

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 6 年度及び令和 7 年度実施分)(案)

I. 令和 6 年度及び令和 7 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 5 年度に信頼性評価を実施する対象として選定した 11 物質群(表 1)のうち、8 物質について令和 6 年度及び令和 7 年度において信頼性評価を実施した(参考資料 2-1 参照)。

また、令和 6 年度に信頼性評価を実施する対象として選定した 15 物質(表 2)について令和 7 年度に信頼性評価を実施中である(参考資料 2-2 参照)。

表 1 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<br>となった<br>調査区分<br>の記号** |
|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| 報告済                                    |                                                             |                               |
| 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)                         |
| 今回報告                                   |                                                             |                               |
| ジベンゾチオフェン                              | 医薬中間体 <sup>1)</sup>                                         | 3.(1)                         |
| レボフロキサシン                               | 医薬品(抗菌薬) <sup>3)</sup>                                      | 3.(1)                         |
| ジノテフラン                                 | 農薬(殺虫剤) <sup>1)</sup>                                       | 3.(4)                         |
| 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)                         |
| 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)                         |
| 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)                         |
| 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)                         |
| 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)                         |

- 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

表 2 令和 6 年度に信頼性評価の対象とする 15 物質

| 名称                                    | 主な用途                                                             | 選定根拠となった調査区分の記号** |
|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------------|
| 実施中                                   |                                                                  |                   |
| ビスフェノール AF                            | ゴム架橋剤、特殊エンブラ用原料 <sup>3)</sup>                                    | 3. (1)            |
| りん酸トリス(ブトキシエチル)                       | 可塑剤、消泡剤、レベリング剤 <sup>3)</sup>                                     | 3. (3)            |
| アセトニトリル*                              | 合成原料(ビタミン B1、サルファ剤、香料、染料)溶剤、電池の電解液 <sup>1)</sup>                 | 3. (5)            |
| カルタップ*                                | 農薬(殺虫剤) <sup>1)</sup>                                            | 3. (5)            |
| キザロホップエチル*                            | 農薬(除草剤) <sup>1)</sup>                                            | 3. (5)            |
| 2,6-キシリジン (別名: 2,6-ジメチルアニリン) *        | 合成原料(染料、顔料) <sup>1)</sup>                                        | 3. (5)            |
| ジクロロベンゼンのうち 1,3-ジクロロベンゼン*             | 合成原料(染料、顔料、農薬、医薬品)、溶剤、洗浄剤(グリース用)、その他(消毒剤、伝導熱媒体) <sup>1)</sup>    | 3. (5)            |
| ブタミホス*                                | 農薬(除草剤) <sup>1)</sup>                                            | 3. (5)            |
| フタル酸ジアリル*                             | 架橋剤(不飽和ポリエステル樹脂)、可塑剤(塩化ビニル樹脂用)、合成樹脂原料(ジアリルフタレート樹脂) <sup>1)</sup> | 3. (5)            |
| プロピネブ*                                | 農薬(殺菌剤) <sup>1)</sup>                                            | 3. (5)            |
| メコプロップ*                               | 農薬(除草剤) <sup>1)</sup>                                            | 3. (5)            |
| ビスフェノール F                             | 樹脂原料(特殊エポキシ、ポリカーボネート) <sup>3)</sup>                              | 3. (7)            |
| テレフタル酸ジオクチル (別名: テレフタル酸ビス(2-エチルヘキシル)) | 可塑剤 <sup>2)</sup>                                                | 3. (7)            |
| フタル酸ジイソノニル                            | 可塑剤 <sup>3)</sup>                                                | 3. (7)            |
| ペンフルリ ドール                             | 統合失調症治療薬 <sup>4)</sup>                                           | 3. (7)            |

\*化管法第一種指定化学物質

- 1) 環境省、PRTR インフォメーション広場、対象化学物質情報  
([https://www.env.go.jp/chemi/prtr/archive/target\\_chemi.html](https://www.env.go.jp/chemi/prtr/archive/target_chemi.html))
- 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.chem-info.nite.go.jp/chem/chrip/chrip\\_search/srhInput](https://www.chem-info.nite.go.jp/chem/chrip/chrip_search/srhInput))  
3) 化学工業日報社、17524 の化学商品 (2024) 及びバックナンバー  
4) KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes  
([https://www.kegg.jp/entry/dr\\_ja:D02630](https://www.kegg.jp/entry/dr_ja:D02630))

\*\*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. (3) 要調査項目等存在状況調査結果
- 3. (5) 化管法第一種指定化学物質
- 3. (7) 専門家から提案された物質

## Ⅱ. 令和 6 年度及び令和 7 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 6 年度及び令和 7 年度に信頼性評価を実施した 8 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、試験管内試験によって確認する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 6 年度及び令和 7 年度に実施した 8 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 10 月 6 日開催、同 10 月 8 日開催、同 12 月 23 日開催、令和 7 年 6 月 26 日開催、同 6 月 27 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 6 年度及び令和 7 年度に実施した 8 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 8 物質

- ジベンゾチオフェン：動物試験の報告において、甲状腺ホルモン様作用、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、エストロゲン及びアンドロゲン合成の促進作用を示すことが示唆された。
- レボフロキサシン：動物試験の報告において、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、インスリンへの影響、エピネフリンへの影響を示すこと、試験管内試験の報告において、インスリン分泌促進作用を示すことが示唆された。
- ジノテフラン：動物試験の報告において、副腎でのコステロイド合成系の促進、視床下部—下垂体—副腎軸への作用を示すことが示唆された。
- フタル酸ジシクロヘキシル：動物試験の報告において、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

甲状腺ホルモン作用、抗副腎皮質ホルモン(抗グルココルチコイド)作用、ステロイドデヒドロゲナーゼ阻害作用を示すことが示唆された。

- フタル酸ブチルベンジル：動物試験の報告において、エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、テストステロン合成抑制作用、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、ステロイドホルモン合成系への作用、黄体形成ホルモンパルスへの影響、抗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、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、ステロイドホルモン合成系への作用、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用、黄体細胞ステロイド産生阻害、脂質合成促進作用、ステロイドデヒドロゲナーゼ阻害作用を示すことが示唆された。
- ビスフェノール S：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、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、精巣でのホルモン合成への影響、精巣及び卵巣でのホルモン産生への影響、甲状腺ホルモン様作用、甲状腺ホルモン合成及び代謝への影響、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、グルコース代謝への影響、インシュリン分泌促進作用、脳内生殖神経内分泌亢進を示すこと、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、G 蛋白質共役型エストロゲン受容体(GPER)活性化作用、テストステロン産生抑制、アルドステロン産生抑制、コルチゾール産生抑制、プロゲステロン産生抑制、抗甲状腺ホルモン作用、ステロイド合成抑制、脂肪細胞分化促進作用、中性脂質貯蔵能増強作用を示すことが示唆された。
- ブチルパラベン：動物試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン様作用、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、レプチン合成又は分泌抑制作用を示すこと、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、エストロゲン受容体発現促進作用、エストロゲン産生促進作用、プロゲステロン受容体発現促進作用、抗アンドロゲン作用、アンドロスタン受容体アゴニスト作用、プレグナン X 受容体アゴニスト作用、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体アゴニスト作用、ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝能への影響、脂肪細胞分化促進作用を示すことが示唆された。
- イソブチルパラベン：動物試験の報告において、エストロゲ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、ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝能への影響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 信頼性評価結果をもと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<br>ゲン | 抗エスト<br>ロゲン | アンドロ<br>ゲン | 抗アンド<br>ロゲン | 甲状腺ホ<br>ルモン | 抗甲状腺<br>ホルモン | その他の<br>作用 |
| 1  | ジベンゾチオ<br>フェン    | ○          | —           | —          | —           | ○           | ○            | ○          |
| 2  | レボフロキサ<br>シン     | —          | —           | —          | —           | ○           | ○            | ○          |
| 3  | ジノテフラン           | —          | —           | —          | —           | —           | —            | ○          |
| 4  | フタル酸ジシ<br>クロヘキシル | ○          | ○           | ○          | ○           | ○           | ○            | ○          |
| 5  | フタル酸ブチ<br>ルベンジル  | ○          | ○           | ○          | ○           | ○           | ○            | ○          |
| 6  | ビスフェノール<br>S     | ○          | ○           | ○          | ○           | ○           | ○            | ○          |
| 7  | ブチルパラベ<br>ン      | ○          | ○           | ○          | ○           | ○           | ○            | ○          |
| 8  | イソブチルパ<br>ラベン    | ○          | ○           | —          | —           | —           | —            | ○          |
| 計  | 31 試験            | 6 試験       | 5 試験        | 4 試験       | 4 試験        | 6 試験        | 6 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. ジベンゾチオフェン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ジベンゾチオフェンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、エストロゲン作用、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。

#### (1) 生態影響

①Guzzolino ら(2021)によって、ジベンゾチオフェン(Sigma-Aldrich) 0.05、0.1、1、10 $\mu$ M(=9.2、18.4、184、1840 $\mu$ g/L)(設定濃度)に受精後5時間(5 hpf)から受精後5日目(5 dpf)までばく露したゼブラフィッシュへの影響(遺伝子は甲状腺関連)が検討されている。その結果として、0.05 $\mu$ M(=9.2 $\mu$ g/L)以上のばく露区で全身中 *tsh* mRNA 相対発現量、全身中 *trh* mRNA 相対発現量、全身中 *tpo* mRNA 相対発現量、全身中 *scl5a5* mRNA 相対発現量、全身中 *dio2* mRNA 相対発現量の低値、全身中 *ugt* mRNA 相対発現量、全身中 *thra* mRNA 相対発現量、全身中 *thr $\beta$*  mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、生存率(2 dpf)、孵化率(2 dpf)、全身中 *dio1* mRNA 相対発現量、全身中 *ttr* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16556】(評価結果の略号： $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：甲状腺ホルモン様作用、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

なお、本試験結果の解釈にあたっては、試験生物の学名の記載がない点に注意を要すると判断された。

#### (2) エストロゲン作用

①Brinkmann ら(2014)によって、ジベンゾチオフェン(abcr、98%) 100 $\mu$ M(=18,400 $\mu$ g/L)までの濃度に24時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D (ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  及び  $\beta$  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、EC<sub>50</sub> 値約 1  $\mu$ M(=184 $\mu$ 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、ジベンゾチオフェン(abcr、98%) 1  $\mu$ M(=184 $\mu$ g/L)までの濃度に24時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  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)が検討されているが、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導は認められなかった。【14767】(OOO)

②Petersen と Tollefsen (2011)によって、ジベンゾチオフェン(Sigma-Aldrich、98%) 0.01~100 $\mu$ M(=1.84~18,400 $\mu$ g/L)の濃度に96時間ばく露したニジマス肝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、EC<sub>50</sub> 値 42.8 $\mu$ M(=7,890 $\mu$ g/L)の濃度でビテロゲニン産生誘導が認められた。【13169】( $\Delta$ OP)

③Lee ら(2017)によって、ジベンゾチオフェン(Aldrich) 1,000 $\mu$ g/L までの濃度に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。【14765】( $\Delta$ ON) $\rightarrow$ (3)①

### (3) ヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響

①Lee ら(2017)によって、ジベンゾチオフェン(Aldrich) 40、200、1,000 $\mu$ 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、40 $\mu$ g/L 以上の濃度区でテストステロン産生量の高値、1,000 $\mu$ g/L の濃度区でエストラジオール産生量の高値が認められた。【14765 再】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン及びアンドロゲン合成促進作用

## 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、甲状腺ホルモン様作用、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、エストロゲン及びアンドロゲン合成の促進作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 1 に示した。

表 1 信頼性評価のまとめと今後の対応案

物質名：ジベンゾチオフェン

| 区分                  |                                                                                                                                             | 著者<br>【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             | 甲状腺ホルモン様作用、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                                                                                                    | ①Guzzolino ら(2021)【16556】           | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (2)エストロゲン作用         |                                                                                                                                             | ①Brinkmann ら(2014)【14767】           | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                     |                                                                                                                                             | ②Petersen と Tollefsen (2011)【13169】 | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                     |                                                                                                                                             | ③Lee ら(2017)【14765】→(3)①            | △                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
| (3)ヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響 | エストロゲン及びアンドロゲン合成の促進作用                                                                                                                       | ①Lee ら(2017)【14765 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、甲状腺ホルモン様作用、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、エストロゲン及びアンドロゲン合成の促進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

- Brinkmann M, Maletz S, Krauss M, Bluhm K, Schiwy S, Kuckelkorn J, Tiehm A, Brack W and Hollert H (2014) Heterocyclic aromatic hydrocarbons show estrogenic activity upon metabolism in a recombinant transactivation assay. *Environmental Science & Technology*, 48 (10), 5892-5901. 【14767】
- Guzzolino E, Milella MS, Forini F, Borsò M, Rutigliano G, Gorini F, Zucchi R, Saba A, Bianchi F, Iervasi G and Pitto L (2021) Thyroid disrupting effects of low-dose dibenzothiophene and cadmium in single or concurrent exposure: New evidence from a translational zebrafish model. *Science of the Total Environment*, 769, 144703. 【16556】
- Lee S, Hong S, Liu X, Kim C, Jung D, Yim UH, Shim WJ, Khim JS, Giesy JP and Choi K (2017) Endocrine disrupting potential of PAHs and their alkylated analogues associated with oil spills. *Environmental Science Process & Impacts*, 19 (9), 1117-1125. 【14765】
- Petersen K and Tollefsen KE (2011) Assessing combined toxicity of estrogen receptor agonists in a primary culture of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Aquatic Toxicology*, 101 (1), 186-195. 【13169】



## II. レボフロキサシン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

レボフロキサ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、糖代謝影響、インスリン分泌細胞への影響に関する報告がある。なお、レボフロキサシンは *S*-体の光学活性を有する物質であり、関連物質としては、鏡像異性体に相当する *R*-体のデキストロフロキサシン、ラセミ体に相当するオフロキサシンが存在する。

#### (1) 生態影響

- ①Zhang ら(2023)によって、レボフロキサシン(CAS 100986-85-4、Shanghai Yuanye Bio-Technology、98%) 1 µg/L(設定濃度)に Gosner ステージ 26 から 28 日間ばく露したトノサマガエル(*Rana nigromaculata*)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、体重、体長(SVL: snout-vent length)、到達発達ステージ(Gosner stage)、脳中 *dio3* mRNA 相対発現量、脳中 *tra* mRNA 相対発現量、脳中 *trβ* mRNA 相対発現量、脳中サイロキシン濃度の低値、脳中 *tshβ* mRNA 相対発現量、脳中トリヨードサイロニン濃度、脳中甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン、脳中甲状腺刺激ホルモン濃度、脳中甲状腺ホルモン受容体濃度、脳中デヨージナーゼ濃度の高値が認められた。なお、脳中 *dio2* mRNA 相対発現量、脳中 *trh* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16539】(評価結果の略号：○○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、毒性

なお、本試験結果の解釈にあたっては、一連の影響が体重の低値が認められた濃度での影響である点に注意を要すると判断された。

- ②Zhang ら(2023)によって、レボフロキサシン(CAS 100986-85-4、Shanghai Yuanye Bio-Technology、98%) 1 µg/L(設定濃度)に Gosner ステージ 25～26 から 28 日間ばく露したトノサマガエル(*Rana nigromaculata*)への影響(アミン類は脳内神経伝達物質及びそれらの代謝物)が検討されている。その結果として、脳中サイロキシン濃度、脳中活性酸素種濃度、脳中オルニチン濃度、脳中L-アスパラギン濃度の低値、脳中トリヨードサイロニン濃度、脳中コルチゾール濃度、脳中スーパーオキシドディスムターゼ比活性、脳中グルタチオンペルオキシダーゼ比活性、脳中カタラーゼ比活性の高値が認められた。なお、脳中アセチルコリン濃度、脳中プトレシン濃度、脳中チアミン濃度には影響は認められなかった。【16540】(○○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、神経毒性

#### ※参考 生態影響（今回評価対象としなかった文献）

- ③Tolosi と de Liguoro (2021)によって、レボフロキサシン(Sigma-Aldrich、98%)700、1,200、2,100、3,800、6,900、12,300、22,200、40,000µg/L(設定濃度)に 24 時間未満齢から 48 時間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響(非ばく露条件にて更に 10 日後)が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub> 値 15,110µg/L の濃度で生存率の低値が認められた。なお、日毎体伸長率には影響は認められなかった。【16541】

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) 糖代謝影響

①Ishiwata ら(2006)によって、レボフロキサシン(第一製薬) 100、300mg/kg を単回静脈内投与した雄 Wistar ラット(体重 230~280g)への影響(投与 240 分後まで)が検討されている。その結果として、300mg/kg のばく露群で血清中グルコース濃度(投与 15、60 分後)の高値(100mg/kg 群は 60 分後に有意な低値)、血清中エピネフリン濃度(投与 15、60 分後)、血清中インスリン濃度(投与 15、60 分後)の高値が認められた。なお、これら血清中グルコース濃度、血清中エピネフリン濃度への影響は、ジフェニルヒドラミン 1 mg/kg の 5 分前静脈内共投与によって抑制された。

また、レボフロキサシン(第一製薬) 200、300mg/kg を単回静脈内投与した雄 Wistar ラット(体重 230~280g)への影響(投与 60 分後まで)が検討されている。その結果として、200mg/kg 以上のばく露群で血清中ヒスタミン濃度(投与 5、15、30 分後)の高値が認められた。なお、この血清中ヒスタミン濃度への影響は、ジフェニルヒドラミン 1 mg/kg の 5 分前静脈内共投与によって抑制されなかった。【16544】(△○P)

想定される作用メカニズム：インスリンへの影響、エピネフリンへの影響

## (3) インスリン分泌細胞への影響

①Bito ら(2013)によって、レボフロキサシン(LKT Laboratories) 100μM(=36,100μg/L)の濃度に 40 分間ばく露したインスリン分泌細胞 HIT-T15 (Syrian ハムスター膵島細胞由来)への影響が検討されている。その結果として、細胞内カルシウム濃度、インスリン分泌量の高値が認められた。なお、これらの影響は、細胞外  $\text{Ca}^{2+}$  2.5mM 共存下で促進され、小胞体膜状  $\text{Ca}^{2+}$  ATPase 阻害剤タプシガルギン共存下で抑制された【16543】(△○P)

想定される作用メカニズム：インスリン分泌の促進

## 2. 総合的判断(案)

得られた報告について信頼性評価を実施した結果として、内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告が得られた。

試験対象物質として選定する根拠として認められると評価された報告から、動物試験の報告において、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、インスリンへの影響、エピネフリンへの影響を示すこと、試験管内試験の報告において、インスリン分泌促進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：レボフロキサシン

| 区分               |                                                                                                                        | 著者<br>【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          | 視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、毒性                                                                                                   | ①Zhang ら(2023)【16539】                   | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                  | 視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、神経毒性                                                                                                 | ②Zhang ら(2023)【16540】                   | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                  |                                                                                                                        | ③Tolosi と de Liguoro (2021)【16541】評価未実施 |                                                                                       |                               |                                                 |
| (2)糖代謝影響         | インスリンへの影響、エピネフリンへの影響                                                                                                   | ①Ishiwata ら(2006)【16544】                | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (3)インスリン分泌細胞への影響 | インスリン分泌促進                                                                                                              | ①Bito ら(2013)【16543】                    | △                                                                                     | ○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、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、インスリンへの影響、エピネフリンへの影響を示すこと、試験管内試験の報告において、インスリン分泌促進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

- Bito M, Tomita T, Komori M, Taogoshi T, Kimura Y and Kihira K (2013) The mechanisms of insulin secretion and calcium signaling in pancreatic  $\beta$ -cells exposed to fluoroquinolones. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 36 (1), 31-35. 【16543】
- Ishiwata Y, Itoga Y and Yasuhara M (2006) Effect of levofloxacin on serum glucose concentration in rats. *European Journal of Pharmacology*, 551 (1-3), 168-174. 【16544】
- Tolosi R and de Liguoro M (2021) Delayed toxicity of three fluoroquinolones and their mixtures after neonatal or embryonic exposure, in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 225, 112778. 【16541】
- Zhang W, Teng M, Yan J and Chen L (2023) Study effect and mechanism of levofloxacin on the neurotoxicity of *Rana nigromaculata* tadpoles exposed to imidacloprid based on the microbe-gut-brain axis. *Science of the Total Environment*, 872, 162098. 【16540】
- Zhang W, Teng M, Zhao L, and Chen L (2023) Study effect and mechanism of ofloxacin and levofloxacin on development of *Rana nigromaculata* tadpoles based on the hypothalamus-pituitary-thyroid axis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 259, 114985. 【16539】

### Ⅲ. ジノテフラン

#### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ジノテフランの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、神経行動影響、エストロゲン作用、甲状腺ホルモン作用、マウス線維芽細胞への影響に関する報告がある。

##### (1) 生態影響

③Zhang ら(2023)によって、*S*-ジノテフラン(Shanghai Chiralway Biotech, 99%) 1,000、5,000µg/L (設定濃度)に6～24時間齢から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、5,000µg/L のばく露区で総産仔数、初出産における産仔数の低値が認められた。なお、初出産に至るまでの所要日数には影響は認められなかった。

また、*S*-ジノテフラン(Shanghai Chiralway Biotech, 99%) 1,000、5,000µg/L (設定濃度)に6～24時間齢から21日間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*) F<sub>1</sub> 及び F<sub>3</sub> への影響が検討されているが、総産仔数、初出産における産仔数、初出産に至るまでの所要日数には影響は認められなかった。

また、*R*-ジノテフラン(Shanghai Chiralway Biotech, 99%) 1,000、5,000µg/L (設定濃度)に6～24時間齢から21日間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*) F<sub>0</sub>、F<sub>1</sub> 及び F<sub>3</sub> への影響が検討されているが、総産仔数、初出産における産仔数、初出産に至るまでの所要日数には影響は認められなかった。

【16548】(評価結果の略号：○?)

想定される作用メカニズム：不明

#### ※参考 生態影響（今回評価対象としなかった文献）

①Wang ら(2019)によって、ジノテフラン(Institute for the Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture, China, 95%) 20mg/kg を2～3年齢(準成熟期)から週2回(5.7mg/kg/day に相当)35日間経口投与した雌雄ヒョウモンカナヘビ(*Eremias argus*)への影響が検討されている。その結果として、体重、血漿中成長ホルモン濃度、血漿中成長ホルモン放出ホルモン濃度、肝臓中成長ホルモン受容体 *ghr* mRNA 相対発現量、肝臓中インスリン様成長因子 *igf-1* mRNA 相対発現量、肝臓中インスリン様成長因子結合蛋白質 *igfbp2* mRNA 相対発現量の低値、血漿中ソマトスタチン濃度の高値が認められた。【14669】

なお、本試験結果の解釈にあたっては、一連の影響が体重の低値が認められた濃度での影響である点に注意を要すると判断された。

評価未実施の理由：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。

②Wang ら(2020)によって、ジノテフラン(Institute for the Control of Agrochemicals, Ministry of Agriculture, China, 95%) 20mg/kg を成熟期に3日毎(6.67mg/kg/day に相当)28日間経口投与した雌雄ヒョウモンカナヘビ(*Eremias argus*)への影響が検討されている。その結果として、血漿中サイロキシン濃度、肝臓中 *dio1* mRNA 相対発現量の低値、甲状腺濾胞面積、肝臓中 *dio2* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ttr* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、甲状腺上皮高、甲状腺濾胞アスペクト比、血漿中トリヨードサイロニン濃度、肝臓中 *tra* mRNA 相対発現量、肝臓中 *trβ* mRNA 相対発現量、肝臓中 *udp* mRNA 相対発現量、肝臓中 *sult* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16555】

評価未実施の理由：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。

- ④Raby ら(2018)によって、ジノテフラン(CAS 165252-70-0、Syngenta Crop Protection、98.6～98.8%) 1,560、3,120、6,250、12,500、25,000、50,000、100,000μg/L(設定濃度)に 24 時間未満齢から 7 日間ばく露したニセネコゼミジンコ(*Ceriodaphnia dubia*)への影響が検討されているが、死亡率、産仔数には影響は認められなかった。【14674】

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

- ⑤Saka と Tada (2021)によって、ジノテフラン(CAS 165252-70-0、フジフィルム和光純薬、98.0～99.8%) 100、1,000μg/L(設定濃度)に Nieuwkoop stage 49～50 から対照区が Nieuwkoop stage 56～59 に達するまで 26～28 日間ばく露したネッタイツメガエル(*Silurana tropicalis*)への影響が検討されているが、到達発達ステージ、全長、後脚長、後脚長/全長、体重、甲状腺面積、甲状腺コロイド細胞数には影響は認められなかった。【16552】

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) 神経行動影響

- ①Takada ら(2020)によって、ジノテフラン(三井化学、20%含有製品である水溶性 Arubarin<sup>®</sup>) 500、2,500mg/kg/day を 4 週齢から 4 週間飲水投与した雄 C57BL/6NCrSlc マウスへの影響が検討されている。その結果として、500mg/kg/day 以上のばく露群で血漿中コルチコステロン濃度の高値が認められた。なお、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中央スクエア滞在時間、尾懸垂試験における不動率、強制遊泳試験における不動率には影響は認められなかった。

また、ジノテフラン(三井化学、20%含有製品である水溶性 Arubarin<sup>®</sup>) 500、2,500mg/kg/day を 4 週齢から 4 週間飲水投与(慢性的予測不可能軽度ストレス条件下)した雄 C57BL/6NCrSlc マウスへの影響が検討されている。その結果として、500mg/kg/day 以上のばく露群で血漿中コルチコステロン濃度の高値が認められた。なお、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中央スクエア滞在時間、尾懸垂試験における不動率、強制遊泳試験における不動率には影響は認められなかった。【16554】(△○P)

想定される作用メカニズム：副腎でのコルチコステロン合成系の促進、視床下部一下垂体—副腎軸への作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、含有量記載の製品を使用しているが、ジノテフラン以外の成分については不詳である点に注意を要すると判断された。

### ※参考 (3) エストロゲン作用 (今回評価対象としなかった文献)

- ①Mesnage ら(2021)によって、ジノテフラン(CAS 165252-70-0、Yorlab、98.8%) 1,000、5,000、10,000、50,000、100,000、200,000、300,000μg/L の濃度に 24 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。【16556】→(4)①、(5)①
- 評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

### ※参考 (4) 甲状腺ホルモン作用 (今回評価対象としなかった文献)

- ①Mesnage ら(2021)によって、ジノテフラン(CAS 165252-70-0、Yorlab、98.8%) 1,000、5,000、10,000、50,000、100,000、200,000、300,000μg/L の濃度に 6 日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が、細胞増殖誘導は認められなかった。【16556 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。

## ※参考 (5)マウス線維芽細胞への影響（今回評価対象としなかった文献）

①Mesnage ら(2021)によって、ジノテフラン(CAS 165252-70-0、Yorlab、98.8%) 1,000、5,000、10,000、50,000、100,000、200,000、300,000µg/L の濃度に 6 日間ばく露したマウス線維芽細胞 3T3-L1 への影響が検討されているが、脂質産生量には影響は認められなかった。【16556 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。

## 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、副腎でのコステロン合成系の促進、視床下部一下垂体一副腎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：ジノテフラン

| 区分          |                                  | 著者<br>【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     |                                  | ①Wang ら(2019)<br>【14669】評価未実施                  |                                                                                       |                               |                                                 |
|             |                                  | ②Wang ら(2020)<br>【16555】評価未実施                  |                                                                                       |                               |                                                 |
|             | 不明                               | ③Zhang ら(2023)<br>【16548】                      | ○                                                                                     | ?                             | —                                               |
|             |                                  | ④Raby ら(2018)<br>【14674】評価未実施                  |                                                                                       |                               |                                                 |
|             |                                  | ⑤Saka と Tada (2021)<br>【16552】評価未実施            |                                                                                       |                               |                                                 |
| (2)神経行動影響   | 副腎でのコステロン合成系の促進、視床下部一下垂体一副腎軸への作用 | ①Takada ら(2020)<br>【16554】                     | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (3)エストロゲン作用 |                                  | ①Mesnage ら(2021)<br>【16556】→(4)①、(5)<br>①評価未実施 |                                                                                       |                               |                                                 |

| 区分               | 著者<br>【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> |
| (4)甲状腺ホルモン作用     | ①Mesnage ら(2021)<br>【16556 再】評価未実施                                                 |                                                                                       |                               |                                                 |
| (5)マウス線維芽細胞への影響  | ①Mesnage ら(2021)<br>【16556 再】評価未実施                                                 |                                                                                       |                               |                                                 |
| 信頼性評価のまとめと今後の対応案 | 動物試験の報告において、副腎でのコステロイド合成系の促進、視床下部-下垂体-副腎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

- Mesnage R, Biserni M, Genkova D, Wesolowski L and Antoniou MN (2018) Evaluation of neonicotinoid insecticides for oestrogenic, thyroidogenic and adipogenic activity reveals imidacloprid causes lipid accumulation. *Journal of Applied Toxicology*, 38 (12), 1483-1491. 【14676】
- Raby M, Zhao X, Hao C, Poirier DG and Sibley PK (2018) Relative chronic sensitivity of neonicotinoid insecticides to *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 163, 238-244. 【14674】
- Saka M and Tada N (2021) Acute and chronic toxicity tests of systemic insecticides, four neonicotinoids and fipronil, using the tadpoles of the western clawed frog *Silurana tropicalis*. *Chemosphere*, 270, 129418. 【16552】
- Takada T, Yoneda N, Hirano T, Onaru K, Mantani Y, Yokoyama T, Kitagawa H, Tabuchi Y, Nimako C, Ishizuka M, Ikenaka Y, and Hoshi N (2020) Combined exposure to dinotefuran and chronic mild stress counteracts the change of the emotional and monoaminergic neuronal activity induced by either exposure singly despite corticosterone elevation in mice. *Journal of Veterinary Medical Science*, 82 (3), 350-359. 【16554】
- Wang Y, Xu P, Chang J, Li W, Yang L and Tian H (2020) Unraveling the toxic effects of neonicotinoid insecticides on the thyroid endocrine system of lizards. *Environmental Pollution*, 258, 113731. 【16555】
- Wang Y, Zhang Y, Li W, Yang L and Guo B (2019) Distribution, metabolism and hepatotoxicity of neonicotinoids in small farmland lizard and their effects on GH/IGF axis. *Science of the Total Environment*, 662, 834-841. 【14669】
- Zhang H, Ren X, Liu T, Zhao Y, Gan Y and Zheng L (2023) The stereoselective toxicity of dinotefuran to *Daphnia magna*: A systematic assessment from reproduction, behavior, oxidative stress and digestive function. *Chemosphere*, 327, 138489. 【16548】

## IV. フタル酸ジシクロヘキシル

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

フタル酸ジシクロヘキシルの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響、甲状腺影響、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、副腎皮質ホルモン(グルココルチコイド)作用、抗副腎皮質ホルモン(抗グルココルチコイド)作用、ハムスター肺線維芽細胞への影響、ステロイドデヒドロゲナーゼ阻害作用に関する報告がある。

#### (1) 生殖影響

②Aydoğan Ahbab と Barlas (2015)によって、フタル酸ジシクロヘキシル(Aldrich、99%) 20、100、500mg/kg/day を妊娠 6 日目から妊娠 19 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響(妊娠 20 日目)が検討されている。その結果として、20mg/kg/day 以上のばく露群で同腹吸収胚数及び率、肛門生殖突起間距離(絶対値及び体重補正值)、精巣中ライディッヒ細胞クラスター数(画像面積当)、血漿中卵胞刺激ホルモン/インヒビン B 濃度比、精巣中 3 $\beta$ -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(面積染色面積比)、精巣中アンドロゲン受容体蛋白質相対発現量(面積染色面積比)、血漿中ミュー管抑制因子濃度の低値、精巣における病変(病理組織学的検査での特に精細管中精細胞の減少や消失等)発生率、ライディッヒ細胞クラスターサイズ、血漿中インヒビン B 濃度の高値、20、100mg/kg/day のばく露群で体重、血漿中卵胞刺激ホルモン濃度の高値、100mg/kg/day 以上のばく露群で血漿中テストステロン濃度の低値が認められた。なお、体長、同腹生存仔数、精巣中ライディッヒ細胞数(画像面積当)には影響は認められなかった。【16491】(評価結果の略号：△○P)

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、用量依存性に乏しい点、測定値の有意差検定を含め記載が不明瞭な点に注意を要すると判断された。

③Aydoğan Ahbab と Barlas (2013)によって、フタル酸ジシクロヘキシル(Aldrich、99%) 20、100、500mg/kg/day を妊娠 6 日目から妊娠 19 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響(20 日齢雄仔動物)が検討されている。その結果として、20、500mg/kg/day のばく露群で両精巣絶対重量、血清中インヒビン B 濃度の低値、血清中ミュー管抑制因子濃度の高値、20mg/kg/day のばく露群で体重、両精巣上体絶対重量の低値、100mg/kg/day のばく露群で両精巣相対重量、血清中テストステロン濃度の高値が認められた。なお、両精巣上体相対重量、前立腺+精囊絶対及び相対重量、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中エストラジオール濃度には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジシクロヘキシル(Aldrich、99%) 20、100、500mg/kg/day を妊娠 6 日目から妊娠 19 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響(32 日齢雄仔動物)が検討されている。その結果として、20、500mg/kg/day のばく露群で血清中テストステロン濃度の低値、20、100mg/kg/day のばく露群で血清中ミュー管抑制因子濃度の低値、血清中卵胞刺激ホルモン濃度の高値、100mg/kg/day 以上のばく露群で両精巣相対重量の低値、500mg/kg/day のばく露群で両精巣絶対重量の低値、前立腺相対重量の高値が認められた。なお、体重、両精巣上体絶対及び相対重量、精囊絶対及び相対重量、前立腺絶対重量、血清中インヒビン B 濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中エストラジオール濃度には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジシクロヘキシル(Aldrich、99%) 20、100、500mg/kg/day を妊娠 6 日目から妊娠 19



