang ら(2022)【16088】	△	?	—
	神経系への作用、催奇形性	⑨Tang ら(2021)【16100】	△	?	—
		⑩Ikert ら(2020)【16108】評価未実施			

区分	著者 【引用文献番号】	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>	
	抗エストロゲン様作用 又はアンドロゲン様作用	①Parrott と Metcalfe (2017) 【16118】	○	○P	○
	コルチゾールへの影響	②Vera-Chang ら (2019) 【16111】	○	○P	○
	不明	③Tang ら(2019) 【16109】	△	×	—
		④Parrott と Metcalfe (2018) 【16116】 評価未実施			
		⑤Rivetti ら(2019) 【16112】 評価未実施			
(2)生殖影響	アンドロゲン様作用、副腎髄質—生殖腺(アドレナリン—ライディッシュ細胞)への作用	①de Santi ら(2022) 【16091】	△	○P	○
	アロマターゼ活性化によるエストロゲン産生亢進作用	②de Santi ら(2021) 【16104】	△	○P	○
	アンドロゲン産生亢進作用	③Saleem ら(2020) 【16103】	△	○P	○
	アンドロゲン産生亢進作用	④Eid ら(2019) 【16114】	△	○P	○
(3)脳神経系への影響	視床下部—下垂体—副腎皮質軸への作用、ミネラルコルチコイド受容体及びグルココルチコイド受容体への作用	①Yau ら(2001) 【16138】	△	○P	○
	不明	②Connor ら(2000) 【14509】	○	?	—
	不明	③Zhang ら(2015) 【16121】	△	?	—
	松果体のノルアドレナリン受容体への影響	④Franklin ら(1998) 【16140】	×	—	×
	抗グルココルチコイド作用	⑤Labaka ら(2021) 【16095】	△	○P	○
	不明	⑥Nowakowsk と Kus (2005) 【16134】	△	?	—
	神経伝達物質を介した作用	⑦Piacentini ら (2003) 【16135】	×	—	×
	不明	⑧Stout ら(2002) 【16136】	△	?	—

区分	著者 【引用文献番号】	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—下垂体—副腎皮質軸への作用	⑨Zhang ら(2010)【16127】	△	○P	○
	脳における甲状腺ホルモン代謝への影響	⑩Pinna (2003)【14500】	△	○P	○
(4)ニジマス肝細胞への影響	エピネフリン作用の抑制作用（1時間ばく露の結果）	①Ings ら(2012)【16126】	△	○P	○
(5)ヒト胎盤絨毛がん細胞又はヒト栄養膜細胞への影響	エストロゲン合成能への影響	①Hudon ら(2019)【16110】	△	○P	○
(6)マウス生殖細胞への影響	酸化ストレスによる細胞毒性	①Solek ら(2021)【16090】	△	?	—
(7)抗グルココルチコイド作用		①Otczyk ら(2008)【16131】 評価未実施			
(8)ヒトへの投与試験		①Paslakis ら(2010)【16129】 評価未実施			
		②Scharholz ら(2010)【16128】 評価未実施			
		③Araya ら(2006)【16133】 評価未実施			
		④Rahman ら(2021)【16099】 評価未実施			
		⑤Hallam ら(2008)【16132】 評価未実施			
		⑥Eker ら(2008)【14461】 評価未実施			

区分	著者 【引用文献番号】	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>
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、抗エストロゲン様作用、アロマターゼ活性化によるエストロゲン産生亢進作用、アンドロゲン様作用、アンドロゲン産生亢進作用、脳における甲状腺ホルモン代謝への影響、コルチゾールへの影響、視床下部一下垂体—副腎皮質軸への作用、ミネラルコルチコイド受容体及びグルココルチコイド受容体への作用、副腎髄質—生殖腺(アドレナリン—ライディヒ細胞)への作用、抗グルココルチコイド作用、神経系への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エピネフリン作用の抑制作用、エストロゲン合成能への影響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

#### 引用文献

- 14434 Minguez L, Ballandonne C, Rakotomalala C, Dubreule C, Kientz-Bouchart V and Halm-Lemeille MP (2015) Transgenerational effects of two antidepressants (sertraline and venlafaxine) on *Daphnia magna* life history traits. *Environmental Science & Technology*, 49 (2), 1148-1155.
- 14452 Schultz MM, Painter MM, Bartell SE, Logue A, Furlong ET, Werner SL and Schoenfuss HL (2011) Selective uptake and biological consequences of environmentally relevant antidepressant pharmaceutical exposures on male fathead minnows. *Aquatic Toxicology*, 104 (1-2), 38-47.
- 14457 Painter MM, Buerkley MA, Julius ML, Vajda AM, Norris DO, Barber LB, Furlong ET, Schultz MM and Schoenfuss HL (2009) Antidepressants at environmentally relevant concentrations affect predator avoidance behavior of larval fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28 (12), 2677-2684.
- 14461 Eker SS, Akkaya C, Sarandol A, Cangur S, Sarandol E and Kirli S (2008) Effects of various antidepressants on serum thyroid hormone levels in patients with major depressive disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 32 (4), 955-961.
- 14500 Pinna G, Broedel O, Eravci M, Stoltenburg-Didinger G, Plueckhan H, Fuxius S, Meinhold H and Baumgartner A (2003) Thyroid hormones in the rat amygdala as common targets for antidepressant drugs, mood stabilizers and sleep deprivation. *Biological Psychiatry*, 54 (10), 1049-1059.
- 14509 Connor TJ, Kelliher P, Shen Y, Harkin A, Kelly JP and Leonard BE (2000) Effect of subchronic antidepressant treatments on behavioral, neurochemical and endocrine changes in the forced-swim test. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 65 (4), 591-597.
- 16087 Hong X, Chen R, Zhang L, Yan L, Li J and Zha J (2022) Low doses and lifecycle exposure of waterborne antidepressants in zebrafish model: A survey on sperm traits, reproductive behaviours and transcriptome responses. *Science of the Total Environment*, 832, 155017.
- 16088 Tang Y, Fan Z, Yang M, Zhang S, Li M, Fang Y, Li J and Feng X (2022) Low concentrations of the antidepressant venlafaxine affect courtship behaviour and alter serotonin and dopamine systems in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*, 244, 106082.
- 16090 Solek P, Mytych J, Tabecka-Lonczynska A, Sowa-Kucma M and Koziorowski M (2021) Toxic effect of antidepressants on male reproductive system cells: evaluation of possible fertility reduction mechanism. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 72 (3), 367-379.
- 16091 de Santi F, Beltrame FL, Rodrigues BM, Scaramele NF, Lopes FL, Cerri PS and Sasso-Cerri E (2022) Venlafaxine-induced adrenergic signaling stimulates Leydig cells steroidogenesis via Nur77 overexpression: A

- possible role of EGF. *Life Sciences*, 289, 120069.
- 16095 Labaka A, Gómez-Lazaro E, Goñi-Balentziaga O, Pérez-Tejada J, Vegas O and Garmendia L (2021) Venlafaxine reduces the striatal il6/il10 ratio and increases hippocampal GR expression in female mice subjected to chronic social instability stress. *Stress*, 24 (5), 561-571.
- 16099 Rahman T, Patrick C, Ma C, Nicol GE, Reynolds CF, 3rd, Mulsant BH, Hartz SM, Yingling M and Lenze EJ (2021) Prolactin and Estrogen Levels in Postmenopausal Women Receiving Aripiprazole Augmentation Treatment for Depression. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 41 (1), 31-35.
- 16100 Tang Y, Mi P, Li M, Zhang S, Li J and Feng X (2021) Environmental level of the antidepressant venlafaxine induces behavioral disorders through cortisol in zebrafish larvae (*Danio rerio*). *Neurotoxicology and Teratology*, 83, 106942.
- 16103 Saleem U, Zubair S, Riaz A, Anwar F and Ahmad B (2020) Effect of Venlafaxine, Pramipexole and Valsartan on Spermatogenesis in Male Rats. *ACS Omega*, 5 (32), 20481-20490.
- 16104 de Santi F, Beltrame FL, Rodrigues BM, Junior M, Scaramele NF, Lopes FL, Cerri PS and Sasso-Cerri E (2021) Venlafaxine-induced damage to seminiferous epithelium, spermiation and sperm parameters in rats: A correlation with high estrogen levels. *Andrology*, 9 (1), 297-311.
- 16105 Rodrigues P, Cunha V, Oliva-Teles L, Ferreira M and Guimarães L (2020) Norfluoxetine and venlafaxine in zebrafish larvae: Single and combined toxicity of two pharmaceutical products relevant for risk assessment. *Journal of Hazardous Materials*, 400, 123171.
- 16107 Hodkovicova N, Sehonova P, Blahova J, Faldyna M, Marsalek P, Mikula P, Chloupek P, Dobsikova R, Vecerek V, Vicenova M, Vosmerova P and Svobodova Z (2020) The effect of the antidepressant venlafaxine on gene expression of biotransformation enzymes in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Environmental Science and Pollution Research International*, 27 (2), 1686-1696.
- 16108 Ikert H and Craig PM (2020) Chronic exposure to venlafaxine and increased water temperature reversibly alters microRNA in zebrafish gonads (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology: Part D, Genomics & Proteomics*, 33, 100634.
- 16109 Tang YQ, Li ZR, Zhang SZ, Mi P, Chen DY and Feng XZ (2019) Venlafaxine plus melatonin ameliorate reserpine-induced depression-like behavior in zebrafish. *Neurotoxicology and Teratology*, 76, 106835.
- 16110 Hudon Thibeault AA, López de Los Santos Y, Doucet N, Sanderson JT and Vaillancourt C (2019) Serotonin and serotonin reuptake inhibitors alter placental aromatase. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 195, 105470.
- 16111 Vera-Chang MN, Moon TW and Trudeau VL (2019) Ancestral Fluoxetine Exposure Sensitizes Zebrafish to Venlafaxine-Induced Reductions in Cortisol and Spawning. *Endocrinology*, 160 (9), 2137-2142.
- 16112 Rivetti C, Climent E, Gómez-Canela C and Barata C (2019) Characterization of neurotransmitter profiles in *Daphnia magna* juveniles exposed to environmental concentrations of antidepressants and anxiolytic and antihypertensive drugs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 411 (22), 5867-5876.
- 16114 Eid AH, Gad AM, Fikry EM and Arab HH (2019) Venlafaxine and carvedilol ameliorate testicular impairment and disrupted spermatogenesis in rheumatoid arthritis by targeting AMPK/ERK and PI3K/AKT/mTOR pathways. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 364, 83-96.
- 16116 Parrott JL and Metcalfe CD (2018) Nest-defense behaviors in fathead minnows after lifecycle exposure to the antidepressant venlafaxine. *Environmental Pollution*, 234, 223-230.
- 16118 Parrott JL and Metcalfe CD (2017) Assessing the effects of the antidepressant venlafaxine to fathead minnows exposed to environmentally relevant concentrations over a full life cycle. *Environmental Pollution*, 229, 403-411.
- 16121 Zhang X, Li X, Li M, Ren J, Yun K, An Y, Lin L and Zhang H (2015) Venlafaxine increases cell proliferation and regulates DISC1, PDE4B and NMDA receptor 2B expression in the hippocampus in chronic mild stress mice. *European Journal of Pharmacology*, 755, 58-65.
- 16123 Melnyk-Lamont N, Best C, Gesto M and Vijayan MM (2014) The antidepressant venlafaxine disrupts brain monoamine levels and neuroendocrine responses to stress in rainbow trout. *Environmental Science & Technology*, 48 (22), 13434-13442.
- 16126 Ings JS, George N, Peter MC, Servos MR and Vijayan MM (2012) Venlafaxine and atenolol disrupt epinephrine-stimulated glucose production in rainbow trout hepatocytes. *Aquatic Toxicology*, 106-107, 48-55.

- 16127 Zhang Y, Gu F, Chen J and Dong W (2010) Chronic antidepressant administration alleviates frontal and hippocampal BDNF deficits in CUMS rat. *Brain Research*, 1366, 141-148.
- 16128 Scharnholtz B, Weber-Hamann B, Lederbogen F, Schilling C, Gilles M, Onken V, Frankhauser P, Kopf D and Deuschle M (2010) Antidepressant treatment with mirtazapine, but not venlafaxine, lowers cortisol concentrations in saliva: a randomised open trial. *Psychiatry Research*, 177 (1-2), 109-113.
- 16129 Paslakis G, Luppia P, Gilles M, Kopf D, Hamann-Weber B, Lederbogen F and Deuschle M (2010) Venlafaxine and mirtazapine treatment lowers serum concentrations of dehydroepiandrosterone-sulfate in depressed patients remitting during the course of treatment. *Journal of Psychiatric Research*, 44 (8), 556-560.
- 16131 Otczyk M, Mulik K, Budziszewska B, Jaworska-Feil L, Basta-Kaim A, Kubera M, Jagła G, Nowak W and Lason W (2008) Effect of some antidepressants on the low corticosterone concentration-induced gene transcription in LMCAT fibroblast cells. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 59 (1), 153-162.
- 16132 Hallam KT, Begg DP, Olver JS and Norman TR (2008) An investigation of the effect of immediate and extended release venlafaxine on nocturnal melatonin and cortisol release in healthy adult volunteers. *Human Psychopharmacology*, 23 (2), 129-137.
- 16133 Araya AV, Rojas P, Fritsch R, Rojas R, Herrera L, Rojas G, Gatica H, Silva H and Fiedler JL (2006) Early response to venlafaxine antidepressant correlates with lower ACTH levels prior to pharmacological treatment. *Endocrine*, 30 (3), 289-298.
- 16134 Nowakowska E and Kus K (2005) Antidepressant and memory affecting influence of estrogen and venlafaxine in ovariectomized rats. *Arzneimittel-Forschung*, 55 (3), 153-159.
- 16135 Piacentini MF, Clinckers R, Meeusen R, Sarre S, Ebinger G and Michotte Y (2003) Effects of venlafaxine on extracellular 5-HT, dopamine and noradrenaline in the hippocampus and on peripheral hormone concentrations in the rat *in vivo*. *Life Sciences*, 73 (19), 2433-2442.
- 16136 Stout SC, Owens MJ and Nemeroff CB (2002) Regulation of corticotropin-releasing factor neuronal systems and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity by stress and chronic antidepressant treatment. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 300 (3), 1085-1092.
- 16138 Yau JL, Noble J, Hibberd C and Seckl JR (2001) Short-term administration of fluoxetine and venlafaxine decreases corticosteroid receptor mRNA expression in the rat hippocampus. *Neuroscience Letters*, 306 (3), 161-164.
- 16140 Franklin M, Clement EM, Campling G and Cowen PJ (1998) Effect of venlafaxine on pineal melatonin and noradrenaline in the male rat. *Journal of Psychopharmacology*, 12 (4), 371-374.

## II. フタル酸ジエチル

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

フタル酸ジエチル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、代謝影響、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、抗アンドロゲン作用、ヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響、セルトリ細胞への影響、イヌ精巣組織への影響、ヒト甲状腺上皮細胞への影響、疫学的調査に関する報告がある。

フタル酸ジエチルに関連する報告については、特に生態影響試験においては、水溶解度の低さに起因する設定濃度と実際の曝露濃度との乖離に注意を要すると判断された。

#### (1) 生態影響

①Lee ら(2019)によって、フタル酸ジエチル(Sigma-Aldrich) 10、100、1,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に受精後6時間(hpf)から168hpfまでばく露(4hpfにプロナーゼによるコリオン除去処理済)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、10 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で *cyp19a1a* mRNA 相対発現量、*cyp19a1b* mRNA 相対発現量の高値、10 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で *esr2b* (エストロゲン受容体 2b) mRNA 相対発現量の低値(1,000 $\mu\text{g/L}$ 区では高値)、10 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *fshr* (卵胞刺激ホルモン受容体) mRNA 相対発現量の高値が認められた。100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *vtg1* (ビテロゲニン 1) mRNA 相対発現量、*esr1* (エストロゲン受容体 1) mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、*lhb* (黄体形成ホルモン b サブユニット) mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【14788】(評価結果の略号： $\Delta$ OP) $\rightarrow$ (5)②、(9)②

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用によるステロイド代謝亢進作用

②Bissegger ら(2018)によって、フタル酸ジエチル(Sigma) 22、220、2,200 $\mu\text{g/L}$ (=0.1、1、10 $\mu\text{M}$ ) (設定濃度)に Nieuwkoop and Faber (NF) Stage 11 から NF Stage 46 まで72時間ばく露したネッタイツメガエル(*Silurana tropicalis*)への影響(遺伝子発現については全身中 mRNA 相対発現量)が検討されている。その結果として、22 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で尾部奇形率、眼奇形率の高値、22 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で腸奇形率の高値が認められた。なお、死亡率、浮腫発生率、心臓奇形発生率には影響は認められなかった。また、生殖関連遺伝子群として、220 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *srd5 $\beta$*  の高値、2,200 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *srd5a1*、*srd5a2* の高値が認められた。なお、*srd5a3*、*ar*、*era*、*cyp19*、*star* には影響は認められなかった。また、酸化ストレス応答関連遺伝子群として、22 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *hsp70* の低値が認められた。なお、*gst*、*gpx* には影響は認められなかった。なお、DNA 転写調節核内受容体蛋白質関連遺伝子群として、*ppary* には影響は認められなかった。【14793】( $\Delta$ ?)

想定される作用メカニズム：胚発生毒性

③Seyoum と Pradhan (2019)によって、フタル酸ジエチル(Sigma、99%) 1、10 $\mu\text{M}$ (=278、2,780 $\mu\text{g/L}$ ) (設定濃度)に休眠卵(ephippia)に24時間未満齢から24時間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響(全身中 mRNA 相対発現量)が検討されている。その結果として、生殖関連遺伝子群として、1 $\mu\text{M}$ (=222 $\mu\text{g/L}$ )以上のばく露区で *vtg2*、*vasa* の低値が認められた。なお、*vtg1* には影響は認められなかった。また、脂質代謝関連遺伝子群として、1 $\mu\text{M}$ (=222 $\mu\text{g/L}$ )以上のばく露区で *NPC1b*、*magro* の低値、10 $\mu\text{M}$ (=2,220 $\mu\text{g/L}$ )のばく露区で *hr96*、*cer*、*man*、*SM3*、*rxr* の低値が認められた。なお、*ndnt*、*cpt1*、*fabd*、*acdal*、*hsd17b12* には影響は認められなかった。また、ストレス応答関連遺伝子群とし

て、1 μM(=222μg/L)以上のばく露区で *hsp70*、*mt-a*、*dapl* の低値、10μM(=2,220μg/L)のばく露区で *mt-b*、*mt-c*、*gst* の低値が認められた。なお、*hsp90*、*cat* には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジエチル(Sigma, 99%) 1、10μM(=278、2,780μg/L)(設定濃度)に休眠卵に 24 時間未満齢から最長 30 日以上ばく露したオオミジンコ(*D. magna*)への影響が検討されている。その結果として、1 μM(=222μg/L)以上のばく露区で脂質蓄積(4 日後、Oil Red O Stain 染色画像解析)、1 μM(=222μg/L)のばく露区で体長(14 日後)の低値、10μM(=2,220μg/L)のばく露区で生存日数の低値が認められた。なお、尾長(7、14 日後)、総産仔数(30 日後)には影響は認められなかった。

なお、フタル酸ジエチル(Sigma, 99%) 1、10μM(=278、2,780μg/L)(設定濃度)に休眠卵に 24 時間未満齢から 48 時間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*)への影響が検討されているが、死亡率には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジエチル(Sigma, 99%) 1、10μM(=278、2,780μg/L)(設定濃度)に休眠卵に 24 時間未満齢から 96 時間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*)への影響が検討されているが、孵化率には影響は認められなかった。【14791】(△×)

想定される作用メカニズム：脂質代謝阻害

- ④Tseng ら(2021)によって、フタル酸ジエチル(Sigma) 1,790、3,580μg/L(=8.06、16.12μM、設定濃度)に 5 日間ばく露した成熟雌ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、1,790μg/L 以上のばく露区で卵巣中エストラジオール濃度、肝臓中 *vtg* mRNA 相対発現量、肝臓中 *esr1* mRNA 相対発現量、肝臓中 *esr2b* mRNA 相対発現量の低値、1,790μg/L のばく露区で F<sub>1</sub> 舌骨角アングル(72dpf)の低値(3,580μg/L 区では高値)が認められた。なお、肝臓中 *esr2a* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジエチル(Sigma) 1,790、3,580μg/L(=8.06μM、設定濃度)に 5 日間ばく露した成熟雌ゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響(産卵率以外、上記 F<sub>1</sub> について最長 72dpf まで試験)が検討されている。その結果として、遊泳行動試験(14dpf)における総移動距離、遊泳行動試験(14dpf)における行動持続時間、遊泳行動試験(14dpf)における平均遊泳速度の低値が認められた。なお、産卵率、孵化率(72dpf)、遊泳行動試験(14dpf)における最大遊泳速度には影響は認められなかった。【16144】(△○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、卵巣でのエストロゲン合成能の低下

- ⑤Sohn ら(2016)によって、フタル酸ジエチル(Sigma-Aldrich) 80、400、2,000、10,000μg/L(設定濃度)に 4 ヶ月齢以上から 14 日間ばく露した成熟雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、2,000μg/L 以上のばく露区で精巣中 *cyp19a* mRNA 相対発現量の高値、10,000μg/L のばく露区で血漿中 17β-エストラジオール濃度、血漿中テストステロン濃度、肝臓中 *vtg* mRNA 相対発現量、精巣中 *star* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、血漿中 17β-エストラジオール/テストステロン濃度比、精巣中 *cyp11a* mRNA 相対発現量、精巣中 *3βhsd* mRNA 相対発現量、精巣中 *17βhsd* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp17* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【15955】(△○P)→(9)①

想定される作用メカニズム：精巣でのステロイドホルモン産生影響

- ⑥Zhou と Fingerman (2017)によって、フタル酸ジエチル(Sigma) 5,600、11,200、22,400μg/L(設定濃度)に 1 令から 4 令に至るまで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、22,400μg/L のばく露区で 1 令から 4 令に至るまでの所要日数の高値が認められた。

## 【16157】(△×)

想定される作用メカニズム：脱皮の遅延

### ※参考 生態影響（今回評価対象としなかった文献）

- ⑦Tran ら(2021)によって、フタル酸ジエチル(Sigma-Aldrich、99.5%) 0.5、5、50、500、1,000、10,000µg/L(設定濃度)に受精後2～4時間(hpf)から120hpf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が、生存率、奇形率、体長、眼サイズ、神経行動学的遊泳運動試験における各種パラメータには影響は認められなかった。【16145】  
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)生殖影響

- ①Mondal ら(2019)によって、フタル酸ジエチル(Sisco Research laboratories) 1、10mg/kg/day を9週齢から3ヶ月間経口投与した成熟雄 Swiss 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 以上のばく露群で精巣上体中精子濃度、生存精子率、運動精子率、精巣中カタラーゼ比活性の低値、精巣中活性酸素種濃度、精巣上体中活性酸素種濃度、精巣中グルタチオンペルオキシダーゼ比活性(総活性、Se 依存性、Se 非依存性のそれぞれについて)、精巣中グルタチオン S-トランスフェラーゼ比活性、精巣中 NOX4 (NADPH オキシダーゼサブユニットの一つ)蛋白質相対発現量、精巣中 gp91phox (NADPH オキシダーゼサブユニットの一つ)蛋白質相対発現量、精子中活性酸素種発現量、形態異常精子率(hookless、banana-like、amorphous、two-headed/two-tailed のそれぞれについて)の高値、精巣組織における精細管の異常所見(液胞化、基底膜薄化)、アポトーシス精子の出現が認められた。【16148】(△?)