日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響(90 日齢雄仔動物)が検討されている。その結果として、20mg/kg/day 以上のばく露群で精細管直径の低値、形態異常精子率の高値、20、100mg/kg/day のばく露群で精細管内腔径、精巣上体管直径、精巣上体管内腔径の低値、20mg/kg/day のばく露群で精細管上肥厚、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、前立腺相対重量の高値、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中インヒビン B 濃度の低値、500mg/kg/day のばく露群で両精巣上体絶対重量、前立腺絶対重量の高値が認められた。なお、体重、両精巣絶対及び相対重量、両精巣上体相対重量、精囊絶対及び相対重量、血清中テストステロン濃度、血清中卵巣刺激ホルモン濃度、血清中エストラジオール濃度、血清中ミューラー管抑制因子濃度、精巣上体頭中精子数、精巣上体管上皮厚には影響は認められなかった。【16492】(〇〇P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、用量依存性に乏しい点に注意を要すると判断された。

- ⑤Hong ら(2005)によって、フタル酸ジシクロヘキシル(Sigma-Aldrich) 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】(△〇N、)→(3)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）

- ①Li ら(2016)によって、フタル酸ジシクロヘキシル(Sigma) 10、100、500mg/kg/day を妊娠 12 日目から妊娠 21 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響(精巣関連項目は雄新生仔について、遺伝子及び蛋白質は内分泌関連)が検討されている。その結果として、10mg/kg/day 以上のばく露群で新生仔体重、ライディッヒ細胞面積、ライディッヒ細胞の核面積、ライディッヒ細胞の細胞質面積、ライディッヒ細胞の細胞質/核面積比、精巣中 *INSL3* 蛋白質相対発現量、精巣中 *HSDBI* 蛋白質相対発現量の低値、100mg/kg/day のばく露群で肛門生殖突起間距離、精巣中テストステロン濃度の低値、多角化原生殖細胞発生率、ライディッヒ細胞クラスターサイズの高値が認められた。なお、同腹仔数、雄性比、ライディッヒ細胞数(精巣当)には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジシクロヘキシル(Sigma) 10、100、500、1,000mg/kg/day を妊娠 12 日目から妊娠 21 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響(雄新生仔について、遺伝子は内分泌関連)が検討されている。その結果として、10mg/kg/day 以上のばく露群での精巣中 *star* mRNA 相対発現量、精巣中 *hsd3b1* mRNA 相対発現量、精巣中 *hsd17b3* mRNA 相対発現量の低値、100mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中 *insl3* mRNA 相対発現量の低値、500mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中 *scarb1* mRNA 相対発現量の低値、1,000mg/kg/day のばく露群で精巣中 *lhcg* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、精巣中 *cyp11a1* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp17a1* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16490】

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

- ④Lake ら(1982)によって、フタル酸ジシクロヘキシル(Laporte Industries、99%) 1,500mg/kg/day を 30 日齢から 7 日間経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、肝臓相対重

量、肝臓ミクロソーム中チトクローム P-450 濃度、肝臓ミクロソーム中チトクローム b5 濃度、肝臓ミクロソーム中ヘム濃度の高値が認められた。なお、腎臓相対重量、精巣相対重量には影響は認められなかった。【1488】

評価未実施の理由：内分泌かく乱作用と関連すると考えられた評価項目について、影響が認められなかった報告のため。

## (2) 甲状腺影響

①Barlas ら(2020)によって、フタル酸ジシクロヘキシル(Aldrich、99%) 20、100、500mg/kg/day を妊娠 6 日目から妊娠 19 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響(20 日齢仔動物)が検討されている。その結果として、雄において、20mg/kg/day 以上のばく露群で甲状腺相対重量の低値、20mg/kg/day のばく露群で体重の低値(100mg/kg/day 群では高値)、膵臓相対重量の高値、20、500mg/kg/day のばく露群で血清中トリヨードサイロニン濃度の高値、20mg/kg/day のばく露群で血清中サイロキシン濃度の高値、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、100mg/kg/day のばく露群で膵臓絶対重量の高値が認められた。なお、下垂体絶対及び相対重量、甲状腺絶対重量、副腎絶対及び相対重量には影響は認められなかった。雌において、20mg/kg/day 以上のばく露群で甲状腺絶対重量、膵臓絶対重量の低値、20mg/kg/day のばく露群で血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中トリヨードサイロニン濃度、膵臓絶対重量の高値が認められた。なお、体重、甲状腺相対重量、副腎絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、血清中サイロキシン濃度には影響は認められなかった。

また、フタル酸ジシクロヘキシル(Aldrich、99%) 20、100、500mg/kg/day を妊娠 6 日目から妊娠 19 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響(32 日齢仔動物)が検討されている。その結果として、雄において、20mg/kg/day 以上のばく露群で膵臓相対重量の高値が認められた。なお、体重、膵臓絶対重量、甲状腺絶対及び相対重量、副腎絶対及び相対重量、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中サイロキシン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度には影響は認められなかった。雌において、20mg/kg/day 以上のばく露群で膵臓相対重量の高値、500mg/kg/day のばく露群で体重の低値が認められた。なお、膵臓絶対重量、甲状腺絶対及び相対重量、副腎絶対及び相対重量、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中サイロキシン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度には影響は認められなかった。【16486】(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、用量依存性に乏しい点、測定値の有意差検定を含め記載が不明瞭な点に注意を要すると判断された。

## (3) エストロゲン作用

①Hong ら(2005)によって、フタル酸ジシクロヘキシル(Sigma-Aldrich) 1、10、100 $\mu$ M(=330、3,300、33,000 $\mu$ 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、10 $\mu$ M(=3,300 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。【16060 再】(△○P)

②Okazaki ら(2017)によって、フタル酸ジシクロヘキシル(Sigma-Aldrich、99%) 0.000025、0.0025、0.025、2.5、5、10、15、20、25 $\mu$ M(=0.00826、0.826、8.26、826、1,650、3,300、4,960、6,610、8,260 $\mu$ g/L)の濃度に 24 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  $\alpha$  及び  $\beta$  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。

また、フタル酸ジシクロヘキシル(Sigma-Aldrich, 99%) 0.000025、0.0025、0.025、2.5、5、10、15、20、25 $\mu$ M(=0.00826、0.826、8.26、826、1,650、3,300、4,960、6,610、8,260 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト乳がん細胞 MDA-MB-231 (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、フタル酸ジシクロヘキシル(Sigma-Aldrich, 99%) 0.000025、0.0025、0.025、2.5、5、10、15、20、25 $\mu$ M(=0.00826、0.826、8.26、826、1,650、3,300、4,960、6,610、8,260 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露したヒト乳がん細胞 MDA-MB-231 (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。【15939】( $\Delta$ ○N)→(4)①

#### (4) 抗エストロゲン作用

①Okazaki ら(2017)によって、フタル酸ジシクロヘキシル(Sigma-Aldrich, 99%) 0.000025、0.0025、0.025、2.5、5、10、15、20、25 $\mu$ M(=0.00826、0.826、8.26、826、1,650、3,300、4,960、6,610、8,260 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 1 nM 共存下)したヒト乳がん細胞 MCF-7 (ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  及び  $\beta$  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、IC<sub>50</sub> 値 4.48 $\mu$ M(=1,480 $\mu$ 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、フタル酸ジシクロヘキシル(Sigma-Aldrich, 99%) 0.000025、0.0025、0.025、2.5、5、10、15、20、25 $\mu$ M(=0.00826、0.826、8.26、826、1,650、3,300、4,960、6,610、8,260 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 1 nM 共存下)したヒト乳がん細胞 MDA-MB-231 (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、IC<sub>50</sub> 値約 5  $\mu$ M(=1,650 $\mu$ 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、フタル酸ジシクロヘキシル(Sigma-Aldrich, 99%) 0.000025、0.0025、0.025、2.5、5、10、15、20、25 $\mu$ M(=0.00826、0.826、8.26、826、1,650、3,300、4,960、6,610、8,260 $\mu$ g/L)の濃度に24時間ばく露(ジアリルプロピオニトリル 10nM 又は 17 $\beta$ -エストラジオール 1 nM 共存下)したヒト乳がん細胞 MDA-MB-231 (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、IC<sub>50</sub> 値 5.17 $\mu$ M(=1,710 $\mu$ g/L)又は 11.2 $\mu$ M(=3,700 $\mu$ 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。【15939】( $\Delta$ ○P)

#### (5) エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用

①Nakai ら(1999)によって、フタル酸ジシクロヘキシル(和光純薬) 0.0001、0.01、0.1、1、10、100、1,000 $\mu$ M、(=0.033、3.3、33、330、3,300、33,000、330,000 $\mu$ g/L)の濃度で、遺伝子組み換えヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  による標識 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。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 1.0 $\mu$ M(=330 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。【1482】( $\Delta$ ○P)

## (6) 抗甲状腺ホルモン作用

①Sugiyama ら(2005)によって、フタル酸ジシクロヘキシル(和光純薬、99%) 0.8、4、20 $\mu$ M(=264、1,320、6,600 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(トリヨードサイロニン 2 nM 共存下)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)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、20 $\mu$ M(=6,600 $\mu$ 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。

また、フタル酸ジシクロヘキシル(和光純薬、99%) 2、20 $\mu$ M(=660、6,600 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(トリヨードサイロニン 2 nM 共存下)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)への影響が検討されている。その結果として、20 $\mu$ M(=6,600 $\mu$ g/L)の濃度で *TR $\beta$*  mRNA 相対発現量の低値が認められた。【16498】(△○P)

## (7) 副腎皮質ホルモン(グルココルチコイド)作用

①Leng ら(2021)によって、フタル酸ジシクロヘキシル(Aladdin Biotech) 10 $\mu$ M(=3,300 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 HeLa (ヒトグルココルチコイド受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(グルココルチコイド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。【16485】(△○N)→(8)①

## (8) 抗副腎皮質ホルモン(抗グルココルチコイド)作用

①Leng ら(2021)によって、フタル酸ジシクロヘキシル(Aladdin Biotech) 10 $\mu$ M(=3,300 $\mu$ g/L)までの濃度に 24 時間ばく露(デキサメタゾン 1.39nM 共存下)したヒト乳がん細胞 HeLa (ヒトグルココルチコイド受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(グルココルチコイド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(=3,300 $\mu$ g/L)の濃度区でルシフェラーゼ相対発現量の低値が認められた。

また、フタル酸ジシクロヘキシル(Aladdin Biotech) 10 $\mu$ M(=3,300 $\mu$ g/L)までの濃度に 24 時間ばく露(デキサメタゾン 1  $\mu$ M 共存下)したヒト肝臓がん細胞 HepG2 への影響(グルココルチコイド応答遺伝子)が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=33 $\mu$ g/L)以上の濃度区で *G6Pase* mRNA 相対発現量の低値、0.1、1  $\mu$ M(=33、330 $\mu$ g/L)の濃度区で *PEPCK* mRNA 相対発現量の低値、10 $\mu$ M(=3,300 $\mu$ g/L)の濃度区で *FAS* mRNA 相対発現量の低値が認められた。

また、フタル酸ジシクロヘキシル(Aladdin Biotech) 10 $\mu$ M(=3,300 $\mu$ g/L)までの濃度に 24 時間ばく露(デキサメタゾン 1  $\mu$ M 共存下)したヒト肺基底上皮腺がん細胞 A549 への影響(グルココルチコイド応答遺伝子)が検討されている。その結果として、0.1、10 $\mu$ M(=33、3,300 $\mu$ g/L)の濃度区で *MKP-1* mRNA 相対発現量の低値、10 $\mu$ M(=3,300 $\mu$ g/L)の濃度区で *GILZ* mRNA 相対発現量の低値が認められた。【16485 再】(△○P)

## ※参考 (9) ハムスター肺線維芽細胞への影響 (今回評価対象としなかった文献)

①Nakagomi ら(2001)によって、フタル酸ジシクロヘキシル(東京化成) 200 $\mu$ M(=66,100 $\mu$ g/L)までの濃度に 1 時間ばく露したチャイニーズハムスター肺線維芽細胞 V79 への影響が検討されているが、正常

微小管ネットワークを有する細胞率には影響は認められなかった。【3965】

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、陽性対照である 17 $\beta$ -エストラジオールでは EC<sub>50</sub> 値 13.7 $\mu$ M が認められている点に注意を要すると判断された。

## (10) ステロイドデヒドロゲナーゼ阻害作用

①Ohshima ら(2005)によって、フタル酸ジシクロヘキシル(関東化学) 0.5、5、50 $\mu$ M(=165、1,650、16,500 $\mu$ g/L)の濃度でヒト腎臓ミクロソーム蛋白質への影響が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 46.5 $\mu$ M(=15,400 $\mu$ g/L)の濃度で 11 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ 2 比活性の低値が認められた。なお、11 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ 1 比活性には影響は認められなかった。【16497】(△○P)

②Zhao ら(2010)によって、フタル酸ジシクロヘキシル(Sigma-Aldrich) 1,000 $\mu$ M(=330,000 $\mu$ g/L)の濃度でヒト腎臓ミクロソーム蛋白質への影響が検討されている。その結果として、11 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ 2 比活性の低値が認められた。

また、フタル酸ジシクロヘキシル(Sigma-Aldrich) 1,000 $\mu$ M(=330,000 $\mu$ g/L)の濃度でラット腎臓ミクロソーム蛋白質への影響が検討されている。その結果として、11 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ 2 比活性の低値が認められた。【16493】(△○P)

## 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、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体一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、抗エストロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、抗副腎皮質ホルモン(抗グルココルチコイド)作用、ステロイドデヒドロゲナーゼ阻害作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表4に示した。

表4 信頼性評価のまとめ

物質名：フタル酸ジシクロヘキシル

| 区分          | 著者<br>【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)生殖<br>影響 | ①Li ら(2016)<br>【16490】評価未実施 |                                                                                       |                               |                                                 |

| 区分                         |                                                                                                                                                                                            | 著者<br>【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                                                                                                                                                               | ②Aydoğan Ahbab と Barlas (2015) 【16491】 | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                            | 視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用                                                                                                                                                                          | ③Aydoğan Ahbab と Barlas (2013) 【16492】 | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                            |                                                                                                                                                                                            | ④Lake ら(1982) 【1488】 評価未実施             |                                                                                       |                               |                                                 |
|                            |                                                                                                                                                                                            | ⑤Hong ら(2005) 【16060】 →(3)①            | △                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
| (2)甲状腺影響                   | 視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用                                                                                                                                                                          | ①Barlas ら(2020) 【16486】                | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (3)エストロゲン作用                |                                                                                                                                                                                            | ①Hong ら(2005) 【16060 再】                | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                            |                                                                                                                                                                                            | ②Okazaki ら(2017) 【15939】 →(4)①         | △                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
| (4)抗エストロゲン作用               |                                                                                                                                                                                            | ①Okazaki ら(2017) 【15939 再】             | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (5)エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用     |                                                                                                                                                                                            | ①Nakai ら(1999) 【1482】                  | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (6)抗甲状腺ホルモン作用              |                                                                                                                                                                                            | ①Sugiyama ら(2005) 【16498】              | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (7)副腎皮質ホルモン(グルココルチコイド)作用   |                                                                                                                                                                                            | ①Leng ら(2021) 【16485】 →(8)①            | △                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
| (8)抗副腎皮質ホルモン(抗グルココルチコイド)作用 |                                                                                                                                                                                            | ①Leng ら(2021) 【16485 再】                | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (9)ハムスター肺線維芽細胞への影響         |                                                                                                                                                                                            | ①Nakagomi ら(2001) 【3965】 評価未実施         | △                                                                                     | ?                             | —                                               |
| (10)ステロイドデヒドロゲナーゼ阻害作用      |                                                                                                                                                                                            | ①Ohshima ら(2005) 【16497】               | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                            |                                                                                                                                                                                            | ②Zhao ら(2010) 【16493】                  | △                                                                                     | ○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、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、抗甲状腺ホルモン作用、抗副腎皮質ホルモン(抗グルココルチコイド)作用、ステロイドデヒドロゲナーゼ阻害作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。 |                                        |                                                                                       |                               |                                                 |

- 1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない  
2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない  
3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

#### 引用文献

Aydoğan Ahbab M and Barlas N (2013) Developmental effects of prenatal di-*n*-hexyl phthalate and dicyclohexyl

- phthalate exposure on reproductive tract of male rats: Postnatal outcomes. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 123-136. 【16492】
- Aydoğan Ahbab M and Barlas N (2015) Influence of *in utero* di-*n*-hexyl phthalate and dicyclohexyl phthalate on fetal testicular development in rats. *Toxicology Letters*, 233 (2), 125-137. 【16491】
- Barlas N, Göktekin E and Karabulut G (2020) Influence of *in utero* di-*n*-hexyl phthalate and di-cyclohexyl phthalate exposure on the endocrine glands and T3, T4, and TSH hormone levels of male and female rats: Postnatal outcomes. *Toxicology and Industrial Health*, 36 (6), 399-416. 【16486】
- 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. 【16060】
- Lake BG, Foster JR, Collins MA, Stubberfield CR, Gangolli SD and Srivastava SP (1982) Studies on the effects of orally administered dicyclohexyl phthalate in the rat. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, 51 (3), 217-226. 【1488】
- Leng Y, Sun Y, Huang W, Lv C, Cui J, Li T and Wang Y (2021) Identification of dicyclohexyl phthalate as a glucocorticoid receptor antagonist by molecular docking and multiple *in vitro* methods. *Molecular Biology Reports*, 48 (4), 3145-3154. 【16485】
- Li X, Chen X, Hu G, Li L, Su H, Wang Y, Chen D, Zhu Q, Li C, Li J, Wang M, Lian Q and Ge RS (2016) Effects of *in utero* exposure to dicyclohexyl phthalate on rat fetal *Leydig* cells. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13 (3). 【16490】
- Nakagomi M, Suzuki E, Usumi K, Saitoh Y, Yoshimura S, Nagao T and Ono H (2001) Effects of endocrine disrupting chemicals on the microtubule network in Chinese hamster V79 cells in culture and in Sertoli cells in rats. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 21 (6), 453-462. 【3965】
- Nakai M, Tabira Y, Asai D, Yakabe Y, Shimyozy T, Noguchi M, Takatsuki M and Shimohigashi Y (1999) Binding characteristics of dialkyl phthalates for the estrogen receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 254 (2), 311-314. 【1482】
- Ohshima M, Ohno S and Nakajin S (2005) Inhibitory effects of some possible endocrine-disrupting chemicals on the isozymes of human 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase and expression of their mRNA in gonads and adrenal glands. *Environmental Sciences*, 12 (4), 219-230. 【16497】
- Okazaki H, Takeda S, Matsuo S, Matsumoto M, Furuta E, Kohro-Ikeda E and Aramaki H (2017) Inhibitory modulation of human estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  activities by dicyclohexyl phthalate in human breast cancer cell lines. *Journal of Toxicological Sciences*, 42 (4), 417-425. 【15939】
- 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. 【16498】
- Zhao B, Chu Y, Huang Y, Hardy DO, Lin S and Ge RS (2010) Structure-dependent inhibition of human and rat 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase 2 activities by phthalates. *Chemico-Biological Interactions*, 183 (1), 79-84. 【16493】

## V. フタル酸ブチルベンジル

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

フタル酸ブチルベンジ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、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用、副腎皮質ホルモン作用、抗副腎皮質ホルモン作用、ヒト黄体細胞への影響、ヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響、マウス線維芽細胞への影響、チャイニーズハムスター肺繊維芽細胞への影響、ステロイドデヒドロゲナーゼ阻害作用に関する報告がある。

フタル酸ブチルベンジ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、水溶解度の低さに起因する設定濃度と実際のばく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

- ①Kamel ら(2022)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich、98.8%) 3.5、11.5、34.1、105µg/L (設定濃度 3.6、10.9、33、100µg/L に相当する測定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 51 (孵化後 14~17 日目)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、3.5µg/L 以上のばく露区で到達 NF stage (中央値、分布範囲)、後脚長(HLL: hind limb length)、体長(SVL: snout-vent length)、HLL/SVL の高値、34.1µg/L 以上のばく露区で体重、到達発達ステージ、甲状腺濾胞細胞肥大発生率の高値が認められた。【16389】(評価結果の略号：○○P)  
想定される作用メカニズム：甲状腺ホルモン様作用

- ②Li ら(2021)によって、フタル酸ブチルベンジル(Chengdu Aike Reagent、98%) 100、600、1,200µg/L(設定濃度)に 6~12 時間齢から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響が検討されている。その結果として、100µg/L 以上のばく露区で初出産に至るまでの所要日数、総産仔数の低値、1,200µg/L のばく露区で体長伸長速度の低値が認められた。なお、生存率には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(Chengdu Aike Reagent、98%) 1,200µg/L(設定濃度)に 6~12 時間齢から最長 72 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。その結果として、全身中 vitellogenin mRNA 相対発現量(48、72 時間)の低値が認められた。【16395】(△?)

想定される作用メカニズム：毒性

- ③Deegan ら(2019)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich) 100µg/L(設定濃度)に 1.5 年齢から 28 日間ばく露した成熟雌マミチヨグ(*Fundulus heteroclitus*)への影響が検討されている。その結果として、脳トリプトファンヒドロキシラーゼ比活性、脳ドーパミン濃度の低値、脳セロトニン濃度の高値が認められた。なお、脳総蛋白質濃度、脳チロシンヒドロキシラーゼ比活性には影響は認められなかった。【16398】(×-)

想定される作用メカニズム：不明

なお、本来なら評価未実施(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)とすべき報告である点に注意を要すると判断された。

- ④Sohn ら(2016)によって、フタル酸ブチルベンジル(AccuStandard) 20、100、500、2,500µg/L(設定濃度)に約 4 ヶ月齢から 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、100µg/L 以上のばく露区で血漿中テストステロン濃度の低値、500µg/L 以上のばく露区で精巣中 *cyp19a* mRNA 相対発現量の高値、2,500µg/L のばく露区で血漿中 17β-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。なお、血漿中  $17\beta$ -エストラジオール濃度、肝臓中 *vtg* mRNA 相対発現量、精巣中 *star* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp11a* mRNA 相対発現量、精巣中 *3\beta*hsd mRNA 相対発現量、精巣中 *17\beta*hsd 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】( $\Delta$ OP)→(13)①

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン合成系への作用

- ⑤Sugiyama ら(2005)によって、フタル酸ブチルベンジル(ナカライテスク、97%) 1,250 $\mu$ g/L(= 4  $\mu$ M、設定濃度)に Nieuwkoop-Faber stage 51~52 から 5 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、全身中 *TR $\beta$*  mRNA 相対発現量(トリヨードサイロニン 2 nM 共存下)の低値が認められた。【16498】( $\Delta$ OP)→(8)①

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

## (2) 生殖影響

- ①Ashby ら(1997)によって、フタル酸ブチルベンジル(Aldrich、98%) 182.6 $\pm$ 99.2 $\mu$ g/kg/day (飲水中濃度 1,000 $\mu$ g/L)を妊娠 0 日目から出産後 22 日目まで飲水投与した SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、雄仔動物において、体重(2 日齢)、肛門生殖突起間距離(2 日齢)、肝臓絶対重量(90 日齢)の高値が認められた。なお、体重(20、56、90、137 日齢)、包皮分離日、腎臓絶対重量(90、137 日齢)、左右精巣絶対重量(90、137 日齢)、精巣上体絶対重量(90、137 日齢)、精囊絶対重量(90、137 日齢)、前立腺絶対重量(90、137 日齢)、左右精巣中精子数及び濃度(90、137 日齢)、右精巣上体尾中精子数(90、137 日齢)、卵胞刺激ホルモン産生下垂体細胞率には影響は認められなかった。

また、雌仔動物において、膣開口日の早期化が認められた。なお、体重(2、21、56、90 日齢)、肛門生殖突起間距離(2 日齢)、子宮絶対重量(21、90 日齢)、肝臓絶対重量(90 日齢)、腎臓絶対重量(90 日齢)、卵巣絶対重量(90 日齢)、卵胞刺激ホルモン産生下垂体細胞率には影響は認められなかった。【468】( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：アンドロゲン様作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、ヒトの推定摂取量に基づき  $\mu$ g/kg/day 単位の低い投与量を設定している点に注意を要すると判断された。

- ②Sharpe ら(1995)によって、フタル酸ブチルベンジル(Chem Service) 1,000 $\mu$ g/L (飲水中濃度。投与 1 及び 2 日目にて 88 $\mu$ g/kg/day、投与 10 及び 11 日目にて 274 $\mu$ g/kg/day、投与 20 及び 21 日目にて 366 $\mu$ g/kg/day に相当)を母動物に対し交配前 2 週間、交配期間、妊娠期間 3 週間、更に出産 1 日目から 22 日目まで飲水投与した Wistar ラットへの影響(哺育 22 日雄仔動物)が検討されている。その結果として、体重の高値が認められた。なお、同腹仔数(出生時)、雄性比(出生時)には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(Chem Service) 1,000 $\mu$ g/L (飲水中濃度。投与 1 及び 2 日目にて 88 $\mu$ g/kg/day、投与 10 及び 11 日目にて 274 $\mu$ g/kg/day、投与 20 及び 21 日目にて 366 $\mu$ g/kg/day に相当)を母動物に対し交配前 2 週間、交配期間、妊娠期間 3 週間、更に出産 1 日目から 22 日目まで飲水投与した Wistar ラットへの影響(90~95 日齢雄仔動物)が検討されている。その結果として、精巣絶対及び相対重量、精巣/腎臓絶対重量比、日毎精子産生数の低値が認められた。なお、体重、腎臓絶対及び相対重量、腹側前立腺絶対及び相対重量、精巣中精細管画像面積、精巣中精細管上皮面積には影響は認められなかった。【887】( $\Delta$ OP)

想定される作用メカニズム：生殖発達毒性、エストロゲン様作用又は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

なお、本試験結果の解釈にあたっては、ヒトの推定摂取量に基づき  $\mu\text{g/kg/day}$  単位の低い投与量を設定している点に注意を要すると判断された。

- ③Betz ら(2013)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich、他文献からの推定値 98%) 2、4  $\text{mg/kg/day}$ (飲水中濃度 5、10ppm に相当)を 40 日齢から 140 日齢まで飲水投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、2  $\text{mg/kg/day}$  以上のばく露群で扁桃体中 MeCP2 蛋白質相対発現量の低値、2  $\text{mg/kg/day}$  のばく露群で扁桃体中 ER $\alpha$  蛋白質相対発現量の高値(4  $\text{mg/kg/day}$  群では低値)、4  $\text{mg/kg/day}$  のばく露群で扁桃体中 ERK 1/2 蛋白質相対発現量の低値が認められた。なお、体重、血清中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度、扁桃体中 p50 蛋白質発現量、扁桃体中 p65 蛋白質発現量には影響は認められなかった。【16412】(△?)

想定される作用メカニズム：不明

- ④Ahmad ら(2014)によって、フタル酸ブチルベンジル(Greyhound Chromatography and Allied Chemicals) 4、20、100 $\text{mg/kg/day}$  を妊娠 14 日目から出産まで経口投与したラットへの影響が検討されている。その結果として、4  $\text{mg/kg/day}$  以上のばく露群で母動物体重(妊娠 21 日目)、仔動物体重(1、21 日齢)の低値、20 $\text{mg/kg/day}$  のばく露群で妊娠期間の長期化が認められた。なお、同腹仔数、同腹生存仔数、新生仔生存率(1、4、21 日齢)、肛門生殖突起間距離(5、25 日齢)、仔動物包皮分離日、仔動物被毛発達日、仔動物眼瞼開裂日、仔動物精巣下降日には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(Greyhound Chromatography and Allied Chemicals) 4、20、100 $\text{mg/kg/day}$  を妊娠 14 日目から出産まで経口投与したラットへの影響(75 日齢雄仔動物)が検討されている。その結果として、20 $\text{mg/kg/day}$  以上のばく露群で体重の低値、100 $\text{mg/kg/day}$  のばく露群で精巣上体絶対重量、前立腺絶対重量、腎臓絶対重量、精巣上体中精子濃度、運動精子率、血清中テストステロン濃度の低値、頭部形態異常精子率の高値が認められた。なお、精巣中 17 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ比活性、精巣絶対重量、精囊絶対重量、副腎絶対重量、肝臓絶対重量、精巣中精子細胞濃度、日毎精子産生数には影響は認められなかった。【15986】(△?)

想定される作用メカニズム：毒性

なお、本試験結果の解釈にあたっては、試験生物に関する記載が不明瞭である点に注意を要すると判断された。

なお、本来なら評価未実施（評価未実施の理由：有意な結果が得られた評価項目が一般毒性が認められている用量以上での影響であるため）とすべき報告である点に注意を要すると判断された。

- ⑤Lv ら(2019)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich、98%) 10、100、1,000 $\text{mg/kg/day}$  を 35 日齢から 55 日齢まで経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、10 $\text{mg/kg/day}$  以上のばく露群で精巣中 pAMPK $\alpha$  蛋白質相対発現量の低値、精巣中 CYP11A1 蛋白質発現ライディッヒ細胞数、精巣中 *hsd3b1* mRNA 相対発現量、精巣中 *sox9* mRNA 相対発現量、精巣中 FSHR 蛋白質相対発現量、精巣中 AMH 蛋白質相対発現量の高値、10、100 $\text{mg/kg/day}$  のばく露群で精巣中 *lhcg* mRNA 相対発現量、精巣中 CYP11A1 蛋白質相対発現量の高値、10 $\text{mg/kg/day}$  のばく露群で血清中テストステロン濃度、精巣中 pAKT1 蛋白質相対発現量の高値(1,000 $\text{mg/kg/day}$  群では低値)、精巣中 LHCGR 蛋白質相対発現量、精巣中 HSD3B1 蛋白質相対発現量の高値、100 $\text{mg/kg/day}$  以上のばく露群で精巣中 *fshr* mRNA 相対発現量、精巣中 *amh* mRNA 相対発現量、精巣中 SOX9 蛋白質相対発現量の高値、100 $\text{mg/kg/day}$  のばく露群で精巣中 *cyp11a1* mRNA 相対発現量の高値、

1,000mg/kg/day のばく露群で精巣中 *scarb1* mRNA 相対発現量、精巣中 SCARB1 蛋白質相対発現量、精巣中 STAR 蛋白質相対発現量の低値、体重、精巣中 HSD11B1 蛋白質相対発現量、精巣中 pERK1/2 蛋白質相対発現量、精巣中 AMPK $\alpha$  蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、両精巣絶対重量、両精巣上体絶対重量、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、精巣中 HSD11B1 蛋白質発現ライディッヒ細胞数、精巣中 SOX9 蛋白質発現セルトリ細胞数、精巣中 *star* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp17a1* mRNA 相対発現量、精巣中 *hsd17b3* mRNA 相対発現量、精巣中 *nr5a1* mRNA 相対発現量、精巣中 *hsd11b1* mRNA 相対発現量、精巣中 CYP17A1 蛋白質相対発現量、精巣中 HSD17B3 蛋白質相対発現量、精巣中 ACTB 蛋白質相対発現量、精巣中 AKT1 蛋白質相対発現量、精巣中 pAKT2 蛋白質相対発現量、精巣中 AKT2 蛋白質相対発現量、精巣中 ERK1/2 蛋白質相対発現量、ライディッヒ細胞数当テストステロン産生量、ライディッヒ細胞数当 5 $\alpha$ -アンドロステンジオール産生量には影響は認められなかった。【16399】(〇〇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

- ⑥Ahmad ら(2015)によって、フタル酸ブチルベンジル(Greyhound Chromatography and Allied Chemicals) 20、200mg/kg/day を 20 日齢から 3 日間経口投与した雌ラットへの影響が検討されている。その結果として、20mg/kg/day のばく露群で体重の高値、200mg/kg/day のばく露群で子宮絶対重量の低値が認められた。なお、卵巣絶対重量には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(Greyhound Chromatography and Allied Chemicals) 20、200mg/kg/day を 21 日齢から 20 日間経口投与した雌ラットへの影響が検討されている。その結果として、20mg/kg/day 以上のばく露群で体重(27、33、41 日齢)、子宮絶対重量の低値、200mg/kg/day のばく露群で卵巣絶対重量の低値が認められた。なお、膈絶対重量には影響は認められなかった。【15991】(×—)

想定される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用

なお、本来なら評価未実施（試験動物に関する記載が不明瞭な報告のため）とすべき報告である点に注意を要すると判断された。

- ⑦Nagao ら(2000)によって、フタル酸ブチルベンジル(東京化成、98%) 20、100、500mg/kg/day を 6 週齢から 23 週齢まで(交配期間前 12 週間、交配期間 2 週間を含む)経口投与した雄 SD ラット F<sub>0</sub> への影響(23 週齢)が検討されている。その結果として、20mg/kg/day のばく露群で血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中卵胞刺激ホルモン濃度の高値、100mg/kg/day のばく露群で血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、500mg/kg/day のばく露群で体重、血清中テストステロン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度、血清中サイロキシシン濃度の低値、肝臓絶対及び相対重量、脳相対重量、肺相対重量、腎臓絶対重量の高値が認められた。なお、脳絶対重量、肺絶対重量、腎臓相対重量、心臓絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、副腎絶対及び相対重量、胸腺絶対及び相対重量、精巣絶対及び相対重量、精巣上体絶対及び相対重量、前立腺腹葉絶対及び相対重量、精囊絶対及び相対重量、甲状腺絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、病理組織学的検査における異常所見発生件数、運動精子率、直進運動精子率、精巣上体尾中精子濃度には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(東京化成、98%) 20、100、500mg/kg/day を 13 週齢から出産後 22 日目まで(交配期間前 2 週間、交配期間 2 週間、妊娠期間 3 週間、出産及び哺育期間 3 週間を含む 23 週齢までと思われる)経口投与した雌 SD ラット F<sub>0</sub> への影響(出産後 22 日目)が検討されている。その結果として、20mg/kg/day のばく露群で血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、100mg/kg/day 以

上のばく露群で腎臓絶対及び相対重量の高値、500mg/kg/day のばく露群で卵巣絶対及び相対重量、血清中サイロキシン濃度の低値、血清中プロラクチン濃度の高値が認められた。なお、体重、脳絶対及び相対重量、心臓絶対及び相対重量、肺絶対及び相対重量、肝臓絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、副腎絶対及び相対重量、胸腺絶対及び相対重量、子宮絶対及び相対重量、甲状腺絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度、血清中エストラジオール濃度、病理組織学的検査における異常所見発生件数には影響は認められなかった。

また、雌雄 F<sub>0</sub> 交配試験において、100mg/kg/day 以上のばく露群で雌雄新生仔(F<sub>1</sub>)体重(0 日齢)の低値、500mg/kg/day のばく露群で F<sub>1</sub> 生存率(0～4 日齢)、雌雄 F<sub>1</sub> 体重(14、21 日齢)、雌雄 F<sub>1</sub> 肛門生殖突起間距離(0 日齢)の低値が認められた。なお、交配率、妊娠率、妊娠期間、出産率、同腹着床部位数、同腹新生仔数、F<sub>1</sub> 性比、F<sub>1</sub> 生存率(0、4～21 日齢)には影響は認められなかった。

また、離乳期雄 F<sub>1</sub> において、20mg/kg/day のばく露群で血清中トリヨードサイロニン濃度の高値、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値、500mg/kg/day のばく露群で体重、精巣絶対及び相対重量、精巣上体絶対重量、血清中卵胞刺激ホルモン濃度の低値、生殖器の病理組織学的検査における異常所見発生件数(特に精巣において)の高値が認められた。なお、精巣上体相対重量、前立腺絶対重量、血清中テストステロン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中サイロキシン濃度には影響は認められなかった。

また、離乳期雌 F<sub>1</sub> において、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中トリヨードサイロニン濃度の低値、500mg/kg/day のばく露群で体重、卵巣絶対重量の低値、子宮相対重量の高値が認められた。なお、卵巣相対重量、子宮絶対重量、血清中プロラクチン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中サイロキシン濃度、血清中エストラジオール濃度、生殖器の病理組織学的検査における異常所見発生件数には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(東京化成、98%) 20、100、500mg/kg/day を離乳から 21 週齢まで(13 週齢からの交配期間 2 週間を含む)経口投与した雄 SD ラット F<sub>1</sub> への影響(21 週齢と思われる)が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で体重、心臓絶対重量の低値、腎臓相対重量の高値、500mg/kg/day のばく露群で脾臓絶対重量、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、前立腺腹葉絶対重量、血清中テストステロン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中サイロキシン濃度の低値、脳相対重量、肺相対重量、肝臓相対重量、甲状腺相対重量、下垂体相対重量、病理組織学的検査における異常所見発生件数(特に精巣、精巣上体において)の高値が認められた。なお、脳絶対重量、心臓相対重量、肺絶対重量、肝臓絶対重量、脾臓相対重量、腎臓絶対重量、副腎絶対及び相対重量、胸腺絶対及び相対重量、精巣相対重量、精巣上体相対重量、前立腺腹葉相対重量、精囊絶対及び相対重量、甲状腺絶対重量、下垂体絶対重量、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、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、運動精子率、直進運動精子率、精巣上体中精子濃度には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(東京化成、98%) 20、100、500mg/kg/day を離乳から出産後 22 日目まで(13 週齢からの交配期間 2 週間を含む、妊娠期間 3 週間、出産及び哺育期間 3 週間を含む 21 週齢までと思われる)経口投与した雌 SD ラット F<sub>1</sub> への影響(出産後 22 日目)が検討されているが、体重、脳絶対及び相対重量、心臓絶対及び相対重量、肺絶対及び相対重量、肝臓絶対及び相対重量、脾臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、副腎絶対及び相対重量、胸腺絶対及び相対重量、

卵巣絶対及び相対重量、子宮絶対及び相対重量、甲状腺絶対及び相対重量、下垂体絶対及び相対重量、血清中プロラクチン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、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、血清中サイロキシニン濃度、血清中エストラジオール濃度、病理組織学的検査における異常所見発生件数には影響は認められなかった。

また、発達期雌雄 F<sub>1</sub> において、500mg/kg/day のばく露群で雄包皮分離日の遅延が認められた。なお、雌雄増加体重(21～91 日齢)、雌膣開口日、雌発情周期には影響は認められなかった。

また、雌雄 F<sub>1</sub> 交配試験において、妊娠率、妊娠期間、出産率、同腹着床部位数、同腹新生仔数、雌雄新生仔(F<sub>2</sub>)生存率(0、0～4、4～21 日齢)、F<sub>2</sub> 性比、F<sub>2</sub> 体重(0、4、7、14、21 日齢)には影響は認められなかった。【16425】(○○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、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、生殖組織への毒性作用

- ⑧ Kawaguchi ら(2002)によって、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬) 25.9±1.5mg/kg/day (10mg/animal/day に相当)を 15～16 週齢(7～8 週齢で卵巣摘出处置後)に単回(時刻 12:00)に皮下投与した雌 Wistar ラットへの影響(投与 24 時間後にインスリン 1.0U を静脈内投与し 3 時間観察)が検討されている。その結果として、黄体形成ホルモンパルス数の低値が認められた。なお、黄体形成ホルモンパルス強度、血清中黄体形成ホルモン平均濃度、血清中プロラクチン平均濃度、子宮絶対重量には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬) 25.9±1.5mg/kg/day (10mg/animal/day に相当)を 15～16 週齢(7～8 週齢で卵巣摘出处置後)に単回(時刻 12:00)に皮下投与した雌 Wistar ラットへの影響(投与 24 時間後に生理食塩水を静脈内投与し 3 時間観察)が検討されているが、黄体形成ホルモンパルス数、黄体形成ホルモンパルス強度、血清中黄体形成ホルモン平均濃度には影響は認められなかった。

【16421】(△○P)

想定される作用メカニズム：黄体形成ホルモンパルスへの影響

- ⑨ Aso ら(2005)によって、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬、98%) 100、200、400mg/kg/day を 5 週齢から出産終了まで(交配期間前 10 週間、交配から出産までの期間を含む)経口投与した雄 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、200mg/kg/day 以上のばく露群で左腎臓絶対重量の高値、400mg/kg/day のばく露群で肝臓相対重量、左腎臓相対重量、左精巣上体絶対重量の高値が認められた。なお、体重、肝臓絶対重量、右腎臓絶対及び相対重量、左右精巣絶対及び相対重量、右精巣上体絶対及び相対重量、左精巣上体相対重量、前立腺腹葉絶対及び相対重量、精囊絶対及び相対重量、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、左右副腎絶対及び相対重量、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中テストステロン濃度、血清中エストラジオール濃度、精巣中精子濃度、精巣上体中精子濃度、精巣上体中運動精子率、精巣上体中精子形態異常率には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬、98%) 100、200、400mg/kg/day を 5 週齢から哺育終了まで(交配期間前 10 週間、交配から離乳までの期間を含む)経口投与した雌 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、200mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓絶対及び相対重量、左右腎臓絶対重量の高値、200mg/kg/day のばく露群で子宮相対重量の低値、400mg/kg/day のばく露群で左右腎臓相対重量の高値が認められた。なお、体重、左右卵巣絶対及び相対重量、子宮絶対重量、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、左右副腎絶対及び相対重量、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中

テストステロン濃度、血清中エストラジオール濃度、正常性周期個体率には影響は認められなかった。

また、15 週齢雄 SD ラット F<sub>0</sub> と 13 週齢雌 SD ラット F<sub>0</sub> の交配試験において、100mg/kg/day 以上のばく露群で新生仔(F<sub>1</sub>)雌肛門生殖突起間距離(4 日齢、体重補正值)の高値、100mg/kg/day のばく露群で、F<sub>1</sub> 雌肛門生殖突起間距離(4 日齢、絶対値)の高値が認められた。なお、交配率、交配に至るまでの所要日数、妊孕率又は妊娠率、妊娠期間、出産率、同腹着床部位数、同腹新生仔数、F<sub>1</sub> 雄肛門生殖突起間距離(4 日齢、絶対値及び体重補正值)には影響は認められなかった。

また、離乳期雄 SD ラット F<sub>1</sub> において、400mg/kg/day のばく露群で脾臓絶対及び相対重量の低値が認められた。なお、脳絶対及び相対重量、胸腺絶対及び相対重量には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬、98%) 100、200、400mg/kg/day を 5 週齢から出産終了まで(交配期間前 10 週間、交配から出産までの期間を含む)経口投与した雄 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、200mg/kg/day 以上のばく露群で左精巣上体絶対重量の低値、肝臓相対重量の高値、400mg/kg/day のばく露群で右精巣上体絶対重量、精囊絶対重量、包皮分離率の低値、甲状腺相対重量、生殖器の剖検検査及び病理組織学的検査における異常所見発生件数(特に精巣において)の高値が認められた。なお、体重、肝臓絶対重量、左右腎臓絶対及び相対重量、左右精巣絶対及び相対重量、左右精巣上体相対重量、前立腺腹葉絶対及び相対重量、精囊相対重量、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、甲状腺絶対重量、左右副腎絶対及び相対重量、精巣中精子濃度、精巣上体中精子濃度、精巣上体中運動精子率、精巣上体中精子形態異常率には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬、98%) 100、200、400mg/kg/day を 5 週齢から哺育終了まで(交配期間前 10 週間、交配から離乳までの期間を含む)経口投与した雌 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、400mg/kg/day のばく露群で肝臓相対重量の高値が認められた。なお、体重、肝臓相対重量、左右腎臓絶対及び相対重量、左右卵巢絶対及び相対重量、子宮絶対及び相対重量、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、左右副腎絶対及び相対重量、膣開口率には影響は認められなかった。

また、発達期雌雄 SD ラット F<sub>1</sub> において、耳介展開日、切歯萌出日、眼瞼開裂日には影響は認められなかった。

また、15 週齢雄 SD ラット F<sub>1</sub> と 13 週齢雌 SD ラット F<sub>1</sub> の交配試験において、100mg/kg/day 以上のばく露群で新生仔(F<sub>2</sub>)雄肛門生殖突起間距離(4 日齢、体重補正值)の低値、100、400mg/kg/day のばく露群で F<sub>2</sub> 雄肛門生殖突起間距離(4 日齢、絶対値)の低値が認められた。なお、交配率、交配に至るまでの所要日数、妊孕率又は妊娠率、妊娠期間、出産率、同腹着床部位数、同腹新生仔数、F<sub>2</sub> 雌肛門生殖突起間距離(4 日齢、絶対値及び体重補正值)には影響は認められなかった。

また、発達期雌雄 SD ラット F<sub>2</sub> において、耳介展開日、切歯萌出日、眼瞼開裂日には影響は認められなかった。

また、離乳期雌雄 SD ラット F<sub>2</sub> において、400mg/kg/day のばく露群で脾臓絶対及び相対重量の低値が認められた。なお、脳絶対及び相対重量、胸腺絶対及び相対重量には影響は認められなかった。

#### 【16417】(〇〇P)

想定される作用メカニズム：アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用

- ⑩Ema と Miyawaki (2002)によって、フタル酸ブチルベンジル(Aldrich、98%) 250、500、1,000mg/kg/day を、妊娠 15 日目から 17 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響(妊娠 21 日目)が検討されて

いる。その結果として、500mg/kg/day 以上のばく露群で雄胎仔肛門生殖突起間距離(絶対値及び体重補正值)の低値、精巣下降不全同腹雄胎仔数、雄胎仔精巣下降不全度(degree of transabdominal testicular ascent)の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で同腹生存胎仔数、雌雄生存胎仔体重の低値が認められた。なお、母動物増加体重(補正值)、同腹黄体数、同腹着床数、同腹死亡胎仔数、胎仔性比、雌胎仔肛門生殖突起間距離(絶対値及び体重補正值)には影響は認められなかった。【16422】(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

- ⑪Spade ら(2018)によって、フタル酸ブチルベンジル(National Toxicology Program、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(終投与 1 時間後の雄胎仔)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】(〇〇P)

想定される作用メカニズム：テストステロン合成抑制作用、精巣毒性

- ⑫Gray ら(2000)によって、フタル酸ブチルベンジル(Aldrich、98%) 750mg/kg/day を妊娠 14 日目から出産 3 日後まで経口投与した SD ラットへの影響(発達期雄仔動物)が検討されている。その結果として、新生仔体重(雌雄混合)、肛門生殖突起間距離(体重補正值、2 日齢)、精巣絶対重量(2 日齢)の低値、乳輪保持率(13 日齢)、包皮分離不全率の高値が認められた。なお、離乳時体重、包皮分離日には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(Aldrich、98%) 750mg/kg/day を妊娠 14 日目から出産 3 日後まで経口投与した SD ラットへの影響(成熟雄仔動物)が検討されている。その結果として、精巣絶対重量、肛門挙筋+球海綿体筋(LABC)絶対重量、精囊+凝固腺絶対重量、前立腺腹葉絶対重量、陰茎絶対重量、両精巣上体絶対重量、精巣上体尾部絶対重量、精巣上体頭部及び胴部絶対重量の低値、乳輪数の高値が認められた。なお、体重、両腎臓絶対重量、肝臓絶対重量、下垂体絶対重量、副腎絶対重量、血清中テストステロン濃度には影響は認められなかった。【16426】(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、毒性

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

- ⑬Hong ら(2005)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich、98%) 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】(〇〇N)→(4)②

なお、本試験結果の解釈にあたっては、ラット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 (3)発達影響(今回評価対象としなかった文献)

- ①Ema ら(1995)によって、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬、98.2%) 0.75、1 mg/kg/day (1.25mg/kg/day 群も設定したが妊娠不成立)を妊娠 7 日目から 9 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響(妊娠 20 日目)が検討されている。その結果として、0.75mg/kg/day 以上のばく露群で雌雄胎仔体重、生存同腹胎仔数の低値、胎仔骨格奇形発生率、着床後同腹胚消失率の高値、1 mg/kg/day のばく露群で着床後同腹胚消失数の高値が認められた。なお、同腹着床数、胎仔雄性比、胎仔外表奇形発生率、胎

仔内臓奇形発生率には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬、98.2%) 0.75、1 mg/kg/day (1.25mg/kg/day 群も設定したが妊娠不成立)を妊娠 10 日目から 12 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響(妊娠 20 日目)が検討されている。その結果として、0.75mg/kg/day 以上のばく露群で着床後同腹胚消失率の高値、1 mg/kg/day のばく露群で雌雄胎仔体重、生存同腹胎仔数の低値、着床後同腹胚消失数、胎仔雄性比の高値が認められた。なお、同腹着床数、胎仔外表奇形発生率、胎仔骨格奇形発生率、胎仔内臓奇形発生率には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬、98.2%) 0.75、1 mg/kg/day (1.25mg/kg/day 群も設定したが妊娠不成立)を妊娠 13 日目から 15 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響(妊娠 20 日目)が検討されている。その結果として、0.75mg/kg/day 以上のばく露群で生存同腹胎仔数の低値、着床後同腹胚消失率、胎仔外表奇形発生率、胎仔骨格奇形発生率の高値、0.75mg/kg/day のばく露群で同腹着床数の低値、胎仔雄性比の高値、1 mg/kg/day のばく露群で着床後同腹胚消失数の高値が認められた。なお、雌雄胎仔体重、胎仔内臓奇形発生率には影響は認められなかった。【1000】  
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。

- ②Ema ら(1998)によって、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬、98.2%) 250、500、750、1,000mg/kg/day を偽妊娠 0 日目(精管摘出雄との交配後の膣栓確認日)から 8 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、500mg/kg/day 以上のばく露群で雌雄胎仔体重、母動物増加体重、母動物摂餌量の低値、750mg/kg/day 以上のばく露群で母動物卵巣絶対重量、母動物子宮絶対重量の低値、着床後胚死亡率の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で同腹着床数、同腹生存胎仔数、胎仔雄性比の低値、着床前胚死亡率の高値が認められた。なお、同腹黄体数、同腹死亡胎仔数、母動物血清中プロゲステロン濃度には影響は認められなかった。【16429】  
評価未実施の理由：試験結果として示された評価項目のみからは内分泌かく乱作用との関連性を判断できないため。

#### (4) エストロゲン作用

- ①Ho ら(2013)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich) 0.001、0.1 $\mu$ M(=0.312、31.2 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、0.1 $\mu$ M(=31.2 $\mu$ g/L)の濃度区でエストロゲン応答性可溶性カテコール-O-メチルトランスフェラーゼ (COMT)蛋白質相対発現量の低値が認められた。【15988】( $\Delta$ OP) $\rightarrow$ (5)①
- ②Qin ら(2011)によって、フタル酸ブチルベンジル(和光純薬) 0.001 $\sim$ 10 $\mu$ M(=0.312 $\sim$ 31,200 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト卵巣がん細胞 BG1Luc4E2 (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、EC<sub>50</sub> 値 0.245 $\mu$ M(=76.5 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。【16413】( $\Delta$ OP)
- なお、本試験結果の解釈にあたっては、作用メカニズムとしてエストロゲンシグナル伝達経路におけるアリル炭化水素受容体核トランスロケーター 2 (ARNT2: Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator 2) の発現抑制が示唆されている点に注意を要すると判断された。
- ③Hong ら(2005)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich、98%) 1、10、100 $\mu$ M(=312、3,120、31,200 $\mu$ 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、1  $\mu\text{M}$ (=312 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。【16060 再】(○  
○P)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、ラット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。

- ④Picard ら(2001)によって、フタル酸ブチルベンジル(Monsanto Laboratory、97%) 0.1、1、2.5、5、7.5、10 $\mu\text{M}$ (=31.2、312、780、1,560、2,340、3,120 $\mu\text{g/L}$ )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。その結果として、1  $\mu\text{M}$ (=312 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。

また、フタル酸ブチルベンジル(Monsanto Laboratory、97%) 0.0001、0.01、1、5、10 $\mu\text{M}$ (=0.0312、3.12、312、1,560、3,120 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に72間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、5  $\mu\text{M}$ (=1,560 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度区でサイトゾル中プロゲステロン受容体発現量の高値が認められた。【16423】(○○P)→(6)②

#### ※参考 エストロゲン作用（今回評価対象としなかった文献）

- ⑤Nomura ら(2006)によって、フタル酸ブチルベンジル(東京化成) 0.41、1.23、3.70、11.1、33.3、100 $\mu\text{M}$ (=128、384、1,150、3,460、10,400、31,100 $\mu\text{g/L}$ )の濃度にばく露したカエル肝臓一次培養細胞(成熟雄アフリカツメガエル由来)への影響が検討されているが、ビテロゲニン産生量には影響は認められなかった。【14587】

評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

#### (5) 抗エストロゲン作用

- ①Ho ら(2013)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich) 0.001、0.1 $\mu\text{M}$ (=0.312、31.2 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に48時間ばく露(エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182,780 0.1 $\mu\text{M}$  共存下)したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されているが、エストロゲン応答性可溶性 COMT 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。【15988 再】(△○N)

#### (6) エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用

- ①Rider ら(2009)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich、98%) 100 $\mu\text{M}$ (=31,200 $\mu\text{g/L}$ )までの濃度でファットヘッドミノールエストロゲン受容体  $\alpha$  による標識 17 $\beta$ -エストラジオール 0.5nM に対する結合阻害(競合結合)試験(アフリカミドリザル腎線維芽細胞 COS を用いたホールセル及びセルフリーアッセイ)が検討されている。その結果として、ホールセルアッセイ IC<sub>50</sub> 値 8.51 $\mu\text{M}$ (=2,660 $\mu\text{g/L}$ )及びセルフリーアッセイ IC<sub>50</sub> 値 79.4 $\mu\text{M}$ (=24,800 $\mu\text{g/L}$ )の濃度で結合阻害が認められた。

また、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich、98%) 100 $\mu\text{M}$ (=31,200 $\mu\text{g/L}$ )までの濃度でヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  による標識 17 $\beta$ -エストラジオール 0.5nM に対する結合阻害(競合結合)試験(アフリカミドリザル腎線維芽細胞 COS を用いたホールセル及びセルフリーアッセイ)が検討されている。その結果として、ホールセルアッセイ IC<sub>50</sub> 値 24.5 $\mu\text{M}$ (=7,640 $\mu\text{g/L}$ )及びセルフリーアッセイ IC<sub>50</sub> 値 219 $\mu\text{M}$ (=68,400 $\mu\text{g/L}$ )の濃度で結合阻害が認められた。【16024】(△○P)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、IC<sub>50</sub> 値が対数表記されている点に注意を要すると判断された。

②Picard ら(2001)によって、フタル酸ブチルベンジル(Monsanto Laboratory、97%) 0.1、1、10、100 $\mu$ M、(=3.12、31.2、312、3,120、31,200 $\mu$ g/L)の濃度でヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  による標識 17 $\beta$ -エストラジオール 5 nM に対する結合阻害(競合結合)試験(ヒト乳がん細胞 MCF-7 サイトゾル由来)が検討されているが、結合阻害は認められなかった。【16423 再】(○○N)

## (7) 甲状腺ホルモン作用

①Li ら(2022)によって、フタル酸ブチルベンジル(AccuStandard、99%) 0.01、0.1、1、5、10 $\mu$ M(=3.12、31.2、312、624、3,120 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したラット下垂体がん細胞による細胞増殖試験(T-Screen)が検討されている。その結果として、5  $\mu$ M(=624 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。

また、フタル酸ブチルベンジル(AccuStandard、99%) 5、10 $\mu$ M(=624、3,120 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(48 時間と思われる)したラット下垂体がん細胞への影響(蛋白質相対発現量)が検討されている。その結果として、ERK (extra cellular signal-regulated kinase)蛋白質発現量の高値が認められた。なお、p-ERK (phosphorylated ERK)蛋白質発現量には影響は認められなかった。

また、フタル酸ブチルベンジル(AccuStandard、99%) 5、10 $\mu$ M(=624、3,120 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(48 時間と思われる)したラット下垂体がん細胞への影響(mRNA 相対発現量)が検討されている。その結果として、5  $\mu$ M(=15,600 $\mu$ g/L)以上の濃度区で *c-fos* の高値、5  $\mu$ M(=15,600 $\mu$ g/L)の濃度区で *MAPK3* の高値、10 $\mu$ M(=3,120 $\mu$ g/L)の濃度区で *mTR*、*integrin  $\beta$ 3*、*MAPK1* の高値が認められた。なお、*integrin  $\alpha$ v*、*k-ras*、*raf-1*、*MEK-1* には影響は認められなかった。【16390】(○○P)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、*c-fos* (前がん遺伝子)、*mTR* (膜甲状腺ホルモン受容体遺伝子)、*integrin* (膜受容体)以外は ERK1/2 シグナル伝達経路関連である点に注意を要すると判断された。

## (8) 抗甲状腺ホルモン作用

①Sugiyama ら(2005)によって、フタル酸ブチルベンジル(ナカライテスク、97%) 0.8、4、20、50 $\mu$ M(=250、1,250、6,250、15,600 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(トリヨードサイロニン 2 nM 共存下)したアフリカツメガエル細胞 XL58 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、20 $\mu$ M(=6,250 $\mu$ g/L)以上の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。

また、フタル酸ブチルベンジル(ナカライテスク、97%) 4、50 $\mu$ M(=1,250、15,600 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(トリヨードサイロニン 2 nM 共存下)したアフリカツメガエル細胞 XL58 (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)への影響が検討されている。その結果として、4  $\mu$ M(=15,600 $\mu$ g/L)以上の濃度区で *TR $\beta$*  mRNA 相対発現量の低値が認められた。【16498 再】(△○P)

## (9) 甲状腺ホルモン作用又は抗甲状腺ホルモン作用

①Li ら(2020)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma、98%) 0.001、0.01、0.1、1、10、100、1,000 $\mu$ M(=0.00312、0.0312、0.312、312、3,120、31,200、312,000 $\mu$ g/L)の濃度で甲状腺ホルモン膜受容体インテグリン  $\alpha$ v $\beta$ 3 (ラット下垂体がん細胞 GH3 由来)による標識 3PRGD2 (three polyethylene glycol spacers arginine-glycine-aspartic acid)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、1,000 $\mu$ M(=312,000 $\mu$ g/L)の濃度区で結合阻害が認められた。【15908】(○○P)

※参考 (10) 副腎皮質ホルモン作用（今回評価対象としなかった文献）

- ①Leng ら(2021)によって、フタル酸ブチルベンジル(Aladdin Biotech) 10 $\mu$ M(=3,120 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 HeLa (ヒトグルココルチコイド受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(グルココルチコイド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。【16485】→(11)①  
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 (11) 抗副腎皮質ホルモン作用（今回評価対象としなかった文献）

- ①Leng ら(2021)によって、フタル酸ブチルベンジル(Aladdin Biotech) 10 $\mu$ M(=3,120 $\mu$ g/L)までの濃度に 24 時間ばく露(デキサメタゾン 1.39nM 共存下)したヒト乳がん細胞 HeLa (ヒトグルココルチコイド受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(グルココルチコイド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。【16485】  
評価未実施の理由：影響が認められなかった報告のため。

(12) ヒト黄体細胞への影響

- ①Romani ら(2014)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma Aldrich) 0.001、0.01、0.1、1  $\mu$ M(=0.312、3.12、31.2、312 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト黄体細胞(25~28 歳の健常女性由来)への影響が検討されている。その結果として、0.001 $\mu$ M(=0.312 $\mu$ g/L)以上の濃度区で血管内皮細胞増殖因子(VEGF: vascular endothelial growth factor) 産生量の低値、0.01 $\mu$ M(=3.12 $\mu$ g/L)以上の濃度区でプロゲステロン産生量の低値、0.1 $\mu$ M(=31.2 $\mu$ g/L)以上の濃度区でプロゲステロン産生量(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 100ng/mL にて 1 時間前処理)の低値、1  $\mu$ M(=312 $\mu$ g/L)の濃度区でプロスタグランジン E<sub>2</sub> 産生量の低値が認められた。【15974】(△○P)  
想定される作用メカニズム：抗エストロゲン作用、黄体細胞ステロイド産生阻害

(13) ヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響

- ①Sohn ら(2016)によって、フタル酸ブチルベンジル(AccuStandard) 1、10、100 $\mu$ M(=312、3,120、31,200 $\mu$ 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、1  $\mu$ M(=312 $\mu$ g/L)以上の濃度区で *cyp19a* mRNA 相対発現量の高値、10 $\mu$ M(=3,120 $\mu$ g/L)以上の濃度区でテストステロン濃度の低値、17 $\beta$ -エストラジオール/テストステロン濃度比の高値、100 $\mu$ M(=31,200 $\mu$ g/L)の濃度区で *star* mRNA 相対発現量の低値、17 $\beta$ -エストラジオール濃度の高値が認められた。なお、血漿中 17 $\beta$ -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 *3 $\beta$ hsd* mRNA 相対発現量、精巣中 *17 $\beta$ hsd* 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 再】(△○P)  
想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン合成系への作用

(14) マウス線維芽細胞への影響

- ①Yin ら(2016)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma) 10、100 $\mu$ M(=3,120、31,200 $\mu$ g/L)の濃度に 8 日間ばく露したマウス繊維芽細胞(脂肪前駆細胞) 3T3-L1 への影響(蛋白質及び mRNA は脂質産生関

連)が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=3,120 $\mu$ g/L)以上の濃度区でペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(PPAR $\gamma$ : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$ )蛋白質相対発現量、転写因子C/EBP (CCAAT/ enhancer binding protein)蛋白質相対発現量、脂肪酸合成酵素(FAS: fatty acid synthase)蛋白質相対発現量、アディポネクチン蛋白質相対発現量、PPAR $\gamma$  mRNA 相対発現量、C/EBP mRNA 相対発現量、FABP4 mRNA 相対発現量、Adipo Q mRNA 相対発現量、Adipsin mRNA 相対発現量、LPL mRNA 相対発現量、FSAN mRNA 相対発現量の高値、100 $\mu$ M(=31,200 $\mu$ g/L)の濃度区でトリグリセリド含有量、アセチル CoA カルボキシラーゼ蛋白質相対発現量、ペリリピン蛋白質相対発現量の高値が認められた。【16408】(△○P)

想定される作用メカニズム：脂質合成促進作用

#### ※参考 (15) ハムスター肺線維芽細胞への影響（今回評価対象としなかった文献）

- ①Nakagomi ら(2001)によって、フタル酸ブチルベンジル(東京化成) 200 $\mu$ M(=62,500 $\mu$ g/L)までの濃度に1時間ばく露したチャイニーズハムスター肺線維芽細胞 V79 への影響が検討されているが、正常微小管ネットワークを有する細胞率には影響は認められなかった。【3965】
- 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、陽性対照である 17 $\beta$ -エストラジオールでは EC<sub>50</sub> 値 13.7 $\mu$ M が認められている点に注意を要すると判断された。

#### (16) ステロイドデヒドロゲナーゼ阻害作用

- ①Zhao ら(2010)によって、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich) 1,000 $\mu$ M(=312,000 $\mu$ g/L)の濃度でヒト腎臓ミクロソーム蛋白質への影響が検討されている。その結果として、11 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ 2 比活性の低値が認められた。
- また、フタル酸ブチルベンジル(Sigma-Aldrich) 1,000 $\mu$ M(=312,000 $\mu$ g/L)の濃度でラット腎臓ミクロソーム蛋白質への影響が検討されている。その結果として、11 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ 2 比活性の低値が認められた。【16493】(△○P)

## 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、アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、テストステロン合成抑制作用、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、ステロイドホルモン合成系への作用、黄体形成ホルモンパルスへの影響、抗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、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、ステロイドホルモン合成系への作用、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用、黄体細胞ステロイド産生阻害、脂質合成促進作用、ステロイドデヒドロゲナーゼ阻害作用を示すことが唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表5に示した。