想定される作用メカニズム：精巣毒性

なお、本試験結果の解釈にあたっては、血清中テストステロン濃度について、有意な変化なし言及している(ただし、測定値を示していない)点に注意を要すると判断された。

- ②Kumar ら(2014)によって、フタル酸ジエチル(Himedia、99%) 50、100mg/kg/day を45週齢以上から40日間経口投与した成熟雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上のばく露群で子宮上肥厚、血清中17β-エストラジオール濃度、StAR(ステロイド産生急性調節蛋白質)mRNA 相対発現量、3β-HSD(3β-ヒドロキシステイドデヒドロゲナーゼ)mRNA 相対発現量、Aromatase(アロマトラーゼ)mRNA 相対発現量、3β-HSD蛋白質相対発現量、Aromatase蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、子宮湿重量には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジエチル(Himedia、99%) 50、100mg/kg/day を18日齢から3日間皮下投与した成熟雌 Wistar ラットへの影響(最終投与24時間後に試験)が検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上のばく露群で子宮上肥厚、PR(プロゲステロン受容体)蛋白質相対発現量の高値が認められた。【16153】(○○P)→(5)①、(8)①

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用

- ③Ara ら(2021)によって、フタル酸ジエチル(Sigma-Aldrich、99.5%) 3,000mg/kg/day を4週齢から54日間経口投与した雄 Swiss Webster マウスへの影響(投与後6日間の回復期間後)が検討されている。その結果として、精巣絶対重量、精巣幅、生殖腺体指数、精細管径、精細管面積、精細管上皮面積、血清中テストステロン濃度、精子濃度、正常形態精子率、精巣組織重量当抗酸化活性の低値、体重、精巣長、精細管内腔径、精細管内腔面積、血清中黄体形成ホルモン濃度、形態異常精子率、精巣に

おける病理組織学的病変発生率の高値が認められた。【16143】(△?)

想定される作用メカニズム：精巣毒性

④Fujii ら(2005)によって、フタル酸ジエチル(和光純薬、99.8%) 600、3,000、15,000ppm (雄 40、197、1,016mg/kg/day、雌 51、255、1,297mg/kg/day に相当する餌中設定濃度)を5週齢から交配(9~11週齢)、出産を経て哺育開始3週間後まで(雄は約15週齢、雌は約17週齢まで)混餌投与した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、F<sub>0</sub>雄において、3,000ppm以上のばく露群で血清中テストステロン濃度の低値、3,000ppmのばく露群で形態異常精子率、尾部欠損精子率の高値、15,000ppmのばく露群で副腎絶対重量(相対重量は有意差に至らず)、精巣上体絶対重量(相対重量は有意差に至らず)の低値、肝臓相対重量(絶対重量は有意差に至らず)、肝臓ミクロソーム中P450比活性(CYP3A2、CYP4A1)の高値が認められた。なお、体重、脳絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、甲状腺絶対及び相対重量、精巣絶対及び相対重量、前立腺絶対及び相対重量、精囊絶対及び相対重量、血清中プロゲステロン濃度、精巣中精子数(総量及び重量当)、精巣上体中精子数(総量及び重量当)、運動精子率、精子運動パラメータ(progressive motility、Mean path velocity、Straight line average velocity、Mean curvilinear velocity、Mean lateral head displacement、Mean beat cross frequency、Mean straightness、Mean linearity)には影響は認められなかった。

また、F<sub>0</sub>雌において、15,000ppmのばく露群で肝臓絶対及び相対重量の高値が認められた。なお、体重、脳絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、甲状腺絶対及び相対重量、副腎絶対及び相対重量、卵巣絶対及び相対重量、子宮絶対及び相対重量、正常発情期個体率、発情周期日数には影響は認められなかった。

また、F<sub>0</sub>生殖において、15,000ppmのばく露群で雄新生仔雄体重(21日)、雄新生仔雄体重(4、7、14、21日)の低値、雄新生仔耳介展開日、雄新生仔切歯萌出日、雌新生仔膈開口日の高値が認められた。なお、交配までの所要日数、雄妊孕率、雌妊娠率、Gestation Index(出産雌数/妊娠雌数)、Delivery Index(新生仔数/着床数)、妊娠期間、同腹着床数、同腹新生仔数、新生仔性比、新生仔生存率(0、4、21日齢)、雄新生仔包皮分離日、雌新生仔耳介展開日、雌新生仔切歯萌出日、雌雄新生仔肛門生殖突起間距離(0、4日齢)、雌雄新生仔眼瞼開裂日には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジエチル(和光純薬、99.8%) 600、3,000、15,000ppm(雄46、222、1,150mg/kg/day、雌56、267、1,375mg/kg/dayに相当する餌中設定濃度)を離乳後から交配(9~11週齢)、出産を経て哺育開始3週間後まで(雄は約15週齢、雌は約17週齢まで)混餌投与した雌雄SDラットF<sub>1</sub>への影響が検討されている。その結果として、F<sub>1</sub>雄において、3,000ppm以上のばく露群で形態異常精子率、尾部欠損精子率の高値、3,000ppmのばく露群で甲状腺絶対及び相対重量の高値、15,000ppmのばく露群で副腎相対重量(絶対重量は有意差に至らず)の低値、肝臓絶対及び相対重量の高値が認められた。なお、体重、脳絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、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、精巣中精子数(総量及び重量当)、精巣上体中精子数(総量及び重量当)、運動精子率、精子運動パラメータ(progressive motility、Mean path velocity、Straight line average velocity、Mean curvilinear velocity、Mean lateral head displacement、Mean beat cross frequency、Mean straightness、Mean linearity)には影響は認められなかった。

また、F<sub>1</sub>雌において、15,000ppmのばく露群で肝臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量の高値が認められた。なお、体重、脳絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相

対重量、甲状腺絶対及び相対重量、副腎絶対及び相対重量、卵巣絶対及び相対重量、子宮絶対及び相対重量、正常発情期個体率、発情周期日数には影響は認められなかった。

また、F<sub>1</sub> 生殖において、15,000ppm のばく露群で雄新生仔雄体重(21 日齢)、雌新生仔雄体重(4、7、14、21 日齢)、妊娠期間の低値が認められた。なお、交配までの所要日数、雄妊孕率、雌妊娠率、Gestation Index (出産雌数/妊娠雌数)、Delivery Index (新生仔数/着床数)、同腹着床数、同腹新生仔数、新生仔性比、新生仔生存率(0、4、21 日齢)、雌雄新生仔肛門生殖突起間距離(0、4 日齢)、雌雄新生仔耳介展開日、雌雄新生仔切歯萌出日、雌雄新生仔眼瞼開裂日には影響は認められなかった。【16156】(○○P)

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用

⑤Lamb ら(1987)によって、フタル酸ジエチル(Chemical Tech Industry、99%) 2,500、12,500、25,000ppm を6 週齢以上から7 日間+交配開始から98 日間(妊娠中雌については隔離し妊娠期間21 日間及び哺育期間21 日間投与継続)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、12,500ppm のばく露群で同腹生存仔数の高値が認められた。なお、妊娠率、同腹仔数、新生仔生存率、新生仔体重には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジエチル(Chemical Tech Industry、99%) 25,000ppm を離乳後約74 日齢まで混餌投与したCD-1 マウス F<sub>1</sub> への影響が検討されている。その結果として、F<sub>1</sub> 雄において、精巣上体尾中精子濃度の低値、前立腺絶対重量の高値が認められた。なお、体重、肝臓絶対重量、脳絶対重量、下垂体絶対重量、左精巣+精巣上体絶対重量、右精巣絶対重量、右精巣上体絶対重量、精囊絶対重量、運動精子率、形態異常精子率には影響は認められなかった。

また、F<sub>1</sub> 雌において、体重、下垂体絶対重量の低値、肝臓絶対重量の高値が認められた。なお、脳絶対重量、卵巣+卵管絶対重量、子宮絶対重量には影響は認められなかった。また、F<sub>1</sub> 生殖において、同腹生存仔数の低値が認められた。なお、妊娠率、新生仔生存率、新生仔体重には影響は認められなかった。【16083】(△?)

想定される作用メカニズム：精巣毒性

⑥Spade ら(2018)によって、フタル酸ジエチル(US National Toxicology Program から譲渡、100%) 900mg/kg/day を妊娠17 日目から妊娠21 日目まで経口投与したSD ラットへの影響(最終投与1 時間後に開腹し雄胎仔について試験)が検討されているが、母動物体重、母動物増加体重、同腹胎仔数、精巣組織によるテストステロン産生能、多核生殖細胞数(精巣画像面積当)、多核生殖細胞数(精細管画像面積当)、多核生殖細胞数(精細管当)、多核生殖細胞を有する精細管率、精巣中精細管占有率(画像面積比)には影響は認められなかった。【15927】(○○N)

想定される作用メカニズム：精巣におけるテストステロン産生抑制作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、フタル酸ジブチルにおいては影響が認められている点に注意を要すると判断された。

⑦Kuhl ら(2007)によって、フタル酸ジエチル 500mg/kg を妊娠18 日目に単回経口投与したSD ラットへの影響(妊娠19 日目に相当する投与24 時間後に開腹し雄胎仔の両精巣について試験)が検討されているが、精巣中テストステロン濃度、精巣中 *StAR* mRNA 相対発現量、精巣中 *SR-B1* (scavenger receptor B-1) mRNA 相対発現量、精巣中 *Cyp11a1* mRNA 相対発現量、精巣中 *Cyp17* mRNA 相対発現量、精巣中 *SF-1* (steroidogenic factor-1)蛋白質相対発現量、精巣中 *GATA4* (GATA Binding Protein 4)蛋白質相対発現量、精巣中 *cebpb* (CCAAT/enhancer binding protein  $\beta$ )蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。【16037】(△○N)

想定される作用メカニズム：テストステロン合成系への影響

なお、本試験結果の解釈にあたっては、フタル酸ジブチルにおいては影響が認められている点に注意を要すると判断された。

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に注意を要すると判断された。

- ⑧Liu ら(2005)によって、フタル酸ジエチル(Aldrich) 500mg/kg/day を妊娠 12 日目から妊娠 19 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が、雄胎児の肛門生殖突起間距離、*Hsd17b7* (Hydroxysteroid 17-beta dehydrogenase 7)、*Lhcgr* (Luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor)、*Ldlr* (low-density lipoprotein receptor)、*rel* (Epididymal secretory protein 1)、*Svs5* (Seminal vesicle secretion 5)、*Insig-1* (Insulin-induced gene 1 = CL-6)、*Grb14* (Growth factor receptor-bound protein 14)、*Prkcbp1* (Protein kinase C-binding protein = Fez-1)、*Tes* (Testis derived transcript = testin)、*Ddc* (Dopa decarboxylase)、*Nr4a1* (Nuclear receptor 4A1)、*Dax-1* (Nuclear receptor 0B1)、*Egr1* (Early growth response 1)、*Tcf1* (Transcription factor 1)、*Nfil3* (Nuclear factor interleukin 3)、*Cebpb* (CCAAT/enhancer-binding protein, beta)等の精巢中 mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【13077】(△○N)

想定される作用メカニズム：テストステロン合成系への影響

なお、本試験結果の解釈にあたっては、フタル酸ジブチルにおいては影響が認められている点に注意を要すると判断された。

- ⑨Hong ら(2005)によって、フタル酸ジエチル(Sigma-Aldrich、99%) 600mg/kg/day を 14 日齢から 3 日間経口投与した雌 SD ラットへの影響(最終投与 1 日後の 17 日齢)が検討されているが、子宮中 *CaBP-9k* (calbindin-D9k) mRNA 相対発現量、子宮中 CaBP-9k 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。【16060】(○○N)→(5)④

想定される作用メカニズム：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、フタル酸ジブチルにおいては影響が認められている点に注意を要すると判断された。

#### ※参考 (3) 発達影響 (今回評価対象としなかった文献)

- ①Manservigi ら(2015)によって、フタル酸ジエチル(Sigma-Aldrich、99%)0.1735mg/kg/day を 1 日齢から最長 181 日齢まで(哺育期間に相当する 1~28 日齢は母動物に投与)経口投与した SD ラットへの影響(97 日齢で非ばく露雄との交配し妊娠、出産を経て哺育 28 日目に乳腺発達度を試験)が検討されている。その結果として、同腹産仔数(出産後 7、14 日目)の低値、同腹死亡産仔数(出産後 7、14 日目)、産仔死亡率(出産後 7、14 日目)、新生仔体重(出産後 7、14 日目)の高値が認められた。なお、母動物左乳腺発達スコア(哺育 28 日目)、母動物右乳腺発達スコア(哺育 28 日目)には影響は認められなかった。【16150】

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での影響であるため。

#### (4) 代謝影響

- ①Mondal と Mukherjee (2020)によって、フタル酸ジエチル(Sisco Research laboratories) 1、10mg/kg/day を 8 週齢以上から 3 ヶ月間経口投与した雄 Swiss 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 以上のばく露群で脂肪細胞中 NOX4 (NADPH オキシダーゼサブユニットの一つ)蛋

白質相対発現量の低値、血中グルコース濃度、血中グルコース増加率、インスリン投与後(0~60分間)血中グルコース濃度、インスリン抵抗指数(HOMA-IR: homeostasis model assessment insulin resistance)、肝細胞中活性酸素種発現量、脂肪細胞中活性酸素種発現量、肝細胞中 gp91phox (NADPH オキシダーゼサブユニットの一つ)蛋白質相対発現量、脂肪細胞中 gp91phox 蛋白質相対発現量の高値、10mg/kg/day のばく露群で血中インスリン濃度の高値が認められた。なお、肝細胞中 NOX4 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。【16147】(×)

想定される作用メカニズム：インスリンシグナルの阻害

## (5) エストロゲン作用

①Kumar ら(2014)によって、フタル酸ジエチル(Himedia, 99%) 1、10、50 $\mu$ M(=222、2,220、11,100 $\mu$ g/L)の濃度に 20 時間ばく露したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO (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、10 $\mu$ M(=2,220 $\mu$ 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、フタル酸ジエチル(Himedia, 99%) 1、10、50、100 $\mu$ M(=222、2,220、11,100、22,200 $\mu$ g/L)の濃度に 20 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 (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、10 $\mu$ M(=2,220 $\mu$ 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。【16153 再】(○)P)

②Lee ら(2012)によって、フタル酸ジエチル(Sigma-Aldrich) 0.72、3.6、18、90、450 $\mu$ M(=160、800、4,000、20,000、100,000 $\mu$ g/L)の濃度に 72 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MVLN (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、90 $\mu$ M(=20,000 $\mu$ 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。【14788 再】( $\Delta$ )P)

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。

③Harris ら(1997)によって、フタル酸ジエチル(BP Chemical, >99.7%) 0.5~1,000 $\mu$ M(=111~222,000 $\mu$ g/L)の濃度に 5~7 日間ばく露した酵母(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  $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性発現誘導)が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub> 値約 400 $\mu$ M(=89,000 $\mu$ 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、フタル酸ジエチル(Greyhound Chemservice, 97-99%) 0.1、1、10 $\mu$ M(=22.2、222、2,220 $\mu$ g/L)の濃度に 11 日間ばく露したヒト乳がん細胞 ZR-75 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。

また、フタル酸ジエチル(Greyhound Chemservice, 97-99%) 10 $\mu$ M(=2,220 $\mu$ g/L)の濃度に 12 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験が検討されているが、細胞増殖誘導は認められなかった。【332】( $\Delta$ )P)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、統計学的な検定が一部示されていない点に注意を要すると判断された。

④Hong ら(2005)によって、フタル酸ジエチル(Sigma-Aldrich, 99%) 1、10、100 $\mu$ M(=222、2,220、

22,200 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に6日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験が検討されているが、細胞増殖誘導は認められなかった。【16060 再】(○○N)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、フタル酸ジブチルにおいては影響が認められている点に注意を要すると判断された。

## (6) エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用

①Fiocchetti ら(2021)によって、フタル酸ジエチル(Merck) 0.001、0.1、10 $\mu\text{M}$ (=0.222、22.2、2,220 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に24時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF7 への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{M}$ (=2,220 $\mu\text{g/L}$ )の濃度区でエストロゲン受容体 $\alpha$ 蛋白質相対発現量の低値、Ser118りん酸化エストロゲン受容体 $\alpha$ 蛋白質相対発現量、AKT (protein kinase B)りん酸化率、pS2蛋白質相対発現量の高値が認められ、AKT及びERK1/2りん酸化率はエンドキシフェン(endoxifen) 1 $\mu\text{M}$ 添加1時間の前処理で消失した。なお、ERK1/2 (extracellular signal-regulated protein kinase 1/2)りん酸化率には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジエチル(Merck) 0.001、0.1、10 $\mu\text{M}$ (=0.222、22.2、2,220 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に24時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 10nM 共存下)したヒト乳がん細胞 MCF7 への影響が検討されている。その結果として、0.001 $\mu\text{M}$ (=0.222 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度区でエストロゲン受容体 $\alpha$ 蛋白質相対発現量の低値が認められた。なお、Ser118りん酸化エストロゲン受容体 $\alpha$ 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。【16141】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

## ※参考 エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用 (今回評価対象としなかった文献)

②Lee ら(2012)によって、フタル酸ジエチル(Sigma) 0.0001~10 $\mu\text{M}$ (=0.0222~2,220 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に20~24時間ばく露したヒト子宮頸がん細胞 HeLa-9903 (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)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

また、フタル酸ジエチル(Sigma) 0.01~10,000 $\mu\text{M}$ (=0.0222~2,220 $\mu\text{g/L}$ )の濃度で遺伝子組み換えヒトエストロゲン受容体 $\alpha$ (17 $\beta$ -エストラジオール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17 $\beta$ -エストラジオール 0.5nM 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。【16154】

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

## (7) アンドロゲン作用

①Christen ら(2010)によって、フタル酸ジエチル(Sigma-Aldrich) 19、156、625 $\mu\text{M}$ (=4,200、34,600、139,000 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に24時間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。

【7885】(△○N)→(8)③

## (8) 抗アンドロゲン作用

①Kumar ら(2014)らによって、フタル酸ジエチル(Himedia、99%) 1、10、100 $\mu\text{M}$ (=222、2,220、

22,200 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 20 時間ばく露(テストステロン 10nM 共存下)したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO 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  $\mu\text{M}$ (=222 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。【16153 再】(△○P)

②Kumar ら(2015)らによって、フタル酸ジエチル(Himedia、99%) 25、50、100 $\mu\text{M}$ (=5,550、11,100、22,200 $\mu\text{g/L}$ )の濃度にばく露(テストステロン 10nM 共存下)したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO 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、25 $\mu\text{M}$ (=5,550 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。【16151】(△○P)→(10)①

なお、本試験結果の解釈にあたっては、ばく露時間の記載が不明瞭である点に注意を要すると判断された。

③Christen ら(2010)によって、フタル酸ジエチル(Sigma-Aldrich) 0.5~1,000 $\mu\text{M}$ (=111~222,000 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 24 時間ばく露(ジヒドロテストステロン 0.5nM 共存下)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、IC<sub>50</sub> 値 515 $\mu\text{M}$ (=114,000 $\mu\text{g/L}$ )の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。【7885 再】(△○P)

#### (9) ヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響

①Sohn ら(2016)によって、フタル酸ジエチル(Sigma-Aldrich) 4、40、400 $\mu\text{M}$ 、(=889、8,890、88,900 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 48 時間ばく露したヒト副腎皮質上皮がん細胞 H295R への影響が検討されている。その結果として、4  $\mu\text{M}$ (=889 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度区でテストステロン濃度、*star* mRNA 相対発現量、*3 $\beta$ hsd2* mRNA 相対発現量の低値、17 $\beta$ -エストラジオール/テストステロン濃度比の高値、40 $\mu\text{M}$ (=8,890 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度区で *cyp19a* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、17 $\beta$ -エストラジオール濃度には影響は認められなかった。【再 15955】(△○P)

想定される作用メカニズム：テストステロン産生の低下

②Lee ら(2019)によって、フタル酸ジエチル(Sigma-Aldrich) 18、90、450 $\mu\text{M}$ (=4,000、20,000、100,000 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 48 時間ばく露したヒト副腎皮質上皮がん細胞 H295R への影響が検討されている。その結果として、18 $\mu\text{M}$ (=4,000 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度区でテストステロン濃度の低値、90 $\mu\text{M}$ (=20,000 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度区で 17 $\beta$ -エストラジオール濃度、17 $\beta$ -エストラジオール/テストステロン濃度比の高値が認められた。【14788 再】(△○P)

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン作用

#### (10) セルトリ細胞への影響

①Kumar ら(2015)によって、フタル酸ジエチル(Himedia、99%) 50 $\mu\text{M}$ (=11,100 $\mu\text{g/L}$ )の濃度にばく露したセルトリ細胞(3週齢雄 Swiss ラット由来精巣から作成した一次培養細胞への影響(セルトリ細胞機能因子)が検討されている。その結果として、*Vimentin* (ビメンチン) mRNA 相対発現量、*Testin* mRNA 相対発現量、AR (アンドロゲン受容体)蛋白質相対発現量、Connexin-43 蛋白質相対発現量、Occludin 蛋白質相対発現量、E-cadherin 蛋白質相対発現量の低値、ABP (アンドロゲン結合蛋白質) mRNA 相対発現量、Aromatase 蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、*Transferrin* (トランスフェリン) mRNA 相対発現量、*Occludin* (オクルディン) mRNA 相対発現量、3 $\beta$ -HSD (ヒドロキシステロイドデ

ヒドロゲナーゼ)蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。【16151 再】(△○P)

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、ばく露時間の記載が不明瞭である点に注意を要すると判断された。

#### ※参考 (11) イヌ精巣組織への影響 (今回評価対象としなかった文献)

①Tekin ら(2020)によって、フタル酸ジエチル(Dr. Ehrenstorfer, 99%) 0.001~2.5nM(=0.000001~0.0025μM=0.000222~0.555μg/L)の濃度に 24 時間ばく露したイヌ精巣柔組織細胞への影響が検討されている。その結果として、細胞生存率の低値が認められた。【16146】

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。

#### ※参考 (12) ヒト甲状腺上皮細胞への影響 (今回評価対象としなかった文献)

①Hansen ら(2016)によって、フタル酸ジエチル(Sigma-Aldrich) 0.001、0.01、0.1、1、10、100μM(=0.222、2.22、22.2、222、2,220、22,200μg/L)の濃度に 72 時間ばく露(甲状腺刺激ホルモン 1U/L 共存下)したヒト甲状腺上皮細胞(一時培養細胞)への影響が検討されているが、サイログロブリン分泌量、cAMP 分泌量には影響は認められなかった。【15957】

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、ばく露時間の記載が不明瞭である点に注意を要すると判断された。