表5 信頼性評価のまとめと今後の対応案

物質名：フタル酸ブチルベンジル

| 区分      |                                                | 著者<br>【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 | 視床下部一下垂体一甲状腺軸への作用                              | ①Kamel ら(2022)【16389】         | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|         | 毒性                                             | ②Li ら(2021)【16395】            | △                                                                                     | ?                             | —                                               |
|         | 不明                                             | ③Deegan ら(2019)【16398】        | ×                                                                                     | —                             | ×                                               |
|         | ステロイドホルモン合成系への作用                               | ④Sohn ら(2016)【15955】→(13)①    | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|         | 抗甲状腺ホルモン様作用                                    | ⑤Sugiyama ら(2005)【16498】→(8)① | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (2)生殖影響 | アンドロゲン様作用                                      | ①Ashby ら(1997)【468】           | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|         | 生殖発達毒性、エストロゲン様作用又は抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用 | ②Sharpe ら(1995)【887】          | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|         | 不明                                             | ③Betz ら(2013)【16412】          | △                                                                                     | ?                             | —                                               |
|         | 毒性                                             | ④Ahmad ら(2014)【15986】         | △                                                                                     | ?                             | —                                               |
|         | 視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用                              | ⑤Lv ら(2019)【16399】            | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|         | 抗エストロゲン様作用                                     | ⑥Ahmad ら(2015)【15991】         | ×                                                                                     | —                             | ×                                               |
|         | 視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体一甲状腺軸への作用、生殖組織への毒性作用 | ⑦Nagao ら(2000)【16425】         | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|         | 黄体形成ホルモンパルスへの影響                                | ⑧Kawaguchi ら(2002)【16421】     | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|         | アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用                           | ⑨Aso ら(2005)【16417】           | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|         | 抗アンドロゲン様作用                                     | ⑩Ema と Miyawaki (2002)【16422】 | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|         | テストステロン合成抑制作用、精巣毒性                             | ⑪Spade ら(2018)【15927】         | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|         | 抗アンドロゲン様作用、毒性                                  | ⑫Gray ら(2000)【16426】          | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|         |                                                | ⑬Hong ら(2005)【16060】→(4)②     | ○                                                                                     | ○N                            | ×                                               |

| 区分                       |                         | 著者<br>【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<br>か く 乱<br>作 用 と<br>の 関 連<br>の 有 無 <sup>2)</sup> | 内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup> |
| (3)発達<br>影響              |                         | ①Ema ら(1995)<br>【1000】 評価未実施             |                                                                                       |                                                         |                                                 |
|                          |                         | ②Ema ら(1998)<br>【16429】 評価未実施            |                                                                                       |                                                         |                                                 |
| (4)エストロゲン作用              |                         | ①Ho ら(2013)<br>【15988】 →(5)①             | △                                                                                     | ○P                                                      | ○                                               |
|                          |                         | ②Qin ら(2011)<br>【16413】                  | △                                                                                     | ○P                                                      | ○                                               |
|                          |                         | ③Hong ら(2005)<br>【16060 再】               | ○                                                                                     | ○P                                                      | ○                                               |
|                          |                         | ④Picard ら(2001)<br>【16423】 →(6)②         | ○                                                                                     | ○P                                                      | ○                                               |
|                          |                         | ⑤Nomura ら(2006)<br>【14587】 評価未実施         |                                                                                       |                                                         |                                                 |
| (5)抗エストロゲン作用             |                         | ①Ho ら(2013)<br>【15988】                   | △                                                                                     | ○N                                                      | ×                                               |
| (6)エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用   |                         | ①Rider ら(2009)<br>【16024】                | △                                                                                     | ○P                                                      | ○                                               |
|                          |                         | ②Picard ら(2001)<br>【16423 再】             | ○                                                                                     | ○N                                                      | ×                                               |
| (7)甲状腺ホルモン作用             |                         | ①Li ら(2022)<br>【16390】                   | ○                                                                                     | ○P                                                      | ○                                               |
| (8)抗甲状腺ホルモン作用            |                         | ①Sugiyama ら(2005)<br>【16498 再】           | △                                                                                     | ○P                                                      | ○                                               |
| (9)甲状腺ホルモン作用又は抗甲状腺ホルモン作用 |                         | ①Li ら(2020)<br>【15908】                   | ○                                                                                     | ○P                                                      | ○                                               |
| (10)副腎皮質ホルモン作用           |                         | ①Leng ら(2021)<br>【16485】 →(11)①<br>評価未実施 |                                                                                       |                                                         |                                                 |
| (11)抗副腎皮質ホルモン作用          |                         | ①Leng ら(2021)<br>【16485 再】 評価未実施         |                                                                                       |                                                         |                                                 |
| (12)ヒト黄体細胞への影響           | 抗エストロゲン作用、黄体細胞ステロイド産生阻害 | ①Romani ら(2014)<br>【15974】               | △                                                                                     | ○P                                                      | ○                                               |
| (13)ヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響     | ステロイドホルモン合成系への作用        | ①Sohn ら(2016)<br>【15955 再】               | △                                                                                     | ○P                                                      | ○                                               |

| 区分                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 著者<br>【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> |
| (14)マウス線維芽細胞への影響          | 脂質合成促進作用                                                                                                                                                                                                                                                                                            | ①Yin ら(2016)【16408】           | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (15)チャイニーズハムスター肺繊維芽細胞への影響 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | ①Nakagomi ら(2001)【3965】 評価未実施 |                                                                                       |                               |                                                 |
| (16)ステロイドデヒドロゲナーゼ阻害作用     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | ①Zhao ら(2010)【16493】          | △                                                                                     | ○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、アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、テストステロン合成抑制作用、視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、ステロイドホルモン合成系への作用、黄体形成ホルモンパルスへの影響、抗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、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、ステロイドホルモン合成系への作用、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用、黄体細胞ステロイド産生阻害、脂質合成促進作用、ステロイドデヒドロゲナーゼ阻害作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。 |                               |                                                                                       |                               |                                                 |

- 1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない  
2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない  
3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

#### 引用文献

- Ahmad R, Gautam AK, Verma Y, Sedha S and Kumar S (2014) Effects of in utero di-butyl phthalate and butyl benzyl phthalate exposure on offspring development and male reproduction of rat. *Environmental Science and Pollution Research International*, 21 (4), 3156-3165. 【15986】
- Ahmad R, Verma Y, Gautam AK and Kumar S (2015) Assessment of estrogenic potential of di-*n*-butyl phthalate and butyl benzyl phthalate *in vivo*. *Toxicology and Industrial Health*, 31 (12), 1296-1303. 【15991】
- Ashby J, Tinwell H, Lefevre PA, Odum J, Paton D, Millward SW, Tittensor S and Brooks AN (1997) Normal sexual development of rats exposed to butyl benzyl phthalate from conception to weaning. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 26 (1 Pt 1), 102-118. 【468】
- Aso S, Ehara H, Miyata K, Hosyuyama S, Shiraishi K, Umamo T and Minobe Y (2005) A two-generation reproductive toxicity study of butyl benzyl phthalate in rats. *Journal of Toxicological Sciences*, 30 Spec No., 39-58. 【16417】
- Betz A, Jayatilaka S, Joshi J, Ramanan S, Debartolo D, Pylypiw H and Franke E (2013) Chronic exposure to benzyl butyl phthalate (BBP) alters social interaction and fear conditioning in male adult rats: alterations in amygdalar MeCP2, ERK1/2 and ERα. *Neuro Endocrinology Letters*, 34 (5), 347-358. 【16412】
- Deegan AM, Steinhauer RB, Feinn RS, Moeller MC, Pylypiw HM, Jr., Nabel M, Kovelowski CJ and Kaplan LAE (2019) Modulation of brain serotonin by benzyl butyl phthalate in *Fundulus heteroclitus* (mummichog). *Ecotoxicology*, 28 (9), 1038-1045. 【16398】
- Ema M and Miyawaki E (2002) Effects on development of the reproductive system in male offspring of rats given butyl benzyl phthalate during late pregnancy. *Reproductive Toxicology*, 16 (1), 71-76. 【16422】
- Ema M, Kurosaka R, Amano H and Ogawa Y (1995) Comparative developmental toxicity of *n*-butyl benzyl phthalate and di-*n*-butyl phthalate in rats. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 28 (2), 223-

228. 【1000】

- Ema M, Miyawaki E and Kawashima K (1998) Reproductive effects of butyl benzyl phthalate in pregnant and pseudopregnant rats. *Reproductive Toxicology*, 12 (2), 127-132. 【16429】
- Gray LE, Jr., Ostby J, Furr J, Price M, Veeramachaneni DN and Parks L (2000) Perinatal exposure to the phthalates DEHP, BBP, and DINP, but not DEP, DMP, or DOTP, alters sexual differentiation of the male rat. *Toxicological Sciences*, 58 (2), 350-365. 【16426】
- Ho PW, Tse ZH, Liu HF, Lu S, Ho JW, Kung MH, Ramsden DB and Ho SL (2013) Assessment of cellular estrogenic activity based on estrogen receptor-mediated reduction of soluble-form catechol-*O*-methyltransferase (COMT) expression in an ELISA-based system. *PloS One*, 8 (9), e74065. 【15988】
- 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. 【16060】
- Kamel A, Matten SR, Lynn SG, Wolf JC and Fort DJ (2022) Amphibian Metamorphosis Assay: Investigation of the potential effects of five chemicals on the hypothalamic-pituitary thyroid axis of *Xenopus laevis*. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 134, 105241. 【16389】
- Kawaguchi M, Funabashi T, Aiba S and Kimura F (2002) Butyl benzyl phthalate, an endocrine disrupter, inhibits pulsatile luteinizing hormone secretion under an insulin-induced hypoglycaemic state in ovariectomized rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 14 (6), 486-491. 【16421】
- Leng Y, Sun Y, Huang W, Lv C, Cui J, Li T and Wang Y (2021) Identification of dicyclohexyl phthalate as a glucocorticoid receptor antagonist by molecular docking and multiple *in vitro* methods. *Molecular Biology Reports*, 48 (4), 3145-3154. 【16485】
- Li J, Li H, Lin D, Li M, Wang Q, Xie S, Zhang Y and Liu F (2021) Effects of butyl benzyl phthalate exposure on *Daphnia magna* growth, reproduction, embryonic development and transcriptomic responses. *Journal of Hazardous Materials*, 404 (Pt B), 124030. 【16395】
- Li J, Liu H, Zuo R, Yang J and Li N (2020) Competitive binding assays for measuring the binding affinity of thyroid-disrupting chemicals for integrin  $\alpha(v)\beta(3)$ . *Chemosphere*, 249, 126034. 【15908】
- Li J, Xu Y, Jiang Y, Li N, Li Z, Kong D, Guo X, Zhang J and Zuo R (2022) Nongenomic effects and mechanistic study of butyl benzyl phthalate-induced thyroid disruption: Based on integrated *in vitro*, *in silico* assays and proteome analysis. *Science of the Total Environment*, 836, 155715. 【16390】
- Lv Y, Dong Y, Wang Y, Zhu Q, Li L, Li X, Lin Z, Fan L and Ge RS (2019) Benzyl butyl phthalate non-linearly affects rat Leydig cell development during puberty. *Toxicology Letters*, 314, 53-62. 【16399】
- Nagao T, Ohta R, Marumo H, Shindo T, Yoshimura S and Ono H (2000) Effect of butyl benzyl phthalate in Sprague-Dawley rats after gavage administration: a two-generation reproductive study. *Reproductive Toxicology*, 14 (6), 513-532. 【16425】
- Nakagomi M, Suzuki E, Usumi K, Saitoh Y, Yoshimura S, Nagao T and Ono H (2001) Effects of endocrine disrupting chemicals on the microtubule network in Chinese hamster V79 cells in culture and in Sertoli cells in rats. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 21 (6), 453-462. 【3965】
- Nomura Y, Mitsui N, Bhawal UK, Sawajiri M, Tooi O, Takahashi T and Okazaki M (2006) Estrogenic activity of phthalate esters by *in vitro* VTG assay using primary-cultured *Xenopus* hepatocytes. *Dental Materials Journal*, 25 (3), 533-537. 【14587】
- Picard K, Lhuguenot JC, Lavier-Canivenc MC and Chagnon MC (2001) Estrogenic activity and metabolism of *n*-butyl benzyl phthalate *in vitro*: identification of the active molecule(s). *Toxicology and Applied Pharmacology*, 172 (2), 108-118. 【16423】
- Qin XY, Zaha H, Nagano R, Yoshinaga J, Yonemoto J and Sone H (2011) Xenoestrogens down-regulate aryl-hydrocarbon receptor nuclear translocator 2 mRNA expression in human breast cancer cells via an estrogen receptor alpha-dependent mechanism. *Toxicology Letters*, 206 (2), 152-157. 【16413】
- Rider CV, Hartig PC, Cardon MC, and Wilson VS (2009) Comparison of chemical binding to recombinant fathead minnow and human estrogen receptors alpha in whole cell and cell-free binding assays. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28 (10), 2175-2181. 【16024】
- Romani F, Tropea A, Scarinci E, Federico A, Dello Russo C, Lisi L, Catino S, Lanzone A and Apa R (2014)



- Endocrine disruptors and human reproductive failure: the *in vitro* effect of phthalates on human luteal cells. *Fertility and Sterility*, 102 (3), 831-837. 【15974】
- Sharpe RM, Fisher JS, Millar MM, Jobling S and Sumpter JP (1995) Gestational and lactational exposure of rats to xenoestrogens results in reduced testicular size and sperm production. *Environmental Health Perspectives*, 103 (12), 1136-1143. 【887】
- 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. 【15955】
- 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. 【15927】
- 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. 【16498】
- Yin L, Yu KS, Lu K and Yu X (2016) Benzyl butyl phthalate promotes adipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes: A High Content Cellomics and metabolomic analysis. *Toxicology in vitro*, 32, 297-309. 【16408】
- Zhao B, Chu Y, Huang Y, Hardy DO, Lin S and Ge RS (2010) Structure-dependent inhibition of human and rat 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase 2 activities by phthalates. *Chemico-Biological Interactions*, 183 (1), 79-84. 【16493】

## VI. ビスフェノール S

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ビスフェノール S 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、抗甲状腺ホルモン作用、ラット精巣組織への影響、マウスライディッヒ細胞への影響、ヒト乳がん細胞への影響、ヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響、マウス睪島細胞への影響、マウス前駆脂肪細胞への影響、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体への影響に関する報告がある。

なお、ビスフェノール S については、報告数が膨大であったことから（所定キーワード検索式による 2023 年 4 月 17 日 PubMed 検索ヒット数 741 件）、生態影響、試験管内試験及びその他作用メカニズム解明に関連する報告を主な調査対象とした。哺乳動物試験については、過年度にビスフェノール B について整理した文献のうち、ビスフェノール S も試験対象物質としていた報告を調査対象とした。

また、ビスフェノール S は、欧州 REACH 規則において Endocrine disrupting properties (Article 57(f))として環境影響(エストロゲン作用、魚類等へのエストロゲン、アンドロゲン、ステロイド産生が介在する生殖影響)及びヒト健康影響(エストロゲン、アンドロゲン、ステロイド産生が介在する生殖影響)を根拠に高懸念物質(SVHC: Substances of Very High Concern)に選定されている。

#### (1) 生態影響

① Ji ら(2013)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 0.5、5、50 $\mu$ g/L (設定濃度)に 3～4 ヶ月以上齢から 21 日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(遺伝子は視床下部一下垂体－生殖腺軸関連)が検討されている。その結果として、雄において、0.5 $\mu$ g/L 以上のばく露区で血漿中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度、血漿中 17 $\beta$ -エストラジオール/テストステロン濃度比の高値、50 $\mu$ g/L のばく露区で生殖腺体指数、血漿中テストステロン濃度、生殖腺中 *cyp17* mRNA 相対発現量の低値、脑中 *gnrh3* mRNA 相対発現量、脑中 *gnrhr1* mRNA 相対発現量、脑中 *gnrhr2* mRNA 相対発現量、脑中 *fsh $\beta$*  mRNA 相対発現量、脑中 *lh $\beta$*  mRNA 相対発現量、脑中 *cyp19b* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *fshr* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *lhr* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *hmgra* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *hmgrb* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *cyp11a* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *3 $\beta$ hsd* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *17 $\beta$ hsd* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *cyp19a* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、肥満度、脳体指数、肝臓体指数、脑中 *gnrh2* mRNA 相対発現量、脑中 *gnrhr4* mRNA 相対発現量、脑中 *era* mRNA 相対発現量、脑中 *er $\beta$*  mRNA 相対発現量、脑中 *ar* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *star* 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、0.5 $\mu$ g/L 以上のばく露区で生殖腺体指数の低値、50 $\mu$ g/L のばく露区で脑中 *gnrh3* mRNA 相対発現量、脑中 *fsh $\beta$*  mRNA 相対発現量、生殖腺中 *hmgra* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *hmgrb* mRNA 相対発現量の低値、血漿中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度、血漿中 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。なお、肥満度、脳体指数、肝臓体指数、血漿中テストステロン濃度、脑中 *gnrh2* mRNA 相対発現量、脑中 *gnrhr1* mRNA 相対発現量、脑中 *gnrhr2* mRNA 相対発現量、脑中 *gnrhr4* mRNA 相対発現量、脑中 *lh $\beta$*  mRNA 相対発現量、脑中 *cyp19b* mRNA 相対発現量、脑中 *era* mRNA 相対発現量、脑中 *er $\beta$*  mRNA 相対発現量、脑中 *ar* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *fshr* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *lhr* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *star* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *cyp11a* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *3 $\beta$ hsd* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *cyp17* mRNA 相

対発現量、生殖腺中 *17βhsd* mRNA 相対発現量、生殖腺中 *cyp19a* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、ばく露 16 日目から 6 日間の交配試験において、0.5μg/L 以上のばく露区で日毎産卵数、F<sub>1</sub> 孵化率の低値、F<sub>1</sub> 孵化までの所要時間の高値、0.5、50μg/L のばく露区で奇形率の高値が認められた。

【16323】(評価結果の略号：△○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、精巣でのホルモン合成への影響、毒性

なお、本試験結果の解釈にあたっては、0.5μg/L 区にて F<sub>1</sub> に毒性及び奇形が認められている点に注意を要すると判断された。

- ②Wei ら(2023)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、99%) 1、100μg/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(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、1 μg/L 以上のばく露区で眼球中トリヨードサイロニン濃度、眼球中 *opn1mw2* mRNA 相対発現量、眼球中 *opn1lw1* mRNA 相対発現量、眼球中 *opn1lw2* mRNA 相対発現量、眼部厚(GCL、IPL、INL、OPL、ONL、RPE の各部位)の低値、行動試験における総移動距離、行動試験における平均速度、眼球中 DIO2 比活性、眼球中 DIO3 比活性の高値、1 μg/L 以上のばく露区で眼球中 *rho* mRNA 相対発現量、眼球中 *pde6a* mRNA 相対発現量の低値(100μg/L 区では高値)、1 μg/L のばく露区で眼球中 *opn1sw1* mRNA 相対発現量、眼球中 *arr3a* mRNA 相対発現量、眼球中 *pde6h* mRNA 相対発現量、眼球中 *grk1b* mRNA 相対発現量の高値(100μg/L 区では低値)が認められた。1 μg/L のばく露区で眼球中サイロキシン濃度の高値、100μg/L のばく露区で眼球中 *opn1sw2* mRNA 相対発現量、眼球中 *opn1mw1* mRNA 相対発現量、眼球中 *opn1mw3* mRNA 相対発現量、眼球中 *dio2* mRNA 相対発現量の低値、眼球中 *thra* mRNA 相対発現量、眼球中 *thrβ* mRNA 相対発現量、眼球中 *dio3* mRNA 相対発現量、行動試験における暗所滞在時間率の高値が認められた。なお、眼部面積には影響は認められなかった。【16232】(△○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

- ③Hao ら(2022)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、98%) 1、100μg/L (設定濃度) に受精後 3 日目から 110～120 日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*) F<sub>0</sub> への影響が検討されている。その結果として、100μg/L 以上のばく露区で雄精巣中 DNA メチル化率、雄性比の低値が認められた。なお、雌卵巣中 DNA メチル化率には影響は認められなかった。

また、F<sub>1</sub> 雌雄(継続ばく露なし)において、1 μg/L 以上のばく露区で雄性比の低値、1 μg/L のばく露区で交配試験における産卵の受精率の高値、100μg/L のばく露区で交配試験における総産卵数の低値が認められた。なお、交配試験における産卵の孵化率には影響は認められなかった。

また、F<sub>1</sub> 雄(継続ばく露せず 120 日齢で測定。遺伝子は視床下部—下垂体—生殖腺軸関連)において、1 μg/L 以上のばく露区で精巣中精子数、精母細胞成熟度、下垂体中 *lhβ* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp17* mRNA 相対発現、精巣中 *3βhsd* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp11a* mRNA 相対発現量の低値、視床下部中 *gnrh3* mRNA 相対発現量、精巣中 *17βhsd* mRNA 相対発現量、精巣中 *star* mRNA 相対発現量の高値、1 μg/L のばく露区で脳中 *ar* mRNA 相対発現量、視床下部中 *gnrh2* mRNA 相対発現量の高値、100μg/L のばく露区で血漿中テストステロン濃度、脳中 *era* mRNA 相対発現量の低値、精巣中 DNA メチル化率、血漿中 17β-エストラジオール濃度、血漿中 17β-エストラジオール/テストステロン濃度比、下垂体中 *gnrhr2* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量、脳中 *er2β* mRNA 相対発現量、下垂体中 *gnrhr1* mRNA 相対発現量、下垂体中

*gnrhr4* mRNA 相対発現量、下垂体中 *fshβ* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp19a* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、F<sub>1</sub> 雌(継続ばく露せず 120 日齢で測定。遺伝子は視床下部一下垂体一生殖腺軸関連)において、1 μg/L 以上のばく露区で卵巣中 *cyp17* mRNA 相対発現量の低値、卵母細胞成熟度、脳中 *era* mRNA 相対発現量、下垂体中 *gnrhr1* mRNA 相対発現量の高値、1 μg/L のばく露区で卵巣中 *3βhsd* mRNA 相対発現量、卵巣中 *star* mRNA 相対発現量、卵巣中 *cyp19a* mRNA 相対発現量の低値、脳中 *er2β* mRNA 相対発現量、脳中 *ar* mRNA 相対発現量、視床下部中 *gnrh3* mRNA 相対発現量の高値、視床下部中 *gnrh2* mRNA 相対発現量、下垂体中 *fshβ* mRNA 相対発現量の高値(100μg/L 区では低値)、100μg/L のばく露区で卵巣中 *cyp11a* mRNA 相対発現量の低値、下垂体中 *gnrhr4* mRNA 相対発現量、卵巣中 *17βhsd* mRNA 相対発現量、血漿中 17β-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。なお、卵巣中 DNA メチル化率、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、脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量、下垂体中 *lhβ* mRNA 相対発現量、下垂体中 *gnrhr2* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、F<sub>2</sub> 雌雄(継続ばく露なし)において、1 μg/L 以上のばく露区で雄性比の低値、100μg/L のばく露区で交配試験における産卵の孵化率の低値が認められた。なお、交配試験における総産卵数、交配試験における産卵の受精率には影響は認められなかった。

また、F<sub>2</sub> 雄(継続ばく露せず 120 日齢で測定。遺伝子は視床下部一下垂体一生殖腺軸関連)において、1 μg/L 以上のばく露区で精巣中精子数、下垂体中 *fshβ* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp17* mRNA 相対発現量、精巣中 *3βhsd* mRNA 相対発現量の低値、精母細胞成熟度の高値、1 μg/L のばく露区で精巣中 *cyp11a* mRNA 相対発現量の低値、脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量、精巣中 *17βhsd* mRNA 相対発現量、脳中 *era* mRNA 相対発現量、下垂体中 *gnrhr4* mRNA 相対発現量の高値、100μg/L のばく露区で精巣中 *star* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp19a* mRNA 相対発現量の低値、血漿中 17β-エストラジオール濃度、血漿中 17β-エストラジオール/テストステロン濃度比、下垂体中 *gnrhr2* mRNA 相対発現量、下垂体中 *lhβ* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、精巣中 DNA メチル化率、血漿中テストステロン濃度、脳中 *er2β* mRNA 相対発現量、脳中 *ar* mRNA 相対発現量、視床下部中 *gnrh2* mRNA 相対発現量、視床下部中 *gnrh3* mRNA 相対発現量、下垂体中 *gnrhr1* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、F<sub>2</sub> 雌(継続ばく露せず 120 日齢で測定。遺伝子は視床下部一下垂体一生殖腺軸関連)において、1 μg/L 以上のばく露区で視床下部中 *gnrh2* mRNA 相対発現量、卵巣中 *cyp17* mRNA 相対発現量、卵巣中 *3βhsd* mRNA 相対発現量の低値、下垂体中 *gnrhr1* mRNA 相対発現量の高値、1 μg/L のばく露区で下垂体中 *lhβ* mRNA 相対発現量の低値、卵巣中 DNA メチル化率、下垂体中 *gnrhr2* mRNA 相対発現量、脳中 *cyp19b* mRNA 相対発現量の高値、100μg/L のばく露区で脳中 *ar* mRNA 相対発現量、視床下部中 *gnrh3* mRNA 相対発現量、卵巣中 *star* mRNA 相対発現量、卵巣中 *17βhsd* mRNA 相対発現量の低値、卵巣中 *cyp19a* mRNA 相対発現量、卵母細胞成熟度の高値が認められた。なお、脳中 *ar* mRNA 相対発現量、視床下部中 *gnrh3* mRNA 相対発現量、卵巣中 *star* mRNA 相対発現量、卵巣中 *17βhsd* mRNA 相対発現量、卵巣中 *cyp19a* mRNA 相対発現量、卵母細胞成熟度には影響は認められなかった。【16243】(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用、精巣及び卵巣でのホルモン産生への影響

なお、本試験結果の解釈にあたっては、ばく露が DNA メチル化を介して未ばく露の仔魚の生殖

発達を阻害し、BPS 誘導性のエピジェネティック修飾の遺伝が魚類個体群の適応度と持続可能性に長期的な影響を及ぼすことを示唆している点に注意を要すると判断された。

- ④Qin ら(2021)によって、ビスフェノール S (Sigma、99.9%) 1、100µg/L (設定濃度)に受精後 2 日目から 240 日間ばく露した雌ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(遺伝子は脂質合成及び代謝関連)が検討されている。その結果として、1 µg/L 以上のばく露区で卵巣中ビテロゲン濃度、卵巣中総コレステロール濃度、肝臓中トリアシルグリセロール濃度、卵巣中 *hsl* mRNA 相対発現量、卵巣中 *cpt2* mRNA 相対発現量、卵巣中 *has17β4* mRNA 相対発現量、卵巣中卵胞成熟度(full-growth stage 存在率)の高値、1 µg/L のばく露区で肝臓中 LDL 濃度の低値、血漿中トリアシルグリセロール濃度の低値(100µg/L 区では高値)、血漿中ビテロゲン濃度、卵巣中トリアシルグリセロール濃度、血漿中総コレステロール濃度、血漿中 LDL 濃度、血漿中 HDL 濃度、卵巣中 LDL 濃度の高値、100µg/L のばく露区で卵巣中 *acc* mRNA 相対発現量、卵巣中 *fasn* mRNA 相対発現量、卵巣中 *acs11* mRNA 相対発現量、卵巣中 *ppary* mRNA 相対発現量、卵巣中 *acadm* mRNA 相対発現量、卵巣中 *acadl* mRNA 相対発現量、卵巣中 *ppara* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、肝臓中ビテロゲン濃度、肝臓中総コレステロール濃度、肝臓中 HDL 濃度、卵巣中 HDL 濃度には影響は認められなかった。

また、ばく露 235 日目に非ばく露雄との交配試験において(日毎産卵数以外は受精後 72 時間 F<sub>1</sub> について測定)、1 µg/L 以上のばく露区で日毎産卵数の高値、1 µg/L のばく露区で体長、孵化率の低値、死亡率の高値、100µg/L のばく露区で奇形率(受精後 72 時間)の高値が認められた。【16257】(△○P)

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、毒性

- ⑤Wei ら(2018)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、99%) 1、10、100µg/L(設定濃度)に受精後 2 時間(2 hpf) から 120 日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)雌雄 F<sub>0</sub> への影響(遺伝子は視床下部一下垂体—甲状腺軸関連)が検討されている。その結果として、1 µg/L 以上のばく露区で雌血漿中サイロキシン濃度、雄脳中 *tshβ* mRNA 相対発現量の低値、雌血漿中トリヨードサイロニン濃度、雌雄肝臓中 *dio2* mRNA 相対発現量の高値、1、100µg/L のばく露区で雌肝臓中 *ugt1ab* mRNA 相対発現量の高値、1、10µg/L のばく露区で雄血漿中トリヨードサイロニン濃度、雄脳中 *crh* mRNA 相対発現量、雌肝臓中 *dio3* mRNA 相対発現量の高値、10µg/L 以上のばく露区で雌雄肝臓中 *dio1* mRNA 相対発現量、雌脳中 *crh* mRNA 相対発現量の高値、100µg/L のばく露区で雌脳中 *tshβ* mRNA 相対発現量、雄肝臓中 *dio3* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、雄血漿中サイロキシン濃度、雄肝臓中 *ugt1ab* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、F<sub>1</sub> (継続ばく露なし。遺伝子は中枢神経系関連で特に記載がない限り 96hpf に測定)において、1 µg/L 以上のばく露区でサイロキシン濃度(2 hpf 未満)、孵化率(48、60hpf)、自発運動量(48hpf)、*zhel* (zebrafish hatching enzyme 1) mRNA 相対発現量(48hpf)、接触刺激誘導性逃避行動率(48hpf)、頭胴角度(48hpf)、浮袋膨張個体率、平均遊泳速度、逃避行動(swirl-escape)個体率、尾側部メラニン細胞面積、*sp-c* mRNA 相対発現量、*tyr* (tyrosinase) mRNA 相対発現量の低値、トリヨードサイロニン濃度(2 hpf 未満)、耳胞(otic vesicle)長(48hpf)、*gfap* mRNA 相対発現量の高値、10µg/L 以上のばく露区で尾側部メラニン細胞斑点数、*sp-a* mRNA 相対発現量、*syn2a* mRNA 相対発現量、*crestin* (neural crest 指標遺伝子) mRNA 相対発現量の低値、100µg/L のばく露区で *gap43* mRNA 相対発現量、*mbp* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、*sp-b* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16298】(△○P)

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

⑥Zhao ら(2018)によって、ビスフェノール S (Sigma, 99.9%) 1、10、100 $\mu$ g/L (設定濃度) に 9 ヶ月齢から 28 日間ばく露した雄ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) への影響(遺伝子は糖代謝関連)が検討されている。その結果として、1  $\mu$ g/L 以上のばく露区で筋肉中ピルベートキナーゼ比活性、血漿中テストステロン濃度、肝臓中 *pklr* mRNA 相対発現量の低値、血漿中エストラジール/テストステロン濃度比、筋肉中 *gcgra* (glucagon receptor *a*) mRNA 相対発現量、内臓中 *gcgrb* mRNA 相対発現量、肝臓中 *gck* mRNA 相対発現量の高値、1、10 $\mu$ g/L のばく露区で血漿中インスリン濃度、筋肉中グリコーゲン濃度、内臓中 *insa* (preproinsulin *a*) mRNA 相対発現量、筋肉中 *gys1* mRNA 相対発現量、筋肉中 *pkmb* mRNA 相対発現量、内臓中 *gcgb* (glucagon *b*) mRNA 相対発現量の低値、肝臓中グリコーゲン濃度の低値(100 $\mu$ g/L 区では高値)、絶食時血中グルコース濃度、肝臓中 *pck1* mRNA 相対発現量の高値、肝臓中フォルホエノールピルベートカルボキシキナーゼ比活性の高値(100 $\mu$ g/L 区では低値)、1  $\mu$ g/L のばく露区で内臓中 *gcga* mRNA 相対発現量の低値、10 $\mu$ g/L 以上のばく露区で血漿中エストラジール濃度、肝臓中 *gcgra* mRNA 相対発現量の高値、100 $\mu$ g/L のばく露区で肝臓中 *pygl* mRNA 相対発現量、肝臓中 *pck2* mRNA 相対発現量、肝臓中 *g6pca.1* mRNA 相対発現量の低値、筋肉中ヘキソキナーゼ比活性、肝臓中 *gcgrb* mRNA 相対発現量、肝臓中 *gys2* mRNA 相対発現量、筋肉中 *hkl* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、ボディマス指数、肝臓体指数、肝臓中グルコキナーゼ比活性、肝臓中ヘキソキナーゼ比活性、肝臓中ピルベートキナーゼ比活性、肝臓及び筋肉中 *insra* (insulin receptor *a*) mRNA 相対発現量、肝臓及び筋肉中 *insrb* mRNA 相対発現量、筋肉中 *hk2* mRNA 相対発現量、筋肉中 *pygma* mRNA 相対発現量、筋肉中 *pygmb* mRNA 相対発現量、筋肉中 *pkma* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16311】(○●P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用、グルコース代謝への影響

⑦Naderi ら(2014)によって、ビスフェノール S (東京化成工業、98%) 0.1、1、10、100 $\mu$ g/L (設定濃度) に受精後 2 時間(2 hpf)から 75hpf 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、雄において、1  $\mu$ g/L 以上のばく露区で、血漿中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度の高値、10 $\mu$ g/L 以上のばく露区で生殖腺体指数、血漿中テストステロン濃度、血漿中トリヨードサイロニン濃度、血漿中サイロキシン濃度の低値、100 $\mu$ g/L のばく露区で生存率(雌雄混合)、体重、体長の低値、肝臓体指数、血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

また、雌において、10 $\mu$ g/L 以上のばく露区で血漿中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度、肝臓体指数、血漿中ビテロゲニン濃度の高値、100 $\mu$ g/L のばく露区で生殖腺体指数、血漿中トリヨードサイロニン濃度、血漿中サイロキシン濃度の低値が認められた。なお、体重、体長、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、ばく露後(馴養 3 日間)の雌雄交配試験(7 日間)において、10 $\mu$ g/L 以上のばく露区で日毎産卵数、精巣中精子数、F<sub>1</sub> 孵化率の低値、F<sub>1</sub> 孵化までの所要時間の高値が認められた。【16322】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用、視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体一甲状腺軸への作用、毒性

なお、本試験結果の解釈にあたっては、交配試験による F<sub>1</sub> 雌性比において、有意な濃度依存的高値傾向が認められる点に注意を要すると判断された。

⑧Zhang ら(2023)によって、ビスフェノール S (J & K Scientific, 98%) 2、200 $\mu$ g/L (設定濃度) に 6~24 時間齢から 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、2  $\mu$ g/L 以上のばく露区で心拍数、遊泳速度、遊泳加速度の低値、200 $\mu$ g/L のばく露区で

体長、上肢運動活性の低値が認められた。なお、生存率、初出産に至るまでの所要日数、同腹初産仔数、出産回数、総出産仔数、出産毎産仔数、内的自然増加率には影響は認められなかった。

また、200 $\mu$ g/L のばく露区の F<sub>0</sub> が出産した F<sub>1</sub> において、2  $\mu$ g/L 以上のばく露区で体長、心拍数、遊泳速度、遊泳加速度の低値、200 $\mu$ g/L のばく露区で出産回数、総出産仔数、出産毎産仔数、内的自然増加率、上肢運動活性の低値、初出産に至るまでの所要日数の高値が認められた。なお、生存率、同腹初産仔数には影響は認められなかった。

また、200 $\mu$ g/L のばく露区の F<sub>1</sub> が出産した F<sub>2</sub> において、2  $\mu$ g/L のばく露区(200 $\mu$ g/L は F<sub>2</sub> の高死亡率のため中断)で体長、心拍数、遊泳速度、遊泳加速度、総出産仔数の低値、初出産に至るまでの所要日数の高値が認められた。なお、初出産に至るまでの所要日数、同腹初産仔数、出産回数、出産毎産仔数、内的自然増加率、上肢運動活性には影響は認められなかった。

また、200 $\mu$ g/L のばく露区の F<sub>2</sub> が出産した F<sub>3</sub> において、2  $\mu$ g/L のばく露区(200 $\mu$ g/L は F<sub>2</sub> の高死亡率のため未実施)で体長、心拍数、遊泳速度、遊泳加速度、総出産仔数、出産回数、内的自然増加率の低値、初出産に至るまでの所要日数の高値が認められた。なお、同腹初産仔数、出産毎産仔数、上肢運動活性には影響は認められなかった。【16225】(○?)