#### (13) 疫学的調査

①Morgenstern ら(2017)によって、米国 New York 市にて、フタル酸ジエチルについて、Columbia Center for Children's Environmental (CCCEH) Cohort 調査にて 1998 年から 2006 年にかけて内 Manhattan 北部及び South Bronx に一年以上在住の妊娠女性 727 名(平均出産年齢 25.3±5.1 歳、平均妊娠期間 39.3±1.5 週間)及びその出産児(男児 47.6%、女児 52.4%)を対象に、フタル酸エステル類ばく露と血清中甲状腺関連ホルモン濃度との関連性についてについて検討されている。その結果として、線形回帰分析において、出産児 229 名(37.2±2.4 週齢)の尿中フタル酸モノエチル幾何平均濃度 138.6 (95%信頼区間 116.8, 164.6ng/mL)と女児 119 名の血清中遊離サイロキシン濃度とに負の相関性が認められた。なお、女児 120 名の血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、男児 109 名の血清中遊離サイロキシン又は甲状腺刺激ホルモン濃度とには相関性は認められなかった。

なお、線形回帰分析において、母親 181 名(妊娠 33.8±3.2 週)の尿中フタル酸モノエチル幾何平均濃度 161.8 (95%信頼区間 135.6, 193.0ng/mL)と女児 98~99 名の血清中遊離サイロキシン又は中甲状腺刺激ホルモン濃度、男児 82 名の血清中遊離サイロキシン又は中甲状腺刺激ホルモン濃度とには相関性は認められなかった。【16149】(○○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

②Pant ら(2014)によって、インド New Delhi 市にて、フタル酸ジエチルについて、Andrology Laboratory of the Reproductive Biology Department, All India Institute of Medical Sciences (AIMS)にて不妊検査を受診した男性 60 名(平均年齢 31.81±5.27 歳)を対象に、農鉛、カドミウム、フタル酸エステル類ばく露と血清中ホルモン濃度及び精子質との関連性についてについて検討されているが、一変量逐次

(univariate and stepwise)重回帰分析において、精液中フタル酸ジエチル平均濃度(0.90±0.57µg/mL)と血清中テストステロン濃度、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、運動精子率、精子濃度、正常形状精子率、精子尾部長、精子尾部中 DNA 濃度、精子尾部移動性とに相関性は認められなかった。【15981】(○○N)

想定される作用メカニズム：影響は認められなかった。

なお、本試験結果の解釈にあたっては、フタル酸ジブチルにおいては影響が認められている点に注意を要すると判断された。また、精液中フタル酸エステル類の測定結果にコンタミネーションの影響の懸念がある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、エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用によるステロイド代謝亢進作用、卵巣でのエストロゲン合成能の低下、精巣でのステロイドホルモン産生影響を示すこと、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、抗アンドロゲン作用、テストステロン産生の低下を示すこと、疫学的調査の報告において、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。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表2に示した。

表2 信頼性評価のまとめと今後の対応案

物質名：フタル酸ジエチル

区分	著者 【引用文献番号】	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	エストロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用によるステロイド代謝亢進作用	①Lee ら(2019)【14788】→(5)②、(9)②	△	○P	○
	胚発生毒性	②Bissegger ら(2018)【14793】	△	?	—
	脂質代謝阻害	③Seyoum と Pradhan (2019)【14791】	△	×	×
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、卵巣でのエストロゲン合成能の低下	④Tseng ら(2021)【16144】	△	○P	○

区分	著者 【引用文献番号】	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>	
	精巣でのステロイドホルモン産生影響	⑤Sohn ら(2016)【15955】→(9)①	△	○P	○
	脱皮の遅延	⑥Zhou とFingerman (2017)【16157】	△	×	×
		⑦Tran ら(2021)【16145】評価未実施			
(2)生殖影響	精巣毒性	①Mondal ら(2019)【16148】	△	?	—
	エストロゲン様作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用	②Kumar ら(2014)【16153】→(5)①、(8)①	○	○P	○
	精巣毒性	③Ara ら(2021)【16143】	△	?	—
	抗アンドロゲン様作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用	④Fujii ら(2005)【16156】	○	○P	○
	精巣毒性	⑤Lamb ら(1987)【16083】	○	?	—
	精巣におけるテストステロン産生抑制作用	⑥Spade ら(2018)【15927】	○	○N	×
	テストステロン合成系への作用	⑦Kuhl ら(2007)【16037】	△	○N	×
	テストステロン合成系への作用	⑧Liu ら(2005)【13077】	△	○N	×
	エストロゲン様作用	⑨Hong ら(2005)【16060】→(5)④	○	○N	×
(3)発達影響		①Manservisi ら(2015)【16150】評価未実施			
(4)代謝影響	インスリンシグナルの阻害	①Mondal とMukherjee (2020)【16147】	×	—	×
(5)エストロゲン作用		①Kumar ら(2014)【16153 再】	○	○P	○
		②Lee ら(2019)【14788 再】	△	○P	○
		③Harris ら(1997)【332】	△	○P	○
		④Hong ら(2005)【16060 再】	○	○N	×
(6)エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用		①Fiocchetti ら(2021)【16141】	△	○P	○

区分		著者 【引用文献番号】	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>
		②Lee ら(2012) 【16154】 評価未実施			
(7)アンドロゲン作用		①Christen ら(2010)【7885】 →(7)③	△	○N	×
(8)抗アンドロゲン作用		①Kumar ら(2014) 【16153 再】	△	○P	○
		②Kumar ら(2015) 【16151】 →(10) ①	△	○P	○
		③Christen ら(2010)【7885 再】	△	○P	○
(9)ヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響	テストステロン産生の低下	①Sohn ら(2016) 【15955 再】	△	○P	○
	抗アンドロゲン作用	②Lee ら(2019) 【14788 再】	△	○P	○
(10)セルトリ細胞への影響	抗アンドロゲン作用	①Kumar ら(2015) 【16151 再】	△	○P	○
(11)イヌ精巣組織への影響		①Tekin ら(2020) 【16146】 評価未実施			
(12)ヒト甲状腺上皮細胞への影響		①Hansen ら(2016) 【15957】 評価未実施			
(13)疫学的調査	視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用	①Morgenstern ら(2017)【16149】	○	○P	○
		②Pant ら(2014) 【15981】	○	○N	×
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、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用によるステロイド代謝亢進作用、卵巣でのエストロゲン合成能の低下、精巣でのステロイドホルモン産生影響を示すこと、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、抗アンドロゲン作用、テストステロン産生の低下を示すこと、疫学的調査の報告において、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

#### 引用文献

332 Harris CA, Henttu P, Parker MG and Sumpter JP (1997) The estrogenic activity of phthalate esters *in vitro*.

- Environmental Health Perspectives, 105 (8), 802-811.
- 7885 Christen V, Crettaz P, Oberli-Schrämml A and Fent K (2010) Some flame retardants and the antimicrobials triclosan and triclocarban enhance the androgenic activity *in vitro*. *Chemosphere*, 81 (10), 1245-1252.
- 13077 Liu K, Lehmann KP, Sar M, Young SS and Gaido KW (2005) Gene expression profiling following *in utero* exposure to phthalate esters reveals new gene targets in the etiology of testicular dysgenesis. *Biology of Reproduction*, 73 (1), 180-192.
- 14788 Lee H, Lee J, Choi K and Kim KT (2019) Comparative analysis of endocrine disrupting effects of major phthalates in employed two cell lines (MVLN and H295R) and embryonic zebrafish assay. *Environmental Research*, 172, 319-325.
- 14791 Seyoum A and Pradhan A (2019) Effect of phthalates on development, reproduction, fat metabolism and lifespan in *Daphnia magna*. *Science of the Total Environment*, 654, 969-977.
- 14793 Bissegger S, Pineda Castro MA, Yargeau V and Langlois VS (2018) Phthalates modulate steroid 5-reductase transcripts in the Western clawed frog embryo. *Comparative Biochemistry and Physiology: Toxicology & Pharmacology*, 213, 39-46.
- 15927 Spade DJ, Bai CY, Lambright C, Conley JM, Boekelheide K and Gray LE (2018) Validation of an automated counting procedure for phthalate-induced testicular multinucleated germ cells. *Toxicology Letters*, 290, 55-61.
- 15955 Sohn J, Kim S, Koschorreck J, Kho Y and Choi K (2016) Alteration of sex hormone levels and steroidogenic pathway by several low molecular weight phthalates and their metabolites in male zebrafish (*Danio rerio*) and/or human adrenal cell (H295R) line. *Journal of Hazardous Materials*, 320, 45-54.
- 15957 Hansen JF, Brorson MM, Boas M, Frederiksen H, Nielsen CH, Lindström ES, Hofman-Bang J, Hartoft-Nielsen ML, Frisch T, Main KM, Bendtzen K, Rasmussen Å K and Feldt-Rasmussen U (2016) Phthalates are metabolised by primary thyroid cell cultures but have limited influence on selected thyroid cell functions *in vitro*. *PloS One*, 11 (3), e0151192.
- 15981 Pant N, Kumar G, Upadhyay AD, Patel DK, Gupta YK and Chaturvedi PK (2014) Reproductive toxicity of lead, cadmium and phthalate exposure in men. *Environmental Science and Pollution Research International*, 21 (18), 11066-11074.
- 16037 Kuhl AJ, Ross SM and Gaido KW (2007) CCAAT/enhancer binding protein beta, but not steroidogenic factor-1, modulates the phthalate-induced dysregulation of rat fetal testicular steroidogenesis. *Endocrinology*, 148 (12), 5851-5864.
- 16060 Hong EJ, Ji YK, Choi KC, Manabe N and Jeung EB (2005) Conflict of estrogenic activity by various phthalates between *in vitro* and *in vivo* models related to the expression of Calbindin-D9k. *Journal of Reproduction and Development*, 51 (2), 253-263.
- 16083 Lamb JC IV, Chapin RE, Teague J, Lawton AD and Reel JR (1987) Reproductive effects of four phthalic acid esters in the mouse. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 88 (2), 255-269.
- 16141 Fiocchetti M, Bastari G, Cipolletti M, Leone S, Acconcia F and Marino M (2021) The peculiar estrogenicity of diethyl phthalate: modulation of estrogen receptor  $\alpha$  activities in the proliferation of breast cancer cells. *Toxics*, 9, 237.
- 16143 Ara C, Asmatullah, Yaseen F, Ali S, Shakir HA, Khan M, Andleeb S and Ramzan N (2021) Evaluation of sex steroid hormones and reproductive irregularities in diethyl phthalate-exposed premature mice: modulatory effect of raw honey against potential anomalies. *Environmental Science and Pollution Research International*, 28 (39), 55265-55276.
- 16144 Tseng YJ, Chen TH, Tsai SC and Wu SM (2021) Effects of bisphenol A or diethyl phthalate on cartilage development and the swimming behavior of zebrafish (*Danio rerio*) through maternal exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology: Toxicology & Pharmacology*, 247, 109057.
- 16145 Tran CM, Do TN and Kim KT (2021) Comparative Analysis of Neurotoxicity of Six Phthalates in Zebrafish Embryos. *Toxics*, 9, 5.
- 16146 Tekin K, Arslan P, CİL B, Filazi A, Akçay E and Yurdakok-Dikmen B (2020) Companion animals get close to the toxic aspects of antropogenic world: cytotoxicity of phthalates and bisphenol A on dog testicular primary cells. *Cytotechnology*, 72 (5), 629-638.
- 16147 Mondal S and Mukherjee S (2020) Long-term dietary administration of diethyl phthalate triggers loss of insulin sensitivity in two key insulin target tissues of mice. *Human and Experimental Toxicology*, 39 (7), 984-993.
- 16148 Mondal S, Ghosh S, Bhattacharya S and Mukherjee S (2019) Chronic dietary administration of lower levels of diethyl phthalate induces murine testicular germ cell inflammation and sperm pathologies: Involvement of oxidative stress. *Chemosphere*, 229, 443-451.

- 16149 Morgenstern R, Whyatt RM, Insel BJ, Calafat AM, Liu X, Rauh VA, Herbstman J, Bradwin G and Factor-Litvak P (2017) Phthalates and thyroid function in preschool age children: Sex specific associations. *Environment International*, 106, 11-18.
- 16150 Manservigi F, Gopalakrishnan K, Tibaldi E, Hysi A, Iezzi M, Lambertini L, Teitelbaum S, Chen J and Belpoggi F (2015) Effect of maternal exposure to endocrine disrupting chemicals on reproduction and mammary gland development in female Sprague-Dawley rats. *Reproductive Toxicology*, 54, 110-119.
- 16151 Kumar N, Srivastava S and Roy P (2015) Impact of low molecular weight phthalates in inducing reproductive malfunctions in male mice: Special emphasis on Sertoli cell functions. *General and Comparative Endocrinology*, 215, 36-50.
- 16153 Kumar N, Sharan S, Srivastava S and Roy P (2014) Assessment of estrogenic potential of diethyl phthalate in female reproductive system involving both genomic and non-genomic actions. *Reproductive Toxicology*, 49, 12-26.
- 16154 Lee HK, Kim TS, Kim CY, Kang IH, Kim MG, Jung KK, Kim HS, Han SY, Yoon HJ and Rhee GS (2012) Evaluation of *in vitro* screening system for estrogenicity: comparison of stably transfected human estrogen receptor- $\alpha$  transcriptional activation (OECD TG455) assay and estrogen receptor (ER) binding assay. *Journal of Toxicological Sciences*, 37 (2), 431-437.
- 16156 Fujii S, Yabe K, Furukawa M, Hirata M, Kiguchi M and Ikka T (2005) A two-generation reproductive toxicity study of diethyl phthalate (DEP) in rats. *Journal of Toxicological Sciences*, 30 Spec No., 97-116.
- 16157 Zou E and Fingerman M (1997) Effects of estrogenic xenobiotics on molting of the water flea, *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 38 (3), 281-285.

### Ⅲ. フタル酸ジブチル

#### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

フタル酸ジブチル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、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、抗アンドロゲン作用、甲状腺ホルモン作用、ヒト甲状腺上皮細胞への影響、疫学的調査に関する報告がある。

なお、今回のフタル酸ジブチルについては、生態影響に関する報告に加え、前出のフタル酸ジエチルと併せてフタル酸ジブチルについても報告が示されている文献を調査対象範囲とした。

#### (1) 生態影響（甲殻類）

①Wei ら(2018)によって、フタル酸ジブチル(Tianjin chemical reagent, 99%) 100、200、300、400、500 $\mu$ g/L 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*) F<sub>0</sub> への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu$ g/L 以上のばく露区で総産仔数の高値、200 $\mu$ g/L 以上のばく露区で出産間隔日数の高値、300、400 $\mu$ g/L のばく露区で同腹産仔数の高値、500 $\mu$ g/L のばく露区で内的増加率の高値が認められた。なお、総脱皮回数、体長伸長率には影響は認められなかった。

また、F<sub>0</sub> の 3 回目出産によるオオミジンコ (*Daphnia magna*) F<sub>1</sub> への影響(継続ばく露なし、受精後 24 時間未満齢から 21 日間まで観察)が検討されている。その結果として、300 $\mu$ g/L のばく露区で総脱皮回数の低値が認められた。なお、総産仔数、同腹産仔数、内的増加率、出産間隔日数、体長伸長率には影響は認められなかった。

また、F<sub>2</sub> の 3 回目出産によるオオミジンコ (*Daphnia magna*) F<sub>3</sub> への影響(継続ばく露なし、受精後 24 時間未満齢から 21 日間まで観察)が検討されている。その結果として、100 $\mu$ g/L 以上のばく露区で総脱皮回数の高値、100、200、300、500 $\mu$ g/L のばく露区で内的増加率の低値、300 $\mu$ g/L 以上のばく露区で体長伸長率の低値、400 $\mu$ g/L のばく露区で総産仔数の高値が認められた。なお、同腹産仔数、出産間隔日数には影響は認められなかった。【15925】(評価結果の略号：○○N)

想定される作用メカニズム：脱皮ホルモン様作用

②Seyoum と Pradhan (2019)によって、フタル酸ジブチル(Sigma, 99%) 1、10 $\mu$ M(=278、2,780 $\mu$ g/L)(設定濃度)に休眠卵(ephippia)に 24 時間未満齢から 24 時間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響(全身中 mRNA 相対発現量)が検討されている。その結果として、生殖関連遺伝子群として、1  $\mu$ M(=278 $\mu$ g/L)以上のばく露区で *vfg2*、*vasa* の低値が認められた。なお、*vfg1* には影響は認められなかった。また、脂質代謝関連遺伝子群として、1  $\mu$ M(=278 $\mu$ g/L)以上のばく露区で *hr96*、*NPC1b*、*man*、*rxr* の低値、1  $\mu$ M(=278 $\mu$ g/L)のばく露区で *cer*、*magro* の低値、10 $\mu$ M(=2,780 $\mu$ g/L)のばく露区で *SM3* の低値が認められた。なお、*ndnt*、*cpt1*、*fabd*、*acdal*、*hsl17b12* には影響は認められなかった。

また、ストレス応答関連遺伝子群として、1  $\mu$ M(=278 $\mu$ g/L)以上のばく露区で *hsp70*、*mt-a*、*dapl* の低値、*cat* の高値、1  $\mu$ M(=278 $\mu$ g/L)のばく露区で *mt-c* の低値が認められた。なお、*hsp90*、*mt-b*、*gst* には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジブチル(Sigma, 99%) 1、10 $\mu$ M(=278、2,780 $\mu$ g/L)(設定濃度)に休眠卵に 24 時間未満齢から最長 30 日以上ばく露したオオミジンコ(*D. magna*)への影響が検討されている。その結果として、1  $\mu$ M(=278 $\mu$ g/L)以上のばく露区で生存日数の低値、脂質蓄積(4 日後、Oil Red O Stain 染色画像解析)、10 $\mu$ M(=2,780 $\mu$ g/L)のばく露区で体長(14 日後)、尾長(7、14 日後)の低値が認められた。なお、総産仔数(30 日後)には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジブチル(Sigma, 99%) 1、10 $\mu$ M(=278、2,780 $\mu$ g/L)(設定濃度)に休眠卵に 24 時間未満齢から 48 時間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*)への影響が検討されているが、死亡率には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジブチル(Sigma, 99%) 1、10 $\mu$ M(=278、2,780 $\mu$ g/L)(設定濃度)に休眠卵に 24 時間未満齢から 96 時間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*)への影響が検討されているが、孵化率には影響は認められなかった。【14791】(△×)

想定される作用メカニズム：脂質代謝阻害

## (2)生態影響（魚類）

①Bhatia ら(2015)によって、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich) 5、15、50 $\mu$ g/L(設定濃度)に受精後約 44 日目から 90 日間ばく露した幼若マレーリバーレインボーフィッシュ(*Melanotaenia fluviatilis*)への影響が検討されている。その結果として、5  $\mu$ g/L 以上のばく露区で体長、体重の低値、肥満度、全身中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度の高値、5、15 $\mu$ g/L のばく露区で全身中 11-ケトテストステロン濃度の高値、5  $\mu$ g/L のばく露区で全身中 17 $\beta$ -エストラジオール/11-ケトテストステロン濃度比の高値、50 $\mu$ g/L のばく露区で生殖器官の病理組織学的検査における間性の出現が認められた。なお、生存率には影響は認められなかった。【15970】(△?)

想定される作用メカニズム：不明

②Hu ら(2020)によって、フタル酸ジブチル(AccuStandard) 10、30、100 $\mu$ g/L(設定濃度)に胞胚期(受精後 2 日目)から 4 ヶ月間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、雄において、10 $\mu$ g/L 以上のばく露区で脳中 *LH $\beta$*  mRNA 相対発現量、肝臓中 *VTG1* mRNA 相対発現量の低値、30 $\mu$ g/L 以上のばく露区で精巣中 *CYP19a* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ER $\beta$*  mRNA 相対発現量の低値、脳中 *FSH $\beta$*  mRNA 相対発現量の高値、100 $\mu$ g/L のばく露区で脳中 *CYP19b* mRNA 相対発現量、精巣発達ステージにおける精子細胞期の存在率の低値、生殖腺体指数、精巣発達ステージにおける精母細胞期の存在率、血漿中テストステロン濃度、精巣中 *CYP17* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、体長、体重、肥満度、脳体指数、肝体指数、精巣発達ステージにおける精原細胞期の存在率、血漿中エストラジオール濃度、精巣中 *17 $\beta$ -HSD* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ER $\alpha$*  mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、雌において、30 $\mu$ g/L 以上のばく露区で血漿中エストラジオール濃度、卵巣発達ステージにおける排卵前卵胞期の存在率の低値、脳中 *LH $\beta$*  mRNA 相対発現量、脳中 *CYP19b* mRNA 相対発現量、卵巣中 *CYP19a* mRNA 相対発現量、肝臓中 *VTG1* mRNA 相対発現量の低値、生殖腺体指数、脳中 *FSH $\beta$*  mRNA 相対発現量、卵巣発達ステージにおける卵黄形成期卵胞期の存在率の高値、100 $\mu$ g/L のばく露区で肝臓中 *ER $\beta$*  mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、体長、体重、肥満度、脳体指数、肝体指数、血漿中テストステロン濃度、卵巣発達ステージにおける卵原細胞期の存在率、卵巣発達ステージにおける前卵黄形成期卵胞期の存在率、卵巣中 *CYP17* mRNA 相対発現量、卵巣中 *17 $\beta$ -HSD* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ER $\alpha$*  mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。なお、F<sub>0</sub> 雌雄混合卵稚仔について試験(受精後 5 日)において、生存率、奇形率、体長、孵化率には影響は認められなかった。

また、受精後約 100 日目から 21 日間の F<sub>0</sub> 交配試験において、100 $\mu$ g/L のばく露区で総産卵数の低値が認められた。

また、上記 F<sub>0</sub> が産卵した F<sub>1</sub> 雌雄混合卵稚仔について試験(受精後 5 日)において、100 $\mu$ g/L のばく

露区で総産卵数の低値が認められた。なお、F<sub>0</sub>雌雄混合卵稚仔について試験(受精後5日)において、体重、孵化率、奇形率には影響は認められなかった。【15901】(○●P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用

- ③Chenら(2021)によって、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich、99%)11、113、1,133 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に4ヶ月齢以上から30日間ばく露した雌雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、F<sub>0</sub>において、1,133 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で総産卵数、雌生殖腺体指数の低値が認められた。なお、雄生殖腺体指数には影響は認められなかった。

また、上記F<sub>0</sub>が産卵したF<sub>1</sub>(継続ばく露と思われる)において、11 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で卵稚仔心拍数(48、96hpf)、卵稚仔累積奇形率(96hpf)の高値、113 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で卵稚仔累積死亡率(96hpf)の高値、1,133 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で卵稚仔孵化率(48hpf)の高値が認められた。なお、卵稚仔自発運動量(24hpf)、卵稚仔体長(96hpf)には影響は認められなかった。【15890】(○●P)

想定される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用

- ④Ortiz-Zarragoitiaら(2006)によって、フタル酸ジブチル(Sigma、98%)25、100 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に受精後1~2時間(1~2hpf)から最長5週間ばく露した雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、25 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でCYP1A mRNA 相対発現量の高値、100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でアシル-CoA オキシダーゼ比活性、ペルオキシソーム体積比、ペルオキシソーム数密度の高値が認められた。なお、死亡率、CYP19A2 mRNA 相対発現量(脳特異的と目される)、CYP19A1 mRNA 相対発現量(卵巣特異的と目される)、VTG mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジブチル(Sigma、98%)100、500 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に5~6月齢から15日間ばく露した雌ゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で死亡率、卵巣中CYP19A1 mRNA 相対発現量、肝臓中CYP1A mRNA 相対発現量、肝臓中アシル-CoA オキシダーゼ比活性の高値、100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で脳中CYP19A2 mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、肝臓中ピテロゲニン濃度、肝臓中VTG mRNA 相対発現量、日毎産卵数(ばく露後に非ばく露雄と21~3日間の交配試験)には影響は認められなかった。【16048】(△?)