想定される作用メカニズム：毒性

- ⑨Gyimah ら(2021)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、99%) 2.25、7.51、25.0、75.1、250 $\mu$ g/L (=0.01、0.03、0.1、0.3、1.0 $\mu$ M に相当する設定濃度)に受精後 4 時間(4 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(遺伝子は肝臓関連又は DNA メチル化関連)が検討されている。その結果として、2.25 $\mu$ g/L 以上のばく露区で *dnmt7* mRNA 相対発現量の低値、*pdx1* mRNA 相対発現量、*foxa2* mRNA 相対発現量、*ptfla1* mRNA 相対発現量、*dnmt1* mRNA 相対発現量、*dnmt4* mRNA 相対発現量、*dnmt5* mRNA 相対発現量、*dnmt6* mRNA 相対発現量、*dnmt8* mRNA 相対発現量の高値、2.25、25.0、75.1、250 $\mu$ g/L のばく露区で *ins* mRNA 相対発現量、*isl1* mRNA 相対発現量の高値、2.25、75.1、250 $\mu$ g/L のばく露区で *dnmt3* mRNA 相対発現量の高値、75.1 $\mu$ g/L のばく露区でグルコース濃度の高値が認められた。【16264】(○○P)

想定される作用メカニズム：インシュリン分泌促進作用

- ⑩Zhang ら(2017)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 1、3、10、30 $\mu$ g/L (設定濃度)に受精後 2 時間(2 hpf)から最長 168hpf までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(遺伝子は視床下部—下垂体—甲状腺軸関連で全身中)が検討されている。その結果として、3  $\mu$ g/L 以上のばく露区で *ttr* mRNA 相対発現量の低値、10 $\mu$ g/L 以上のばく露区でサイロキシン濃度の低値、甲状腺刺激ホルモン濃度、*crh* mRNA 相対発現量、*tg* mRNA 相対発現量、*dio1* mRNA 相対発現量、*ugt1a* mRNA 相対発現量の高値、30 $\mu$ g/L のばく露区で孵化率(72hpf)、トリヨードサイロニン濃度の低値、*pax8* mRNA 相対発現量、*slc5a5* mRNA 相対発現量、*dio2* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、生存率、体重、体長、奇形率、*tra* mRNA 相対発現量、*tr $\beta$*  mRNA 相対発現量、*dio3* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16313】(△○P)

想定される作用メカニズム：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

- ⑪Qiu ら(2019)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、98%) 100 $\mu$ g/L (設定濃度)に 1 カ月以上齢から 60 日間ばく露したゼブラフィッシュへの影響(遺伝子は生殖及び神経内分泌関連で脳中)が検討されている。その結果として、*kiss1* mRNA 相対発現量、*kiss1r* mRNA 相対発現量、*kiss2* mRNA 相対発現量、*gnrh3* mRNA 相対発現量、*era* mRNA 相対発現量、*er $\beta$*  mRNA 相対発現量、*cyp19a* mRNA 相対発現量、*cyp19b* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、雌性比、*kiss2r* mRNA 相対発現

量、*sv2c* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16291】(△?)

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、試験生物の学名の記載がない点に注意を要すると判断された。

- ⑫Lu ら(2018)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、98%) 0.01、0.1、1  $\mu$ M(=2.5、25、250 $\mu$ g/L)の濃度に受精後(受精後日齢の記載なし)72 時間(設定濃度)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  $\mu$ M(=250 $\mu$ g/L)の濃度で全身中 *trb* mRNA 相対発現量の高値が認められた。【16302】(△?)→(8)①、(9)①

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、プロトコルが引用されているが実験条件の詳細な記載がない点に注意を要すると判断された。

- ⑬Lee ら(2019)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、98%) 400、2,000、10,000、50,000 $\mu$ g/L (設定濃度)に受精後 4 時間(4 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、400 $\mu$ g/L のばく露区で孵化までの所要時間の遅延が認められた。なお、生存率、孵化率、奇形率、体長、相対眼球サイズには影響は認められなかった。

また、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、98%) 2,000、10,000、50,000 $\mu$ g/L (設定濃度)に受精後 4 時間(4 hpf)から 120hpf までばく露したゼブラフィッシュ(*D. rerio*)への影響(遺伝子は視床下部一下垂体—甲状腺軸関連、相対発現量及び濃度は全身中)が検討されている。その結果として、2,000 $\mu$ g/L 以上のばく露区で *hhx* mRNA 相対発現量、*tpo* mRNA 相対発現量、*ugt1a* mRNA 相対発現量の高値、2,000、10,000 $\mu$ g/L のばく露区で *ttr* mRNA 相対発現量の高値、2,000 $\mu$ g/L のばく露区で *crh* mRNA 相対発現量、*tsh $\beta$*  mRNA 相対発現量、*tshr* mRNA 相対発現量の高値、50,000 $\mu$ g/L のばく露区でトリヨードサイロニン濃度の高値が認められた。なお、生存率、孵化率、孵化までの所要時間、奇形率、体長、相対眼球サイズ、サイロキシン濃度、*nkx2.1* mRNA 相対発現量、*pax8* mRNA 相対発現量、*tg* mRNA 相対発現量、*tra* mRNA 相対発現量、*tr $\beta$*  mRNA 相対発現量、*dio1* mRNA 相対発現量、*dio2* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16294】(〇〇P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用

- ⑭Han ら(2022)によって、ビスフェノール S (Shanghai Aldin Reagent、99%) 1,500、3,000、15,000 $\mu$ g/L (設定濃度)に 4～5 ヶ月齢から 13 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、3,000 $\mu$ g/L 以上のばく露区で全身中 *er $\beta$*  mRNA 相対発現量の低値、3,000 $\mu$ g/L のばく露区で全身中 *era* mRNA 相対発現量の高値が認められた。【16235】(△?)

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、酸化的ストレス関連パラメータも種々測定されており、酸化ストレスが認められる濃度範囲での試験であることに注意を要すると判断された。

- ⑮Park ら(2022)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 8,000、40,000、200,000 $\mu$ g/L (設定濃度)に 3～4 ヶ月齢から 21 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、雄において、8,000 $\mu$ g/L 以上のばく露区で全身中テストステロン濃度の低値、全身中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度、全身中 17 $\beta$ -エストラジオール/テストステロン濃度比、全身中トリヨードサイロニン濃度、全身中サイロキシン濃度の高値、40,000 $\mu$ g/L 以上のばく露区で肝臓中 *ER $\beta$*  mRNA 相対発現量、全身中ケトテストステロン濃度の低値、200,000 $\mu$ g/L のばく露区で肝臓体指数、肝臓中 *VTG* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、生殖腺体指数、肝臓中



*ERα* 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、8,000μg/L 以上のばく露区で全身中 *17β*-エストラジオール濃度、全身中トリヨードサイロニン濃度、全身中サイロキシシン濃度の高値、40,000μg/L 以上のばく露区で全身中プロゲステロン濃度の高値、40,000μg/L のばく露区で生殖腺体指数、肝臓体指数の高値、200,000μg/L のばく露区で肝臓中 *VTG* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、肝臓中 *ERα* mRNA 相対発現量、肝臓中 *ERβ* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16249】(△○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、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用

- ⑩Yang ら(2022)によって、ビスフェノール S (AccuStandard、99%) 125μg/L (=0.5μM に相当する設定濃度)に 10 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が、雌雄全身中ビテロゲン濃度には影響は認められなかった。【16238】(△○N)  
想定される作用メカニズム：エストロゲン作用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、ビスフェノール F 及びビスフェノール AF においては作用が認められている点に注意を要すると判断された。

- ⑪Mu ら(2018)によって、ビスフェノール S (J & K Scientific、99%) 500、5,000、25,000μg/L (設定濃度)に受精後 1.5～1.7 時間(1.5～1.7hpf、16 細胞期)から最長 96hpf までばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(遺伝子は視床下部一下垂体—生殖腺軸関連、相対発現量及び濃度は全身中)が検討されているが、エストロゲン受容体  $\alpha$  濃度、*esr1* mRNA 相対発現量、*esr2a* mRNA 相対発現量、*esr2b* mRNA 相対発現量、*vtg1* mRNA 相対発現量、*cyp19a1* mRNA 相対発現量、*cyp17a1* mRNA 相対発現量、*hsd17b1* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。なお、ビスフェノール S (J & K Scientific、99%) 2,500、12,500、25,000μg/L (設定濃度)に 1.5～1.7hpf から最長 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が、孵化率(48、72、96hpf)、心拍数(48hpf)、奇形率(48 又は 72hpf)、自発運動回数(24hpf)には影響は認められなかった。【16307】(△○N)  
想定される作用メカニズム：エストロゲン作用及び抗エストロゲン作用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、ビスフェノール F 及びビスフェノール AF においては作用が認められている点に注意を要すると判断された。

## (2) 生殖影響

- ⑫Ijaz ら(2020)によって、ビスフェノール S (Santa Cruz Biotechnologies、99%) 0.05、0.5、5、50mg/kg/day を 28 日間腹腔内した成熟雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、0.05mg/kg/day 以上のばく露群で子宮絶対重量の低値、胞状卵胞直径の高値、0.5mg/kg/day 以上のばく露群で血漿中プロゲステロン濃度、卵巣中黄体数の低値、卵巣中活性酸素種濃度の高値、5 mg/kg/day 以上のばく露群で子宮相対重量、卵巣中胞状卵胞数、血漿中エストラジオール濃度、血漿中黄体形成ホルモン濃度、血漿中卵胞刺激ホルモン濃度の低値、血漿中テストステロン濃度、卵巣中閉塞卵胞数の高値、5 mg/kg/day のばく露群で卵胞顆粒高さの高値、50mg/kg/day のばく露群で両卵巣絶対重量、生殖腺体指数、卵巣中カタラーゼ比活性、卵巣中スーパーオキシドディスムターゼ比活性の低値、肝臓絶対重量、心臓絶対重量、卵巣中過酸化脂質濃度、黄体直径の高値が認められた。なお、体重、増加体重、腎臓絶対重量、卵巣中ペルオキシダーゼ比活性、卵巣中排卵前卵胞数、卵胞膜高には影響は認められなかった。【16171】(△○P)

想定される作用メカニズム：抗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

②Ullah ら(2018)によって、ビスフェノール S (Santa Cruz Biotechnologies、99%) 5、25、50mg/kg/day を 70~80 日齢から 28 日間経口投与した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、5 mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中蛋白質濃度の低値、5、50mg/kg/day のばく露群で精巣中テストステロン濃度の低値、5 mg/kg/day のばく露群で精巣中ペルオキシダーゼ比活性の低値、50mg/kg/day のばく露群で血漿中テストステロン濃度、精巣中カタラーゼ比活性、精細管上皮厚の低値、精巣中過酸化脂質濃度、精巣中総活性酸素種濃度の高値が認められた。なお、増加体重、左右精巣絶対重量、精巣中スーパーオキシドディスムターゼ比活性、精巣中精細管画像面積比、精巣間質画像面積比、精細管直径には影響は認められなかった。【16175】(△○P)→(10)①

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、動物入手及び投与開始時の日齢や投与量の記載に不整合がある点に注意を要すると判断された。

③Gao ら(2022)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 25mg/kg/day を 9 週齢から 28 日間経口投与経口投与した雄 Kunming マウスへの影響(遺伝子は脂質産生及び代謝関連でライディッヒ細胞中)が検討されている。その結果として、精巣中ラクトースデヒドロゲナーゼ比活性、精巣中コハク酸デヒドロゲナーゼ比活性、精細管 Stage VII~VIII 存在率、運動精子率、精巣上体中精子数、血清中テストステロン濃度、精巣中テストステロン濃度、ライディッヒ細胞中総コレステロール濃度、PCNA 蛋白質発現ライディッヒ細胞率、ライディッヒ細胞中 PCNA 蛋白質濃度、ライディッヒ細胞中 PLZF 蛋白質濃度、*pcna* mRNA 相対発現量、*pltf* mRNA 相対発現量、*hmgcs1* mRNA 相対発現量、*hmgcr* mRNA 相対発現量、*sreb1* mRNA 相対発現量の低値、精細管 Stage IX~XII 存在率、形態異常精子率、アポトーシス発生精細管率、精細管中アポトーシス細胞数、*ppara* mRNA 相対発現量、ライディッヒ細胞中 PPARα 蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、体重、摂餌量、飲水量、精巣絶対及び相対重量、精細管 Stage I~VI 存在率、精巣中酸性フォスファターゼ比活性、精巣中アルカリ性フォスファターゼ比活性、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中エストラジオール濃度、精巣中エストラジオール濃度、血清中遊離テストステロン濃度、*stra8* mRNA 相対発現量、*scp3* mRNA 相対発現量、*star* mRNA 相対発現量、*acbd3* mRNA 相対発現量、*cyp11a1* mRNA 相対発現量、*hsd3b1* mRNA 相対発現量、*cyp17a1* mRNA 相対発現量、*hsd17b3* mRNA 相対発現量、*cyp19a1* mRNA 相対発現量、*scarb1* mRNA 相対発現量、*ldlr* mRNA 相対発現量、*pparβ* mRNA 相対発現量、*pparγ* mRNA 相対発現量、ライディッヒ細胞中 PPARβ 蛋白質相対発現量、ライディッヒ細胞中 PPARγ 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。【16244】(△○P)→(11)①

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用

④Ullah ら(2019)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich)、0.005、0.025、0.05ppm (飲水中濃度)を妊娠 1 日目から妊娠 21 日目(出産 1 日目)まで飲水投与した SD ラットへの影響(特に記載しない限り 80 日齢雄仔動物について測定)が検討されている。その結果として、0.025ppm 以上のばく露群で精巣中ペルオキシダーゼ比活性、精巣上体中精子数、精巣中精細管画像面積比、運動精子率の低値、0.05ppm のばく露群で精巣絶対重量、日毎精子産生数、精巣間質画像面積比、精巣内腔画像面積比、精細管直径、血漿中テストステロン濃度、血漿中黄体形成ホルモン濃度、血漿中卵胞刺激ホルモン濃度、精巣中精原細胞数、精巣中精母細胞数、精巣中精子細胞数、精巣中カタラーゼ比活性、精巣中スーパーオキシドディスムターゼ比活性の低値、体重、精巣中過酸化脂質濃度、精巣中活性酸素種濃度、精細管上皮厚、血漿中エストラジオール濃度の高値が認められた。なお、包皮分離日(35 日齢以後観察)、左右精巣絶対重量、左右精巣上体絶対重量、前立腺絶対重量、脂肪体絶対重量、腎臓

絶対重量、肝臓絶対重量、副腎絶対重量、精巣上体尾への精子移行所要時間、精巣上皮画像面積比、生存精子率には影響は認められなかった。

また、出産時の母動物増加体重、同腹産仔数、新生仔雄性比、雄新生仔体重、雄新生仔肛門生殖突起間距離、雄新生仔乳頭残留率にも影響は認められなかった。【16170】(△○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、精巣毒性

### (3) エストロゲン作用

①Qiu ら(2016)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、98%) 100 $\mu$ g/L (設定濃度)に受精後 2 時間 (0 hpf)から 120hpf までばく露した性腺刺激ホルモン放出ホルモン応答配列をもつタグ化した遺伝子組み換え Brass GnRH3-EMD ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響(遺伝子は生殖及び神経内分泌関連)が検討されている。その結果として、視床下部中 GnRH3 ニューロン数、全身中 *kiss1r* mRNA 相対発現量、全身中 *gnrh3* mRNA 相対発現量、全身中 *lh $\beta$*  mRNA 相対発現量、全身中 *fsh $\beta$*  mRNA 相対発現量、全身中 *era* mRNA 相対発現量の高値が認められた。これらの影響はエストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182-780 1  $\mu$ M、甲状腺ホルモン受容体アンタゴニスト AMIO (アミオダロン) 1  $\mu$ M 又はアロマターゼ阻害剤 FAD (ファドロゾール) 1  $\mu$ M 共存下で消失した。なお、全身中 *kiss1r* mRNA 相対発現量、末梢神経中 GnRH3 ニューロン数には影響は認められなかった。【16320】(○○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用

②Moreman ら(2017)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、97%) 10,000、20,000、50,000 $\mu$ g/L (設定濃度)に受精後 0 時間 (0 hpf)から 120hpf までばく露したエストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子を導入した Tg(ER:Gal4ff)(UAS:GFP)遺伝子組み換えゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、20,000 $\mu$ g/L 以上のばく露区で心臓中緑色蛍光蛋白質相対発現量の高値、50,000 $\mu$ g/L のばく露区で肝臓中緑色蛍光蛋白質相対発現量、尾部体節(tail somite)中緑色蛍光蛋白質相対発現量の高値が認められた。これらの影響はエストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182-780 1  $\mu$ M 共存下で消失した。【16309】(△○P)

③le Fol ら(2017)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 0.25、0.5、1、2.5、5、10、20、30、60 $\mu$ M(=62.6、125、250、626、1,250、2,500、5,000、7,500、15,000 $\mu$ g/L)(設定濃度)に受精後 0 日目 (0 dpf)から 4 dpf までばく露したエストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子を導入した遺伝子組み換え *cyp19a1b*-GFP ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、30 $\mu$ M(=7,500 $\mu$ g/L)以上のばく露区で緑色蛍光蛋白質相対発現量(脑中アロマターゼ相対発現量)の高値が認められた。

また、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 0.003~10 $\mu$ M(=0.75~2,500 $\mu$ g/L)の濃度に 72 時間ばく露したゼブラフィッシュ肝細胞 ZELH-zfER $\beta$ 1 (ゼブラフィッシュエストロゲン受容体  $\beta$ 1 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、EC<sub>50</sub> 値 1.106 $\mu$ M(=277 $\mu$ 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、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 0.003~10 $\mu$ M(=0.75~2,500 $\mu$ g/L)の濃度に 72 時間ばく露したゼブラフィッシュ肝細胞 ZELH-zfER $\beta$ 2 (ゼブラフィッシュエストロゲン受容体  $\beta$ 2 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、EC<sub>50</sub> 値 2.468μM(=618μg/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

また、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 0.003~10μM(=0.75~2,500μg/L)の濃度に 72 時間ばく露したゼブラフィッシュ肝細胞 ZELH-zfERα (ゼブラフィッシュエストロゲン受容体 α1 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、EC<sub>50</sub> 値 4.058μM(=1,020μg/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。【16314】(△○P)

- ④Pelch ら(2019)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、99.9%) 0.003、0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10μM(=0.751、2.5、7.51、25、75.1、250、751、2,500μg/L)の濃度に 18 時間ばく露したヒト肝臓がん細胞 HepG2 (ヒトエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub> 値 1.3μM(=330μg/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。なお、1 μM 区でのルシフェラーゼ発現誘導は、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182,782 10μM 共存下で消失した。

また、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、99.9%) 0.003、0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10μM(=0.751、2.5、7.51、25、75.1、250、751、2,500μg/L)の濃度に 18 時間ばく露したヒト肝臓がん細胞 HepG2 (ヒトエストロゲン受容体 β を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、EC<sub>50</sub> 値 2.1μM(=530μg/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。【15825】(○○P)→(5)①、(6)①、(7)①、(12)②

- ⑤Durcik ら(2022)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、98%) 0.01、0.1、0.5、1、2 μM(=2.5、25、125、250、500μg/L)の濃度に 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 α を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討(OECD TG455 準拠)されている。その結果として、EC<sub>50</sub> 値 4.87μM(=1,22μg/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。【16160】(○○P)→(5)②

- ⑥Skledar ら(2016)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、98%) 0.03~300μM(=7.5~75,100μg/L)の濃度に 48 時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(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、EC<sub>50</sub> 値 84μM(=21,000μg/L)の濃度で β-ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。【16317】(△○P)→(5)③、(6)②、(7)②、(8)②、(9)②

#### (4) エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用

- ①Cao ら(2017)によって、ビスフェノール S (J & K Scientific、98%) 0.01、0.1、1、10、100μM(=2.5、25、250、2,500、25,000μg/L)の濃度で G 蛋白質共役型エストロゲン受容体(GPER: G protein-coupled estrogen receptor)による 17β-エストラジオール 50nM 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 45.2μM(=11,300μg/L)の濃度で結合阻害が認められた。【16177】(○○P)→(12)③

## (5) 抗エストロゲン作用

①Pelch ら(2019)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、99.9%) 0.003、0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10 $\mu$ M(=0.751、2.5、7.51、25、75.1、250、751、2,500 $\mu$ g/L)の濃度に 18 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 1 nM 共存下)したヒト肝臓がん細胞 HepG2 (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)が検討されたが、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、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、99.9%) 0.003、0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10 $\mu$ M(=0.751、2.5、7.51、25、75.1、250、751、2,500 $\mu$ g/L)の濃度に 18 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 1 nM 共存下)したヒト肝臓がん細胞 HepG2 (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。【15825 再】(○●N)

②Durcik ら(2022)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、98%) 0.01、0.1、0.5、1、2  $\mu$ M(=2.5、25、125、250、500 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 1 nM 共存下)したヒト子宮頸がん細胞 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の阻害は認められなかった。【16160 再】(○●N)

③Skledar ら(2016)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、98%) 0.03~300 $\mu$ M(=7.5~75,100 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 1 nM 共存下)した酵母(ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導の阻害は認められなかった。【16317 再】(△●N)

④Okazaki ら(2017)によって、ビスフェノール S (東京化成工業、98%) 25 $\mu$ M(=6,260 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(17 $\beta$ -エストラジオール 1 nM 共存下)したヒト乳がん細胞 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)が検討されているが、ルシフェラーゼ発現誘導の阻害は認められなかった。【16176】(○●N)→(12)④

なお、本試験結果の解釈にあたっては、ビスフェノール AF においては作用が認められている点に注意を要すると判断された。

## (6) アンドロゲン作用

①Pelch ら(2019)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、99.9%) 0.003、0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10 $\mu$ M(=0.751、2.5、7.51、25、75.1、250、751、2,500 $\mu$ g/L)の濃度に 18 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MDA-kb2 (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。【15825 再】(○●N)

②Skledar ら(2016)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、98%) 0.03~300 $\mu$ M(=7.5~75,100 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露した酵母(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(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  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導は認められなかった。【16317 再】(△●N)

## (7) 抗アンドロゲン作用

- ①Pelch ら(2019)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、99.9%) 0.003、0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10 $\mu$ M(=0.751、2.5、7.51、25、75.1、250、751、2,500 $\mu$ g/L)の濃度に 18 時間ばく露(テストステロン 1 nM 共存下)したヒト乳がん細胞 MDA-kb2 (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。【15825 再】(○○N)
- ②Skledar ら(2016)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、98%) 0.03~300 $\mu$ M(=7.5~75,100 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露(ジヒドロテストステロン 30nM 共存下)した酵母(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(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  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導の阻害は認められなかった。【16317 再】(△○N)

## (8) 甲状腺ホルモン作用

- ①Lu ら(2018)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、98%) 0.000005~50 $\mu$ M(=0.00125~12,500 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した酵母(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  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導は認められなかった。【16302 再】(△○N)
- ②Skledar ら(2016)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、98%) 0.001~200 $\mu$ M(=0.25~50,100 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(時間の記載なし)したラット下垂体前葉腺腫細胞 GH3 (甲状腺ホルモン受容体を発現)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。【16317 再】(△○N)

## (9) 抗甲状腺ホルモン作用

- ①Lu ら(2018)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、98%) 0.000005~50 $\mu$ M(=0.00125~12,500 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(トリヨードサイロニン 100 $\mu$ M 共存下)した酵母(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  $\beta$ -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、IC<sub>10</sub> 値 0.312 $\mu$ M(=78.1 $\mu$ g/L)の濃度で  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導の阻害が認められた。【16302 再】(△○P)
- なお、本試験結果の解釈にあたっては、共存トリヨードサイロニン濃度が極めて高い点(単位の誤記載の可能性もあり)に注意を要すると判断された。
- ②Skledar ら(2016)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、98%) 0.001~200 $\mu$ M(=0.25~50,100 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(トリヨードサイロニン 0.25nM 共存下、時間の記載なし)したラット下垂体前葉腺腫細胞 GH3 (甲状腺ホルモン受容体を発現)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。【16317 再】(△○N)

## (10) ラット精巣組織への影響

- ①Ullah ら(2018)によって、ビスフェノール S (Santa Cruz Biotechnologies, 99%) 1、10、100 $\mu$ g/L の濃度に 2 時間ばく露したラット精巣組織(成熟雄 SD ラット由来)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu$ g/L の濃度区で総活性酸素種濃度、過酸化脂質濃度の高値が認められた。なお、テストステロン濃度、カタラーゼ比活性、ペルオキシダーゼ比活性、スーパーオキシドディスムターゼ比活性には影響は認められなかった。【16175 再】(○?)

想定される作用メカニズム：過酸化作用

## (11) マウスライディッヒ細胞への影響

- ①Gao ら(2022)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 200 $\mu$ M(=50,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したマウスライディッヒ細胞 TM3 への影響(遺伝子はステロイド産生関連)が検討されている。その結果として、テストステロン産生量、総コレステロール濃度、*hmgcs1* mRNA 相対発現量、*hmgcr* mRNA 相対発現量、*sreb2* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、生存率、*scarb1* mRNA 相対発現量、*ldlr* mRNA 相対発現量、*star* mRNA 相対発現量、*acbd3* mRNA 相対発現量、*cyp11a1* mRNA 相対発現量、*hsd3b1* mRNA 相対発現量、*cyp17a1* mRNA 相対発現量、*has17b3* mRNA 相対発現量、*cyp19a1* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 200 $\mu$ M(=50,000 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露(shRNA による PPAR $\alpha$  発現抑制条件下)したマウスライディッヒ細胞 TM3 への影響(遺伝子はステロイド産生関連)が検討されているが、テストステロン産生量、総コレステロール濃度、*scarb1* mRNA 相対発現量、*ldlr* mRNA 相対発現量、*hmgcs1* mRNA 相対発現量、*hmgcr* mRNA 相対発現量、*sreb2* mRNA 相対発現量、*star* mRNA 相対発現量、*acbd3* mRNA 相対発現量、*cyp11a1* mRNA 相対発現量、*hsd3b1* mRNA 相対発現量、*cyp17a1* mRNA 相対発現量、*has17b3* mRNA 相対発現量、*cyp19a1* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16244 再】(△○P)

想定される作用メカニズム：ステロイド合成抑制作用

## (12) ヒト乳がん細胞への影響

- ①Williams と Darbre (2019)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 0.01 $\mu$ M(=2.50 $\mu$ g/L)の濃度に 7 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、*CYP19A1* mRNA 相対発現量、アロマトラーゼ相対発現量の高値が認められた。

また、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 2  $\mu$ M(=500 $\mu$ g/L)の濃度に 3 日間ばく露(テストステロン 1 nM 共存下)したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、細胞増殖率、17 $\beta$ -エストラジオール産生量の高値が認められた。

また、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 0.01 $\mu$ M(=2.50 $\mu$ g/L)の濃度に 7 日間ばく露したヒト乳がん細胞 ZR-75-1 への影響が検討されている。その結果として、*CYP19A1* mRNA 相対発現量、アロマトラーゼ相対発現量の高値が認められた。

また、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 2  $\mu$ M(=500 $\mu$ g/L)の濃度に 3 日間ばく露(テストステロン 1 nM 共存下)したヒト乳がん細胞 ZR-75-1 への影響が検討されている。その結果として、細胞増殖率、17 $\beta$ -エストラジオール産生量の高値が認められた。

また、ブチルパラベンビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 0.01 $\mu$ M(=2.50 $\mu$ g/L)の濃度に 7 日間ばく露したヒト乳腺線維芽細胞 HMF3A への影響が検討されている。その結果として、*CYP19A1* mRNA 相

対発現量、アロマターゼ相対発現量の高値が認められた。

また、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 2  $\mu\text{M}$ (=500 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 3 日間ばく露(テストステロン 1 nM 共存下)したヒト乳腺線維芽細胞 HMF3A への影響が検討されている。その結果として、細胞増殖率、17 $\beta$ -エストラジオール産生量の高値が認められた。【16293】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、MCF-7 細胞と ZR-75-1 細胞はエストロゲン受容体  $\alpha$ 、エストロゲン受容体  $\beta$ 、プロゲステロン受容体を発現( $\text{ER}\alpha^+$ 、 $\text{ER}\beta^+$ 、 $\text{PR}^+$ )しているのに対し、HMF3A 細胞はエストロゲン受容体  $\beta$ 、プロゲステロン受容体を発現( $\text{ER}\alpha^-$ 、 $\text{ER}\beta^+$ 、 $\text{PR}^+$ )している点に注意を要すると判断された。

- ②Pelch ら(2019)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich、99.9%) 1  $\mu\text{M}$ (=250 $\mu\text{g/L}$ )の濃度にばく露(時間の記載なし)したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、エストロゲン受容体応答遺伝子 *greb1* mRNA 相対発現量、*pgr* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

【15825 再】(○○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

- ③Cao ら(2017)によって、ビスフェノール S (J & K Scientific、98%) 1  $\mu\text{M}$ (=250 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 SKBR3 への影響が検討されている。その結果として、cAMP 産生量、細胞内カルシウム動員(calcium mobilization)率の高値が認められた。

また、これらの影響は、G 蛋白質共役型エストロゲン受容体(GPER: G protein-coupled estrogen receptor)選択的阻害剤 G15 10 $\mu\text{M}$  共存下で抑制された。【16177 再】(○○P)

想定される作用メカニズム：G 蛋白質共役型エストロゲン受容体(GPER)活性化作用

- ④Okazaki ら(2017)によって、ビスフェノール S (東京化成工業、98%) 25 $\mu\text{M}$ (=6,260 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されているが、*ER* $\alpha$  mRNA 相対発現量、*ER* $\beta$  mRNA 相対発現量、*ER* $\beta$  蛋白質相対発現量、*Cdc2* (細胞周期進行に関連する *ER* $\alpha$  応答遺伝子) mRNA 相対発現量、*Egr-1* (early growth response-1 である *ER* $\beta$  応答遺伝子) mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16176 再】(○○)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用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、ビスフェノール AF 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。

### (13) ヒト副腎皮質上皮がん細胞への影響

- ①Feng ら(2016)によって、ビスフェノール S (東京化成工業、98%) 0.1、1、10、30、50、70 $\mu\text{M}$ (=25、250、2,500、7,500、12,500、17,500 $\mu\text{g/L}$ )の濃度に 48 時間ばく露(dbcAMP 0.1mM 共存下)したヒト副腎皮質上皮がん細胞 H295R への影響(遺伝子はステロイド産生関連)が検討されている。その結果として、0.1 $\mu\text{M}$ (=25 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度区でアルドステロン産生量の低値、1、10 $\mu\text{M}$ (=250、2,500 $\mu\text{g/L}$ )の濃度区でプロゲステロン産生量の高値(50、70 $\mu\text{M}$  区では低値)、1、10 $\mu\text{M}$ (=250、2,500 $\mu\text{g/L}$ )の濃度区で *CYP11B1* mRNA 相対発現量の高値、10 $\mu\text{M}$ (=2,500 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度区でテストステロン産生量の低値、30 $\mu\text{M}$ (=7,500 $\mu\text{g/L}$ )以上の濃度区でコルチゾール産生量、*CYP17A1* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、17 $\beta$ -エストラジオール産生量、*StAR* mRNA 相対発現量、*FDX-1* mRNA 相対発現量、*CYP11A1* mRNA 相対発現量、*HSD3B2* mRNA 相対発現量、*CYP21A2* mRNA 相対発現量、*CYP11B2* mRNA 相対発現量、17 $\beta$ -HSD mRNA 相対発現量、*CYP19A1* mRNA 相対発現量には影響は



認められなかった。【16319】(△○P)

想定される作用メカニズム：テストステロン産生抑制、アルドステロン産生抑制、コルチゾール産生抑制、プロゲステロン産生抑制

#### (14) マウス膵島細胞への影響

①Marroqui ら(2021)によって、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 0.001 $\mu$ M(=0.25 $\mu$ g/L)の濃度に 10 時間ばく露した C57BL/6J マウス膵島細胞への影響が検討されている。その結果として、K<sub>ATP</sub> チャンネル活性の低値が認められた。

また、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 0.001、0.1、1  $\mu$ M(=0.25、25、250 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露した C57BL/6J マウス膵島細胞への影響が検討されている。その結果として、0.001 $\mu$ M(=0.25 $\mu$ g/L)の濃度区で *Cacnale* (Ca<sup>++</sup>チャンネルサブユニット) mRNA 相対発現量、*Kcnmal* (K<sup>+</sup>チャンネルサブユニット) mRNA 相対発現量、*Scn9a* (Na<sup>+</sup>チャンネルサブユニット) mRNA 相対発現量、*Kcnip* (K<sup>+</sup>チャンネルサブユニット) mRNA 相対発現量の低値が認められた。

また、ビスフェノール S (Sigma-Aldrich) 0.001、1  $\mu$ M(=0.25、250 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露した C57BL/6J マウス膵島細胞への影響が検討されている。その結果として、0.001 $\mu$ M(=0.25 $\mu$ g/L)以上の濃度区でインスリン分泌量(グルコース 8.3mM 共存下)の高値が認められた(グルコース 16.7mM 共存下では 0.001 $\mu$ M 区のみで高値)。なお、インスリン含有量には影響は認められなかった。

なお、エストロゲン受容体  $\beta$  ノックアウトマウス由来の膵島細胞ではこれらの影響は認められなかった。【16267】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

#### (15) マウス前駆脂肪細胞への影響

①Martínez ら(2020)によって、ビスフェノール S (Sigma) 32 $\mu$ M(=8,000 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したマウス前駆脂肪細胞への影響(蛋白質は脂質産生関連)が検討されている。その結果として、脂質濃度(Oil Red O 染色後の 518 nm 吸光度)、転写因子 C/EBP $\alpha$  (CCAAT/ enhancer binding protein  $\alpha$ ) 蛋白質相対発現量、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(PPAR $\gamma$ : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$ )蛋白質相対発現量、脂肪酸結合蛋白質(FABP4: fatty acid binding protein 4)相対発現量の高値が認められた。なお、セリンスレオニンキナーゼ Ser 473 リン酸化率には影響は認められなかった。【16275】(△○P)

想定される作用メカニズム：脂肪細胞分化促進作用、中性脂質貯蔵能増強作用

#### (16) ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体への影響

①Li ら(2021)によって、ビスフェノール S (J & K Scientific、98%) 0.1、1、10、25、50 $\mu$ M(=25、250、2,500、6,260、12,500 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト肝臓細胞 HL-7702 への影響(ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 PPAR  $\beta/\delta$  標的遺伝子発現)が検討されている。その結果として、1  $\mu$ M(=250 $\mu$ g/L)以上の濃度区で *ANGPTL4* (angiopoietin like 4) mRNA 相対発現量の高値、25 $\mu$ M(=6,260 $\mu$ g/L)以上の濃度区で *PDK4* (pyruvate dehydrogenase kinase 4) mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、ビスフェノール S (J & K Scientific、98%) 0.5、1、2.5、5、10、25、50、100、250、500 $\mu$ M(=125、250、626、1,250、2,500、6,260、12,500、25,000、62,600、125,000 $\mu$ g/L)の濃度で PPAR  $\beta/\delta$  リガンド

結合ドメインによる蛍光プローブ標識 Dex-fl 10nM 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>20</sub> 値 403μM(=101,000μg/L)の濃度で結合阻害が認められた。

なお、ビスフェノール S (J & K Scientific、98%) 0.1、1、10、25、50μM(=25、250、2,500、6,260、12,500μg/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト胎児腎臓由来細胞 HEK293 (PPAR β/δ を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(PPAR β/δ 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。【16162】(○?)  
想定される作用メカニズム：脂肪酸代謝 PPARβ/δ 関連代謝系促進作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、PPAR β/δ 三次元結晶構造の結合ポケットに対する molecular docking analysis も実施しており、ビスフェノール S にドッキング能が認められたとしてい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、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用、精巣でのホルモン合成への影響、精巣及び卵巣でのホルモン産生への影響、甲状腺ホルモン様作用、甲状腺ホルモン合成及び代謝への影響、視床下部一下垂体一甲状腺軸への作用、グルコース代謝への影響、インシュリン分泌促進作用、脳内生殖神経内分泌亢進を示すこと、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、G 蛋白質共役型エストロゲン受容体(GPER)活性化作用、テストステロン産生抑制、アルドステロン産生抑制、コルチゾール産生抑制、プロゲステロン産生抑制、抗甲状腺ホルモン作用、ステロイド合成抑制、脂肪細胞分化促進作用、中性脂質貯蔵能増強作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 6 に示した。

表 6 信頼性評価のまとめと今後の対応案

物質名：ビスフェノール S

| 区分      |                                     | 著者<br>【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 | 視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用、精巣でのホルモン合成への影響、毒性 | ①Ji ら(2013)<br>【16323】  | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|         | 視床下部一下垂体一甲状腺軸への作用、甲状腺ホルモン代謝への影響     | ②Wei ら(2023)<br>【16232】 | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |

| 区分                                               | 著者<br>【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> |
| 視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、精巣及び卵巣でのホルモン産生への影響             | ③Hao ら(2022)<br>【16243】          | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| 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、毒性                   | ④Qin ら(2021)<br>【16257】          | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| 視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、甲状腺ホルモン合成への作用                  | ⑤Wei ら(2018)<br>【16298】          | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| 視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、グルコース代謝への影響                    | ⑥Zhao ら(2018)<br>【16311】         | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| 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、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、毒性 | ⑦Naderi ら(2014)<br>【16322】       | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| 毒性                                               | ⑧Zhang ら(2023)<br>【16225】        | ○                                                                                     | ?                             | —                                               |
| インシュリン分泌促進作用                                     | ⑨Gyimah ら(2021)<br>【16264】       | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| 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                     | ⑩Zhang ら(2017)<br>【16313】        | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| 不明                                               | ⑪Qiu ら(2019)<br>【16291】          | △                                                                                     | ?                             | —                                               |
| 不明                                               | ⑫Lu ら(2018)<br>【16302】→(8)①、(9)① | △                                                                                     | ?                             | —                                               |
| 視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用                                | ⑬Lee ら(2019)<br>【16294】          | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| 不明                                               | ⑭Han ら(2022)<br>【16235】          | △                                                                                     | ?                             | —                                               |
| 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              | ⑮Park ら(2022)<br>【16249】         | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| エストロゲン作用は認められなかった                                | ⑯Yang ら(2022)<br>【16238】         | △                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
| エストロゲン作用及び抗エストロゲン作用は認められなかった                     | ⑰Mu ら(2018)<br>【16307】           | △                                                                                     | ○N                            | ×                                               |

| 区分                                    |                                   | 著者<br>【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)生殖影響                               | 抗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      | ①Ijaz ら(2020)【16171】                             | △                                                                                     | ○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      | ②Ullah ら(2018)【16175】→(10)①                      | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                                       | 視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用                 | ③Gao ら(2022)【16244】→(11)①                        | △                                                                                     | ○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、精巣毒性 | ④Ullah ら(2019)【16170】                            | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (3)エストロゲン作用<br>※①では視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用も |                                   | ①Qiu ら(2016)【16320】※                             | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                                       |                                   | ②Moreman ら(2017)【16309】                          | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                                       |                                   | ③le Fol ら(2017)【16314】                           | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                                       |                                   | ④Pelch ら(2019)【15825】→(5)①、(6)①、(7)①、(12)②       | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                                       |                                   | ⑤Durcik ら(2022)【16160】→(5)②                      | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                                       |                                   | ⑥Skledar ら(2016)【16317】→(5)③、(6)②、(7)②、(8)②、(9)② | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (4)エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用                |                                   | ①Cao ら(2017)【16177】→(12)③                        | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (5)抗エストロゲン作用                          |                                   | ①Pelch ら(2019)【15825 再】                          | ○                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
|                                       |                                   | ②Durcik ら(2022)【16160 再】                         | ○                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
|                                       |                                   | ③Skledar ら(2016)【16317 再】                        | △                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
|                                       |                                   | ④Okazaki ら(2017)【16176】→(12)④                    | ○                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
| (6)アンドロゲン作用                           |                                   | ①Pelch ら(2019)【15825 再】                          | ○                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
|                                       |                                   | ②Skledar ら(2016)【16317 再】                        | △                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
| (7)抗アンドロゲン作用                          |                                   | ①Pelch ら(2019)【15825 再】                          | ○                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
|                                       |                                   | ②Skledar ら(2016)【16317 再】                        | △                                                                                     | ○N                            | ×                                               |

| 区分                                     |                                                | 著者<br>【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> |
| (8)甲状腺ホルモン作用                           |                                                | ①Lu ら(2018)<br>【16302 再】             | △                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
|                                        |                                                | ②Skledar ら(2016)<br>【16317 再】        | △                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
| (9)抗甲状腺ホルモン作用                          |                                                | ①Lu ら(2018)<br>【16302 再】             | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                                        |                                                | ②Skledar ら(2016)<br>【16317 再】        | △                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
| (10)ラット<br>精巣組織への影響                    | 過酸化作用                                          | ①Ullah ら(2018)<br>【16175 再】          | ○                                                                                     | ?                             | —                                               |
| (11)マウス<br>ライディッ<br>ヒ細胞への<br>影響        | ステロイド合成抑制<br>作用                                | ①Gao ら(2022)<br>【16244 再】            | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (12)ヒト乳<br>がん細胞への<br>影響                | エストロゲン作用                                       | ①Williams と Darbre<br>(2019) 【16293】 | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                                        | エストロゲン作用                                       | ②Pelch ら(2019)<br>【15825 再】          | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                                        | G 蛋白質共役型エストロゲン受容体(GPER)活性化作用                   | ③Cao ら(2017)<br>【16177 再】            | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                                        | エストロゲン作用は認められなかった                              | ④Okazaki ら(2017)<br>【16176 再】        | ○                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
| (13)ヒト副<br>腎皮質上皮<br>がん細胞への<br>影響       | テストステロン産生抑制、アルドステロン産生抑制、コルチゾール産生抑制、プロゲステロン産生抑制 | ①Feng ら(2016)<br>【16319】             | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (14)マウス<br>睪島細胞への<br>影響                | エストロゲン作用                                       | ①Marroqui ら(2021)<br>【16267】         | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (15)マウス<br>前駆脂肪細胞への<br>影響              | 脂肪細胞分化促進作用、中性脂質貯蔵能増強作用                         | ①Martínez ら(2020)<br>【16275】         | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (16)ペルオ<br>キシソーム<br>増殖因子活性化受容体への<br>影響 | 脂肪酸代謝亢進<br>PPAR $\beta/\delta$ 結合阻害作用          | ①Li ら(2021)<br>【16162】               | ○                                                                                     | ?                             | —                                               |

| 区分               | 著者<br>【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、エストロゲン様作用、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、精巣でのホルモン合成への影響、精巣及び卵巣でのホルモン産生への影響、甲状腺ホルモン様作用、甲状腺ホルモン合成及び代謝への影響、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、グルコース代謝への影響、インシュリン分泌促進作用、脳内生殖神経内分泌亢進を示すこと、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、G蛋白質共役型エストロゲン受容体(GPER)活性化作用、テストステロン産生抑制、アルドステロン産生抑制、コルチゾール産生抑制、プロゲステロン産生抑制、抗甲状腺ホルモン作用、ステロイド合成抑制、脂肪細胞分化促進作用、中性脂質貯蔵能増強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

- Cao LY, Ren XM, Li CH, Zhang J, Qin WP, Yang Y, Wan B and Guo LH (2017) Bisphenol AF and bisphenol B exert higher estrogenic effects than bisphenol A via g protein-coupled estrogen receptor pathway. *Environmental Science & Technology*, 51 (19), 11423-11430. 【16177】
- Durcik M, Hiti L, Tomašič T and Mašič LP (2022) New bisphenol A and bisphenol S analogs: Evaluation of their hER $\alpha$  agonistic and antagonistic activities using the OECD 455 *in-vitro* assay and molecular modeling. *Chemico-Biological Interactions*, 354, 109820. 【16160】
- Feng Y, Jiao Z, Shi J, Li M, Guo Q and Shao B (2016) Effects of bisphenol analogues on steroidogenic gene expression and hormone synthesis in H295R cells. *Chemosphere*, 147, 9-19. 【16319】
- Gao Z, Liu S, Tan L, Gao X, Fan W, Ding C, Li M, Tang Z, Shi X, Luo Y and Song S (2022) Testicular toxicity of bisphenol compounds: Homeostasis disruption of cholesterol/testosterone via PPAR $\alpha$  activation. *Science of the Total Environment*, 836, 155628. 【16244】
- Gyimah E, Dong X, Xu H, Zhang Z and Mensah JK (2021) Embryonic Exposure to Low Concentrations of Bisphenol A and S Altered Genes Related to Pancreatic  $\beta$ -Cell Development and DNA Methyltransferase in Zebrafish. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 80 (2), 450-460. 【16264】
- Han Y, Liu Y, Wang M and Xue Y (2022) Effects of BPZ, BPC, BPF, and BPS Exposure on adult zebrafish (*Danio rerio*): Accumulation, oxidative stress, and gene expression. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19 (23), 15784. 【16235】
- Hao L, Ru S, Qin J, Wang W, Zhang J, Wei S, Wang J and Zhang X (2022) Transgenerational effects of parental bisphenol S exposure on zebrafish (*Danio rerio*) reproduction. *Food and Chemical Toxicology*, 165, 113142. 【16243】
- Ijaz S, Ullah A, Shaheen G and Jahan S (2020) Exposure of BPA and its alternatives like BPB, BPF and BPS impair subsequent reproductive potentials in adult female Sprague Dawley rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 30 (1), 60-72. 【16171】
- Ji K, Hong S, Kho Y and Choi K (2013) Effects of bisphenol s exposure on endocrine functions and reproduction of zebrafish. *Environmental Science & Technology*, 47 (15), 8793-8800. 【16323】
- le Fol V, Aït-Aïssa S, Sonavane M, Porcher JM, Balaguer P, Cravedi JP, Zalko D and Brion F (2017) *In vitro* and *in vivo* estrogenic activity of BPA, BPF and BPS in zebrafish-specific assays. *Ecotoxicology and Environmental*

- Safety, 142, 150-156. 【16314】
- Lee S, Kim C, Shin H, Kho Y and Choi K (2019) Comparison of thyroid hormone disruption potentials by bisphenols A, S, F, and Z in embryo-larval zebrafish. *Chemosphere*, 221, 115-123. 【16294】
- Li C-H, Zhang D-H, Jiang L-D and Guo L-H (2021) Binding and activity of bisphenol analogues to human peroxisome proliferator-activated receptor  $\beta/\gamma$ . *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 226, 112849. 【16162】
- Lu L, Zhan T, Ma M, Xu C, Wang J, Zhang C, Liu W and Zhuang S (2018) Thyroid disruption by bisphenol S analogues via thyroid hormone receptor  $\beta$ : *in vitro*, *in vivo*, and molecular dynamics simulation study. *Environmental Science & Technology*, 52 (11) 6617-6625. 【16302】
- Marroqui L, Martinez-Pinna J, Castellano-Muñoz M, Dos Santos RS, Medina-Gali RM, Soriano S, Quesada I, Gustafsson JA, Encinar JA and Nadal A (2021) Bisphenol-S and Bisphenol-F alter mouse pancreatic  $\beta$ -cell ion channel expression and activity and insulin release through an estrogen receptor ER  $\beta$  mediated pathway. *Chemosphere*, 265, 129051. 【16267】
- Martínez M, Blanco J, Rovira J, Kumar V, Domingo JL and Schuhmacher M (2020) Bisphenol A analogues (BPS and BPF) present a greater obesogenic capacity in 3T3-L1 cell line. *Food and Chemical Toxicology*, 140, 111298. 【16275】
- Moreman J, Lee O, Trznadel M, David A, Kudoh T and Tyler CR (2017) Acute toxicity, teratogenic, and estrogenic effects of bisphenol A and its alternative replacements bisphenol S, bisphenol F, and bisphenol AF in zebrafish embryo-larvae. *Environmental Science & Technology*, 51 (21), 12796-12805. 【16309】
- Mu X, Huang Y, Li X, Lei Y, Teng M, Li X, Wang C and Li Y (2018) Developmental Effects and Estrogenicity of Bisphenol A Alternatives in a Zebrafish Embryo Model. *Environmental Science & Technology*, 52 (5), 3222-3231. 【16307】
- Naderi M, Wong MY and Gholami F (2014) Developmental exposure of zebrafish (*Danio rerio*) to bisphenol-S impairs subsequent reproduction potential and hormonal balance in adults. *Aquatic Toxicology*, 148, 195-203. 【16322】
- Okazaki H, Takeda S, Kakizoe K, Taniguchi A, Tokuyasu M, Himeno T, Ishii H, Kohro-Ikeda E, Haraguchi K, Watanabe K and Aramaki H (2017) Bisphenol AF as an inducer of estrogen receptor  $\beta$  (ER $\beta$ ): evidence for anti-estrogenic effects at higher concentrations in human breast cancer cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 40 (11), 1909-1916. 【16176】
- Park CB, Kim GE, On J, Pyo H, Park JW and Cho SH (2022) Sex-specific effects of bisphenol S with tissue-specific responsiveness in adult zebrafish: The antiandrogenic and antiestrogenic effects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 229, 113102. 【16249】
- Pelch KE, Li Y, Perera L, Thayer KA and Korach KS (2019) Characterization of estrogenic and androgenic activities for bisphenol A-like chemicals (bps): *In vitro* estrogen and androgen receptors transcriptional activation, gene regulation and binding profiles. *Toxicological Sciences*, 172 (1), 23-37. 【15825】
- Qiu W, Zhao Y, Yang M, Farajzadeh M, Pan C and Wayne NL (2016) Actions of bisphenol A and bisphenol S on the reproductive neuroendocrine system during early development in zebrafish. *Endocrinology*, 157 (2), 636-647. 【16320】
- Qiu W, Fang M, Liu J, Fu C, Zheng C, Chen B and Wang KJ (2019) *In vivo* actions of Bisphenol F on the reproductive neuroendocrine system after long-term exposure in zebrafish. *Science of the Total Environment*, 665, 995-1002. 【16291】
- Qin JY, Ru S, Wang W, Hao L, Wei S, Zhang J, Xiong JQ, Wang J and Zhang X (2021) Unraveling the mechanism of long-term bisphenol S exposure disrupted ovarian lipids metabolism, oocytes maturation, and offspring development of zebrafish. *Chemosphere*, 277, 130304. 【16257】
- Skledar DG, Schmidt J, Fic A, Klopčič I, Trontelj J, Dolenc MS, Finel M and Mašič LP (2016) Influence of metabolism on endocrine activities of bisphenol S. *Chemosphere*, 157, 152-159. 【16317】
- Ullah A, Pirzada M, Jahan S, Ullah H, Shaheen G, Rehman H, Siddiqui MF and Butt MA (2018) Bisphenol A and its analogs bisphenol B, bisphenol F and bisphenol S: Comparative *in vitro* and *in vivo* studies on the sperms and testicular tissues of rats. *Chemosphere*, 209, 508-516. 【16175】
- Ullah A, Pirzada M, Jahan S, Ullah H, Razak S, Rauf N, Khan MJ and Mahboob SZ (2019) Prenatal BPA and its analogs BPB, BPF and BPS exposure and reproductive axis function in the male offspring of Sprague Dawley

- rats. *Human and Experimental Toxicology*, 38 (12), 1344-1365. 【16170】
- Wei P, Zhao F, Zhang X, Liu W, Jiang G, Wang H and Ru S (2018) Transgenerational thyroid endocrine disruption induced by bisphenol S affects the early development of zebrafish offspring. *Environmental Pollution*, 243 (Pt B), 800-808. 【16298】
- Wei S, Qiu L, Ru S, Yang Y, Wang J and Zhang X (2023) Bisphenol S disrupts opsins gene expression and impairs the light-sensing function via antagonizing TH-TR $\beta$  signaling pathway in zebrafish larvae. *Food and Chemical Toxicology*, 172, 113588. 【16232】
- Williams GP and Darbre PD (2019) Low-dose environmental endocrine disruptors, increase aromatase activity, estradiol biosynthesis and cell proliferation in human breast cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 486, 55-64. 【16293】
- Yang L, Chen P, He K, Wang R, Chen G, Shan G and Zhu L (2022) Predicting bioconcentration factor and estrogen receptor bioactivity of bisphenol A and its analogues in adult zebrafish by directed message passing neural networks. *Environment International*, 169, 107536. 【16238】
- Zhang Y, Liu J, Jing C, Lu G, Jiang R, Zheng X, He C and Ji W (2023) Life history traits of low-toxicity alternative bisphenol S on *Daphnia magna* with short breeding cycles: A multigenerational study. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 253, 114682. 【16225】
- Zhao F, Jiang G, Wei P, Wang H and Ru S (2018) Bisphenol S exposure impairs glucose homeostasis in male zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147, 794-802. 【16311】
- Zhang DH, Zhou EX and Yang ZL (2017) Waterborne exposure to BPS causes thyroid endocrine disruption in zebrafish larvae. *PloS One*, 12 (5), e0176927. 【16313】



## VII. ブチルパラベン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ブチルパラベ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、甲状腺影響、糖脂質代謝影響、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、プレグナン X 受容体への作用、アンドロスタン受容体への作用、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体への作用、副腎皮質ホルモン作用、脂肪関連細胞への影響、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 10 件弱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。

また、ブチルパラベンは、EU REACH 規則において Endocrine disrupting properties (Article 57(f))としてヒト健康影響(エストロゲン作用)を根拠に高懸念物質(SVHC: Substances of Very High Concern)に選定されている。

#### (1) 生態影響

- ①Bjerregaard ら(2008)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich、99%)  $21 \pm 2.8$ 、 $53 \pm 22$ 、 $58 \pm 6$ 、 $76 \pm 10$ 、 $134 \pm 36$ 、 $369 \pm 36 \mu\text{g/L}$ (測定濃度。設定濃度 25、50、75、100、200、 $400 \mu\text{g/L}$  に相当)に 10 日間ばく露した未成熟ブラウントラウト(*Salmo trutta*)への影響が検討されている。その結果として、 $76 \mu\text{g/L}$  以上のばく露区で血漿中ビテロゲニン濃度、肝臓中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。【16473】(評価結果の略号：〇〇P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

- ②Alslev ら(2005)によって、ブチルパラベン(Sigma、98%) 50、 $250 \mu\text{g/L}$ (設定濃度。ばく露開始前実測濃度  $56 \pm 0.1$ 、 $330 \pm 2.0 \mu\text{g/L}$ 、ばく露終了後実測濃度  $55 \pm 1.4$ 、 $300 \pm 12 \mu\text{g/L}$  に相当)に 12 日間ばく露した未成熟雌雄ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響が検討されている。その結果として、 $250 \mu\text{g/L}$  のばく露区で血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。【16474】(〇〇P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、雌雄混合(雌雄比 9/19)での測定である点に注意を要すると判断された。

- ③Pedersen ら(2000)によって、ブチルパラベン(Sigma 又は Aldrich) 50、100、 $200 \text{mg/kg}$  を 0 日目と 6 日目に 2 回腹腔内投与した幼若ニジマス(*Oncorhynchus mykiss*)への影響(12 日目)が検討されている。その結果として  $100 \text{mg/kg}$  以上の投与区で血漿中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。【10798】(×一)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、試験魚及び試験物質の入手先、投与量の記載が不明瞭な点に注意を要すると判断された。

#### (2) 生殖影響

- ①Maske ら(2020)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich) 10、100、 $1,000 \text{mg/kg/day}$  を妊娠 6 日目から哺育 21 日目まで経口投与した Holtzman ラットへの影響が検討されている。その結果として、30 日齢雄仔動物において、 $10 \text{mg/kg/day}$  以上のばく露群で下垂体相対重量、血清中  $17\beta$ -エストラジオール濃度の低値、 $10 \text{mg/kg/day}$  のばく露群で体重の高値( $1,000 \text{mg/kg/day}$  群は低値)、 $100 \text{mg/kg/day}$  の

ばく露群で精巣上体相対重量の低値、前立腺相対重量の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で副腎皮質相対重量、精嚢相対重量の高値が認められた。なお、視床下部相対重量、精巣相対重量、血清中テストステロン濃度には影響は認められなかった。

また、40 日齢までの雄仔動物において、10、1,000mg/kg/day のばく露群で包皮分離日の遅延、100mg/kg/day 以上のばく露群で精巣下降日の遅延が認められた。

また、45 日齢雄仔動物において、10mg/kg/day 以上のばく露群で視床下部相対重量の低値、10mg/kg/day のばく露群で精嚢相対重量の高値(1,000mg/kg/day 群は低値)、100mg/kg/day 以上のばく露群で血清中テストステロン濃度の高値、100mg/kg/day のばく露群で副腎相対重量の低値、前立腺相対重量の高値(1,000mg/kg/day 群は低値)、下垂体相対重量の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で血清中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度の高値が認められた。なお、体重、精巣相対重量、精巣上体相対重量には影響は認められなかった。

また、75 日齢雄仔動物において、10mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中精細管数の低値、10mg/kg/day のばく露群で血清中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度の低値、体重の高値、精巣中 *ar* mRNA 相対発現量の高値(1,000mg/kg/day 群は低値)、精巣中 *era* mRNA 相対発現量の高値(100、1,000mg/kg/day 群の低値)、100mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中毎日精子産生数、精巣中 *star* mRNA 相対発現量の低値、100mg/kg/day のばく露群で運動精子率、精巣上体中精子数、精巣から精巣上体への精子移行時間の低値、血清中テストステロン濃度の低値(1,000mg/kg/day 群は高値)、下垂体相対重量の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で精巣中 Stage VII-VIII 精細管数の低値、血清中黄体形成ホルモン濃度、精巣中 *er $\beta$*  mRNA 相対発現量、精巣中 *ins* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、副腎相対重量、視床下部相対重量、精巣相対重量、精巣上体相対重量、精嚢相対重量、前立腺相対重量には影響は認められなかった。

また、75 日齢雄仔動物の非ばく露雌との妊孕試験において、100mg/kg/day 以上のばく露群で着床前胚消失率の高値、100mg/kg/day のばく露群で同腹着床部位数の低値、1,000mg/kg/day のばく露群で着床後胚消失率の高値が認められた。なお、妊孕率、同腹黄体数、交尾に至るまでの所要時間には影響は認められなかった。【16448】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用

②Maske ら(2018)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich、99%) 10、100、1,000mg/kg/day を妊娠 6 日目から哺育 21 日目まで経口投与した Holtzman ラットへの影響が検討されている。その結果として、30 日齢雌仔動物において、100mg/kg/day のばく露群で視床下部相対重量、血清中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度の低値、体重、卵巣中閉塞卵胞数の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で下垂体相対重量、血清中プロゲステロン濃度の低値、卵巣中二次卵胞数、副腎相対重量の高値が認められた。なお、卵巣相対重量、子宮相対重量、血清中テストステロン濃度、卵巣中原始卵胞数、卵巣中一次卵胞数には影響は認められなかった。

また、40 日齢までの雌仔動物において、10、1,000mg/kg/day のばく露群で発情周期日数、発情周期に占める発情期日数の低値、100mg/kg/day 以上のばく露群で膣開口日の遅延が認められた。なお、発情周期に占める発情間期日数、発情周期に占める発情前期日数には影響は認められなかった。

また、45 日齢雌仔動物において、10、100mg/kg/day のばく露群で卵巣相対重量の低値、体重の高値、10mg/kg/day のばく露群で下垂体相対重量の低値、100mg/kg/day のばく露群で血清中テストステロン濃度の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で血清中プロゲステロン濃度の低値、卵巣中一次卵胞数の高値が認められた。なお、副腎相対重量、視床下部相対重量、子宮相対重量、血清中 17 $\beta$ -エ

ストラジオール濃度、卵巣中原始卵胞数、卵巣中二次卵胞数、卵巣中閉塞卵胞数、卵巣中黄体数には影響は認められなかった。

また、75 日齢雌仔動物において、10mg/kg/day のばく露群で体重、視床下部相対重量、下垂体相対重量の高値、100mg/kg/day 以上のばく露群で卵巣中 *ERα* mRNA 相対発現量、卵巣中原始卵胞数の高値、100mg/kg/day のばく露群で子宮相対重量、血清中  $17\beta$ -エストラジオール濃度、卵巣中黄体数の低値、卵巣中 *ERβ* mRNA 相対発現量、卵巣中 *StAR* mRNA 相対発現量の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で副腎相対重量の高値が認められた。なお、卵巣相対重量、血清中テストステロン濃度、血清中プロゲステロン濃度、卵巣中一次卵胞数、卵巣中二次卵胞数、卵巣中閉塞卵胞数には影響は認められなかった。

また、75 日齢雌仔動物の非ばく露雄との妊孕試験において、10mg/kg/day 以上のばく露群で交尾に至るまでの時間の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で胚吸収発生妊娠率の高値が認められた。なお、妊娠率、同腹着床部位数、同腹黄体数には影響は認められなかった。【16451】(△○P)  
想定される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、臓器重量への影響には用量にも日齢にも依存性が認められない点に注意を要すると判断された。

③Guerra ら(2017)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich) 10、100、200mg/kg/day を妊娠 12 日目から妊娠 20 日目まで皮下投与した Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、110 日齢雄仔動物において、10mg/kg/day 以上のばく露群で正常形態精子率の低値、頭部異常精子率の高値、10、200mg/kg/day のばく露群で精子形成ステージ VII～VIII 存在率の高値、10mg/kg/day のばく露群で A 及び B 型運動精子率の高値、100mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中ライディッヒ細胞数の高値、200mg/kg/day のばく露群で血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、精子形成ステージ I～VI 存在率の低値、血清中テストステロン濃度の高値が認められた。なお、体重、肝臓絶対重量、腎臓絶対重量、下垂体絶対重量、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、腹側前立腺絶対重量、輸精管絶対重量、精囊絶対重量、精巣中精子細胞数、精巣上体中精子数、精子形成ステージ IXI～XIII 及び XIV 存在率、C 型運動精子率には影響は認められなかった。

また、妊娠 20 日目雄胎仔において、精巣中ライディッヒ細胞数、精細管直径、精巣中始原細胞数(精細管当)には影響は認められなかった。

また、発達期雄仔動物において、肛門生殖突起間距離(1 日齢体重補正值)、乳輪数(13 日齢)、包皮分離日には影響は認められなかった。【16459】(△○P)

想定される作用メカニズム：抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、免疫染色法による精巣中受容体発現量の半定量的検出も実施しており、200mg/kg/day 群でエストロゲン受容体  $\alpha$  及びアンドロゲン受容体の発現量の低値が認められている点に注意を要すると判断された。また、体重の実測データが示されていない点、非ばく露雌との交配試験も実施している点(妊孕率等に影響なし)に注意を要すると判断された。

④Boberg ら(2016)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich、99%) 10、100、500mg/kg/day を、妊娠 7 日目から妊娠 21 日目まで、更に出産後、1 日齢から 22 日齢まで経口投与した Wistar ラットへの影響(遺伝子は視床下部－下垂体－生殖腺軸関連)が検討されている。その結果として、16 日齢雄仔動物において、10mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中 *cyp19a1* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、体重、肝臓絶対重量、後腹膜脂肪体絶対重量、左右精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、前立腺腹葉絶対重量、精囊＋前立腺絶対重量、肛門挙筋＋球海綿体筋絶対重量、尿道球腺絶対重量、副

腎絶対重量、精巣中 *ddx4* mRNA 相対発現量、精巣中 *sox9* mRNA 相対発現量、精巣中 *fshr* mRNA 相対発現量、精巣中 *ar* mRNA 相対発現量、精巣中 *nr5a1* mRNA 相対発現量、精巣中 *lhr* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp11a* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp17a1* mRNA 相対発現量、精巣中 *hsd3b1* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、22 日齢雄仔動物において、100mg/kg/day のばく露群で前立腺腹葉上皮面積、前立腺腹葉上皮/内腔比の低値が認められた。なお、体重、左右精巣絶対重量、前立腺絶対重量には影響は認められなかった。

また、80～90 日齢雄仔動物において、10mg/kg/day 以上のばく露群で精巣上体中精子濃度の低値、500mg/kg/day のばく露群で前立腺腹葉絶対重量、精囊＋前立腺絶対重量の低値が認められた。なお、体重、肝臓絶対重量、後腹膜脂肪体絶対重量、左右精巣絶対重量、肛門挙筋＋球海綿体筋絶対重量、尿道球腺絶対重量、副腎絶対重量、甲状腺絶対重量、精巣中 *cyp19a1* mRNA 相対発現量、精巣中 *ddx4* mRNA 相対発現量、精巣中 *sox9* mRNA 相対発現量、精巣中 *fshr* mRNA 相対発現量、精巣中 *ar* mRNA 相対発現量、精巣中 *nr5a1* mRNA 相対発現量、精巣中 *lhr* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp11a* mRNA 相対発現量、精巣中 *cyp17a1* mRNA 相対発現量、精巣中 *hsd3b1* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、17 日齢雌仔動物において、100mg/kg/day 以上のばく露群で右卵巢絶対重量、両卵巢絶対重量の低値、500mg/kg/day のばく露群で左卵巢絶対重量の低値が認められた。なお、体重、肝臓絶対重量、甲状腺絶対重量、後腹膜脂肪体絶対重量には影響は認められなかった。

また、22 日齢雌仔動物において、100mg/kg/day 以上のばく露群で乳腺末梢芽状突起数の高値、100mg/kg/day のばく露群で乳腺リンパ節間距離の低値が認められた。なお、体重、左右卵巢絶対重量には影響は認められなかった。

また、80～90 日齢雌仔動物において、体重、左右卵巢絶対重量、肝臓絶対重量、甲状腺絶対重量、後腹膜脂肪体絶対重量には影響は認められなかった。

また、50 日齢までの雌雄仔動物において、100mg/kg/day 以上のばく露群で雌雄肛門生殖突起間距離絶対値及び体重補正值(1、14 日齢)の低値が認められた。なお、雌雄体重(1、6、14 日齢)、雌雄乳輪数(1、14 日齢)、雄包皮分離日、雌膣開口日には影響は認められなかった。【16461】(〇〇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

- ⑤Oishi (2001)によって、ブチルパラベン(和光純薬、99%) 10.4±3.07、103±31.2、1,026±310 mg/kg/day (餌中濃度 100、1,000、10,000 ppm に相当)を 19～21 日齢から 8 週間混餌投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、10.4mg/kg/day 以上のばく露群で精巣上体中貯蔵精子数、日毎精子産生数(精巣当及び精巣重量当)の低値、103mg/kg/day 以上のばく露群で血清中テストステロン濃度、精巣上体相対重量の低値、1,026mg/kg/day のばく露群で精巣上体絶対重量、精囊絶対重量、精巣上体中精子濃度の低値が認められた。なお、体重、精巣絶対及び相対重量、前立腺腹葉絶対及び相対重量、包皮腺絶対及び相対重量、精囊相対重量には影響は認められなかった。【16479】(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

- ⑥Hoberman ら(2008)によって、ブチルパラベン(Protameen Chemical、99.5%) 10.9±0.4、109.3±8.2、1,087.6±67.8mg/kg/day (餌中濃度 100、1,000、10,000ppm に相当)を 22 日齢(出生日を 1 日齢とする)から 56 日間混餌投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、10.9、1,087.6mg/kg/day のばく露群で摂餌量(投与 1～8 日目)の低値、10.9mg/kg/day のばく露群で血清中

黄体ホルモン濃度(5週齢)の高値(1,087.6mg/kg/day 群は低値)、109.3mg/kg/day 以上のばく露群で血清中テストステロン濃度(3週齢)の低値、1,087.6mg/kg/day のばく露群で血清中テストステロン濃度(9週齢)、血清中卵胞刺激ホルモン濃度(9週齢)の高値が認められた。なお、体重、増加体重、左右精巣絶対重量、左右精巣上体絶対重量、腹側前立腺絶対重量、精囊絶対重量、精巣上体尾部中精子濃度、精巣中精子細胞濃度、輸精管中運動精子率、形態異常精子発生率には影響は認められなかった。【7729】(○?)