想定される作用メカニズム：不明

- ⑤Aokiら(2011)によって、フタル酸ジブチル(Fisher Scientific)15.23 $\pm$ 6.28、35.20 $\pm$ 8.03 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)(設定濃度15、35 $\mu\text{g/L}$ に相当)に22日間ばく露した成熟雄イトヨ(*Gasterosteus aculeatus*)への影響が検討されている。その結果として、35.20 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で腎臓中スピギン蛋白質濃度(体重当補正值)の低値、血漿中テストステロン濃度の高値が認められた。なお、体重、体長、生殖腺体指数、累積営巣数、血漿中11-テストステロン濃度、精巣中StAR mRNA 相対発現量、精巣中3 $\beta$ -HSD mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16009】(△?)

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、試験が実施された水温や光周期等が至適飼育条件でない点に注意を要すると判断された。

- ⑥Dongら(2018)によって、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich、98%)50 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に受精後4時間から受精後96時間までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(分子ネットワーク関連遺伝子の全身中mRNA 相対発現量)が検討されている。その結果として、SERBPI (plasminogen activator inhibitor 1 RNA-binding protein 1)、SNXI (sorting nexin 1)、SSB (Sjogren syndrome antigen B)の高値が認められた。なお、CHB (brain creatine kinase b)には影響は認められなかった。【15931】(○?)

想定される作用メカニズム：不明

⑦Xu ら(2014)によって、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich, 98%) 100、500 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に3ヶ月齢以上から21日間ばく露した雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で全身中アシル-CoA オキシダーゼ比活性の高値、100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で全身中ビテロゲニン濃度の低値が認められた。なお、体長、体重、肥満度には影響は認められなかった。

また、ばく露開始から45日後の非ばく露成熟雌と交配試験において、受精率、総産卵数、受精卵生存率(48、72hpf)、受精卵孵化率(48、72hpf)には影響は認められなかった。【15978】(○?)

想定される作用メカニズム：不明

⑧Bhatia ら(2014)によって、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich) 125、250、500、1,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に7日間ばく露した成熟雄マレーリバーレインボーフィッシュ(*Melanotaenia fluviatilis*)への影響が検討されている。その結果として、125 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で精巣中精子細胞サイズ、精巣中A型精母細胞サイズの低値、肝臓中 *ER $\alpha$*  mRNA 相対発現量の高値、125、250、1,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で精巣中B型精母細胞サイズの低値、125、250、500 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で精巣中精原細胞サイズの低値、125、1,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で肝臓中 *ER $\beta$*  mRNA 相対発現量の高値、125 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で肝臓中 *VTG* mRNA 相対発現量の高値、250 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で生殖細胞における精原細胞の存在率の高値、250 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で生殖細胞における精子の存在率の高値、500 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で生殖細胞における精母細胞の存在率の低値、血清中ビテロゲニン濃度、肝臓中 *AR $\beta$*  mRNA 相対発現量の高値が認められた。1,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で脳中アロマトーゼ比活性、肝臓中 *AR $\alpha$*  mRNA 相対発現量、肝臓中 *Chg-L* (choriogenin L) mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、体重、体長、生殖腺体指数、生殖細胞における精子細胞の存在率には影響は認められなかった。【15984】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用

⑨Bhatia ら(2013)によって、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich) 125、250、500、1,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に7日間ばく露した成熟雌マレーリバーレインボーフィッシュ(*Melanotaenia fluviatilis*)への影響が検討されている。その結果として、125、500、1,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で卵膜厚(卵黄形成期後期)の低値、250 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で卵胞サイズ(核周辺期)の高値、500 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で卵胞サイズ(胞状期)、血漿中ビテロゲニン濃度の低値、1,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で卵胞サイズ(卵黄形成期前期)の低値が認められた。なお、死亡率、生殖腺体指数、肝臓体指数、肥満度、卵母細胞発達ステージ、卵胞サイズ(卵黄形成期後期、産卵期)、顆粒細胞高さ(卵黄形成期後期)には影響は認められなかった。

【15994】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン産生抑制作用

⑩Ortiz-Zarragoitia ら(2005)によって、フタル酸ジブチル(Fluka, 98%) 500 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に15日間ばく露した成熟雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、肝臓中ペルオキシソーム密度(体積/画像面積比及び数/体積)、精巣中増殖精原細胞密度(数/画像面積)、肝臓中アシル-CoA オキシダーゼ比活性の高値が認められた。なお、肝臓中ビテロゲニン濃度、肝臓中カタラーゼ比活性、精巣中増殖細胞密度(体積/画像面積)、精巣中増殖精子細胞密度(数/画像面積)には影響は認められなかった。【12087】(△?)

想定される作用メカニズム：ペルオキシソーム増殖作用

⑪Chen ら(2020)によって、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich, 99%) 11、113、1,133 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に4ヶ月齢から30日間ばく露した雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、1,133 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で精巣発達ステージにおける精子期の存在率の低値、精巣発達ステ

ージにおける精母細胞期の存在率、血漿中テストステロン濃度、血漿中テストステロン/エストラジオール濃度比の高値が認められた。なお、肥満度、生殖腺体指数、血漿中エストラジオール濃度、精巣発達ステージにおける精原細胞期の存在率には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich、99%) 1,133 $\mu$ g/L(設定濃度)に4ヶ月齢から30日間ばく露した雄ゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響(生殖関連遺伝子の精巣中 mRNA 相対発現量)が検討されている。その結果として、*ptger1a*、*mntn1ba*、*epha2a*、*rdh10b*、*nr1d2a*、*ptger4c*、*epha2a* の低値、*cplx3a*、*celsr3*、*fgfr4* の高値が認められた。なお、*ephb6*、*adrb3a*、*slpr5b*、*xcrla.1*、*fstb*、*fshr*、*ghsra*、*ahr1a*、*cysltr1*、*erbb3b*、*lgals3bpb*、*nr5a5*、*crfb9*、*prelra*、*pparg*、*erbb3a*、*oxtr*、*grm8a*、*nr1h4*、*itgb6*、*crfb16*、*tmtops2a*、*itgb2*、*nr0b2a*、*adrb2b*、*ptger4b* には影響は認められなかった。【15902】(〇〇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

⑫Chen ら(2019)によって、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich、99%) 11、113、1,133 $\mu$ g/L(設定濃度)に30日間ばく露した成熟雌ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、1,133 $\mu$ g/L のばく露区で血漿中エストラジオール濃度、生殖腺体指数、卵巣発達ステージにおける卵黄形成後期又は成熟卵母細胞の存在率、卵巣発達ステージにおける卵黄形成前期卵母細胞の存在率の低値、血漿中テストステロン/エストラジオール濃度比、卵巣発達ステージにおける皮質胞状(corticalalveolar)卵母細胞の存在率、卵巣発達ステージにおける一次卵母細胞の存在率の高値が認められた。なお、肥満度、血漿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、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich、99%) 1,133 $\mu$ g/L(設定濃度)に30日間ばく露した成熟雌ゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響(生殖関連遺伝子の精巣中 mRNA 相対発現量)が検討されている。その結果として、*cyp7a1*、*sult2st3* の低値、*cyp19a1*、*hsd3b1*、*hsd11b2*、*comta*、*pik3cb*、*camk2d1* の高値が認められた。【15912】(〇〇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、性ホルモン合成系への影響

#### ※参考 生態影響（魚類）（今回評価対象としなかった文献）

⑬Chen ら(2015)によって、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich、98%) 100、500 $\mu$ g/L(設定濃度)に受精後20日(20dpf)から25日間ばく露した雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されているが、体長、体重、肥満度、全身中ビテロジェニン濃度、性比には影響は認められなかった。【15968】

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

⑭Nozaka ら(2004)によって、フタル酸ジブチル(和光純薬、99.7%)、24.4 $\pm$ 2.6、55.3 $\pm$ 5.3、133 $\pm$ 5.1、328 $\pm$ 37.1、822 $\pm$ 85.9 $\mu$ g/L(測定濃度)、(設定濃度 25.6、64、160、400、1,000 $\mu$ g/L に相当)に約3ヶ月齢以上から21日間ばく露した雌雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されているが、雌雄肝臓中ビテロゲニン濃度には影響は認められなかった。【5775】

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

#### (3)生態影響（両生類）

①Bissegger ら(2018)によって、フタル酸ジブチル(Sigma) 27.8、278、2,780 $\mu$ g/L(=0.1、1、10 $\mu$ M)(設定濃度)にNieuwkoop and Faber (NF) Stage 11 から NF Stage 46 まで72時間ばく露したネツタイツメガエル(*Silurana tropicalis*)への影響(遺伝子発現については全身中 mRNA 相対発現量)が検討されている。その結果として、27.8 $\mu$ g/L のばく露区で眼奇形率、腸奇形率の高値が認められた。なお、死亡率、尾部奇形率、浮腫発生率、心臓奇形発生率には影響は認められなかった。また、生殖関連遺伝

子群として、27.8、2,780 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で *srd5 $\beta$*  の高値、2,780 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で *srd5a1*、*srd5a3*、*ar* の高値が認められた。なお、*srd5a2*、*era*、*cyp19*、*star* には影響は認められなかった。

また、酸化ストレス応答関連遺伝子群として、27.8 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で *hsp70* の低値が認められた。なお、*gst*、*gpx* には影響は認められなかった。なお、DNA 転写調節核内受容体蛋白質関連遺伝子群として、*ppary* には影響は認められなかった。【14793】(△?)

想定される作用メカニズム：胚発生毒性

- ②Shen ら(2011)によって、フタル酸ジブチル(東京化成工業、99%) 2,000、10,000、15,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に stage 51 (受精後 14~16 日)から 21 日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、2,000 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で頭部組織中 *TR $\beta$*  mRNA 相対発現量の低値、2,000 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で頭部組織中 *TSH $\alpha$*  mRNA 相対発現量、頭部組織中 *TSH $\beta$*  mRNA 相対発現量の高値、10,000 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で到達発達 stage、頭部組織中 *RXR $\gamma$*  mRNA 相対発現量の低値、15,000 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で全長、瞳孔間距離の低値が認められた。なお、体長/尾長比、頭部組織中 *TR $\beta$*  mRNA のプロモーター領域のメチル化度には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジブチル(東京化成工業、99%) 2,000、10,000、15,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に stage 51 (受精後 14~16 日)から stage 57 までばく露したアフリカツメガエル(*X. laevis*)への影響が検討されている。その結果として、2,000 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で頭部組織中 *TR $\beta$*  mRNA 相対発現量の低値、2,000 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で頭部組織中 *TSH $\alpha$*  mRNA 相対発現量の高値、10,000 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で頭部組織中 *RXR $\gamma$*  mRNA 相対発現量、頭部組織中 *TSH $\beta$*  mRNA 相対発現量の低値が認められた。【16007】(○P)→(9)①

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用

- ③Xu と Gye (2018)によって、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich、99%) 6,300、9,400、14,100、21,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に胞胚期から鰓蓋完成期まで 4 日間ばく露したアフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、6,300 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で体長の低値、総奇形率の高値、21,000 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で生存率の低値が認められた。

また、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich、99%) 100、1,100、10,500 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に胞胚期から鰓蓋完成期まで 4 日間ばく露したアフリカツメガエル(*X. laevis*)への影響(アポトーシス、コラーゲン等関連遺伝子について全身中 mRNA 相対発現量)が検討されている。その結果として、1,100 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で *bax*、*bak*、*bcl-2* の高値、10,500 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で *col2a1*、*FoxN3* の低値が認められた。なお、*bad* には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich、99%) 1,100、10,500 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に胞胚期から鰓蓋完成期まで 4 日間ばく露したアフリカツメガエル(*X. laevis*)への影響が検討されている。その結果として、10,500 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で全身中過酸化脂質濃度の高値が認められた。【15926】(○?)

想定される作用メカニズム：毒性、催奇形性

#### (4) 生殖影響

- ①Lamb ら(1987)によって、フタル酸ジブチル(Cheical Central、99%) 300、3,000、10,000ppm を 6 週齢以上から 7 日間+交配開始から 98 日間(妊娠中雌については隔離し妊娠期間 21 日間及び哺育期間 21 日間投与継続)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、F<sub>0</sub> へ生殖において、10,000ppm のばく露群で妊娠率、同腹仔数、同腹生存仔数、新生仔生存率の低値が認められた。なお、新生仔体重には影響は認められなかった。

また、F<sub>0</sub>雄において(10,000ppm ばく露群のみについて試験)、体重の低値が認められた。なお、肝臓絶対重量、脳絶対重量、下垂体絶対重量、左精巣+精巣上体絶対重量、右精巣絶対重量、右精巣上体絶対重量、前立腺絶対重量、精嚢絶対重量、精巣上体尾中精子濃度、運動精子率、形態異常精子率には影響は認められなかった。

また、F<sub>0</sub>雌において(10,000ppm ばく露群のみについて試験)、子宮絶対重量の低値、肝臓絶対重量の高値が認められた。なお、体重、下垂体絶対重量、脳絶対重量、卵巣+卵管絶対重量には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジブチル(Chemical Tech Industry、99%) 10,000ppm を離乳後約 74 日齢まで混餌投与した CD-1 マウス F<sub>1</sub> への影響が検討されている。その結果として、F<sub>1</sub> 雌(非ばく露雄との交配試験)において、妊娠率、同腹生存仔数、新生仔生存率、新生仔体重の低値が認められた。なお、F<sub>1</sub> 雄(非ばく露雌との交配試験)において、妊娠率、同腹生存仔数、新生仔生存率、新生仔体重には影響は認められなかった。【16083】(○?)

想定される作用メカニズム：生殖毒性

- ②Kuhl ら(2007)によって、フタル酸ジブチル(Aldrich) 100、500mg/kg を妊娠 18 日目に単回経口投与した SD ラットへの影響(妊娠 19 日目に相当する投与 24 時間後に開腹し雄胎仔の両精巣について試験)が検討されている。その結果として、100mg/kg 以上のばく露群で精巣中 *StAR* mRNA 相対発現量、精巣中 *SR-B1* (scavenger receptor B-1) mRNA 相対発現量、精巣中 *Cyp11a1* mRNA 相対発現量、精巣中 *Cyp17* mRNA 相対発現量、精巣中テストステロン濃度、精巣中 *cebpb* (CCAAT/enhancer binding protein β)蛋白質相対発現量、精巣中 *GATA4* (GATA Binding Protein 4)蛋白質相対発現量の低値が認められた。なお、精巣中 *SF-1* (steroidogenic factor-1)蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。

【16037】(△○P)

想定される作用メカニズム：アンドロゲン産生抑制作用

- ③Liu ら(2005)によって、フタル酸ジブチル(Aldrich) 500mg/kg/day を妊娠 12 日目から妊娠 19 日目まで経口投与した SD ラットへの影響(雄胎仔)が検討されている。その結果として、肛門生殖突起間距離、*Lhcgr* (Luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor)、*Ldlr* (low-density lipoprotein receptor)、*Svs5* (Seminal vesicle secretion 5)、*Insig-1* (Insulin-induced gene 1 = CL-6)、*Dax-1* (Nuclear receptor 0B1)、*Egr1* (Early growth response 1)、*Tcfl* (Transcription factor 1)、*Cebpb* (CCAAT/enhancer-binding protein, beta)等精巣中 mRNA 相対発現量の低値、*Grb14* (Growth factor receptor-bound protein 14)等精巣中 mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、*Hsd17b7* (Hydroxysteroid 17-beta dehydrogenase 7)、*rel* (Epididymal secretory protein 1)、*Prkcbp1* (Protein kinase C-binding protein = Fez-1)、*Tes* (Testis derived transcript = testin)、*Ddc* (Dopa decarboxylase)、*Nr4a1* (Nuclear receptor 4A1)、*Nfil3* (Nuclear factor interleukin 3)等精巣中 mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【13077】(△○P)

想定される作用メカニズム：アンドロゲン産生抑制作用

- ④Spade ら(2018)によって、フタル酸ジブチル(US National Toxicology Program から譲渡、100%) 750mg/kg/day を妊娠 17 日目から妊娠 21 日目まで経口投与した SD ラットへの影響(最終投与 1 時間後に開腹し雄胎仔について試験)が検討されている。その結果として、精巣組織によるテストステロン産生能の低値、多核生殖細胞数(精巣画像面積当)、多核生殖細胞数(精細管画像面積当)、多核生殖細胞数(精細管当)、多核生殖細胞を有する精細管率の高値が認められた。なお、母動物体重、母動物増加体重、同腹胎仔数、精巣中精細管占有率(画像面積比)には影響は認められなかった。【15927】(○○P)

想定される作用メカニズム：精巣におけるテストステロン産生抑制作用

- ⑤Hong ら(2005)によって、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich、99%) 600mg/kg/day を 14 日齢から 3 日間経口投与した雌 SD ラットへの影響(最終投与 1 日後の 17 日齢)が検討されているが、子宮中 *CaBP-9k* (calbindin-D9k) mRNA 相対発現量、子宮中 CaBP-9k 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。【16060】(○●N)→(5)①

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用

## (5) エストロゲン作用

- ①Hong ら(2005)によって、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich、99%) 1、10、100 $\mu$ M(=278、2,780、27,800 $\mu$ g/L)の濃度に 6 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、100 $\mu$ M(=27,800 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞増殖誘導は認められた。【16060】(○●P)

- ②Harris ら(1997)によって、フタル酸ジブチル(BP Chemical、>99.7%) (=139~278,000 $\mu$ g/L)の濃度に 5~7 日間ばく露した酵母(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  $\beta$ -ガラクトシダーゼ活性発現誘導)が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub> 値約 200 $\mu$ M(=55,700 $\mu$ 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、フタル酸ジブチル(Greyhound Chemservice、97-99%) 0.1、1、10 $\mu$ M(=27.8、278、2,780 $\mu$ g/L)の濃度に 11 日間ばく露したヒト乳がん細胞 ZR-75 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(=2,780 $\mu$ g/L)の濃度で細胞増殖誘導が認められた。

また、フタル酸ジブチル(Greyhound Chemservice、97-99%) 10 $\mu$ M(=2,780 $\mu$ g/L)の濃度に 12 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,780 $\mu$ g/L)の濃度で細胞増殖誘導が認められた。【332】(△●P)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、統計学的な検定が一部示されていない点に注意を要すると判断された。

## ※参考 (6) エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用 (今回評価対象としなかった文献)

- ①Lee ら(2012)によって、フタル酸ジブチル(Sigma) 0.0001~10 $\mu$ M(=0.0278~2,780 $\mu$ g/L)の濃度に 20~24 時間ばく露したヒト子宮頸がん細胞 HeLa-9903 (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)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

また、フタル酸ジブチル(Sigma) 0.01~10,000 $\mu$ M(=0.0278~2,780 $\mu$ g/L)の濃度で遺伝子組み換えヒトエストロゲン受容体  $\alpha$ (17 $\beta$ -エストラジオール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 17 $\beta$ -エストラジオール 0.5nM 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。【16154】

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

## (7) アンドロゲン作用

- ①Christen ら(2010)によって、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich) 3.7、75、374 $\mu$ M(=1,000、20,900、104,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間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。

【7885】(△○N)→(8)①

## (8) 抗アンドロゲン作用

①Christen ら(2010)によって、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich) 0.5~1,000 $\mu$ M(=111~278,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(ジヒドロテストステロン 0.5nM 共存下)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。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 74 $\mu$ M(=20,600 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。【7885 再】(△○P)

## (9) 甲状腺ホルモン作用

①Shen ら(2011)によって、フタル酸ジブチル(東京化成工業、99%) 0.001、0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=0.278、2.78、27.8、278、2,780 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したミドリザル腎線維芽細胞(CV-1)(ヒト甲状腺ホルモン受容体  $\beta$  リガンド結合ドメイン及びコリプレッサー SMRT (silencing mediator for retinoid and thyroid hormone receptors) C 末ドメインを発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(甲状腺ホルモ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、0.01 $\mu$ M(=2.78 $\mu$ g/L)以上の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

なお、この影響は、トリヨードサイロニン 1nM 共存下では抑制作用された。【16007 再】(○○P)

## ※参考 (10) ヒト甲状腺上皮細胞への影響 (今回評価対象としなかった文献)

①Hansen ら(2016)によって、フタル酸ジブチル(Sigma-Aldrich) 0.001、0.01、0.1、1、10、100 $\mu$ M(=0.278、2.78、27.8、278、2,780、27,800 $\mu$ g/L)の濃度に 72 時間ばく露(甲状腺刺激ホルモン 1U/L 共存下)したヒト甲状腺上皮細胞(一時培養細胞)への影響が検討されているが、サイログロブリン分泌量、cAMP 分泌量には影響は認められなかった。【15957】

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

## (11) 疫学的調査

①Morgenstern ら(2017)によって、米国 New York 市にて、フタル酸ジブチルについて、Columbia Center for Children's Environmental (CCCEH) Cohort 調査にて 1998 年から 2006 年にかけて Manhattan 北部及び South Bronx に一年以上在住の妊娠女性 727 名(平均出産年齢 25.3 $\pm$ 5.1 歳、平均妊娠期間 39.3 $\pm$ 1.5 週間)及びその出産児(男児 47.6%、女児 52.4%)を対象に、フタル酸エステル類ばく露と血清中甲状腺関連ホルモン濃度との関連性についてについて検討されている。その結果として、線形回帰分析において、出産児 229 名(37.2 $\pm$ 2.4 週齢)の尿中フタル酸モノブチル幾何平均濃度 41.9 (95%信頼区間 35.8, 48.9) ng/mL)と女児 119 名の血清中遊離サイロキシン濃度とに負の相関性が認められた。なお、女児 120 名の血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、男児 109 名の血清中遊離サイロキシン又は血清中甲状腺刺激ホルモン濃度とには相関性は認められなかった。

また、線形回帰分析において、母親 181 名(妊娠 33.8 $\pm$ 3.2 週)の尿中フタル酸モノブチル幾何平均濃度 37.8 (95%信頼区間 32.2, 44.5) ng/mL)と女児 98~99 名の血清中遊離サイロキシン又は中甲状腺刺激ホルモン濃度、男児 82 名の血清中遊離サイロキシン又は中甲状腺刺激ホルモン濃度とには相

関性は認められなかった。【16149】(〇〇P)

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用

②Pant ら(2014)によって、インド New Delhi 市にて、フタル酸ジブチルについて、Andrology Laboratory of the Reproductive Biology Department, All India Institute of Medical Sciences (AIMS)にて不妊検査を受診した男性 60 名(平均年齢 31.81±5.27 歳)を対象に、農鉛、カドミウム、フタル酸エステル類ばく露と血清中ホルモン濃度及び精子質との関連性についてについて検討されている。その結果として、一変量逐次(univariate and stepwise)重回帰分析において、精液中フタル酸ジブチル平均濃度(0.97±0.55µg/mL)と血清中テストステロン濃度とに負の相関性が認められた。なお、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、運動精子率、精子濃度、正常形状精子率、精子尾部長、精子尾部中 DNA 濃度、精子尾部移動性とに相関性は認められなかった。【15981】(〇〇P)

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、精液中フタル酸エステル類の濃度測定において、測定結果にコンタミネーションの影響の懸念がある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、エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、エストロゲン産生抑制作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、性ホルモン合成系への影響、アンドロゲン産生抑制作用、精巣におけるテストステロン産生抑制作用、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—甲状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、抗アンドロゲン作用、甲状腺ホルモン作用を示すこと、疫学的調査の報告において、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、抗甲状腺ホルモン様作用、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 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：フタル酸ジブチル