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、血清中テストステロン濃度に関して有意な変動はあるものの週齢、ばく露量による一定の傾向は認められず、精巣重量、前立腺重量、精囊重量、精子細胞濃度には有意差が認められない点に注意を要すると判断された。

- ⑦Oishi (2002)によって、ブチルパラベン(和光純薬、99%) 14.4±3.60、146±35.9、1,504±337mg/kg/day(餌中濃度 100、1,000、10,000ppm に相当)を 27～29 日齢から 10 週間混餌投与した雄 ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、14.4mg/kg/day 以上のばく露群で精細管中伸長精子細胞数の低値、精子形成ステージ I～VI 存在率の高値、146mg/kg/day 以上のばく露群で精子形成ステージ VII～VIII 存在率の低値、1,504mg/kg/day のばく露群で精細管中円形精子細胞数、血清中テストステロン濃度の低値、精巣上体絶対及び相対重量の高値が認められた。なお、体重、肝臓絶対及び相対重量、精巣絶対及び相対重量、前立腺腹葉絶対及び相対重量、精囊絶対及び相対重量、包皮腺絶対及び相対重量、精細管中精原細胞数、精細管中精母細胞数、精子形成ステージ IX～XII 存在率には影響は認められなかった。【16478】(○○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用

- ⑧Riad ら(2018)によって、ブチルパラベン(Alfa Aeser Chemical) 50mg/kg/day を 19～21 日齢から 8 週間経口投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、精巣上体中精子数、運動精子率、血清中テストステロン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中テストステロン/黄体形成ホルモン濃度比、血清中テストステロン/エストラジオール濃度比、精巣中スーパーオキシドディスムターゼ比活性、精巣中カタラーゼ比活性の低値、精巣中過酸化脂質濃度、血清中エストラジオール濃度、精巣中 DNA 損傷度(Comet Assay による)の高値が認められた。なお、左右精巣相対重量、腹側前立腺相対重量、精囊絶対重量、精巣上体尾絶対重量には影響は認められなかった。【16455】(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用

- ⑨Ahn ら(2012)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich) 62.5、250、1,000mg/kg/day を 1 日齢から 7 日間皮下投与した雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、62.5mg/kg/day 以上のばく露群で卵胞に占める初期一次ステージ存在率の低値、250mg/kg/day 以上のばく露群で卵巣中 *StAR* mRNA 相対発現量の低値、子宮中 *CaBP-9k* mRNA 相対発現量、卵巣中 *AMH* mRNA 相対発現量、卵巣中 *Foxl2* mRNA 相対発現量、卵巣中 *KITL* mRNA 相対発現量の高値、250mg/kg/day のばく露群で卵巣中 *Cyp11a1* mRNA 相対発現量の高値(1,000mg/kg/day は低値)、1,000mg/kg/day のばく露群で子宮絶対重量、卵胞に占める初期一次ステージ存在率の高値が認められた。なお、体重、卵巣絶対重量、卵胞に占める一次ステージ存在率には影響は認められなかった。【16471】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用

- ⑩Vo ら(2010)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich) 62.5、250、1,000mg/kg/day を 21 日齢から 40 日齢まで経口投与した雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、62.5mg/kg/day 以

上のばく露群で子宮厚、肝臓相対重量の高値、62.5mg/kg/day のばく露群で甲状腺相対重量の高値が認められた。なお、体重、子宮相対重量、下垂体相対重量、卵巢相対重量、副腎相対重量、腎臓相対重量、黄体数/囊胞性卵胞数比、血清中エストラジオール濃度、血清中プロラクチン濃度、血清中サイロキシン濃度、陰開口日、正常発情周期数、発情周期占める発情前期率、発情周期占める発情期率、発情周期占める発情間期率には影響は認められなかった。【10792】(△?)→(7)①

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、ラット試験においてはエストロゲン様作用が確認されなかったが、試験管内試験においてはエストロゲン作用が認められている点に注意を要すると判断された。

- ⑪Zhang ら(2016)によって、ブチルパラベン(Beijing Chemical Reagents) 64、160、400、1,000mg/kg/day を妊娠 7 日目から出産後 21 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、21 日齢雄仔動物において 64mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中 p450scc 蛋白質相対発現量の低値、64mg/kg/day のばく露群で精巣中 AR 蛋白質相対発現量の高値(400mg/kg/day 以上の群は低値)、160mg/kg/day のばく露群で精巣中 *dnmt3a* mRNA 相対発現量の高値、400mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中 *p450scc* mRNA 相対発現量、精巣中 *sult1e1* mRNA 相対発現量、精巣中 StAR 蛋白質相対発現量、精巣中 SULT1E1 蛋白質相対発現量、精巣中 *ar* mRNA 相対発現量の低値、血清中エストラジオール濃度、精巣中 CYP19 蛋白質相対発現量、精巣中 *era* mRNA 相対発現量、精巣中 *dnmt3b* mRNA 相対発現量の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で血清中テストステロン濃度、精巣中 *star* mRNA 相対発現量の低値、体重、精巣中 *cyp19* mRNA 相対発現量、精巣中 *erβ* mRNA 相対発現量、精巣中 ERα 蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、精巣相対重量、精巣上体相対重量、精囊相対重量、精巣中 ERβ 蛋白質相対発現量、精巣中 *dnmt1* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、90 日齢雄仔動物において 64mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中 ERα 蛋白質相対発現量の高値、64、160、1,000mg/kg/day のばく露群で体重の低値、400mg/kg/day 以上のばく露群で精巣上体相対重量、精巣中 *sult1e1* mRNA 相対発現量、精巣中 SULT1E1 蛋白質相対発現量、精巣中 *ar* mRNA 相対発現量の低値、精巣中 *cyp19* mRNA 相対発現量、精巣中 *era* mRNA 相対発現量の高値、400mg/kg/day のばく露群で精巣中 *p450scc* mRNA 相対発現量の低値、1,000mg/kg/day のばく露群で血清中テストステロン濃度、精巣中 AR 蛋白質相対発現量、精巣中 StAR 蛋白質相対発現量、精巣中 *era* mRNA メチル化率の低値、血清中エストラジオール濃度、精巣中 CYP19 蛋白質相対発現量、精巣中 *dnmt3b* mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、精巣相対重量、精囊相対重量、精巣中 *star* mRNA 相対発現量、精巣中 *erβ* mRNA 相対発現量、精巣中 p450scc 蛋白質相対発現量、精巣中 *dnmt1* mRNA 相対発現量、精巣中 *dnmt3a* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16462】(△○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

- ⑫Kang ら(2002)によって、ブチルパラベン(Sigma) 100、200mg/kg/day を妊娠 6 日目から出産後 20 日目まで(出産のため 2 日間の中断あり)皮下投与した SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上のばく露群で新生仔生存率の低値、200mg/kg/day のばく露群で離乳仔生存率の低値が認められた。なお、母動物着床部位数(出産 21 日後)、同腹産仔数、新生仔(生存)雄性比には影響は認められなかった。

また、雄仔動物において、100mg/kg/day 以上のばく露群で精巣上体中精子濃度(90 日齢)、運動精

子率(90 日齢)、精細管中円形及び伸長精子細胞数(90 日齢)、精巢中 *ERα* 及び *ERβ* mRNA 相対発現量(21、70 日齢)の低値、100mg/kg/day のばく露群で前立腺相対重量(49、90 日齢)、精囊相対重量(49 日齢)の低値、精巢相対重量(49 日齢)の低値(100mg/kg/day 群 21 日齢、200mg/kg/day 群 90 日齢は高値)、200mg/kg/day のばく露群で精巢中 *ERα* 及び *ERβ* mRNA 相対発現量(90 日齢)の高値が認められた。なお、体重(90 日齢)、肛門生殖突起間距離(1 日齢)、精細管中精原細胞数(90 日齢)、精細管中 preleptotene 及び pachytene 期精母細胞数(90 日齢)には影響は認められなかった。

また、雌仔動物において、100mg/kg/day 以上のばく露群で体重(90 日齢)の低値、100mg/kg/day のばく露群で雌膺開口日の早期化が認められた。なお、肛門生殖突起間距離(1 日齢)、子宮相対重量(21、49、70、90 日齢)、卵巣相対重量(21、49、70、90 日齢)には影響は認められなかった。【16480】(△?)

想定される作用メカニズム：精巢毒性

- ⑬Ara ら(2021)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich、99%) 150mg/kg/day を4～5週齢から30日間経口投与した Swiss-Webster マウスへの影響が検討されている。その結果として、雄において、血清中テストステロン濃度、精巢中還元型グルタチオン濃度、精巢中スーパーオキシドディスムターゼ比活性、精巢中カタラーゼ比活性、精巢上体中精子濃度、正常形態精子率、運動精子率の低値、精巢絶対及び相対重量、精巢中過酸化脂質濃度の高値が認められた。なお、体重、増加体重には影響は認められなかった。

また、雌において、血清中  $17\beta$ -エストラジオール濃度、卵巣中還元型グルタチオン濃度、卵巣中スーパーオキシドディスムターゼ比活性、卵巣中カタラーゼ比活性、卵巣中一次卵胞数、黄体数の低値、卵巣絶対及び相対重量、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、卵巣中過酸化脂質濃度、卵胞中空卵胞数の高値が認められた。なお、体重、増加体重、卵巣中二次卵胞数、卵巣中閉鎖卵胞数には影響は認められなかった。【16442】(○○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、毒性

- ⑭Zhang ら(2014)によって、ブチルパラベン(Beijing Chemical Reagents、99%) 64、160、400、1,000mg/kg/day を妊娠7日目から出産後21日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、21日齢雄仔動物において、400mg/kg/day 以上のばく露群で体重、精巢絶対重量、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、血清中エストラジオール濃度、血清中プロゲステロン濃度の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で血清中テストステロン濃度、精巢上体絶対重量、精囊絶対重量の低値が認められた。なお、血清中卵胞刺激ホルモン濃度には影響は認められなかった。

また、35日齢雄仔動物において、400mg/kg/day 以上のばく露群で体重、精巢絶対重量、血清中テストステロン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度の低値、血清中プロゲステロン濃度の高値、400mg/kg/day のばく露群で精囊絶対重量の低値(1,000mg/kg/day 群では高値)、1,000mg/kg/day のばく露群で血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、血清中エストラジオール濃度の高値が認められた。なお、精巢上体絶対重量には影響は認められなかった。

また、約40日齢までの雄仔動物において、400mg/kg/day 以上のばく露群で肛門生殖突起間距離(1及び21日齢)の低値、包皮分離日の遅延が認められた。なお、精巢下降日には影響は認められなかった。

また、49日齢雄仔動物において、400mg/kg/day 以上のばく露群で体重、精巢絶対重量、精巢上体絶対重量、血清中テストステロン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、血清中プロゲステロン濃度の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で血清中エストラジオール濃度の高値が認められた。な

お、精囊絶対重量、血清中卵胞刺激ホルモン濃度には影響は認められなかった。

また、90 日齢雄仔動物において、400mg/kg/day 以上のばく露群で精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、精巣上体中精子濃度、日毎精巣産生数(精巣重量当)の低値、1,000mg/kg/day のばく露群で血清中テストステロン濃度の低値、血清中エストラジオール濃度、血清中プロゲステロン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度の高値が認められた。なお、体重、精囊絶対重量には影響は認められなかった。

また、180 日齢雄仔動物において、1,000mg/kg/day のばく露群で精巣上体絶対重量、血清中テストステロン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値が認められた。なお、体重、精巣絶対重量、精囊絶対重量、血清中エストラジオール濃度、血清中プロゲステロン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度には影響は認められなかった。【16466】(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用、精巣毒性

なお、本試験結果の解釈にあたっては、180 日齢を除く日齢の雄動物において 400mg/kg/day 以上のばく露群で雄仔動物の低値が認められている点に注意を要すると判断された。

- ⑮Vo と Jeung (2009)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich) 62.5、250、1,000mg/kg/day を 14 日齢から 16 日齢まで皮下投与した雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、1,000mg/kg/day (この群のみデータ提示)のばく露群で子宮中 *ERα* mRNA 相対発現量、子宮中 *ERα* 蛋白質相対発現量の低値、1,000mg/kg/day のばく露群で子宮相対重量、子宮中 *CaBP-9k* mRNA 相対発現量、子宮中 *CaBP-9k* 蛋白質相対発現量、子宮中 *PR* mRNA 相対発現量、子宮中 *PR* 蛋白質相対発現量の高値が認められた。なお、これら多くの影響は、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 162,780 1 mg/kg/day の同時投与で減弱した。【16535】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用

### (3) 甲状腺影響

- ①Gogoi と Kalita (2020)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich、99%) 1、5、10mg/kg/day を 11 週齢以上から 7 日間皮下投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、1 mg/kg/day 以上のばく露群で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、腎臓中ヨードサイロニンデヨージナーゼ(DI)比活性、腎臓中 *diol* mRNA 相対発現量の低値、甲状腺中 *tpo* mRNA 相対発現量の高値、1、5 mg/kg/day のばく露群で血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中総トリヨードサイロニン濃度、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度、甲状腺ミクロソーム中ペルオキシダーゼ(TPO)比活性の高値が認められた。

また、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich、99%) 1、5、10mg/kg/day を 11 週齢以上から 21 日間皮下投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、1 mg/kg/day 以上のばく露群で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の低値、腎臓中 *diol* mRNA 相対発現量の高値、1、5 mg/kg/day のばく露群で血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中総トリヨードサイロニン濃度、血清中遊離トリヨードサイロニン濃度、甲状腺 TPO 比活性の高値、1 mg/kg/day のばく露群で腎臓中 DI 比活性の低値、5 mg/kg/day 以上のばく露群で甲状腺中 *tpo* mRNA 相対発現量の高値が認められた。【16444】(△○P)

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、毒性



#### (4) 糖脂質代謝影響

- ①Boberg ら(2008)によって、ブチルパラベン(Acros、99%) 100mg/kg/day を妊娠 7 日目から妊娠 21 日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、胎仔(雌雄混合)血清中レプチン濃度の低値が認められた。なお、胎仔(雌雄混合)血清中インスリン濃度には影響は認められなかった。【12378】(△○P)

想定される作用メカニズム：レプチン合成又は分泌の抑制作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、血漿中シグナル分子(MCP1、IL-1B、PAI-1 active、IL6、TNF $\alpha$ 、エストラジオール及びテストステロン)濃度、mRNA 相対発現量(精巣中 *SR-B1*、*StAR*、*P450c17*、*P450scc*、*Insl-3*、*SF-1*、*aromatase*、*PBR*、*PPAR $\alpha$* 、卵巣中 *aromatase*、*ER $\alpha$* 、*ER $\beta$* 、*IGF-1*、*CompC3*、*PPAR $\alpha$* 、*PPAR $\gamma$* 、副腎中 *P450c1*、肝臓中 *PPAR $\alpha$* 、*PPAR $\gamma$* )には影響は認められなかったとする記述があるが、測定データの提示がない点に注意を要すると判断された。

#### (5) エストロゲン作用

- ①Wei ら(2022)によって、ブチルパラベン(東京化成、99%) 0.01、0.1、1、5、10、50 $\mu$ M(=1.94、19.4、194、971、1,940、9,710 $\mu$ g/L)の濃度に 48 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、0.1 $\mu$ M(=19.4 $\mu$ 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、ブチルパラベン(東京化成、99%) 0.01、0.1、1、5、10、50 $\mu$ M(=1.94、19.4、194、971、1,940、9,710 $\mu$ g/L)の濃度に 7 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、1  $\mu$ M(=194 $\mu$ g/L)以上の濃度区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 182,780 100nM 共存下で消失した。【16436】(○○P)

- ②Watanabe ら(2013)によって、ブチルパラベン(和光純薬、98%) 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10 $\mu$ M(=1.94、5.82、19.4、58.2、194、582、1,940 $\mu$ 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 (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、REC<sub>20</sub> 値(エストラジオール 1 nM による最大活性値の 20%相当の活性を誘導する濃度) 0.15 $\mu$ M(=29 $\mu$ 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、ブチルパラベン(和光純薬、98%) 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10 $\mu$ M(=1.94、5.82、19.4、58.2、194、582、1,940 $\mu$ 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 (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、REC<sub>20</sub> 値 0.29 $\mu$ M(=56 $\mu$ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。【16470】(△○P)→(8)②、(9)②

- ③Terasaki ら(2009)によって、ブチルパラベン(和光純薬) 0.016～1  $\mu$ M(=3.10～194 $\mu$ g/L)の濃度に 4 時間ばく露した酵母(メダカエストロゲン受容体  $\alpha$  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、EC $\times$ 10 値(対照区の 10 倍に相当する測定値を誘導する濃度) 0.27 $\mu$ M(=52.4 $\mu$ 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、ブチルパラベン(和光純薬) 0.16～10 $\mu$ M(=31.0～1,940 $\mu$ g/L)の濃度に 4 時間ばく露した酵母

(ヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  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、EC $\times 10$  値 2.3 $\mu$ M(=446 $\mu$ 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。【15837】( $\Delta$ OP) $\rightarrow$ (7)②

- ④Byford ら(2002)によって、ブチルパラベン(Sigma、99%) 0.1、1、5、10、50、100 $\mu$ M(=19.4、194、970、1,940、9,700、19,400 $\mu$ 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、1  $\mu$ M(=194 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞増殖誘導が認められた。この影響は、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182,780 100nM 共存下で消失した。【16481】( $\Delta$ OP) $\rightarrow$ (7)⑥

なお、本試験結果の解釈にあたっては、測定方法や有意差検定に関する記載が不明瞭である点に注意を要すると判断された。

- ⑤Routledge ら(1998)によって、ブチルパラベン(Sigma、99%) 0.1~10 $\mu$ M(=19.4~1,940 $\mu$ g/L)の濃度に 84 時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(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、EC $_{50}$  値約 1  $\mu$ M(=194 $\mu$ 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、ブチルパラベン(Fluka、99%) 40、200、400、600、800、1,000、1,200mg/kg/day を 22~23 日齢から 3 日間皮下投与した雌 Alpk:AP ラットへの影響が検討されている。その結果として、200mg/kg/day 以上のばく露群で子宮絶対乾燥重量の高値、400mg/kg/day 以上のばく露群で子宮絶対湿重量の高値が認められた。

また、ブチルパラベン(Fluka、99%) 40、200、400、600、800、1,000、1,200mg/kg/day を 3 日間(6~8 週齢で卵巣摘出し 2 週間馴養後)皮下投与した雌 Alpk:AP ラットへの影響が検討されている。その結果として、800mg/kg/day 以上のばく露群で子宮絶対湿重量の高値、1,000mg/kg/day 以上のばく露群で子宮絶対乾燥重量の高値が認められた。

また、ブチルパラベン(Fluka、99%) 40、80mg/kg/day を 22~23 日齢から 3 日間経口投与した雌 Alpk:AP ラットへの影響が検討されているが子宮絶対乾燥及び湿重量には影響は認められなかった。【6506】(OP) $\rightarrow$ (7)⑤

- ⑥Okubo ら(2001)によって、ブチルパラベン(関東化学) 1、2、10、20、50、100、200 $\mu$ M(=194、388、1,940、3,880、9,710、19,400、38,800 $\mu$ 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、EC $_{50}$  値 1.6 $\mu$ M(=310 $\mu$ g/L)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 182,780 10nM 共存下で消失した。【16482】( $\times$ -) $\rightarrow$ (7)③、(15)⑤

なお、本試験結果の解釈にあたっては、有意差検定の方法や結果に関する記載が不明瞭である点に注意を要すると判断された。

- ⑦Lemini ら(2003)によって、ブチルパラベン(Sigma) 0.7、7、21、70、210mg/kg/day を 21 日齢から 3 日間皮下投与した雌 CD1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、7 mg/kg/day 以上のばく露群で子宮相対重量の高値が認められた。なお、体重、子宮絶対重量には影響は認められなかった。

また、ブチルパラベン(Sigma) 7、21、70、210mg/kg/day を 21 日齢から 3 日間(卵巣摘出处置 3 週間後)皮下投与した雌 CD1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、21mg/kg/day 以上の

ばく露群で子宮相対重量の高値が認められた。なお、体重、子宮絶対重量には影響は認められなかった。

また、ブチルパラベン(Sigma) 7、21、70、210mg/kg/day を 21 日齢から 3 日間皮下投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、70mg/kg/day 以上のばく露群で子宮相対重量の高値が認められた。【16475】(△○P)→(7)⑦

⑧Ohta ら(2012)によって、ブチルパラベン(和光純薬、98%) 30、100、300、1,000mg/kg/day を 8 週齢から 7 日間皮下投与した雌 C57BL/6J マウス(6 週齢で卵巣摘出処置)への影響が検討されている。その結果として、1,000mg/kg/day のばく露群で子宮絶対重量(wet 及び blotted)の高値が認められた。

また、ブチルパラベン(和光純薬、98%) 30、100、300、1,000mg/kg/day を 8 週齢から 7 日間経口投与した雌 C57BL/6J マウス(6 週齢で卵巣摘出処置)への影響が検討されているが、子宮絶対重量(wet 及び blotted)には影響は認められなかった。【13269】(○○P)→(6)①

## (6) 抗エストロゲン作用

①Ohta ら(2012)によって、ブチルパラベン(和光純薬、98%) 30、100、300、1,000mg/kg/day を 8 週齢から 7 日間皮下投与(ブチルパラベン毎回投与 15 分後に 17 $\alpha$ -エチニルエストラジオール 0.2 $\mu$ g/kg/day を皮下投与)した雌 C57BL/6J マウス(6 週齢で卵巣摘出処置)への影響が検討されているが、子宮絶対重量(wet 及び blotted)には影響は認められなかった。

また、ブチルパラベン(和光純薬、98%) 30、100、300、1,000mg/kg/day を 8 週齢から 7 日間経口投与(ブチルパラベン毎回投与 15 分後に 17 $\alpha$ -エチニルエストラジオール 6  $\mu$ g/kg/day を経口投与)した雌 C57BL/6J マウス(6 週齢で卵巣摘出処置)への影響が検討されているが、子宮絶対重量(wet 及び blotted)には影響は認められなかった。【13269】(○○N)

## (7) エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用

①Vo ら(2010)によって、ブチルパラベン(Sigma Aldrich)についてエストロゲン受容体  $\alpha$  による Fluormone ES2 に対する結合阻害試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 4.98 $\mu$ M(=967 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。

また、ブチルパラベン(Sigma Aldrich)についてエストロゲン受容体  $\beta$  による Fluormone ES2 に対する結合阻害試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 5.24 $\mu$ M(=1,020 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。【10792 再】(△○P)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、ブチルパラベン及び Fluormone ES2 の試験実施濃度が示されていない点に注意を要すると判断された。

②Terasaki ら(2009)によって、ブチルパラベン(和光純薬) 0.0038~38 $\mu$ M(=0.737~7,370 $\mu$ g/L)の濃度でヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  による競合的酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 20 $\mu$ M(=3,880 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。【15837 再】(△○P)

③Okubo ら(2001)によって、ブチルパラベン(関東化学)についてヒトエストロゲン受容体  $\beta$  (TOYOBO Ligand Screening System)によるエストラジオールに対する結合阻害試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 21 $\mu$ M(=4,100 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。

また、ブチルパラベン(関東化学)についてヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  (TOYOBO Ligand Screening System)によるエストラジオールに対する結合阻害試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値

56 $\mu$ M(=11,000 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。【16482 再】(×-)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、有意差検定の方法や結果に関する記載が不明瞭である点、ブチルパラベン及びエストラジオールの試験実施濃度が示されていない点に注意を要すると判断された。

- ④Sato ら(2000)によって、ブチルパラベン(東京化成、99%) 0.1~1,000 $\mu$ M(=19.4~194,000 $\mu$ g/L)の濃度でヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  (TOYOBO Ligand Screening System)によるエストラジオールに対する結合阻害試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 24 $\mu$ M(=4,660 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。

また、ブチルパラベン(東京化成、99%)についてヒトエストロゲン受容体  $\beta$  (TOYOBO Ligand Screening System)によるエストラジオールに対する結合阻害試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 24 $\mu$ M(=4,660 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。【16538】(△○P)

- ⑤Routledge ら(1998)によって、ブチルパラベン(Sigma、99%) 0.05、0.5、5、50、500 $\mu$ M(=9.71、97.1、971、9710、97100 $\mu$ g/L)の濃度でエストロゲン受容体(未成熟ラット子宮サイトゾル由来)による標識エストラジオール 5 nM に対する結合阻害試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値約 100 $\mu$ M(=97,100 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。【6506 再】(○○P)

- ⑥Byford ら(2002)によって、ブチルパラベン(Sigma、99%) 0.016、0.16、1.6、16、160、320、1600 $\mu$ M(=3.1、31、310、3,100、31,000、155,000、310,000 $\mu$ g/L)の濃度でヒト乳がん細胞 MCF-7 による標識エストラジオール 1.6nM に対する結合阻害試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値約 160 $\mu$ M(=31,000 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。【16481 再】(△○P)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、測定方法や有意差検定に関する記載が不明瞭である点に注意を要すると判断された。

- ⑦Lemini ら(2003)によって、ブチルパラベン(Sigma) 0.001、0.01、0.1、1、10、100、500、1,000 $\mu$ M(=0.194、1.94、19.4、194、1,940、19,400、97,000、194,000 $\mu$ g/L)の濃度でエストロゲン受容体(未成熟 Wistar ラット子宮サイトゾル由来)による標識エストラジオール 1 nM に対する結合阻害試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値約 500 $\mu$ M(=97,000 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。【16475 再】(△○P)

## (8) アンドロゲン作用

- ①Chen ら(2007)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich、99%) 0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=0.0194、0.194、1.94、19.4、194、1,940 $\mu$ g/L)の濃度に 16 時間ばく露したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (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。【8822】(○○N)→(9)①

- ②Watanabe ら(2013)によって、ブチルパラベン(和光純薬、98%) 10 $\mu$ M(=1,940 $\mu$ g/L)までの濃度に 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 (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。【16470 再】(△○N)

## (9) 抗アンドロゲン作用

- ①Chen ら(2007)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich、99%) 0.0001、0.001、0.01、0.1、1、10 $\mu$ M(=0.0194、0.194、1.94、19.4、194、1,940 $\mu$ g/L)の濃度に16時間ばく露(テストステロン 0.125nM 共存下)したヒト胎児腎臓細胞 HEK293 (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、10 $\mu$ M(=1,940 $\mu$ g/L)の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導の阻害が認められた。【8822 再】(○○P)
- ②Watanabe ら(2013)によって、ブチルパラベン(和光純薬、98%)0.1、1、10 $\mu$ M(=19.4、194、1,940 $\mu$ 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)したチャイニーズハムスター卵巢細胞 CHO-K1 (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。【16470 再】(△○N)

## (10) プレグナン X 受容体への作用

- ①Fujino ら(2019)によって、ブチルパラベン(和光純薬、98%)0.3、1、3、10、30 $\mu$ M(=58.2、194、582、1,940、5,820 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(ばく露時間の記載なし)したチャイニーズハムスター卵巢細胞 CHO-K1 (ヒトプレグナン X 受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(プレグナン X 受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=1,940 $\mu$ 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、ブチルパラベン(和光純薬、98%)0.03、0.1、0.3、1、3、10、30 $\mu$ M(=5.82、19.2、58.2、194、582、1,940、5,820 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(ばく露時間の記載なし)したチャイニーズハムスター卵巢細胞 CHO-K1 (ラットプレグナン X 受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(プレグナン X 受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=1,940 $\mu$ 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。

【16449】(△○P)→(11)①、(12)①

想定される作用メカニズム：プレグナン X 受容体アゴニスト作用、ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝能への影響

## (11) アンドロスタン受容体への作用

- ①Fujino ら(2019)によって、ブチルパラベン(和光純薬、98%)1、3、10、30 $\mu$ M(=194、582、1,940、5,820 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(ばく露時間の記載なし)したチャイニーズハムスター卵巢細胞 CHO-K1 (ラットアンドロスタン受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(アンドロスタン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、30 $\mu$ M(=5,820 $\mu$ g/L)の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。【16449 再】(△○P)

想定される作用メカニズム：アンドロスタン受容体アゴニスト作用、ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝能への影響

## (12) ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体への作用

- ①Fujino ら(2019)によって、ブチルパラベン(和光純薬、98%)1、3、10、30 $\mu$ M(=194、582、1,940、

5,820 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(ばく露時間の記載なし)したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 (ラットペルオキシソーム増殖因子活性化受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、30 $\mu$ M(=5,820 $\mu$ g/L)の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。【16449 再】(△○P)

想定される作用メカニズム：ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体アゴニスト作用、ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝能への影響

- ②Hu ら(2013)によって、ブチルパラベン(Acros Organics) 100 $\mu$ M(=19,400 $\mu$ g/L)の濃度に 18 時間ばく露したマウス前駆脂肪細胞 3T3-L1 (マウスペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(PPAR $\gamma$ : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$ )を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、ルシフェラーゼ発現誘導が認められた。この際、PPAR $\gamma$  標的遺伝子である *perilipin* mRNA 及び脂肪酸結合蛋白質(*FABP4: fatty acid-binding protein 4*) mRNA の発現誘導が認められたが、PPAR $\gamma$  を標的とした siRNA の共存により、その影響は消失した。【15834】(△○P)→(13)①、(14)①

想定される作用メカニズム：ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体アゴニスト作用、脂肪細胞分化促進作用

### (13) 副腎皮質ホルモン作用

- ①Hu ら(2013)によって、ブチルパラベン(Acros Organics) 100 $\mu$ M(=19,400 $\mu$ g/L)の濃度に 18 時間ばく露したマウス前駆脂肪細胞 3T3-L1 (グルココルチコイド受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(グルココルチコイド受容体(GR: Glucocorticoid Receptor)応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、ルシフェラーゼ発現誘導が認められた。この際、GR 標的遺伝子である *lipin 1* mRNA の発現誘導が認められたが、GR を標的とした siRNA の共存により、その影響は消失した。

また、ブチルパラベン(Acros Organics) 100 $\mu$ M(=19,400 $\mu$ g/L)の濃度に 18 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓由来細胞 COS-7 (グルココルチコイド受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(グルココルチコイド受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、ルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

なお、ブチルパラベン(Acros Organics) 100 $\mu$ M(=19,400 $\mu$ g/L)の濃度で、PolarScreen GR (蛍光グルココルチコイドリガンド Fluormone GS1 に対する競合結合試験)が検討されているが、影響は認められなかった。【15834 再】(△○P)

想定される作用メカニズム：脂肪細胞分化促進作用

本試験結果の解釈にあたっては、PolarScreen GR 試験の結果から、ブチルパラベンが GR に直接結合しないことが示唆されている点に注意を要すると判断された。

### (14) 脂肪関連細胞への影響

- ①Hu ら(2013)によって、ブチルパラベン(Acros Organics) 1、10、100 $\mu$ M(=194、1,940、19,400 $\mu$ g/L)の濃度に 7 日間ばく露したマウス前駆脂肪細胞 3T3-L1 への影響(遺伝子はいずれも脂肪細胞マーカー)が検討されている。その結果として、100 $\mu$ M(=19,400 $\mu$ g/L)の濃度区でペルオキシソーム増殖因子活

性化受容体(*PPAR $\gamma$* : *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$* ) mRNA 相対発現量、転写因子 C/EBP $\alpha$  (*CCAAT/ enhancer binding protein  $\alpha$* ) mRNA 相対発現量、脂肪酸結合蛋白質(*FABP4*: *fatty acid-binding protein 4*) mRNA 相対発現量、アディポネクチン mRNA 相対発現量、脂肪濃度(100 $\mu$ M 区での試験)の高値が認められた。なお、脂肪酸合成酵素(*FAS*: *fatty acid synthase*) mRNA 相対発現量、*leptin* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

また、ブチルパラベン(Acros Organics) 50 $\mu$ M(=9,700 $\mu$ g/L)の濃度に 7 日間ばく露したヒト脂肪由来幹細胞(hADSC: human adipose-derived multipotent stromal cells)への影響(遺伝子はいずれも脂肪細胞マーカー)が検討されている。その結果として、*leptin* mRNA 相対発現量の低値、脂肪酸結合蛋白質(*FABP4*: *fatty acid-binding protein 4*) mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、脂肪酸合成酵素(*FAS*: *fatty acid synthase*) mRNA 相対発現量、*adiponectin* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【15834 再】(△○P)