区分	著者 【引用文献番号】	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 (甲殻類)	①Wei ら(2018) 【15925】	○	○N	×
	②Seyoum と Pradhan (2019) 【14791】	○	×	×

区分	著者 【引用文献番号】	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)生態影響 (魚類類)	不明	①Bhatia ら(2015) 【15970】	△	?	—
	視床下部—下垂体— 生殖腺軸への作用	②Hu ら(2020) 【15901】	○	○P	○
	抗エストロゲン様作用	③Chen ら(2021) 【15890】	○	○P	○
	不明	④Ortiz-Zarragoitia ら(2006) 【16048】	△	?	—
	不明	⑤Aoki ら(2011) 【16009】	△	?	—
	不明	⑥Dong ら(2018) 【15931】	○	?	—
	不明	⑦Xu ら(2014) 【15978】	○	?	—
	エストロゲン様作用	⑧Bhatia ら(2014) 【15984】	△	○P	○
	エストロゲン産生抑制作用	⑨Bhatia ら(2013) 【15994】	△	○P	○
	ペルオキシソーム増殖作用	⑩Ortiz-Zarragoitia ら(2005) 【12087】	△	?	—
	視床下部—下垂体— 生殖腺軸への作用	⑪Chen ら(2020) 【15902】	○	○P	○
	視床下部—下垂体— 生殖腺軸への作用、 性ホルモン合成系への影響	⑫Chen ら(2019) 【15912】	○	○P	○
		⑬Chen ら(2015) 【15968】 評価未実施			
		⑭Nozaka ら(2004) 【5775】 評価未実施			
(3)生態影響 (両生類)	胚発生毒性	①Bissegger ら (2018) 【14793】	△	?	—
	抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	②Shen ら(2011) 【16007】 →(9)①	○	○P	○
	毒性、催奇形性	③Xu と Gye (2018) 【15926】	○	?	—
(4)生殖影響	生殖毒性	①Lamb ら(1987) 【16083】	○	?	—
	アンドロゲン産生抑制作用	②Kuhl ら(2007) 【16037】	△	○P	○

区分	著者 【引用文献番号】	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>	
	アンドロゲン産生抑制作用	③Liu ら(2005) 【13077】	△	○P	○
	精巣におけるテストステロン産生抑制作用	④Spade ら(2018) 【15927】	○	○P	○
	エストロゲン様作用	⑤Hong ら(2005) 【16060】→(5)①	○	○N	×
(5)エストロゲン作用		①Hong ら(2005) 【16060 再】	○	○P	○
		②Harris ら(1997) 【332】	△	○P	○
(6)エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用		①Lee ら(2012) 【16154】評価未実施			
(7)アンドロゲン作用		①Christen ら(2010) 【7885】→(8)①	△	○N	×
(8)抗アンドロゲン作用		①Christen ら(2010) 【7885 再】	△	○P	○
(9)甲状腺ホルモン作用		①Shen ら(2011) 【16007 再】	○	○P	○
(10)ヒト甲状腺上皮細胞への影響		①Hansen ら(2016) 【15957】評価未実施			
(11)疫学的調査	抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用	①Morgenstern ら(2017) 【16149】	○	○P	○
	抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	②Pant ら(2014) 【15981】	○	○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、エストロゲン産生抑制作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、性ホルモン合成系への影響、アンドロゲン産生抑制作用、精巣におけるテストステロン産生抑制作用、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—甲状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、抗アンドロゲン作用、甲状腺ホルモン作用を示すこと、疫学的調査の報告において、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、抗甲状腺ホルモン様作用、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

## 引用文献

- 332 Harris CA, Henttu P, Parker MG and Sumpter JP (1997) The estrogenic activity of phthalate esters *in vitro*. *Environmental Health Perspectives*, 105 (8), 802-811.
- 5775 Nozaka T, Abe T, Matsuura T, Sakamoto T, Nakano N, Maeda M and Kobayashi K (2004) Development of vitellogenin assay for endocrine disrupters using medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Sciences*, 11 (2), 99-121.
- 7885 Christen V, Crettaz P, Oberli-Schrämml A and Fent K (2010) Some flame retardants and the antimicrobials triclosan and triclocarban enhance the androgenic activity *in vitro*. *Chemosphere*, 81 (10), 1245-1252.
- 12087 Ortiz-Zarragoitia M and Cajaraville MP (2005) Effects of selected xenoestrogens on liver peroxisomes, vitellogenin levels and spermatogenic cell proliferation in male zebrafish. *Comparative Biochemistry and Physiology: Toxicology & Pharmacology*, 141 (2), 133-144.
- 13077 Liu K, Lehmann KP, Sar M, Young SS and Gaido KW (2005) Gene expression profiling following in utero exposure to phthalate esters reveals new gene targets in the etiology of testicular dysgenesis. *Biology of Reproduction*, 73 (1), 180-192.
- 14791 Seyoum A and Pradhan A (2019) Effect of phthalates on development, reproduction, fat metabolism and lifespan in *Daphnia magna*. *Science of the Total Environment*, 654, 969-977.
- 14793 Bissegger S, Pineda Castro MA, Yargeau V and Langlois VS (2018) Phthalates modulate steroid 5-reductase transcripts in the Western clawed frog embryo. *Comparative Biochemistry and Physiology: Toxicology & Pharmacology*, 213, 39-46.
- 15890 Chen H, Feng W, Chen K, Qiu X, Xu H, Mao G, Zhao T, Wu X and Yang L (2021) Transcriptomic responses predict the toxic effect of parental co-exposure to dibutyl phthalate and diisobutyl phthalate on the early development of zebrafish offspring. *Aquatic Toxicology*, 235, 105838.
- 15901 Hu J, Jiang K, Tang X, Liu H, Zhang H, Yang X, Nie X and Luo H (2020) Chronic exposure to di-*n*-butyl phthalate causes reproductive toxicity in zebrafish. *Journal of Applied Toxicology*, 40 (12), 1694-1703.
- 15902 Chen H, Chen K, Qiu X, Xu H, Mao G, Zhao T, Feng W, Okeke ES, Wu X and Yang L (2020) The reproductive toxicity and potential mechanisms of combined exposure to dibutyl phthalate and diisobutyl phthalate in male zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 258, 127238.
- 15912 Chen H, Feng W, Chen K, Qiu X, Xu H, Mao G, Zhao T, Ding Y and Wu X (2019) Transcriptomic analysis reveals potential mechanisms of toxicity in a combined exposure to dibutyl phthalate and diisobutyl phthalate in zebrafish (*Danio rerio*) ovary. *Aquatic Toxicology*, 216, 105290.
- 15925 Wei J, Shen Q, Ban Y, Wang Y, Shen C, Wang T, Zhao W and Xie X (2018) Characterization of acute and chronic toxicity of DBP to *Daphnia magna*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 101 (2), 214-221.
- 15926 Xu Y and Gye MC (2018) Developmental toxicity of dibutyl phthalate and citrate ester plasticizers in *Xenopus laevis* embryos. *Chemosphere*, 204, 523-534.
- 15927 Spade DJ, Bai CY, Lambright C, Conley JM, Boekelheide K and Gray LE (2018) Validation of an automated counting procedure for phthalate-induced testicular multinucleated germ cells. *Toxicology Letters*, 290, 55-61.
- 15931 Dong X, Qiu X, Meng S, Xu H, Wu X and Yang M (2018) Proteomic profile and toxicity pathway analysis in zebrafish embryos exposed to bisphenol A and di-*n*-butyl phthalate at environmentally relevant levels. *Chemosphere*, 193, 313-320.
- 15957 Hansen JF, Brorson MM, Boas M, Frederiksen H, Nielsen CH, Lindström ES, Hofman-Bang J, Hartoft-Nielsen ML, Frisch T, Main KM, Bendtzen K, Rasmussen Å K and Feldt-Rasmussen U (2016) Phthalates are metabolised by primary thyroid cell cultures but have limited influence on selected thyroid cell functions *in vitro*. *PloS One*, 11 (3), e0151192.
- 15968 Chen P, Li S, Liu L and Xu N (2015) Long-term effects of binary mixtures of 17 $\alpha$ -ethinyl estradiol and dibutyl phthalate in a partial life-cycle test with zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34 (3), 518-526.
- 15970 Bhatia H, Kumar A, Chapman JC and McLaughlin MJ (2015) Long-term exposures to di-*n*-butyl phthalate inhibit body growth and impair gonad development in juvenile Murray rainbowfish (*Melanotaenia fluviatilis*). *Journal of Applied Toxicology*, 35, 806-816.
- 15978 Xu N, Chen P, Liu L, Zeng Y, Zhou H and Li S (2014) Effects of combined exposure to 17 $\alpha$ -ethynylestradiol and dibutyl phthalate on the growth and reproduction of adult male zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 107, 61-70.

- 15981 Pant N, Kumar G, Upadhyay AD, Patel DK, Gupta YK and Chaturvedi PK (2014) Reproductive toxicity of lead, cadmium and phthalate exposure in men. *Environmental Science and Pollution Research International*, 21 (18), 11066-11074.
- 15984 Bhatia H, Kumar A, Ogino Y, Gregg A, Chapman J, McLaughlin MJ and Iguchi T (2014) Di-*n*-butyl phthalate causes estrogenic effects in adult male Murray rainbowfish (*Melanotaenia fluviatilis*). *Aquatic Toxicology*, 149, 103-115.
- 15994 Bhatia H, Kumar A, Du J, Chapman J and McLaughlin MJ (2013) Di-*n*-butyl phthalate causes antiestrogenic effects in female Murray rainbowfish (*Melanotaenia fluviatilis*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32 (10), 2335-2344.
- 16007 Shen O, Wu W, Du G, Liu R, Yu L, Sun H, Han X, Jiang Y, Shi W, Hu W, Song L, Xia Y, Wang S and Wang X (2011) Thyroid disruption by Di-*n*-butyl phthalate (DBP) and mono-*n*-butyl phthalate (MBP) in *Xenopus laevis*. *PLoS One*, 6 (4), e19159.
- 16009 Aoki KA, Harris CA, Katsiadaki I and Sumpter JP (2011) Evidence suggesting that di-*n*-butyl phthalate has antiandrogenic effects in fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30 (6), 1338-1345.
- 16037 Kuhl AJ, Ross SM and Gaido KW (2007) CCAAT/enhancer binding protein beta, but not steroidogenic factor-1, modulates the phthalate-induced dysregulation of rat fetal testicular steroidogenesis. *Endocrinology*, 148 (12), 5851-5864.
- 16048 Ortiz-Zarragoitia M, Trant JM and Cajaravillet MP (2006) Effects of dibutylphthalate and ethynylestradiol on liver peroxisomes, reproduction, and development of zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25 (9), 2394-2404.
- 16060 Hong EJ, Ji YK, Choi KC, Manabe N and Jeung EB (2005) Conflict of estrogenic activity by various phthalates between *in vitro* and *in vivo* models related to the expression of Calbindin-D9k. *J Reprod Dev*, 51 (2), 253-263.
- 16083 Lamb JC IV, Chapin RE, Teague J, Lawton AD and Reel JR (1987) Reproductive effects of four phthalic acid esters in the mouse. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 88 (2), 255-269.
- 16149 Morgenstern R, Whyatt RM, Insel BJ, Calafat AM, Liu X, Rauh VA, Herbstman J, Bradwin G and Factor-Litvak P (2017) Phthalates and thyroid function in preschool age children: Sex specific associations. *Environment International*, 106, 11-18.
- 16154 Lee HK, Kim TS, Kim CY, Kang IH, Kim MG, Jung KK, Kim HS, Han SY, Yoon HJ and Rhee GS (2012) Evaluation of *in vitro* screening system for estrogenicity: comparison of stably transfected human estrogen receptor- $\alpha$  transcriptional activation (OECD TG455) assay and estrogen receptor (ER) binding assay. *Journal of Toxicological Sciences*, 37 (2), 431-437.

## IV. *p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル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、甲状腺影響、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、抗アンドロゲン作用、プロゲステロン作用、抗プロゲステロン作用、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用、ラット視床下部組織への影響、ヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響に関する報告がある。

なお、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシルには、オクチノキサート、メトキシケイ皮酸オクチル、EHMC、OMC 等の物質名表記があった。ここでは、CAS 番号(5466-77-3)等の情報から同一物質であると判断された報告について整理し、名称を *p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシルに統一した。

#### (1) 生態影響

① de Paula ら(2022)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Sigma-Aldrich、98.7%) 0.2µg/L(設定濃度)に 21 日間(24 時間未満齢からと思われる)ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*) F<sub>0</sub> への影響が検討されているが、総産仔数、生存率、初出産に至るまでの所要日数、全身中カタラーゼ比活性、全身中グルタチオン-S-トランスフェラーゼ比活性には影響は認められなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Sigma-Aldrich、98.7%) 0.2µg/L(設定濃度)に 21 日間(24 時間未満齢からと思われる)ばく露したオオミジンコ(*D. magna*) F<sub>1</sub> (上記 F<sub>0</sub> の 3 回目出産による)への影響が検討されている。その結果として、総産仔数の低値、全身中カタラーゼ比活性の高値が認められた。なお、生存率、初出産に至るまでの所要日数、全身中グルタチオン-S-トランスフェラーゼ比活性には影響は認められなかった。【16331】(評価結果の略号：△?)

想定される作用メカニズム：一般毒性

② Lambert ら(2021)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Sigma-Aldrich、98%) 0.03、0.77、1.92、4.8、12、30、75µg/L(設定濃度)に 24 時間未満齢から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*) F<sub>0</sub> への影響がされている。その結果として、12µg/L のばく露区で総脱皮回数の低値、75µg/L のばく露区で産仔奇形率の高値が認められた。なお、体長、総産仔数、初出産までの所要日数には影響は認められなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Sigma-Aldrich、98%) 75µg/L(設定濃度)に 24 時間未満齢から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*) F<sub>1</sub> (上記 F<sub>0</sub> の最高濃度区初出産による)への影響が検討されている。その結果として、体長(24 時間齢)、総産仔数の低値が認められた。なお、体長(21 日齢)、初出産までの所要日数、総脱皮回数、産仔奇形率、遊泳速度(24 時間齢)、全身中 *usp* (ultraspiracle protein) mRNA 相対発現量、全身中 *ecr-a* (ecdysone receptor) mRNA 相対発現量、全身中 *hr3* (hormone receptor 3) mRNA 相対発現量、全身中 *ftz-fl* (fushi tarazu factor-1) mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16341】(〇〇P)

想定される作用メカニズム：脱皮ホルモン様作用、一般毒性

③ Chu ら(202)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Sigma-Aldrich、98%) 290、871、2,904、8,712µg/L(= 1、3、10、30µM。設定濃度)に 21 日間ばく露した成熟雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*) への影響(遺伝子は甲状腺関連)が検討されている。その結果として、290µg/L 以上のばく露区で肝臓中 *trβ* mRNA 相対発現量の低値、290、2,904、8,712µg/L のばく露区で脳中 *trβ* mRNA 相対発現量の低値、871µg/L 以上のばく露区で肝臓中 *dio1* mRNA 相対発現量の低値、871、2,904µg/L のばく露区

で甲状腺中 *slc5a5* mRNA 相対発現量、甲状腺中 *diol1* mRNA 相対発現量、甲状腺中 *diol2* mRNA 相対発現量、甲状腺中 *tra* mRNA 相対発現量の低値、871 $\mu$ g/L のばく露区で肝臓中 *tra* mRNA 相対発現量の低値、2,904 $\mu$ g/L のばく露区で脳中 *tra* mRNA 相対発現量、肝臓中 *dio2* mRNA 相対発現量、甲状腺中 *tg* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、血漿中トリヨードサイロニン濃度、脳中 *crh* mRNA 相対発現量、脳中 *trh* mRNA 相対発現量、脳中 *trhr* mRNA 相対発現量、脳中 *tsh $\beta$*  mRNA 相対発現量、脳中 *mct8* mRNA 相対発現量、脳中 *nkx2.1* mRNA 相対発現量、甲状腺中 *tr $\beta$*  mRNA 相対発現量、肝臓中 *ttr* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ugt1ab* mRNA 相対発現量、肝臓中 *sult1st5* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Sigma-Aldrich、98%) 290、871、2,904、8,712 $\mu$ g/L(= 1、3、10、30 $\mu$ M。設定濃度)に受精4時間後から受精5日後までばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)胚への影響(遺伝子は視床下部-下垂体-甲状腺軸関連)が検討されている。その結果として、290 $\mu$ g/L 以上のばく露区で全身中サイロキシン濃度の低値、871 $\mu$ g/L 以上のばく露区で全身中トリヨードサイロニン濃度の低値、2,904 $\mu$ g/L のばく露区で全身中 *ttr* mRNA 相対発現量の低値、8,712 $\mu$ g/L のばく露区で全身中 *crh* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、全身中 *tsh $\beta$*  mRNA 相対発現量、全身中 *trhr* mRNA 相対発現量、全身中 *nkx2.1* mRNA 相対発現量、全身中 *tg* mRNA 相対発現量、全身中 *ugt1ab* mRNA 相対発現量、全身中 *sult1st5* mRNA 相対発現量、全身中 *dio1* mRNA 相対発現量、全身中 *dio2* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16522】(△○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、一般毒性

- ④Ka と Ji (2022)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Merck) 87、290、871、2,904、8,712 $\mu$ g/L(=0.3、1、3、10、30 $\mu$ M。設定濃度)に受精2時間後から受精120時間後までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)胚への影響(遺伝子は視床下部-下垂体-甲状腺軸関連)が検討されている。その結果として、871 $\mu$ g/L 以上のばく露区で全身中 *trh* mRNA 相対発現量の高値、2,904 $\mu$ g/L 以上のばく露区で生存率、孵化率、全身中 *tra* mRNA 相対発現量、全身中 *tr $\beta$*  mRNA 相対発現量の低値、胚凝固率、奇形率、全身中 *tshr* mRNA 相対発現量、全身中 *tg* mRNA 相対発現量、全身中 *nis* mRNA 相対発現量、全身中 *deio2* mRNA 相対発現量の高値、8,712 $\mu$ g/L のばく露区で全身中サイロキシン濃度、全身中トリヨードサイロニン濃度、全身中 *tpo* mRNA 相対発現量の低値、全身中 *tsh $\beta$*  mRNA 相対発現量の高値、孵化までの所要日数の遅延が認められた。なお、体重、体長、全身中トリヨードサイロニン/サイロキシン濃度比、全身中 *deio1* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16521】(△?)

想定される作用メカニズム：不明

- ⑤Inui ら(2003)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2292、Sigma-Aldrich) 9,900、99,000、990,000、9,900,000 $\mu$ g/L(=0.034、0.34、3.4、34mM。設定濃度)に7日間ばく露した成熟雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、9,900 $\mu$ g/L 以上のばく露区で肝臓中 *VTG-1* mRNA 相対発現量、肝臓中 *VTG-2* mRNA 相対発現量、肝臓中 *CHG-L* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ER $\alpha$*  mRNA 相対発現量の高値、99,000 $\mu$ g/L のばく露区で肝臓中 *CHG-H* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、血漿中ビテロゲン濃度(有意差には要らないが濃度依存的増加傾向あり)、肝臓中 *ER $\beta$*  mRNA 相対発現量、肝臓中 *AR* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

【10796】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

- ⑥Cahova ら(2023)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Merck、98%) 0.0069、0.096、

0.3956ppm(餌中設定濃度)に6週間ばく露(混餌投与と思われる)した雌ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響(遺伝子は視床下部—下垂体—甲状腺軸関連)が検討されている。その結果として、0.096ppm以上のばく露区で腎臓中 *pax8α* mRNA 相対発現量、腎臓中 *dio2* mRNA 相対発現量の低値、0.3956ppmのばく露区で血漿中サイロキシン濃度の高値が認められた。なお、腎臓中 *thra* mRNA 相対発現量、腎臓中 *thrβ* mRNA 相対発現量、肝臓中 *thra* mRNA 相対発現量、肝臓中 *thrβ* mRNA 相対発現量、肝臓中 *dio2* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16520】(△○P)→(12)①、(13)①

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

#### ※参考 生態影響（今回評価対象としなかった文献）

⑦Kunz ら(2006)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Merck、99%) 10、100、500、1,000μg/L(設定濃度)に2～3ヶ月齢から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が、体重、体長、全身中ビテロゲン濃度には影響は認められなかった。【16385】→(5)②

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)生殖影響

①Seidlová-Wuttke ら(2006a)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2292、Merck 又は Sigma) 52.47、278.87mg/kg/day(餌中濃度 50、250mg/20g に相当)を12週間混餌投与した成熟雌 SD ラット(卵巣摘出处置後直ちに投与開始)への影響が検討されている。その結果として、54.27mg/kg/day以上のばく露群で増加体重、血清中 LDL-コレステロール濃度の低値、54.27mg/kg/dayのばく露群で血清中サイロキシン濃度の低値、278.87mg/kg/dayのばく露群で血清中レプチン濃度、血清中コレステロール濃度、血清中 HDL-コレステロール濃度、血清中トリグリセリド濃度の低値、子宮絶対重量、血清中黄体ホルモン濃度の高値が認められた。なお、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度、前脛骨蓄積脂肪総面積には影響は認められなかった。【16528】(△○P)→(7)①

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、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、脂質代謝への影響

②Seidlová-Wuttke ら(2006b)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Sigma-Aldrich) 2,875、13,750ppm(餌中濃度 57.5、275mg/20g に相当)を3ヶ月間混餌投与した成熟雌 SD ラット(卵巣摘出处置後直ちに投与開始)への影響が検討されている。その結果として、2,875ppm以上のばく露群で子宮内膜厚の低値、子宮内膜上皮厚、膈上皮厚、子宮中プロゲステロン受容体(*PR*) mRNA 相対発現量、子宮中 *IGF-1* mRNA 相対発現量、膈中 *IGF-1* mRNA 相対発現量の高値、2,875ppmのばく露群で血清中コラーゲン-1α1 C末端分解蛋白質(RATLaps)濃度の低値、子宮筋層厚、子宮中 *ERα* mRNA 相対発現量、膈中 *PR* mRNA 相対発現量の高値、13,750ppmのばく露群で血清中オステオカルシン濃度の低値が認められた。なお、骨密度、子宮絶対重量、子宮中 *ERβ* mRNA 相対発現量、膈中 *ERβ* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16529】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用

### (3) 発達影響

①Schneider ら(2005)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Uvinul MC80N, 99.9%) 180、525、1,190mg/kg/day(餌中濃度 1,500、4,500、10,000ppm に相当)を交配前 73 日間、交配期間 21 日間、妊娠期間 21 日間、出産及び哺育期間 21 日間混餌投与した Wistar 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、525mg/kg/day 以上のばく露群で新生仔異常所見(特に心肥大)率の高値、雌新生仔膈開口日の遅延、1,190mg/kg/day のばく露群で新生仔増加体重(4~21 日齢)、同腹出産仔数、同腹着床痕数の低値、雄新生仔包皮分離日の遅延が認められた。なお、雌雄交配率、雄妊孕率又は雌妊娠率、交配までの所要日数、妊娠期間日数、出産率、同腹着床後胚消失率、新生仔性比、新生仔生存率(0、4、21 日齢)、新生仔体重(1 日齢)、新生仔増加体重(1~4 日齢)には影響は認められなかった。なお、交配期間終了まで継続投与された最高用量群の雄において、精巣中精子細胞濃度、精巣上体尾中精子細胞濃度、異常精子率、運動精子率には影響は認められなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Uvinul MC80N, 99.9%) 180、525、1,190mg/kg/day(餌中濃度 1,500、4,500、10,000ppm に相当)を交配前 73 日間、交配期間 21 日間、妊娠期間 21 日間、出産及び哺育期間 21 日間混餌投与した Wistar ラット F<sub>1</sub> (上記 F<sub>0</sub> から継続ばく露)への影響が検討されている。その結果として、525mg/kg/day 以上のばく露群で同腹着床痕数の低値、525mg/kg/day のばく露群で新生仔体重(1 日齢)、新生仔増加体重(1~4 日齢)の高値、1,190mg/kg/day のばく露群で新生仔増加体重(4~21 日齢)の低値、新生仔総肉眼的病理学的異常所見率の高値の高値、雌新生仔膈開口日、雄新生仔包皮分離日の遅延が認められた。なお、雌雄交配率、雄妊孕率又は雌妊娠率、交配までの所要日数、妊娠期間日数、出産率、同腹着床後胚消失率、同腹出産仔数、新生仔性比、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、交配期間終了まで継続投与された最高用量群の雄において、精巣上体尾中精子細胞濃度の低値が認められたが、精巣中精子細胞濃度、異常精子率、運動精子率には影響は認められなかった。【16530】(○OP)  
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

### (4) 甲状腺影響

①Klammer ら(2007)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2292, Merck) 10、33、100、333、1,000mg/kg/day を 3 ヶ月齢で卵巣摘出措置し 17 日後から 5 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、333mg/kg/day 以上のばく露群で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、肝臓中デヨージナーゼ 1 比活性の低値、1,000mg/kg/day のばく露群で血清中トリヨードサイロニン濃度の低値が認められた。なお、内側基底視床下部中 TRH mRNA 相対発現量、甲状腺中ペルオキシダーゼ比活性には影響は認められなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2292, Merck) 1,000mg/kg/day を 3 ヶ月齢で卵巣摘出措置し 17 日後から 5 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、甲状腺中甲状腺刺激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、甲状腺中よう化ナトリウムシンポーター蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。【16527】(△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、甲状腺ホルモン代謝への影響

### (5) エストロゲン作用

①Schreurs ら(2005)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2292, Merck) 10μM(=2,900μg/L)までの濃度に 24 時間ばく露したヒト胎児腎細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容

体  $\alpha$  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)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2292、Merck) 10 $\mu$ M(=2,900 $\mu$ g/L)までの濃度に 24 時間ばく露したヒト胎児腎細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容体  $\beta$  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)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。【13815】 ( $\Delta$ ON)  $\rightarrow$ (6)①、(8)①、(9)①、(10)①、(11)①

#### ※参考 エストロゲン作用 (今回評価対象としなかった文献)

② Kunz ら (2006) によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル (Merck、99%) 25,000 $\mu$ M(=7,260,000 $\mu$ g/L)までの濃度にばく露(時間の記載なし)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。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Merck、99%) 25,000 $\mu$ M(=7,260,000 $\mu$ g/L)までの濃度にばく露(時間の記載なし)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。【16385 再】

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

#### (6) 抗エストロゲン作用

① Schreurs ら (2005) によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2292、Merck) 10 $\mu$ M(=2,900 $\mu$ g/L)までの濃度に 24 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 3 pM 共存下)したヒト胎児腎細胞 HEK293 (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)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導の阻害は認められなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2292、Merck) 10 $\mu$ M(=2,900 $\mu$ g/L)までの濃度に 24 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 100pM 共存下)したヒト胎児腎細胞 HEK293 (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)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導の阻害は認められなかった。【13815】 ( $\Delta$ ON)

#### (7) エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用

① Seidlová-Wuttke ら (2006a) によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2292、Merck 又は Sigma) 1,000 $\mu$ M(=290,000 $\mu$ g/L)までの濃度(試験濃度範囲の記載なし)でヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  による結合試験が検討されているが、EC<sub>50</sub> 値は得られなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル (Eusolex 2292、Merck 又は Sigma) 1,000 $\mu$ M(=290,000 $\mu$ g/L)までの濃度でヒトエストロゲン受容体  $\beta$  による結合試験が検討されているが、EC<sub>50</sub> 値は得られなかった。【16528 再】 ( $\Delta$ ON)

## (8) アンドロゲン作用

- ①Schreurs ら(2005)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2292、Merck) 0.1、1、10 $\mu$ M(=29、290、2,900 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト骨肉腫細胞 U2-OS (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。【13815】(△○N)

### ※参考 アンドロゲン作用 (今回評価対象としなかった文献)

- ②Ma ら(2003)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2292、Merck、98%) 0.001～10 $\mu$ M(=0.29～2,900 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(overnight)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。

## (9) 抗アンドロゲン作用

- ①Schreurs ら(2005)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2292、Merck) 0.1、1、10 $\mu$ M(=29、290、2,900 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(ジヒドロテストステロン 0.1nM 共存下)したヒト骨肉腫細胞 U2-OS (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。【13815】(△○N)

### ※参考 抗アンドロゲン作用 (今回評価対象としなかった文献)

- ②Ma ら(2003)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2292、Merck、98%) 0.001～10 $\mu$ M(=0.29～2,900 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(ジヒドロテストステロン 0.5nM 共存下、overnight)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。

## (10) プロゲステロン作用

- ①Schreurs ら(2005)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2292、Merck) 0.001、0.01、0.1、1、3、10 $\mu$ M(=0.29、2.9、29、290、871、2,900 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト骨肉腫細胞 U2-OS (ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(プロゲステロン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。【13815】(△○N)

## (11) 抗プロゲステロン作用

- ①Schreurs ら(2005)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2292、Merck) 0.001、0.01、

0.1、1、3、10 $\mu$ M、(=0.29、2.9、29、290、871、2,900 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(プロゲステロンアゴニスト ORG2058 20pM 共存下)したヒト骨肉腫細胞 U2-OS (ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(プロゲステロン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 0.5 $\mu$ M(=145 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。【13815】(△○P)

## (12) 甲状腺ホルモン作用

①Cahova ら(2003)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Sigma-Aldrich、98%) 0.00001~1  $\mu$ M(=0.0029~290 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト骨肉腫細胞 U2-OS (ヒト甲状腺ホルモン受容体  $\beta$  を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(甲状腺ホルモ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。【16520 再】(○○N)

## (13) 抗甲状腺ホルモン作用

①Cahova ら(2003)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Sigma-Aldrich、98%) 0.00001~1  $\mu$ M(=0.0029~290 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(7.9 $\times 10^{-10}$  $\mu$ M トリヨードサイロニン共存下)したヒト骨肉腫細胞 U2-OS (ヒト甲状腺ホルモン受容体  $\beta$  を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(甲状腺ホルモ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。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Sigma-Aldrich、98%) 0.0001~100 $\mu$ M(=0.029~29,000 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(サイロキシン+トランスサイレチン共存下)したヒト骨肉腫細胞 U2-OS (ヒト甲状腺ホルモン受容体  $\beta$  を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(甲状腺ホルモ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。【16520 再】(○○N)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、共存リヨードサイロニン又はサイロキシン+トランスサイレチンの濃度に関する記載が不明瞭な点に注意を要すると判断された。

## (14) ラット視床下部組織への影響

①Carbone ら(2010)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2393、Merck) 0.263 $\mu$ M(=76.4 $\mu$ g/L)の濃度に60分間ばく露したラット床下部組織(16:00~17:00 にかけての断頭した成熟雄 Wistar ラット由来、視索前野及び内側基底領域(APOA-MBH: anterior preoptic and medial basal areas)を含有)への影響が検討されている。その結果として、性腺刺激ホルモン放出ホルモン産生量、グルタミン酸産生量の低値、ガンマアミノ酪酸産生量の高値が認められた。なお、アスパラギン酸産生量には影響は認められなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2393、Merck) 0.263 $\mu$ M(=76.4 $\mu$ g/L)の濃度に60分間ばく露したラット床下部組織(試験30日前に精巣摘出处置、16:00~17:00 にかけて断頭した成熟雄 Wistar ラット由来、APOA-MBH を含有)への影響が検討されているが、性腺刺激ホルモン放出ホルモン産生量、グルタミン酸産生量、ガンマアミノ酪酸産生量、アスパラギン酸産生量には影響は認められなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2393、Merck) 0.263 $\mu$ M(=76.4 $\mu$ g/L)の濃度に

60 分間ばく露したラット床下部組織(試験 30 日前に精巣摘出处置、16:00~17:00 にかけての断頭 72 時間前にテストステロンプロピオネートを皮下投与処置した成熟雄 Wistar ラット由来、APOA-MBH を含有)への影響が検討されている。その結果として、性腺刺激ホルモン放出ホルモン産生量、アスパラギン酸産生量、グルタミン酸産生量の低値が認められた。なお、ガンマアミノ酪酸産生量には影響は認められなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2393、Merck) 0.263 $\mu$ M(=76.4 $\mu$ g/L)の濃度に 60 分間ばく露したラット床下部組織(16:00~17:00 にかけて断頭した成熟雌 Wistar ラット由来、APOA-MBH を含有)への影響が検討されている。その結果として、性腺刺激ホルモン放出ホルモン産生量、グルタミン酸産生量の低値、ガンマアミノ酪酸産生量の高値が認められた。なお、アスパラギン酸産生量には影響は認められなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2393、Merck) 0.263 $\mu$ M(=76.4 $\mu$ g/L)の濃度に 60 分間ばく露したラット床下部組織(試験 30 日前に卵巣摘出处置、16:00~17:00 に断頭した成熟雌 Wistar ラット由来、APOA-MBH を含有)への影響が検討されているが、性腺刺激ホルモン放出ホルモン産生量、アスパラギン酸産生量、グルタミン酸産生量、ガンマアミノ酪酸産生量には影響は認められなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2393、Merck) 0.263 $\mu$ M(=76.4 $\mu$ g/L)の濃度に 60 分間ばく露したラット床下部組織(試験 30 日前に卵巣摘出处置、16:00~17:00 にかけての断頭 72 時間前にエストラジオールベンゾエートを皮下投与処置した成熟雌 Wistar ラット由来、APOA-MBH を含有)への影響が検討されている。その結果として、性腺刺激ホルモン放出ホルモン産生量、アスパラギン酸産生量、グルタミン酸産生量の低値が認められた。なお、ガンマアミノ酪酸産生量には影響は認められなかった。【16525】(△○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、原著の各図脚注の濃度表記  $10^{-7}$  M は誤記であり正しくは原著本文中の記載  $2.63 \times 10^{-7}$  M と読める点、テストステロンプロピオネート又はエストラジオールベンゾエートの投与量の記載がない点、陽性対照群としてのテストステロンプロピオネート又はエストラジオールベンゾエートの単独投与群が設定されていない点に注意を要すると判断された。

また、試験物質の商標名、設定濃度の根拠等の記載が不正確である点に注意を要すると判断された。

② Szwarcfarb ら(2008)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2393、Merck) 0.263 $\mu$ M(=76.4 $\mu$ g/L)の濃度に 60 分間ばく露したラット床下部組織(16:00~17:00 にかけて断頭した 15 日齢雄 Wistar ラット由来、視索前野及び内側基底領域(APOA-MBH: anterior preoptic and medial basal areas)を含有)への影響が検討されている。その結果として、黄体形成ホルモン放出ホルモン産生量の低値、ガンマアミノ酪酸産生量の高値が認められた。なお、アスパラギン酸産生量、グルタミン酸産生量には影響は認められなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2393、Merck) 0.263 $\mu$ M(=76.4 $\mu$ g/L)の濃度に 60 分間ばく露したラット床下部組織(16:00~17:00 にかけての断頭した 30 日齢雄 Wistar ラット由来、APOA-MBH を含有)への影響が検討されている。その結果として、黄体形成ホルモン放出ホルモン産生量の低値、ガンマアミノ酪酸産生量の高値が認められた。なお、アスパラギン酸産生量、グルタミン酸産生量には影響は認められなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2393、Merck) 0.263 $\mu$ M(=76.4 $\mu$ g/L)の濃度に

60 分間ばく露したラット床下部組織(16:00~17:00 にかけての断頭した 15 日齢雌 Wistar ラット由来、APOA-MBH を含有)への影響が検討されている。その結果として、黄体形成ホルモン放出ホルモン産生量、グルタミン酸産生量の低値の高値が認められた。なお、アスパラギン酸産生量、ガンマアミノ酪酸産生量には影響は認められなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Eusolex 2393、Merck) 0.263 $\mu$ M(=76.4 $\mu$ g/L)の濃度に 60 分間ばく露したラット床下部組織(16:00~17:00 にかけての断頭した 30 日齢雌 Wistar ラット由来、APOA-MBH を含有)への影響が検討されている。その結果として、黄体形成ホルモン放出ホルモン産生量、グルタミン酸産生量の低値の高値が認められた。なお、アスパラギン酸産生量、ガンマアミノ酪酸産生量には影響は認められなかった。【16526】(×ー)

想定される作用メカニズム：不明

なお、試験物質の別名、設定濃度の根拠等の記載が不正確である点に注意を要すると判断された。

## (15) ヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響

①Strajhar ら(2017)によって、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Sigma-Aldrich) 0.1、0.5、1、5、10 $\mu$ M(=29.0、145、290、1,450、2,900 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト副腎皮質上皮がん細胞 H295R への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=2,900 $\mu$ g/L)の濃度区でデヒドロエピアンドロステロン硫酸抱合体産生量の低値、アルドステロン産生量、コルチコステロン産生量、コルチゾール産生量、11 $\beta$ -ヒドロキシアンドロステンジオン産生量の高値が認められた。なお、プロゲステロン産生量、17 $\alpha$ -ヒドロキシプロゲステロン産生量、11-デオキシコルチコステロン産生量、デヒドロエピアンドロステロン産生量、アンドロステンジオン産生量、テストステロン産生量には影響は認められなかった。

また、*p*-メトキシケイ皮酸 2-エチルヘキシル(Sigma-Aldrich) 10 $\mu$ M(=2,900 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト副腎皮質上皮がん細胞 H295R への影響が検討されている。その結果として、*star* mRNA 相対発現量、*cyp17a1* mRNA 相対発現量の低値、*hsd3b2* mRNA 相対発現量、*cyp21a2* mRNA 相対発現量、*cyp11b2* mRNA 相対発現量、*cyp11b1* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、*cyp11a1* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16523】(△○P)

想定される作用メカニズム：副腎皮質由来ホルモン合成への作用

## 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、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、甲状腺ホルモン代謝への影響、脱皮ホルモン様作用を示すこと、試験管内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、抗プロゲステロン作用、副腎皮質由来ホルモン合成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 4 に示した。

表4 信頼性評価のまとめ

物質名：p-メトキシケイ皮酸2-エチルヘキシル

区分	著者 【引用文献番号】	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	一般毒性	①de Paula ら(2022)【16331】	△	?	—
	脱皮ホルモン様作用、一般毒性	②Lambert ら(2021)【16341】	○	○P	○
	視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、一般毒性	③Chu ら(2021)【16522】	△	○P	○
	不明	④Ka と Ji (2022)【16521】	△	?	—
	エストロゲン作用	⑤Inui ら(2003)【10796】	△	○P	○
	視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	⑥Cahova ら(2023)【16520】→(12)①、(13)①	△	○P	○
		⑦Kunz ら(2006)【16385】評価未実施→(5)②			
(2)生殖影響	視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、脂質代謝への影響	①Seidlová-Wuttke ら(2006a)【16528】→(7)①	△	○P	○
	エストロゲン作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用	②Seidlová-Wuttke ら(2006b)【16529】	△	○P	○
(3)発達影響	抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用	①Schneider ら(2005)【16530】	○	○P	○
(4)甲状腺影響	視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、甲状腺ホルモン代謝への影響	①Klammer ら(2007)【16527】	△	○P	○
(5)エストロゲン作用		①Schreurs ら(2005)【13815】→(6)①、(8)①、(9)①、(10)①、(11)①	△	○N	×
		②Kunz ら(2006)【16385 再】評価未実施			
(6)抗エストロゲン作用		①Schreurs ら(2005)【13815 再】	△	○N	×

区分	著者 【引用文献番号】	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>	
(7)エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用	①Seidlová-Wuttkeら(2006a)【16528再】	△	○N	×	
(8)アンドロゲン作用	①Schreursら(2005)【13815再】	△	○N	×	
	②Maら(2003)【12228】→評価未実施(9)①				
(9)抗アンドロゲン作用	①Schreursら(2005)【13815再】	△	○N	×	
	②Maら(2003)【12228再】評価未実施				
(10)プロゲステロン作用	①Schreursら(2005)【13815再】	△	○N	×	
(11)抗プロゲステロン作用	①Schreursら(2005)【13815再】	△	○P	○	
(12)甲状腺ホルモン作用	①Cahovaら(2023)【16520再】	○	○N	×	
(13)抗甲状腺ホルモン作用	①Cahovaら(2023)【16520再】	○	○N	×	
(14)ラット視床下部組織への影響	視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用	①Carboneら(2010)【16525】	△	○P	○
	不明	②Szwarcfarbら(2008)【16526】	×	—	×
(15)ヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響	副腎皮質由来ホルモン合成への作用	①Strajharら(2017)【16523】	△	○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、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、甲状腺ホルモン代謝への影響、脱皮ホルモン様作用を示すこと、試験管内試験の報告において、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、抗プロゲステロン作用、副腎皮質由来ホルモン合成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

#### 引用文献

10796 Inui M, Adachi T, Takenaka S, Inui H, Nakazawa M, Ueda M, Watanabe H, Mori C, Iguchi T and Miyatake K (2003) Effect of UV screens and preservatives on vitellogenin and choriogenin production in male medaka (*Oryzias latipes*). *Toxicology*, 194 (1-2), 43-50.

- 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.
- 13815 Schreurs RH, Sonneveld E, Jansen JH, Seinen W and van der Burg B (2005) Interaction of polycyclic musks and UV filters with the estrogen receptor (ER), androgen receptor (AR), and progesterone receptor (PR) in reporter gene bioassays. *Toxicological Sciences*, 83 (2), 264-272.
- 16331 de Paula VCS, Gomes MF, Martins LRR, Yamamoto FY and de Freitas AM (2022) Acute toxicity characterization of organic UV-filters and chronic exposure revealing multigenerational effects in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*, 31 (9), 1413-1425.
- 16341 Lambert FN, Gracy HR, Gracy AJ, Yoon SH, Scott RW, Rincon DM and Vulpe CD (2021) Effects of ultraviolet-filters on *Daphnia magna* development and endocrine-related gene expression. *Aquatic Toxicology*, 238, 105915.
- 16385 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.
- 16520 Cahova J, Blahova J, Mares J, Hodkovicova N, Sauer P, Kroupova HK and Svobodova Z (2023) Octinoxate as a potential thyroid hormone disruptor - A combination of *in vivo* and *in vitro* data. *Science of the Total Environment*, 856 (Pt 1), 159074.
- 16521 Ka Y and Ji K (2022) Waterborne exposure to avobenzone and octinoxate induces thyroid endocrine disruption in wild-type and *thraa*(-/-) zebrafish larvae. *Ecotoxicology*, 31 (6), 948-955.
- 16522 Chu S, Kwon BR, Lee YM, Zoh KD and Choi K (2021) Effects of 2-ethylhexyl-4-methoxycinnamate (EHMC) on thyroid hormones and genes associated with thyroid, neurotoxic, and nephrotoxic responses in adult and larval zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 263, 128176.
- 16523 Strajhar P, Tonoli D, Jeanneret F, Imhof RM, Malagnino V, Patt M, Kratschmar DV, Boccard J, Rudaz S, and Odermatt A (2017) Steroid profiling in H295R cells to identify chemicals potentially disrupting the production of adrenal steroids. *Toxicology*, 381, 51-63.
- 16525 Carbone S, Szwarcfarb B, Reynoso R, Ponzo OJ, Cardoso N, Ale E, Moguilevsky JA and Scacchi P (2010) *In vitro* effect of octyl - methoxycinnamate (OMC) on the release of Gn-RH and amino acid neurotransmitters by hypothalamus of adult rats. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 118 (5), 298-303.
- 16526 Szwarcfarb B, Carbone S, Reynoso R, Bollero G, Ponzo O, Moguilevsky J and Scacchi P (2008) Octyl-methoxycinnamate (OMC), an ultraviolet (UV) filter, alters LHRH and amino acid neurotransmitters release from hypothalamus of immature rats. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 116 (2), 94-98.
- 16527 Klammer H, Schlecht C, Wuttke W, Schmutzler C, Gotthardt I, Köhrle J and Jarry H (2007) Effects of a 5-day treatment with the UV-filter octyl-methoxycinnamate (OMC) on the function of the hypothalamo-pituitary-thyroid function in rats. *Toxicology*, 238 (2-3), 192-199.
- 16528 Seidlová-Wuttke D, Christoffel J, Rimoldi G, Jarry H and Wuttke W (2006a) Comparison of effects of estradiol with those of octylmethoxycinnamate and 4-methylbenzylidene camphor on fat tissue, lipids and pituitary hormones. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 214 (1), 1-7.
- 16529 Seidlová-Wuttke D, Jarry H, Christoffel J, Rimoldi G and Wuttke W (2006b) Comparison of effects of estradiol (E2) with those of octylmethoxycinnamate (OMC) and 4-methylbenzylidene camphor (4MBC)--2 filters of UV light - on several uterine, vaginal and bone parameters. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 210 (3), 246-254.
- 16530 Schneider S, Deckardt K, Hellwig J, Küttler K, Mellert W, Schulte S and van Ravenzwaay B (2005) Octyl methoxycinnamate: two generation reproduction toxicity in Wistar rats by dietary administration. *Food and Chemical Toxicology*, 43 (7), 1083-1092.

## V. ベンゾフェノン-3

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ベンゾフェノン-3 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、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、抗アンドロゲン作用、プロゲステロン作用、抗プロゲステロン作用、マウス乳腺オルガノイドへの影響、ヒト乳がん細胞への影響に関する報告がある。

これらの報告によって信頼性評価に資する一定の情報が得られと判断されたことから、約 20 件以上得られた疫学的調査に関する報告については信頼性評価の対象に含めなかった。

なお、ベンゾフェノン-3 には、オキシベンゾン、2-ヒドロキシ-4-メトキシベンゾフェノン、BP3 等の物質名表記があった。ここでは、CAS 番号(131-57-7)等の情報から同一物質であると判断された報告について整理し、名称をベンゾフェノン-3 に統一した。

#### (1) 生態影響

①de Paula ら(2022)によって、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich、99.9%) 0.17 $\mu$ g/L(設定濃度)に 21 日間(24 時間未満齢からと思われる)ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*) F<sub>0</sub> への影響が検討されているが、総産仔数、生存率、初出産に至るまでの所要日数、全身中カタラーゼ比活性、全身中グルタチオン-S-トランスフェラーゼ比活性には影響は認められなかった。

また、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich、99.9%) 0.17 $\mu$ g/L(設定濃度)に 21 日間(24 時間未満齢からと思われる)ばく露したオオミジンコ(*D. magna*) F<sub>1</sub> (上記 F<sub>0</sub> の 3 回目出産による)への影響が検討されている。その結果として、総産仔数の低値、初出産に至るまでの所要日数、全身中カタラーゼ比活性の高値が認められた。なお、生存率、全身中グルタチオン-S-トランスフェラーゼ比活性には影響は認められなかった。【16331】(評価結果の略号：△?)

想定される作用メカニズム：一般毒性

②Tao ら(2020)によって、ベンゾフェノン-3 (Sigma、98%) 1、10、100 $\mu$ g/L(設定濃度、一部の試験で 1  $\mu$ g/L 未実施)に受精 6 時間後 (6 hpf) から 120hpf までばく露したゼブラフィッシュ胚(*Danio rerio*) への影響(非ばく露条件下にて 120 日間後、雌雄ペアにて繁殖行動試験、雌にて非ばく露雄との交配試験も実施)が検討されている。その結果として、1  $\mu$ g/L 以上のばく露区で総卵母細胞数、成熟雌脳中 *gnrh2* mRNA 相対発現量、成熟雌卵巣中 *cyp17* mRNA 相対発現量、成熟雌卵巣中 *cyp11* mRNA 相対発現量、成熟雌卵巣中 *vtg1* mRNA 相対発現量の低値、卵母細胞に占める初期黄体形成期率の高値、1  $\mu$ g/L のばく露区で成熟雌卵巣中 *gnrh3* mRNA 相対発現量の高値、10 $\mu$ g/L 以上のばく露区で生殖腺体指数、肥満度、交配試験における産卵数、雌血漿中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度、雌血漿中 11-ケトテストステロン濃度、成熟雌脳中 *kiss2* mRNA 相対発現量、成熟雌卵巣中 *17 $\beta$ hsd* mRNA 相対発現量、繁殖行動試験における Chasing 頻度、繁殖行動試験における産卵エリアに入るまでの所要時間の低値、卵母細胞に占める一次生育期率の高値、100 $\mu$ g/L のばく露区で成熟雌卵巣中 *cyp19a1a* mRNA 相対発現量、卵母細胞に占める中期黄体形成期率、卵母細胞に占める成熟期率、交配試験後 12hpf 胚体節数、交配試験後の 72hpf 孵化率、繁殖行動試験における Touching 頻度、繁殖行動試験における産卵エリア滞在時間の低値、交配試験後 24hpf 胚死亡率の高値が認められた。なお、体重、体長には影響は認められなかった。【16326】(△○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、視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用

③Zhang ら(2020)によって、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich、98%) 2、20、200 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に7日間ばく露した未成熟キンギョ(*Carassius auratus*)への影響が検討されている。その結果として、2 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で肝臓中エストロゲン受容体濃度の低値、20 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で肝臓中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

また、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich、98%) 2、20、200 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に14日間ばく露した未成熟キンギョ(*C. auratus*)への影響が検討されている。その結果として、2 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で肝臓中ビテロゲニン濃度の低値、200 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で肝臓中エストロゲン受容体濃度の高値が認められた。

また、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich、98%) 2、20、200 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に21日間ばく露した未成熟キンギョ(*C. auratus*)への影響が検討されている。その結果として、2、200 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で肝臓中ビテロゲニン濃度の低値が認められた。なお、肝臓中エストロゲン受容体濃度には影響は認められなかった。

また、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich、98%) 2、20、200 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に28日間ばく露した未成熟キンギョ(*C. auratus*)への影響が検討されている。その結果として、2、200 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で肝臓中ビテロゲニン濃度の低値、20 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で肝臓中エストロゲン受容体濃度の高値が認められた。【16347】(△○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、試験魚の性別が不明な点、主旨が腸内細菌の多様性変動である点に注意を要すると判断された。

④Meng ら(2020)によって、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich) 4.33、10.8、21.7 $\mu\text{g/L}$ (24時間  $\text{LC}_{50}$  値 43.3 $\mu\text{M}$ =783 $\mu\text{g/L}$  の10、25、50%に相当。設定濃度)に受精50時間以内から24時間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(mRNA発現量は全身中)が検討されている。その結果として、4.33 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で *CYP1B* mRNA 相対発現量、*CYP3A65* mRNA 相対発現量、*ER $\alpha$*  mRNA 相対発現量、*ER $\beta$ 1* mRNA 相対発現量、*GPER* mRNA 相対発現量、*VTG1* mRNA 相対発現量、*BRCA2* mRNA 相対発現量、*CYP19A* mRNA 相対発現量、*DMRT1* mRNA 相対発現量、*CYP11A* mRNA 相対発現量の高値、10.8 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で *CYP11A* mRNA 相対発現量の高値、21.7 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *11 $\beta$ -HSD* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、*AhR1B* mRNA 相対発現量、*AhR2* mRNA 相対発現量、*AhRRA* mRNA 相対発現量、*AhRRB* mRNA 相対発現量、*AIP* mRNA 相対発現量、*ARNT2B* mRNA 相対発現量、*ARNTL1A* mRNA 相対発現量、*ARNTL1B* mRNA 相対発現量、*ER $\beta$ 2* mRNA 相対発現量、*SOX9A* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich) 1.82、4.55、9.10 $\mu\text{g/L}$ (96時間  $\text{LC}_{50}$  値 18.2 $\mu\text{M}$ =783 $\mu\text{g/L}$  の10、25、50%に相当。設定濃度)に受精50時間以内から96時間ばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響(mRNA発現量は全身中)が検討されている。その結果として、1.82 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で *VTG1* mRNA 相対発現量の低値、*CYP3A65* mRNA 相対発現量の高値、4.55 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *ER $\beta$ 1* mRNA 相対発現量の高値、9.10 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で *11 $\beta$ -HSD* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、*CYP1B* mRNA 相対発現量、*ER $\alpha$*  mRNA 相対発現量、*GPER* mRNA 相対発現量、*BRCA2* mRNA 相対発現量、*CYP19A* mRNA 相対発現量、*DMRT1* mRNA 相対発現量、*CYP11A* mRNA 相対発現量、*AhR1B* mRNA 相対発現量、*AhR2* mRNA 相対発現量、*AhRRA* mRNA 相対発現量、*AhRRB* mRNA 相対発現量、*AIP* mRNA 相対発現量、*ARNT2B* mRNA 相対発現量、*ARNTL1A* mRNA 相対発現量、*ARNTL1B* mRNA 相対発現量、*ER $\beta$ 2* mRNA 相対発現量、*SOX9A* mRNA 相対発現量には影響は認め

られなかった。

また、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich) 913、1,826、2,739、3,652、4,569 $\mu\text{g/L}$ (=4、8、12、16、20 $\mu\text{M}$ 。設定濃度)に受精 50 時間以内から 96 時間ばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響が検討されている。その結果として、1,826 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で孵化率の低値が認められた。【16348】( $\Delta$ ?)

想定される作用メカニズム：不明

⑥Blüthgen ら(2012)によって、ベンゾフェノン-3 (Fluka、98%) 10、200、600 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に13ヶ月齢から14日間ばく露した雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で精巣中 *cyp19a* mRNA 相対発現量の高値、200 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で精巣中 *had17b3* mRNA 相対発現量、脳中 *esr1* mRNA 相対発現量、脳中 *ar* mRNA 相対発現量、脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量の低値、600 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で脳中 *cyp11a1* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、肝臓中 *vtg1* mRNA 相対発現量、血漿中ビテロゲン濃度、精巣中生殖細胞に占める精原細胞率、精巣中生殖細胞に占める精母細胞率、精巣中生殖細胞に占める精子細胞率には影響は認められなかった。

また、ベンゾフェノン-3 (Fluka、98%) 10、200、600 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に受精2~4時間後(2~4 hpf、60 胞胚期に相当)から120 hpf (Eleuthero 期に相当)までばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)胚への影響が検討されている。その結果として、200 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で、全身中 *had17b3* mRNA 相対発現量の低値、600 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で全身中 *esr1* mRNA 相対発現量の低値が認められた。【16382】( $\circ$ ?)

想定される作用メカニズム：不明

⑦Coronado ら(2008)によって、ベンゾフェノン-3 (Sigma、99%) 10、100、1,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に3ヶ月齢から21日間ばく露した雌雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で日毎孵化率(ばく露15日後)の低値、1,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で日毎産卵数(ばく露開始から1週間)、総孵化率の低値、雄血漿中ビテロゲン濃度の高値が認められた。

また、ベンゾフェノン-3 (Sigma、99%) 10、100、1,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に14日間ばく露した幼若ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響が検討されている。その結果として、1,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で雄血漿中ビテロゲン濃度の高値が認められた。【16383】( $\Delta\times$ )

想定される作用メカニズム：一般毒性

なお、本試験結果の解釈にあたっては、陽性対照区の試験結果が示されていない等、データの詳細な記載が全般的に十分ではない点に注意を要すると判断された。

⑧Kim ら(2014)によって、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich、98%) 15、50、150、500 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に4ヶ月齢から14日間ばく露した雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、15 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で肝臓中 *cyp11a* mRNA 相対発現量の高値、15 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で脳中 *er $\beta$*  mRNA 相対発現量の高値(50、500 $\mu\text{g/L}$ 区では低値)、50、500 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量の低値、500 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で血漿中17 $\beta$ -エストロジオール/テストステロン濃度比、精巣中 *cyp11a* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp17* mRNA 相対発現量、精巣中 *hsd3b* mRNA 相対発現量の低値、血漿中テストステロン濃度、血漿中ビテロゲン濃度、肝臓中 *vtg2* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、体重、体長、肥満度、生殖腺体指数、生殖腺肝指数、血漿中17 $\beta$ -エストロジオール濃度、脳中 *ar* mRNA 相対発現量、脳中 *era* mRNA 相対発現量、肝臓中 *vtg1* mRNA 相対発現量、精巣中 *star* mRNA 相対発現量、精巣中 *hsd17b3* mRNA 相対発現量 mRNA 相対発現量、精巣

中 *cyp19a* mRNA 相対発現量 mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich, 98%) 15、50、150、500 $\mu$ g/L(設定濃度)に4ヶ月齢から14日間ばく露した雌メダカ(*O. latipes*)への影響が検討されている。その結果として、50、500 $\mu$ g/Lのばく露区で脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量、脳中 *er $\beta$*  mRNA 相対発現量の低値、150 $\mu$ g/L以上のばく露区で卵巣中 *hsd17b3* mRNA 相対発現量 mRNA 相対発現量の低値、500 $\mu$ g/Lのばく露区で卵巣中 *star* mRNA 相対発現量、卵巣中 *cyp19a* mRNA 相対発現量の低値、肝臓中 *cyp1a* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、体重、体長、肥満度、生殖腺体指数、生殖腺肝指数、血漿中17 $\beta$ -エストロジオール濃度、血漿中テストステロン濃度、血漿中17 $\beta$ -エストロジオール/テストステロン濃度比、血漿中ビテロゲニン濃度、脳中 *ar* mRNA 相対発現量、脳中 *era* 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、卵巣中 *cyp11a* mRNA 相対発現量、卵巣中 *cyp17* mRNA 相対発現量、卵巣中 *hsd3b* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich, 98%) 15、50、150、500 $\mu$ g/L(設定濃度)に4ヶ月齢から28日間ばく露した雌雄メダカ(*O. latipes*) F<sub>0</sub>への影響(15日目から交配試験)が検討されている。その結果として、150 $\mu$ g/Lのばく露区で日毎産卵数、累積産卵数の低値が認められた。

また、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich, 98%) 15、50、150、500 $\mu$ g/L(設定濃度)に受精0日後(0 dpf)から39 dpfまでばく露したメダカ(*O. latipes*) F<sub>1</sub> (上記 F<sub>0</sub>が産卵)への影響が検討されているが、孵化率、孵化までの所要日数、体長、体重には影響は認められなかった。【16380】(〇〇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

- ⑨Leeら(2018)によって、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich, 98%) 32、100、320 $\mu$ g/L(設定濃度)に受精5時間後から受精6日後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、32 $\mu$ g/L以上のばく露区で全身中トリヨードサイロニン濃度の低値、320 $\mu$ g/Lのばく露区で全身中 *tg* mRNA 相対発現量、全身中 *dio1* mRNA 相対発現量、全身中 *ugt1ab* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、総生存率、胚生存率、幼生生存率、孵化率、体重、全身中サイロキシン濃度、全身中 *tsh $\beta$*  mRNA 相対発現量、全身中 *slc5a5* mRNA 相対発現量、全身中 *tpo* mRNA 相対発現量、全身中 *dio2* mRNA 相対発現量、全身中 *pax8* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

【16184】(〇〇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、甲状腺ホルモン代謝への影響

- ⑩Lambertら(2021)によって、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich, 98%) 0.68、2.05、6.17、18、55、166 $\mu$ g/L(設定濃度。500 $\mu$ g/L区も設定しているが全数死亡)に24時間未満齢から21日間オオミジンコ(*Daphnia magna*) F<sub>0</sub>への影響がされている。その結果として、166 $\mu$ g/Lのばく露区で産仔奇形率の高値が認められた。なお、体長、総産仔数、初出産までの所要日数、総脱皮回数には影響は認められなかった。

また、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich, 98%) 166 $\mu$ g/L(設定濃度)に24時間未満齢から21日間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*) F<sub>1</sub> (上記 F<sub>0</sub>の最高濃度区初出産による)への影響が検討されている。その結果として、遊泳速度(24時間齢)、体長(24時間齢)、総産仔数の低値、産仔奇形率、初出産までの所要日数、全身中 *usp* (ultraspiracle protein) mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、体長(21日齢)、総脱皮回数、全身中 *ecr- $\alpha$*  (ecdysone receptor) mRNA 相対発現量、全身中 *hr3* (hormone receptor 3) mRNA 相対発現量、全身中 *ftz-fl* (fushi tarazu factor-1) mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16341】(〇〇P)

想定される作用メカニズム：脱皮ホルモン様作用、一般毒性

⑪Kinnberg ら(2015)によって、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich) 191±5、388±23、470±30µg/L(設定濃度 100、320、500µg/L に相当する測定濃度)に受精 1 日後(1 dpf)から 60pdf 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、388µg/L 以上のばく露区で表現型雄性比、雌卵巢発達ステージの低値、388µg/L のばく露区で生存率の低値、体重、体長の高値、470µg/L のばく露区で雄精巣発達ステージの遅延が認められた。なお、表現型雄における尾部及び頭部中ビテロゲン濃度、表現型雌における尾部及び頭部中ビテロゲン濃度、間性における尾部及び頭部中ビテロゲン濃度には影響は認められなかった。

また、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich) 63±0.2、268±23、437±45µg/L(設定濃度 100、320、500µg/L に相当する測定濃度)に 12 日間ばく露した成熟ゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響が検討されている。その結果として、268µg/L のばく露区で尾部及び頭部中ビテロゲン濃度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。【16376】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用、一般毒性

⑫Rodríguez-Fuentes ら(2015)によって、ベンゾフェノン-3 (Fluka) 1、10、100、1,000µg/L(設定濃度)に受精 168 時間後から 48 時間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、1,000µg/L のばく露区で全身中 *vtg* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、全身中 *cat* mRNA 相対発現量、全身中 *sod* mRNA 相対発現量、全身中 *gpx* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16378】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

⑬Kunz ら(2006)によって、ベンゾフェノン-3 (Merck、99%) 10、100、500、1,000µg/L(設定濃度。5,000 µg/L 区も設定したが顕著な毒性症状が認められたため中断)に 2～3 ヶ月齢から 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が、体重、体長、全身中ビテロゲニン濃度には影響は認められなかった。【16385】(○○N)→(3)④

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用(影響なし)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、魚類試験においては影響が認められていないが、試験管内試験において影響が認められてい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)

⑤He ら(2019)によって、ベンゾフェノン-3 (United States Pharmacopeia Reference Standards、100%) 0.1、1、10、100、1,000µg/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。その結果として、ポリープ減少率(総リトラクション率)、死亡率、漂白率の高値が認められた。なお、褐虫藻密度には影響は認められなかった。

また、ベンゾフェノン-3 (United States Pharmacopeia Reference Standards、100%) 0.1、1、10、100、1,000µg/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-3 (Sigma-Aldrich、97%) 0.1、1、10、100、1,000µg/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 2～3 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、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。

## (2) 生殖影響

①Wnuk ら(2018)によって、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich) 50mg/kg/day を妊娠 7 日目から妊娠 16 日目まで 10 日間皮下投与した Swiss マウスへの影響(妊娠 17 日目胎仔大脳新皮質の一次培養細胞を作成しエストロゲン及びアポトーシス関連項目について試験)が検討されている。その結果として、ミトコンドリア膜電位、*esr1* (estrogen receptor  $\alpha$ ) mRNA 相対発現量、*esr2* (estrogen receptor  $\beta$ ) mRNA 相対発現量 mRNA 相対発現量、ESR1 蛋白質相対発現量、ESR2 蛋白質相対発現量、*gper1* DNA メチル化率、*bax* DNA メチル化率の低値、*bax* mRNA 相対発現量、*casp3* mRNA 相対発現量、*gper1* mRNA 相対発現量、*esr1* DNA メチル化率、*esr2* DNA メチル化率、*bcl2* DNA メチル化率、BAX 蛋白質相対発現量、GPER1 (G protein-coupled receptor)蛋白質相対発現量、CASP3 蛋白質相対発現量、ラクトースデヒドロゲナーゼ比活性、カスパーゼ 3 比活性の高値が認められた。なお、活性酸素種濃度、*bcl2* mRNA 相対発現量、*gsk3b* mRNA 相対発現量、BCL2 蛋白質相対発現量、GSK3b 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。【16362】(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用

②Krzyżanowska ら(2018)によって、ベンゾフェノン-3 (Merck) 200mg/kg/day (日毎 8:00 と 17:00 とに当分割)を妊娠 1 日目から 22~23 日間皮下投与した SD ラットへの影響(43~56 日齢雄仔動物)が検討されている。その結果として、海馬(サイトゾル及び核分画)中エストロゲン受容体  $\alpha$  相対発現量、前頭葉及び海馬中エストロゲン受容体  $\beta$  相対発現量、前頭葉及び海馬中プロゲステロン受容体 30 相対発現量、血漿中テストステロン濃度の低値、前頭葉及び海馬中アンドロゲン受容体相対発現量(核分画)、前頭葉中芳香族炭化水素受容体相対発現量(サイトゾル分画)の高値が認められた。なお、前頭葉中エストロゲン受容体  $\alpha$  相対発現量、海馬中芳香族炭化水素受容体相対発現量、血漿中  $17\beta$ -エストラジオール濃度、血漿中プロゲステロン濃度、血漿中プロラクチン濃度、血漿中遊離トリヨードサイロニン濃度、血漿中遊離サイロキシン濃度、血漿中甲状腺刺激ホルモン濃度には影響は認められなかった。【16360】(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用

③Schlecht ら(2004)によって、ベンゾフェノン-3 (Eusolex 4360, Merck) 250、1,000mg/kg/day を卵巣摘出処置 2 週間後から 5 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、250mg/kg/day 以上のばく露群で下垂体中 *ER $\alpha$*  (エストロゲン受容体  $\alpha$ ) mRNA 相対発現量の低値(子宮、甲状腺では有意差なし)、250mg/kg/day のばく露群で子宮中 *ER $\beta$*  (エストロゲン受容体  $\beta$ )相対発現量の低値(下垂体、甲状腺では有意差なし)、1,000mg/kg/day のばく露群で甲状腺中 *ERR1* (エストロゲン受容体関連受容体 1) mRNA 相対発現量の低値(下垂体、子宮では有意差なし)、下垂体中 *AhR* (芳香族炭化水素受容体) mRNA 相対発現量の低値(子宮、甲状腺では有意差なし)が認められた。なお、子宮相対重量(wet)には影響は認められなかった。【13987】(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用

④Nakamura ら(2015)によって、ベンゾフェノン-3 (Ivy Fine Chemicals) 1,000、3,000、10,000、25,000、50,000ppm(餌中濃度)を妊娠 6 日目から哺育 23 日目まで混餌投与した SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、出産 23 日目母動物において、1,000ppm のばく露群で卵巣絶対及び相

対重量、子宮絶対及び相対重量の低値、10,000ppm 以上のばく露群で肝臓絶対及び相対重量の高値、50,000ppm のばく露群で腎臓絶対及び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、23 日齢雄仔動物において、3,000ppm 以上のばく露群で精細管当精母細胞数の低値、3,000、25,000ppm のばく露群で血清中テストステロン濃度の低値、10,000ppm 以上のばく露群でアポトーシス細胞が認められる精細管率の高値、25,000ppm 以上のばく露群で体重の低値、50,000ppm のばく露群で精巣絶対重量、腎臓絶対重量、相対肛門生殖突起間距離の低値が認められた。なお、精巣相対重量、精巣上体絶対及び相対重量、肝臓絶対及び相対重量、腎臓相対重量、精細管当セルトリ細胞数には影響は認められなかった。

また、23 日齢雌仔動物において、10,000ppm 以上のばく露群での肝臓相対重量の高値、25,000ppm 以上のばく露群で体重、卵巣絶対重量の低値、50,000ppm のばく露群で子宮絶対重量、腎臓絶対重量の低値が認められた。なお、相対肛門生殖突起間距離、卵巣相対重量、子宮相対重量、腎臓相対重量、肝臓絶対重量には影響は認められなかった。【16377】(△○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、25,000、50,000ppm 群で摂餌量の低値、25,000ppm 群で23 日齢雌雄仔動物体重の低値、50,000ppm 群で妊娠 20 日目まで母動物体重の著しい低値が認められている点に注意を要すると判断された。

- ⑥Majhi ら(2020)によって、ベンゾフェノン-3 (Sigma) 3 mg/kg/day を 10 週齢以上から 4 日間経口投与した雌 BALB/c マウス(卵巣摘出处置済)への影響が検討されているが、子宮絶対重量、血清中 17β エストラジオール濃度、乳腺中 *pgr* (progesterone receptor: プロゲステロン受容体) mRNA 相対発現量、乳腺中 *areg* (amphiregulin: 上皮成長因子受容体のリガンドの一種) mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16351】(△×)→(11)①

想定される作用メカニズム：影響は認められなかった。

なお、本試験結果の解釈にあたっては、哺乳動物試験においては影響が認められていないが、試験管内試験において影響が認められている点に注意を要すると判断された。

#### ※参考 生殖影響(今回評価対象としなかった文献)

- ⑤Nakamura ら(2018)によって、ベンゾフェノン-3 (Ivy Fine Chemicals) 3,000、30,000ppm(餌中濃度)を妊娠 6 日目から哺育 21 日目まで混餌投与した SD ラットへの影響(30 日齢雄仔動物、mRNA はエストロゲン関連)が検討されている。その結果として、30,000ppm のばく露群で体重、精巣絶対及び相対重量、血清中テストステロン濃度、運動精子率、精巣上体絶対重量、前立腺絶対重量、肝臓絶対重量、腎臓絶対重量の低値が認められた。なお、精囊絶対及び相対重量、精巣上体相対重量、前立腺相対重量、肝臓相対重量、腎臓相対重量、前立腺及び精巣中 *esr1* mRNA 相対発現量、前立腺及び精巣中 *esr2* mRNA 相対発現量、前立腺及び精巣中 *cyp17a1* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16358】

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での影響であるため

### (3) エストロゲン作用

- ①Watanabe ら(2015)によって、ベンゾフェノン-3 (和光純薬、98%) 0.1、0.3、1、3、10μM(=22.8、68.5、

228、685、2,280 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 24 時間ばく露したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 (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、 $\text{REC}_{20}$  値(17 $\beta$ -エストラジオール 0.1nM による最大活性の 20%を引き出す濃度) 2.2 $\mu\text{M}$ (=502 $\mu\text{g/L}$ )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-3 (和光純薬、98%) 0.1、0.3、1、3、10 $\mu\text{M}$ (=22.8、68.5、228、685、2,280 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 24 時間ばく露したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 (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  $\beta$ -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、 $\text{REC}_{20}$  値(17 $\beta$ -エストラジオール 0.1nM による最大活性の 20%を引き出す濃度) 3.3 $\mu\text{M}$ (=743 $\mu\text{g/L}$ )の濃度で  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。【16379】(○●P)→(7)③

②Schreurs ら(2005)によって、ベンゾフェノン-3 (Eusolex 4360、Merck、試験濃度範囲の記載なし)に 24 時間ばく露したヒト胎児腎細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  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、 $\text{EC}_{50}$  値 2.9 $\mu\text{M}$ (=660 $\mu\text{g/L}$ )の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

また、ベンゾフェノン-3 (Eusolex 4360、Merck、試験濃度範囲の記載なし)に 24 時間ばく露したヒト胎児腎細胞 HEK293 (ヒトエストロゲン受容体  $\beta$  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、 $\text{EC}_{50}$  値 25 $\mu\text{M}$ (=5,700 $\mu\text{g/L}$ )の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

【13815】( $\Delta$ ○P)→(4)①、(6)①、(7)①、(8)①、(9)①

③Matsumoto ら(2005)によって、ベンゾフェノン-3 (東京化成、99.0%) 0.1、0.3、1、3、10、30、100 $\mu\text{M}$ (=22.8、68.5、228、685、2,280、6,850、22,800 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 5 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、 $\text{REC}_{10}$  値(エストラジオールによる最大活性値の 10%相当の活性を誘導する濃度) 12 $\mu\text{M}$ (=2,740 $\mu\text{g/L}$ )の濃度で細胞増殖誘導が認められた。なお、この影響は、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182780 1  $\mu\text{M}$  共存下で消失した。【16537】( $\Delta$ ○P)→(5)①

④Kunz ら(2006)によって、ベンゾフェノン-3 (Merck、99%) 25,000 $\mu\text{M}$ (=7,260,000 $\mu\text{g/L}$ )までの濃度にはばく露(時間の記載なし)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、 $\text{EC}_{50}$  値 18.6 $\mu\text{M}$ (=4,240 $\mu\text{g/L}$ )の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

また、ベンゾフェノン-3 (Merck、99%) 25,000 $\mu\text{M}$ (=7,260,000 $\mu\text{g/L}$ )までの濃度にはばく露(時間の記載なし)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、 $\text{EC}_{50}$  値 21.9 $\mu\text{M}$ (=5,000 $\mu\text{g/L}$ )の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

【16385 再】( $\Delta$ ○P)

#### (4) 抗エストロゲン作用

①Schreurs ら(2005)によって、ベンゾフェノン-3 (Eusolex 4360、Merck、試験濃度範囲の記載なし)に 24

時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 3 pM 共存下)したヒト胎児腎細胞 HEK293 (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)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導の阻害は認められなかった。

また、ベンゾフェノン-3 (Eusolex 4360、Merck、試験濃度範囲の記載なし)に 24 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 100pM 共存下)したヒト胎児腎細胞 HEK293 (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)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導の阻害は認められなかった。【13815】(△○N)

#### (5) エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用

①Matsumoto ら(2005)によって、ベンゾフェノン-3 (東京化成、99.0%)について(試験濃度の記載なし)、ヒトエストロゲン受容体  $\beta$  (TOYOBO Ligand Screening System)によるジエチルstilbestロール 0.3 $\mu$ M 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、IC<sub>50</sub> 値 15 $\mu$ M(=3,420 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、ベンゾフェノン-3 (東京化成、99.0%)について(試験濃度の記載なし)、ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  (TOYOBO Ligand Screening System)によるジエチルstilbestロール 0.3 $\mu$ M 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、IC<sub>50</sub> 値 70 $\mu$ M(=16,000 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。【16537 再】(△○P)

#### (6) アンドロゲン作用

①Schreurs ら(2005)によって、ベンゾフェノン-3 (Eusolex 4360、Merck) 0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト骨肉腫細胞 U2-OS (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。【13815】(△○N)

②Ma ら(2003)によって、ベンゾフェノン-3 (Eusolex 4360、Merck、99%) 0.01~10 $\mu$ M(=2.28~2,280 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(overnight)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】(○N)→(7)②

#### (7) 抗アンドロゲン作用

①Schreurs ら(2005)によって、ベンゾフェノン-3 (Eusolex 4360、Merck) 0.1、1、10 $\mu$ M(=22.8、228、2,280 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(ジヒドロテストステロン 0.1nM 共存下)したヒト骨肉腫細胞 U2-OS (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。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 2.0 $\mu$ M(=460 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。【13815】(△○P)

②Ma ら(2003)によって、ベンゾフェノン-3 (Eusolex 4360、Merck、99%) 0.01~10 $\mu$ M(=2.28~2,280 $\mu$ g/L)

の濃度にばく露(ジヒドロテストステロン 0.1 又は 0.5nM 共存下、overnight)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。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 4.98μM(=1,140μg/L)又は 28.5μM(=6,500μg/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。【12228 再】(○○P)

③Watanabe ら(2015)によって、ベンゾフェノン-3 (和光純薬、98%) 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10μM(=2.28、6.85、22.8、68.5、228、685、2,280μg/L)の濃度に 24 時間ばく露したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 (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(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、REC<sub>20</sub> 値(ジヒドロテストステロン 0.1nM による最大活性の 20%を引き出す濃度) 5.8μM(=1,320μg/L)の濃度で β-ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。【16379 再】(○○P)

## (8) プロゲステロン作用

①Schreurs ら(2005)によって、ベンゾフェノン-3 (Eusolex 4360、Merck) 0.001、0.01、0.1、1、3、10μM、(=0.228、2.28、22.8、228、871、2,280μg/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト骨肉腫細胞 U2-OS (ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(プロゲステロン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導は認められなかった。【13815】(△○N)

## (9) 抗プロゲステロン作用

①Schreurs ら(2005)によって、ベンゾフェノン-3 (Eusolex 4360、Merck) 0.001、0.01、0.1、1、3、10μM、(=0.228、2.28、22.8、228、871、2,280μg/L)の濃度に 24 時間ばく露(プロゲステロンアゴニスト ORG2058 30pM 共存下)したヒト骨肉腫細胞 U2-OS (ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(プロゲステロン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 5.2μM(=1,200μg/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。【13815】(△○P)

## (10) マウス乳腺オルガノイドへの影響

①Altamirano ら(2020)によって、ベンゾフェノン-3 (Sigma-Aldrich、98%) 0.000001、0.001、1 μM(=0.000228、0.228、228μg/L)の濃度に 72 時間ばく露したマウス乳腺一次オルガノイド(8 週齢雌 C57GL マウス由来)への影響が検討されている。その結果として、0.000001μM(=0.000228μg/L)の濃度区で *esr1* mRNA 相対発現量、*pr-b* mRNA 相対発現量、*stat5a* mRNA 相対発現量、*csn2* mRNA 相対発現量、CSN2 蛋白質相対発現量の高値、1 μM(=228μg/L)の濃度区で *wap* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、*pr-a* mRNA 相対発現量、*gr* mRNA 相対発現量、*prlr* mRNA 相対発現量、*lalba* mRNA 相対発現量、LALBA 蛋白質相対発現量、STAT5A 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。【16345】(○○P)

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

## (11) ヒト乳がん細胞への影響

①Majhi ら(2020)によって、ベンゾフェノン-3 (Sigma) 1、5、50μM(=228、1140、11,400μg/L)の濃度に

24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 (エストロゲン受容体  $\alpha$  を発現)への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu$ M(=11,400 $\mu$ g/L)の濃度区で *pgr* (progesterone receptor: プロゲステロン受容体) mRNA 相対発現量、*areg* (amphiregulin: 上皮成長因子受容体のリガンドの一種) mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ベンゾフェノン-3 (Sigma) 1、5、50 $\mu$ M(=228、1140、11,400 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D (エストロゲン受容体  $\alpha$  を発現)への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu$ M(=11,400 $\mu$ g/L)の濃度区で *pgr* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、細胞生存率、*areg* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16351 再】(〇〇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。

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、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、甲状腺ホルモン代謝への影響、脱皮ホルモン様作用を示すこと、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、抗アンドロゲン作用、抗プロゲステロン作用を示すことが示唆された。

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

物質名：ベンゾフェノン-3

区分	著者 【引用文献番号】	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	一般毒性	①de Paula ら(2022) 【16331】	△	?	—
	抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	②Tao ら(2020) 【16326】	△	〇P	〇
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	③Zhang ら(2020) 【16347】	△	〇P	〇
	不明	④Meng ら(2020) 【16348】	△	?	—
		⑤He ら(2019) 【16183】 評価未実施			

区分	著者 【引用文献番号】	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>	
	不明	⑥Blüthgen ら(2012)【16382】	○	?	—
	一般毒性	⑦Coronado ら(2008)【16383】	△	×	×
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	⑧Kim ら(2014)【16380】	○	○P	○
	視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、甲状腺ホルモン代謝への影響	⑨Lee ら(2018)【16184】	○	○P	○
	脱皮ホルモン様作用、一般毒性	⑩Lambert ら(2021)【16341】	○	○P	○
	エストロゲン作用、一般毒性	⑪Kinnberg ら(2015)【16376】	△	○P	○
	エストロゲン作用	⑫Rodríguez-Fuentes ら(2015)【16378】	△	○P	○
	エストロゲン作用(なし)	⑬Kunz ら(2006)【16385】→(3)④	○	○N	×
(2)生殖影響	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	①Wnuk ら(2018)【16362】	△	○P	○
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	②Krzyżanowska ら(2018)【16360】	△	○P	○
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	③Schlecht ら(2004)【13987】	△	○P	○
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	④Nakamura ら(2015)【16377】	△	○P	○
		⑤Nakamura ら(2018)【16358】評価未実施			
		⑥Majhi ら(2020)【16351】→(11)①	△	×	—
(3)エストロゲン作用		①Watanabe ら(2015)【16379】→(7)③	○	○P	○
		②Schreurs ら(2005)【13815】→(4)①、(6)①、(7)①、(8)①、(9)①	△	○P	○
		③Matsumoto ら(2005)【16537】→(5)①	△	○P	○
		④Kunz ら(2006)【16385 再】	△	○P	○
(4)抗エストロゲン作用		①Schreurs ら(2005)【13815 再】	△	○N	×

区分	著者 【引用文献番号】	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>	
(5)エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用	①Matsumoto ら(2005)【16537 再】	△	○P	○	
(6)アンドロゲン作用	①Schreurs ら(2005)【13815 再】	△	○N	×	
	②Ma ら(2003)【12228】→(7)②	○	○N	×	
(7)抗アンドロゲン作用	①Schreurs ら(2005)【13815 再】	△	○P	○	
	②Ma ら(2003)【12228 再】	○	○P	○	
	③Watanabe ら(2015)【16379 再】	○	○P	○	
(8)プロゲステロン作用	①Schreurs ら(2005)【13815 再】	△	○N	×	
(9)抗プロゲステロン作用	①Schreurs ら(2005)【13815 再】	△	○P	○	
(10)マウス乳腺オルガノイドへの影響	エストロゲン作用、抗エストロゲン作用	①Altamirano ら(2020)【16345】	○	○P	○
(11)ヒト乳がん細胞への影響	エストロゲン作用	①Majhi ら(2020)【16351 再】	○	○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、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、甲状腺ホルモン代謝への影響、脱皮ホルモン様作用を示すこと、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、抗アンドロゲン作用、抗プロゲステロン作用を示すことが示唆された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

#### 引用文献

- 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.
- 13815 Schreurs RH, Sonneveld E, Jansen JH, Seinen W and van der Burg B (2005) Interaction of polycyclic musks and UV filters with the estrogen receptor (ER), androgen receptor (AR), and progesterone receptor (PR) in reporter gene bioassays. *Toxicological Sciences*, 83 (2), 264-272.
- 13987 Schlecht C, Klammer H, Jarry H and Wuttke W (2004) Effects of estradiol, benzophenone-2 and benzophenone-3 on the expression pattern of the estrogen receptors (ER) alpha and beta, the estrogen receptor-related receptor 1 (ERR1) and the aryl hydrocarbon receptor (AhR) in adult ovariectomized rats. *Toxicology*, 205 (1-2), 123-130.
- 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.
- 16326 Tao J, Yang Q, Jing M, Sun X, Tian L, Huang X, Huang X, Wan W, Ye H, Zhang T and Hong F (2023) Embryonic benzophenone-3 exposure inhibited fertility in later-life female zebrafish and altered developmental morphology in offspring embryos. *Environmental Science and Pollution Research International*, 30 (17), 49226-49236.
- 16331 de Paula VCS, Gomes MF, Martins LRR, Yamamoto FY and de Freitas AM (2022) Acute toxicity characterization of organic UV-filters and chronic exposure revealing multigenerational effects in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*, 31 (9), 1413-1425.
- 16341 Lambert FN, Gracy HR, Gracy AJ, Yoon SH, Scott RW, Rincon DM and Vulpe CD (2021) Effects of ultraviolet-filters on *Daphnia magna* development and endocrine-related gene expression. *Aquatic Toxicology*, 238, 105915.
- 16345 Altamirano GA, Gomez AL, Schierano-Marotti G, Muñoz-de-Toro M, Rodriguez HA and Kass L (2020) Bisphenol A and benzophenone-3 exposure alters milk protein expression and its transcriptional regulation during functional differentiation of the mammary gland in vitro. *Environmental Research*, 191, 110185.
- 16347 Zhang P, Lu G, Liu J, Yan Z and Wang Y (2020) Toxicological responses of *Carassius auratus* induced by benzophenone-3 exposure and the association with alteration of gut microbiota. *Science of the Total Environment*, 747, 141255.
- 16348 Meng Q, Yeung K, Kwok ML, Chung CT, Hu XL and Chan KM (2020) Toxic effects and transcriptome analyses of zebrafish (*Danio rerio*) larvae exposed to benzophenones. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 265 (Pt A), 114857
- 16351 Majhi PD, Sharma A, Roberts AL, Daniele E, Majewski AR, Chuong LM, Black AL, Vandenberg LN, Schneider SS, Dunphy KA and Jerry DJ (2020) Effects of Benzophenone-3 and Propylparaben on Estrogen Receptor-Dependent R-Loops and DNA Damage in Breast Epithelial Cells and Mice. *Environmental Health Perspectives*, 128 (1), 17002.
- 16358 Nakamura N, Vijay V, Desai VG, Hansen DK, Han T, Chang CW, Chen YC, Harrouk W, McIntyre B, Foster PM, Fuscoe JC and Inselman AL (2018) Transcript profiling in the testes and prostates of postnatal day 30 Sprague-Dawley rats exposed prenatally and lactationally to 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone. *Reproductive Toxicology*, 82, 111-123.
- 16360 Krzyżanowska W, Pomierny B, Starek-Świechowicz B, Broniowska Ż, Strach B and Budziszewska B (2018) The effects of benzophenone-3 on apoptosis and the expression of sex hormone receptors in the frontal cortex and hippocampus of rats. *Toxicology Letters*, 296, 63-72.
- 16362 Wnuk A, Rzemieniec J, Litwa E, Lasoń W and Kajta M (2018) Prenatal exposure to benzophenone-3 (BP-3) induces apoptosis, disrupts estrogen receptor expression and alters the epigenetic status of mouse neurons. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 182, 106-118.
- 16376 Kinnberg KL, Petersen GI, Albrektsen M, Minghlani M, Awad SM, Holbech BF, Green JW, Bjerregaard P and Holbech H (2015) Endocrine-disrupting effect of the ultraviolet filter benzophenone-3 in zebrafish, *Danio rerio*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34 (12), 2833-2840.
- 16377 Nakamura N, Inselman AL, White GA, Chang CW, Trbojevich RA, Sephr E, Voris KL, Patton RE, Bryant MS, Harrouk W, McIntyre BS, Foster PM and Hansen DK (2015) Effects of maternal and lactational exposure to 2-hydroxy-4-methoxybenzone on development and reproductive organs in male and female rat offspring. *Birth Defects Research. Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 104 (1), 35-51.
- 16378 Rodríguez-Fuentes G, Sandoval-Gío JJ, Arroyo-Silva A, Noreña-Barroso E, Escalante-Herrera KS and Olvera-Espinosa F (2015) Evaluation of the estrogenic and oxidative stress effects of the UV filter 3-benzophenone in zebrafish (*Danio rerio*) eleuthero-embryos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 115, 14-18.
- 16379 Watanabe Y, Kojima H, Takeuchi S, Uramaru N, Sanoh S, Sugihara K, Kitamura S and Ohta S (2015) Metabolism of UV-filter benzophenone-3 by rat and human liver microsomes and its effect on endocrine-disrupting activity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 282 (2), 119-128.
- 16380 Kim S, Jung D, Kho Y and Choi K (2014) Effects of benzophenone-3 exposure on endocrine disruption and reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*)--a two generation exposure study. *Aquatic Toxicology*, 155, 244-252.
- 16382 Blüthgen N, Zucchi S and Fent K (2012) Effects of the UV filter benzophenone-3 (oxybenzone) at low concentrations in zebrafish (*Danio rerio*). *Toxicology and Applied Pharmacology*, 263 (2), 184-194.
- 16383 Coronado M, De Haro H, Deng X, Rempel MA, Lavado R and Schlenk D (2008) Estrogenic activity and reproductive effects of the UV-filter oxybenzone (2-hydroxy-4-methoxyphenyl-methanone) in fish. *Aquatic Toxicology*,

90 (3), 182-187.

16385 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.

16537 Matsumoto H, Adachi S and Suzuki Y (2005) Estrogenic activity of ultraviolet absorbers and the related compounds. *Yakugaku Zasshi*, 125 (8), 643-652.

## VI. TRIAC

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

TRIAC の内分泌かく乱作用に関連する報告として、行動影響、甲状腺ホルモン作用、ヒトへの投与試験に関する報告がある。

なお、TRIAC には、3,3',5-トリヨードサイロ酢酸、チラトリコール、TA3 等の物質名表記があった。ここでは、CAS 番号(51-24-1)等の情報から同一物質であると判断された報告について整理し、名称を TRIAC に統一した。

#### ※参考 (1) 行動影響 (今回評価対象としなかった文献)

①Massol ら(1987)によって、TRIAC (Ana) 0.0015、0.03、0.06、0.125、0.25、0.5mg/kg/day を4日間腹腔内投与した雄 Wistar ラット(体重 175~200g)への影響が検討されている。その結果として、0.5mg/kg/day 以上のばく露群でシャトルボックス回避行動試験における誤回数の低値が認められた。【16516】

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) 甲状腺ホルモン作用

①Gutleb ら(2005)によって、TRIAC(Theo Visser, 98%) 0.05 $\mu$ M(=31.1 $\mu$ g/L)までの濃度に96時間ばく露したラット下垂体がん細胞 GH3 による細胞増殖試験が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub> 値 0.000141 $\mu$ M(=141pM=0.0876 $\mu$ g/L)の濃度で細胞増殖誘導が認められた。【16506】(評価結果の略号： $\Delta$ OP)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、試験方法の記載が不十分である点に注意を要すると判断された。

②Szabolcs ら(1991)によって、TRIAC (Sigma) 0.01、0.1、1 $\mu$ M(=6.22、62.2、622 $\mu$ g/L)の濃度に135分ばく露したラット下垂体(2~3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、0.1 $\mu$ M(=62.2 $\mu$ g/L)以上の濃度区で甲状腺刺激ホルモン放出濃度の低値が認められた。【16512】( $\Delta$ OP)

③Sugiyama ら(2005)によって、TRIAC (Sigma, 95%) 2、20 $\mu$ M(=1,240、12,400 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したアフリカツメガエル細胞 XL58 (アフリカツメガエル甲状腺ホルモン受容体を発現と思われる)によるレポーター遺伝子アッセイ(甲状腺ホルモ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 $\mu$ M(=1,240 $\mu$ g/L)以上の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。【16498】( $\Delta$ OP)

#### (3) ヒトへの投与試験

①Sherman と Ladenson (1992)によって、米国(Johns Hopkins Thyroid Tumor Center)にて、TRIAC (Medgenix Group) 1.5mg/day (1.15~2.4mg/day)を6~8週間経口投与した甲状腺がん患者10名(年齢34~67(平均45)歳、女性7名、男性3名、甲状腺摘出処理済、サイロキシシン 0.7 $\mu$ g/kg/day 投与)への影響(12時間絶食後の7:00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(ランダム化二重盲検プラセボ対照試験)において、血清中総コレステロール濃度、血清中 LDL コレステロール濃度、血清中アポリポ蛋白質 B 濃度、血清中トリグリセリド濃度の低値、血清中フェリチン濃度、

血清中性ホルモン結合グロブリン濃度の高値が認められた。なお、体重、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中 HDL コレステロール濃度、血清中リポ蛋白質濃度、血清中アポリポ蛋白質 AI 濃度、血清中アポリポ蛋白質 AII 濃度には影響は認められなかった。【16511】(△○P)

想定される作用メカニズム：肝臓及び骨代謝における甲状腺ホルモン様作用

## 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、ヒトへの投与試験の報告において、肝臓及び骨代謝における甲状腺ホルモン様作用を示すこと、試験管内試験の報告において、甲状腺ホルモ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6に示した。

表6 信頼性評価のまとめ

物質名：TRIAC

区分	著者 【引用文献番号】	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)行動影響	①Massol ら(1987) 【16516】 評価未実施			
(2)甲状腺ホルモン作用	①Gutleb ら(2005) 【16506】	△	○P	○
	②Szabolcs ら(1991) 【16512】	△	○P	○
	③Sugiyama ら(2005) 【16498】	△	○P	○
(3)ヒトへの投与試験	肝臓及び骨代謝における甲状腺ホルモン様作用 ①Sherman と Ladenson (1992) 【16511】	△	○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、肝臓及び骨代謝における甲状腺ホルモン様作用を示すこと、試験管内試験の報告において、甲状腺ホルモ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

### 引用文献

16516 Massol J, Martin P, Soubrié P and Simon P (1987) Triiodothyroacetic acid-induced reversal of learned

- helplessness in rats. *European Journal of Pharmacology*, 134 (3), 345-348.
- 16506 Gutleb AC, Meerts IA, Bergsma JH, Schriks M and Murk AJ (2005) T-Screen as a tool to identify thyroid hormone receptor active compounds. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19 (2), 231-238.
- 16512 Szabolcs I, Schultheiss H, Astier H and Horster FA (1991) Effects of triiodothyronine, triiodothyroacetic acid, iopanoic acid and iodide on the thyrotropin-releasing hormone-induced thyrotropin release from superfused rat pituitary fragments. *Acta Endocrinologica*, 125 (4), 427-434.
- 16498 Sugiyama S, Shimada N, Miyoshi H and Yamauchi K (2005) Detection of thyroid system-disrupting chemicals using *in vitro* and *in vivo* screening assays in *Xenopus laevis*. *Toxicological Sciences*, 88 (2), 367-374.
- 16511 Sherman SI and Ladenson PW (1992) Organ-specific effects of tiratricol: a thyroid hormone analog with hepatic, not pituitary, superagonist effects. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 75 (3), 901-905.