想定される作用メカニズム：脂肪細胞分化促進作用

本試験結果の解釈にあたっては、ヒト脂肪由来幹細胞において 50 $\mu$ M(=9,700 $\mu$ g/L)の濃度で脂質滴の蓄積が示されているが定量及び有意差検定が実施されていない点、マウス前駆脂肪細胞 3T3-L1 においては 100 $\mu$ M(=19,400 $\mu$ g/L)と思わる濃度で脂質滴の蓄積が示されているが記載が不明瞭な点に注意を要すると判断された。

#### (15) ヒト乳がん細胞への影響

①Wróbel と Gregoraszczuk (2013)によって、ブチルパラベン(Sigma) 0.0002、0.002、0.02、0.2、2  $\mu$ M(=0.0388、0.388、3.88、38.8、388 $\mu$ g/L)の濃度に最長 194 時間(48 時間毎に換水)ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、0.0002 $\mu$ M(=0.0388 $\mu$ g/L)以上の濃度区で細胞増殖率(96 時間)の高値、0.0002 $\mu$ M(=0.0388 $\mu$ g/L)の濃度区でエストラジオール分泌濃度(72 時間)の高値が認められた。

また、ブチルパラベン(Sigma) 0.02 $\mu$ M(=3.88 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されているが、*CYP19A1* mRNA 相対発現量、CYP19 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。

また、ブチルパラベン(Sigma) 0.0002、0.002、0.02、0.2、2  $\mu$ M(=0.0388、0.388、3.88、38.8、388 $\mu$ g/L)の濃度に最長 194 時間(48 時間毎に換水)ばく露したヒト乳腺上皮細胞 MCF-10A への影響が検討されている。その結果として、0.0002 $\mu$ M(=0.0388 $\mu$ g/L)以上の濃度区でエストラジオール分泌濃度(72 時間)の低値が認められた。なお、細胞増殖率には影響は認められなかった。

また、ブチルパラベン(Sigma) 0.02 $\mu$ M(=3.88 $\mu$ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-10A への影響が検討されている。その結果として、*CYP19A1* mRNA 相対発現量、CYP19 蛋白質相対発現量の低値が認められた。【16469】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

②Williams と Darbre (2019)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich) 0.01 $\mu$ M(=1.94 $\mu$ g/L)の濃度に 7 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、*CYP19A1* mRNA 相対発現量、アロマターゼ相対活性の高値が認められた。

また、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich) 10 $\mu$ M(=1,940 $\mu$ g/L)の濃度に 3 日間ばく露(テストステロン 1 nM 共存下)したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、細胞増殖率、17 $\beta$ -エストラジオール産生量が認められた。

また、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich) 0.01 $\mu$ M(=1.94 $\mu$ g/L)の濃度に 7 日間ばく露したヒト乳がん細胞 ZR-75-1 への影響が検討されている。その結果として、*CYP19A1* mRNA 相対発現量、アロマターゼ相対活性の高値が認められた。

また、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich) 10 $\mu$ M(=1,940 $\mu$ g/L)の濃度に 3 日間ばく露(テストステロン 1 nM 共存下)したヒト乳がん細胞 ZR-75-1 への影響が検討されている。その結果として、細胞増殖率、17 $\beta$ -エストラジオール産生量が認められた。

また、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich) 0.01 $\mu$ M(=1.94 $\mu$ g/L)の濃度に 7 日間ばく露したヒト乳腺線維芽細胞 HMF3A への影響が検討されている。その結果として、*CYP19A1* mRNA 相対発現量、アロマターゼ相対活性の高値が認められた。

また、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich) 10 $\mu$ M(=1,940 $\mu$ g/L)の濃度に 3 日間ばく露(テストステロン 1 nM 共存下)したヒト乳腺線維芽細胞 HMF3A への影響が検討されている。その結果として、細胞増殖率、17 $\beta$ -エストラジオール産生量が認められた。【16293】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用、エストロゲン産生促進作用

なお、本試験結果の解釈にあたっては、MCF-7 細胞と ZR-75-1 細胞はエストロゲン受容体  $\alpha$ 、エストロゲン受容体  $\beta$ 、プロゲステロン受容体を発現( $ER\alpha^+$ 、 $ER\beta^+$ 、 $PR^+$ )しているのに対し、HMF3A 細胞はエストロゲン受容体  $\beta$ 、プロゲステロン受容体を発現( $ER\alpha^-$ 、 $ER\beta^+$ 、 $PR^+$ )している点に注意を要すると判断された。

- ③Wróbel と Gregoraszczyk (2014)によって、ブチルパラベン(Sigma) 0.02 $\mu$ M(=3.88 $\mu$ g/L)の濃度に最長 72 時間までばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、*ESR1* (エストロゲン受容体  $\alpha$ ) mRNA 相対発現量(24 時間)、エストロゲン受容体( $ER$ ) $\alpha$  蛋白質相対発現量(48 時間)、*ESR2* (エストロゲン受容体  $\beta$ ) mRNA 相対発現量(24 時間)、*PGR* (プロゲステロン受容体) mRNA 相対発現量(24 時間)の高値、 $ER\beta$  蛋白質相対発現量(48 時間)の高値(72 時間後は低値)が認められた。このうち、 $ER\beta$  蛋白質相対発現量(48 時間)の高値は、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182,780 100 nM の共存により消失した、なお、プロゲステロン受容体( $PR$ )蛋白質相対発現量(48、72 時間)には影響は認められなかった。

また、ブチルパラベン(Sigma) 0.02 $\mu$ M(=3.88 $\mu$ g/L)の濃度に最長 72 時間までばく露したヒト乳腺上皮細胞 MCF-10A への影響が検討されている。その結果として、*PGR* mRNA 相対発現量(24 時間)の高値が認められた。なお、*ESR1* mRNA 相対発現量(6、24 時間)、 $ER\alpha$  蛋白質相対発現量(48、72 時間)、 $ER\beta$  蛋白質相対発現量(48、72 時間)、*ESR2* mRNA 相対発現量(24 時間)、 $PR$  蛋白質相対発現量(48、72 時間)には影響は認められなかった。【16465】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン受容体発現促進作用、プロゲステロン受容体発現促進作用

- ④Terasaka ら(2006)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich) 10 $\mu$ M(=1,940 $\mu$ g/L)の濃度に 3 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響(DNA マイクロアレイ、17 $\beta$ -エストラジオール 10nM による 120 エストロゲン応答遺伝子発現状況との相関性)が検討されている。その結果として、総遺伝子群、酵素遺伝子群、シグナリング関連遺伝子群、輸送関連遺伝子群、その他の遺伝子群に高値が認められた。なお、増殖関連遺伝子群、転写関連遺伝子群には影響は認められなかった。【13157】(△○P)

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

- ⑤Okubo ら(2001)によって、ブチルパラベン(関東化学) 100 $\mu$ M(=19,400 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、エストロゲン受容体  $\alpha$  蛋白質



相対発現量、*ERα* mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、*PR* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16482 再】(×－)

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、統計的有意差検定未実施の半定量的測定で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、視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体－甲状腺軸への作用、レプチン合成又は分泌抑制作用を示すこと、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、エストロゲン受容体発現促進作用、エストロゲン産生促進作用、プロゲステロン受容体発現促進作用、抗アンドロゲン作用、アンドロスタン受容体アゴニスト作用、プレグナン X 受容体アゴニスト作用、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体アゴニスト作用、ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝能への影響、脂肪細胞分化促進作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 7 に示した。

表 7 信頼性評価のまとめと今後の対応案

物質名：ブチルパラベン

| 区分      |                       | 著者<br>【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 | エストロゲン作用              | ①Bjerregaard ら(2008)【16473】 | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|         | エストロゲン作用              | ②Alslev ら(2005)【16474】      | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|         | エストロゲン作用              | ③Pedersen ら(2000)【10798】    | ×                                                                                     | —                             | ×                                               |
| (2)生殖影響 | エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用  | ①Maske ら(2020)【16448】       | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|         | 抗エストロゲン様作用            | ②Maske ら(2018)【16451】       | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|         | 抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用 | ③Guerra ら(2017)【16459】      | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |

| 区分          | 著者<br>【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、抗アンドロゲン様作用  | ④Boberg ら(2016)【16461】                                                                | ○                             | ○P                                              | ○ |
|             | 抗アンドロゲン様作用             | ⑤Oishi (2001)【16479】                                                                  | ○                             | ○P                                              | ○ |
|             | 不明                     | ⑥Hoberman ら(2008)【7729】                                                               | ○                             | ?                                               | — |
|             | 視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用      | ⑦Oishi (2002)【16478】                                                                  | ○                             | ○P                                              | ○ |
|             | 視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用      | ⑧Riad ら(2018)【16455】                                                                  | △                             | ○P                                              | ○ |
|             | エストロゲン様作用              | ⑨Ahn ら(2012)【16471】                                                                   | △                             | ○P                                              | ○ |
|             | 不明                     | ⑩Vo ら(2010)【10792】→(7)①                                                               | △                             | ?                                               | — |
|             | 視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用      | ⑪Zhang ら(2016)【16462】                                                                 | △                             | ○P                                              | ○ |
|             | 精巣毒性                   | ⑫Kang ら(2002)【16480】                                                                  | △                             | ?                                               | — |
|             | 視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、毒性   | ⑬Ara ら(2021)【16442】                                                                   | ○                             | ○P                                              | ○ |
|             | 視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、精巣毒性 | ⑭Zhang ら(2014)【16466】                                                                 | △                             | ○P                                              | ○ |
|             | エストロゲン様作用              | ⑮Vo と Jeung (2009)【16535】                                                             | △                             | ○P                                              | ○ |
| (3)甲状腺影響    | 視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、毒性   | ①Gogoi と Kalita (2020)【16444】                                                         | △                             | ○P                                              | ○ |
| (4)糖脂質代謝影響  | レプチン合成又は分泌の抑制作用        | ①Boberg ら(2008)【12378】                                                                | △                             | ○P                                              | ○ |
| (5)エストロゲン作用 |                        | ①Wei ら(2022)【16436】                                                                   | △                             | ○P                                              | ○ |
|             |                        | ②Watanabe ら(2013)【16470】→(8)②、(9)②                                                    | △                             | ○P                                              | ○ |
|             |                        | ③Terasaki ら(2009)【15837】→(7)②                                                         | △                             | ○P                                              | ○ |
|             |                        | ④Byford ら(2002)【16481】→(7)⑥                                                           | △                             | ○P                                              | ○ |
|             |                        | ⑤Routledge ら(1998)【6506】→(7)⑤                                                         | ○                             | ○P                                              | ○ |

| 区分                     |                                              | 著者<br>【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> |
|                        |                                              | ⑥Okubo ら(2001)<br>【16482】→(7)③、<br>(15)⑤   | ×                                                                                     | —                             | ×                                               |
|                        |                                              | ⑦Lemini ら(2003)<br>【16475】→(7)⑦            | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                        |                                              | ⑧Ohta ら(2012)<br>【13269】→(6)①              | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (6)抗エストロゲン作用           |                                              | ①Ohta ら(2012)<br>【13269 再】                 | ○                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
| (7)エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用 |                                              | ①Vo ら(2010)【10792 再】                       | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                        |                                              | ②Terasaki ら(2009)<br>【15837 再】             | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                        |                                              | ③Okubo ら(2001)<br>【16482 再】                | ×                                                                                     | —                             | ×                                               |
|                        |                                              | ④Satoh ら(2000)<br>【16538】                  | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                        |                                              | ⑤Routledge ら(1998)<br>【6506 再】             | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                        |                                              | ⑥Byford ら(2002)<br>【16481 再】               | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                        |                                              | ⑦Lemini ら(2003)<br>【16475 再】               | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (8)アンドロゲン作用            |                                              | ①Chen ら(2007)<br>【8822】→(9)①               | ○                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
|                        |                                              | ②Watanabe ら(2013)<br>【16470 再】             | △                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
| (9)抗アンドロゲン作用           |                                              | ①Chen ら(2007)【8822 再】                      | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                        |                                              | ②Watanabe ら(2013)<br>【16470 再】             | △                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
| (10)プレグナン X 受容体への作用    | プレグナン X 受容体アゴニスト作用、ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝能への影響 | ①Fujino ら(2019)<br>【16449】→(11)①、<br>(12)① | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (11)アンドロスタン受容体への作用     | アンドロスタン受容体アゴニスト作用、ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝能への影響  | ①Fujino ら(2019)<br>【16449 再】               | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |

| 区分                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 著者<br>【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> |
| (12)ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体への作用 | ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体アゴニスト作用、ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝能への影響                                                                                                                                                                                                                                                                                  | ①Fujino ら(2019)【16449 再】              | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                            | ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体アゴニスト作用、脂肪細胞分化促進作用                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | ①Hu ら(2013)【15834】→(13)①、(14)①        | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (13)副腎皮質ホルモン作用             | 脂肪細胞分化促進作用                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | ①Hu ら(2013)【15834 再】                  | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (14)脂肪関連細胞への影響             | 脂肪細胞分化促進作用                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | ①Hu ら(2013)【15834 再】                  | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (15)ヒト乳がん細胞への影響            | エストロゲン作用                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | ①Wróbel と Gregoraszczuk (2013)【16469】 | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                            | エストロゲン作用、エストロゲン産生促進作用                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | ②Williams と Darbre (2019)【16293】      | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                            | エストロゲン受容体発現促進作用、プロゲステロン受容体発現促進作用                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | ③Wróbel と Gregoraszczuk (2014)【16465】 | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                            | エストロゲン作用                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | ④Terasaka ら(2006)【13157】              | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                            | 不明                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | ⑤Okubo ら(2001)【16482 再】               | ×                                                                                     | —                             | ×                                               |
| 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、レプチン合成又は分泌抑制作用を示すこと、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、エストロゲン受容体発現促進作用、エストロゲン産生促進作用、プロゲステロン受容体発現促進作用、抗アンドロゲン作用、アンドロスタン受容体アゴニスト作用、プレグナン X 受容体アゴニスト作用、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体アゴニスト作用、ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝能への影響、脂肪細胞分化促進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

- Ahn HJ, An BS, Jung EM, Yang H, Choi KC and Jeung EB (2012) Parabens inhibit the early phase of folliculogenesis and steroidogenesis in the ovaries of neonatal rats. *Molecular Reproduction and Development*, 79 (9), 626-636. 【16471】
- Alslev B, Korsgaard B and Bjerregaard P (2005) Estrogenicity of butylparaben in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* exposed via food and water. *Aquatic Toxicology*, 72 (4), 295-304. 【16474】
- Ara C, Asmatullah, Butt N, Ali S, Batool F, Shakir HA and Arshad A (2021) Abnormal steroidogenesis, oxidative stress, and reprotoxicity following prepubertal exposure to butylparaben in mice and protective effect of *Curcuma longa*. *Environmental Science and Pollution Research International*, 28 (5), 6111-6121. 【16442】
- Bjerregaard P, Hansen PR, Larsen KJ, Erratico C, Korsgaard B and Holbech H (2008) Vitellogenin as a biomarker for estrogenic effects in brown trout, *Salmo trutta*: laboratory and field investigations. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27 (11), 2387-2396. 【16473】
- Boberg J, Axelstad M, Svingen T, Mandrup K, Christiansen S, Vinggaard AM and Hass U (2016) Multiple endocrine disrupting effects in rats perinatally exposed to butylparaben. *Toxicological Sciences*, 152 (1), 244-256. 【16461】
- Boberg J, Metzдорff S, Wortziger R, Axelstad M, Brokken L, Vinggaard AM, Dalgaard M and Nellemann C (2008) Impact of diisobutyl phthalate and other PPAR agonists on steroidogenesis and plasma insulin and leptin levels in fetal rats. *Toxicology*, 250 (2-3), 75-81. 【12378】
- Byford JR, Shaw LE, Drew MG, Pope GS, Sauer MJ and Darbre PD (2002) Oestrogenic activity of parabens in MCF7 human breast cancer cells. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 80 (1), 49-60. 【16481】
- Chen J, Ahn KC, Gee NA, Gee SJ, Hammock BD and Lasley BL (2007) Antiandrogenic properties of parabens and other phenolic containing small molecules in personal care products. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 221 (3), 278-284. 【8822】
- Fujino C, Watanabe Y, Sanoh S, Hattori S, Nakajima H, Uramaru N, Kojima H, Yoshinari K, Ohta S and Kitamura S (2019) Comparative study of the effect of 17 parabens on PXR-, CAR- and PPAR $\alpha$ -mediated transcriptional activation. *Food and Chemical Toxicology*, 133, 110792. 【16449】
- Gogoi P and Kalita JC (2020) Effects of butylparaben exposure on thyroid peroxidase (TPO) and type 1 iodothyronine deiodinase (D1) in female Wistar rats. *Toxicology*, 443, 152562. 【16444】
- Guerra MT, Sanabria M, Leite GA, Borges CS, Cuciello MS, Anselmo-Franci JA, Foster WG and Kempinas WG (2017) Maternal exposure to butyl paraben impairs testicular structure and sperm quality on male rats. *Environmental Toxicology*, 32 (4), 1273-1289. 【16459】
- Hoberman AM, Schreur DK, Leazer T, Daston GP, Carthew P, Re T, Loretz L and Mann P (2008) Lack of effect of butylparaben and methylparaben on the reproductive system in male rats. *Birth Defects Research. Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 83 (2), 123-133. 【7729】
- Hu P, Chen X, Whitener RJ, Boder ET, Jones JO, Porollo A, Chen J and Zhao L (2013) Effects of parabens on adipocyte differentiation. *Toxicological Sciences*, 131 (1), 56-70. 【15834】
- Kang KS, Che JH, Ryu DY, Kim TW, Li GX and Lee YS (2002) Decreased sperm number and motile activity on the F<sub>1</sub> offspring maternally exposed to butyl *p*-hydroxybenzoic acid (butyl paraben). *Journal of Veterinary Medical Science*, 64 (3), 227-235. 【16480】
- Lemini C, Jaimez R, Avila ME, Franco Y, Larrea F and Lemus AE (2003) *In vivo* and *in vitro* estrogen bioactivities of alkyl parabens. *Toxicology and Industrial Health*, 19 (2-6), 69-79. 【16475】
- Maske P, Dighe V and Vanage G (2018) *n*-Butylparaben exposure during perinatal period impairs fertility of the F<sub>1</sub> generation female rats. *Chemosphere*, 213, 114-123. 【16451】
- Maske P, Dighe V, Mote C and Vanage G (2020) *n*-Butylparaben exposure through gestation and lactation impairs spermatogenesis and steroidogenesis causing reduced fertility in the F<sub>1</sub> generation male rats. *Environmental Pollution*, 256, 112957. 【16448】
- Ohta R, Takagi A, Ohmukai H, Marumo H, Ono A, Matsushima Y, Inoue T, Ono H and Kanno J (2012) Ovariectomized mouse uterotrophic assay of 36 chemicals. *Journal of Toxicological Sciences*, 37 (5), 879-889. 【13269】
- Oishi S (2001) Effects of butylparaben on the male reproductive system in rats. *Toxicology and Industrial Health*,

- 17 (1), 31-39. 【16479】
- Oishi S (2002) Effects of butyl paraben on the male reproductive system in mice. *Archives of Toxicology*, 76 (7), 423-429. 【16478】
- Okubo T, Yokoyama Y, Kano K and Kano I (2001) ER-dependent estrogenic activity of parabens assessed by proliferation of human breast cancer MCF-7 cells and expression of ER  $\alpha$  and PR. *Food and Chemical Toxicology*, 39 (12), 1225-1232. 【16482】
- Pedersen KL, Pedersen SN, Christiansen LB, Korsgaard B and Bjerregaard P (2000) The preservatives ethyl-, propyl- and butylparaben are oestrogenic in an *in vivo* fish assay. *Pharmacology and Toxicology*, 86 (3), 110-113. 【10798】
- Riad MA, Abd-Rabo MM, Abd El Aziz SA, El Behairy AM and Badawy MM (2018) Reproductive toxic impact of subchronic treatment with combined butylparaben and triclosan in weanling male rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 32 (3), e22037. 【16455】
- Routledge EJ, Parker J, Odum J, Ashby J and Sumpter JP (1998) Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 153 (1), 12-19. 【6506】
- Satoh K, Nagai F, Aoki N and Nishijima M (2000) Competitive binding of some alkyl *p*-hydroxybenzoates to human estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$ . *Yakugaku Zasshi*, 120 (12), 1429-1433. 【16538】
- Terasaka S, Inoue A, Tanji M and Kiyama R (2006) Expression profiling of estrogen-responsive genes in breast cancer cells treated with alkylphenols, chlorinated phenols, parabens, or bis- and benzoylphenols for evaluation of estrogenic activity. *Toxicology Letters*, 163 (2), 130-141. 【13157】
- Terasaki M, Kamata R, Shiraishi F and Makino M (2009) Evaluation of estrogenic activity of parabens and their chlorinated derivatives by using the yeast two-hybrid assay and the enzyme-linked immunosorbent assay. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28 (1), 204-208. 【15837】
- Vo TT and Jeung EB (2009) An evaluation of estrogenic activity of parabens using uterine calbindin-d9k gene in an immature rat model. *Toxicological Sciences*, 112 (1), 68-77. 【16535】
- Vo TT, Yoo YM, Choi KC and Jeung EB (2010) Potential estrogenic effect(s) of parabens at the prepubertal stage of a postnatal female rat model. *Reproductive Toxicology*, 29 (3), 306-316. 【10792】
- Watanabe Y, Kojima H, Takeuchi S, Uramaru N, Ohta S and Kitamura S (2013) Comparative study on transcriptional activity of 17 parabens mediated by estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  and androgen receptor. *Food and Chemical Toxicology*, 57, 227-234. 【16470】
- Wei F, Cheng H and Sang N (2022) Comprehensive assessment of estrogenic activities of parabens by *in silico* approach and *in vitro* assays. *Science of the Total Environment*, 845, 157194. 【16436】
- Williams GP and Darbre PD (2019) Low-dose environmental endocrine disruptors, increase aromatase activity, estradiol biosynthesis and cell proliferation in human breast cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 486, 55-64. 【16293】
- Wróbel A and Gregoraszczuk E (2013) Effects of single and repeated *in vitro* exposure of three forms of parabens, methyl-, butyl- and propylparabens on the proliferation and estradiol secretion in MCF-7 and MCF-10A cells. *Pharmacological Reports*, 65 (2), 484-493. 【16469】
- Wróbel AM and Gregoraszczuk E (2014) Actions of methyl-, propyl- and butylparaben on estrogen receptor- $\alpha$  and - $\beta$  and the progesterone receptor in MCF-7 cancer cells and non-cancerous MCF-10A cells. *Toxicology Letters*, 230 (3), 375-381. 【16465】
- Zhang L, Ding S, Qiao P, Dong L, Yu M, Wang C, Zhang M, Zhang L, Li Y, Tang N and Chang B (2016) *n*-butylparaben induces male reproductive disorders via regulation of estradiol and estrogen receptors. *Journal of Applied Toxicology*, 26 (9), 1223-1234. 【16462】
- Zhang L, Dong L, Ding S, Qiao P, Wang C, Zhang M, Zhang L, Du Q, Li Y, Tang N and Chang B (2014) Effects of *n*-butylparaben on steroidogenesis and spermatogenesis through changed E<sub>2</sub> levels in male rat offspring. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37 (2), 705-717. 【16466】

## VIII. イソブチルパラベン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

イソブチルパラベンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、プレグナン X 受容体への作用、ヒト乳がん細胞への影響に関する報告がある。

#### (1) 生殖影響

- ①Vo ら(2010)によって、イソブチルパラベン(東京化成) 62.5、250、1,000mg/kg/day を 21 日齢から 40 日齢まで経口投与した雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、62.5mg/kg/day 以上のばく露群で子宮厚の高値、62.5mg/kg/day のばく露群で血清中サイロキシン濃度の低値が認められた。なお、体重、肝臓相対重量、子宮相対重量、下垂体相対重量、卵巣相対重量、甲状腺相対重量、副腎相対重量、腎臓相対重量、黄体数/嚢胞性卵胞数比、血清中エストラジオール濃度、血清中プロラクチン濃度、陰開口日、正常発情周期数、発情周期占める発情前期率、発情周期占める発情期率、発情周期占める発情間期率には影響は認められなかった。【10792】(評価結果の略号：△?)  
→(3)①

想定される作用メカニズム：不明

- ②Vo と Jeung (2009)によって、イソブチルパラベン(東京化成) 62.5、250、1,000mg/kg/day を 14 日齢から 16 日齢まで皮下投与した雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、250mg/kg/day 以上のばく露群で子宮中 CaBP-9k 蛋白質相対発現量、子宮相対重量の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で子宮中 CaBP-9k mRNA 相対発現量の高値が認められた。なお、子宮中 PR mRNA 相対発現量、子宮中 PR 蛋白質相対発現量には影響は認められなかった。【16535】(△○P)

想定される作用メカニズム：微弱なエストロゲン様作用

#### (2) エストロゲン作用

- ①Watanabe ら(2013)によって、イソブチルパラベン(東京化成、99%) 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10μM(=1.94、5.82、19.4、58.2、194、582、1,940μg/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 (エストロゲン受容体 β を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、REC<sub>20</sub> 値(エストラジオール 1 nM による最大活性値の 20%相当の活性を誘導する濃度) 0.043μM(=8.4μg/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

また、イソブチルパラベン(東京化成、99%) 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10μM(=1.94、5.82、19.4、58.2、194、582、1,940μg/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 (エストロゲン受容体 α を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(エストロゲン応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、REC<sub>20</sub> 値 0.12μM(=23μg/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。【16470】(△○P)→(4)①、(5)①

- ②Wei ら(2022)によって、イソブチルパラベン(東京化成、99%) 0.01、0.1、1、5、10、50μM(=1.94、19.4、194、971、1,940、9,710μg/L)の濃度に 48 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、

0.1 $\mu$ M(=19.4 $\mu$ 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、イソブチルパラベン(東京化成、99%)0.01、0.1、1、5、10、50 $\mu$ M(=1.94、19.4、194、971、1,940、9,710 $\mu$ g/L)の濃度に7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、1 $\mu$ M(=194 $\mu$ g/L)以上の濃度区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 182,780 100nM 共存下で消失した。【16436】(〇〇P)

- ③Terasaki ら(2009)によって、イソブチルパラベン(東京化成)0.016～1 $\mu$ M(=3.10～194 $\mu$ g/L)の濃度に4時間ばく露した酵母(メダカエストロゲン受容体 $\alpha$ 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、EC $\times$ 10 値(対照区の10倍に相当する測定値を誘導する濃度)0.18 $\mu$ M(=35.0 $\mu$ 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、イソブチルパラベン(東京化成)0.016～1 $\mu$ M(=3.10～194 $\mu$ g/L)の濃度に4時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体 $\alpha$ 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、EC $\times$ 10 値0.68 $\mu$ M(=132 $\mu$ 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。【15837】( $\Delta$ 〇P)→(3)②

- ④Okubo ら(2001)によって、イソブチルパラベン(関東化学)0.1、1、2、5、10、20、50、100 $\mu$ M(=19.4、194、388、971、1,940、3,880、9,710 $\mu$ 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、EC $_{50}$  値0.68 $\mu$ M(=130 $\mu$ g/L)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 182,780 10nM 共存下で消失した。【16482】(×-)→(3)④、(9)①

なお、本試験結果の解釈にあたっては、有意差検定の手法や結果に関する記載が不明瞭である点に注意を要すると判断された。

- ⑤Koda ら(2005)によって、イソブチルパラベン(東京化成)100、250、625mg/kg/day、13～14週齢から3日間皮下投与したSDラット、雌(11～12週齢で卵巣摘出处置)への影響が検討されている。その結果として、250mg/kg/day以上のばく露群で子宮相対重量(wet 及び blotted)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。【13985】( $\Delta$ 〇P)

### (3) エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用

- ①Vo ら(2010)によって、イソブチルパラベン(東京化成)についてエストロゲン受容体 $\alpha$ によるFluormone ES2 に対する結合阻害試験が検討されている。その結果として、IC $_{50}$  値2.07 $\mu$ M(=402 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。

また、イソブチルパラベン(東京化成)についてエストロゲン受容体 $\beta$ によるFluormone ES2 に対する結合阻害試験が検討されている。その結果として、IC $_{50}$  値2.75 $\mu$ M(=534 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。【10792 再】( $\Delta$ 〇P)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、イソブチルパラベン及びFluormone ES2 の試験実施濃度が示されていない点に注意を要すると判断された。

- ②Terasaki ら(2009)によって、イソブチルパラベン(東京化成)0.0038～38 $\mu$ M(=0.737～7,370 $\mu$ g/L)の濃度でヒトエストロゲン受容体 $\alpha$ による競合的酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)試験が検討されている。その結果として、IC $_{50}$  値3.6 $\mu$ M(=699 $\mu$ g/L)の濃度で結



合阻害が認められた。【15837 再】(△○P)

- ③Satoh ら(2000)によって、イソブチルパラベン(東京化成、99%) 0.1～1,000 $\mu$ M(=19.4～194,000 $\mu$ g/L)の濃度でヒトエストロゲン受容体  $\beta$  (TOYOBO Ligand Screening System)によるエストラジオールに対する結合阻害試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 5.0 $\mu$ M(=971 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。

また、イソブチルパラベン(東京化成、99%)についてヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  (TOYOBO Ligand Screening System)によるエストラジオールに対する結合阻害試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 6.0 $\mu$ M(=1,170 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。【16538】(△○P)

- ④Okubo ら(2001)によって、イソブチルパラベン(関東化学)についてヒトエストロゲン受容体  $\alpha$  (TOYOBO Ligand Screening System)によるエストラジオールに対する結合阻害試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 27 $\mu$ M(=5,200 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。

また、イソブチルパラベン(関東化学)についてヒトエストロゲン受容体  $\beta$  (TOYOBO Ligand Screening System)によるエストラジオールに対する結合阻害試験が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 28 $\mu$ M(=5,400 $\mu$ g/L)の濃度で結合阻害が認められた。【16482 再】(×ー)

なお、本試験結果の解釈にあたっては、有意差検定の手法や結果に関する記載が不明瞭である点、イソブチルパラベン及びエストラジオールの試験実施濃度が示されていない点に注意を要すると判断された。

#### (4) アンドロゲン作用

- ①Watanabe ら(2013)によって、イソブチルパラベン(東京化成、99%) 10 $\mu$ M(=1,940 $\mu$ g/L)までの濃度に24時間ばく露したチャイニーズハムスター卵巢細胞 CHO-K1 (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。【16470 再】(△○N)

#### (5) 抗アンドロゲン作用

- ①Watanabe ら(2013)によって、イソブチルパラベン(東京化成、99%) 10 $\mu$ M(=1,940 $\mu$ g/L)までの濃度に24時間ばく露(ジヒドロテストステロン 0.1nM 共存下)したチャイニーズハムスター卵巢細胞 CHO-K1 (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。【16470 再】(△○N)

#### (6) プレグナン X 受容体への作用

- ①Fujino ら(2019)によって、イソブチルパラベン(東京化成、99%) 0.3、1、3、10、30 $\mu$ M(=58.2、194、582、1,940、5,820 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(ばく露時間の記載なし)したチャイニーズハムスター卵巢細胞 CHO-K1 (ヒトプレグナン X 受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(プレグナン X 受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=1,940 $\mu$ 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、イソブチルパラベン(東京化成、99%) 0.03、0.1、0.3、1、3、10、30 $\mu$ M(=5.82、19.2、58.2、194、582、1,940、5,820 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(ばく露時間の記載なし)したチャイニーズハムスター卵

巢細胞 CHO-K1 (ラットプレグナン X 受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(プレグナン X 受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=1,940 $\mu$ 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。

【16449】(△○P)

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝能への影響

#### (7) アンドロスタン受容体への作用

①Fujino ら(2019)によって、イソブチルパラベン(東京化成、99%) 1、3、10、30 $\mu$ M(=194、582、1,940、5,820 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(ばく露時間の記載なし)したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 (ラットアンドロスタン受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(アンドロスタン受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=1,940 $\mu$ 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。【16449 再】(△○P)

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝能への影響

#### (8) ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体への作用

①Fujino ら(2019)によって、イソブチルパラベン(東京化成、99%) 1、3、10、30 $\mu$ M(=194、582、1,940、5,820 $\mu$ g/L)の濃度にばく露(ばく露時間の記載なし)したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 (ラットペルオキシソーム増殖因子活性化受容体を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体応答配列をもつレポーター遺伝子導入細胞を用いたルシフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M(=1,940 $\mu$ 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。【16449 再】(△○P)

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝能への影響

#### (9) ヒト乳がん細胞への影響

①Okubo ら(2001)によって、イソブチルパラベン(関東化学) 10 $\mu$ M(=1,940 $\mu$ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、エストロゲン受容体  $\alpha$  蛋白質相対発現量、*ER $\alpha$*  mRNA 相対発現量の低値が認められた。なお、*PR* mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。【16482 再】(×ー)

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、統計的有意差検定未実施の半定量的測定で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、ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝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8に示した。

表8 信頼性評価のまとめと今後の対応案

物質名：イソブチルパラベン

| 区分                                        |                           | 著者<br>【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)生殖影響                                   | 不明                        | ①Vo ら(2010)【10792】→(3)①            | △                                                                                     | ?                             | —                                               |
|                                           | 微弱なエストロゲン様作用              | ②Vo と Jeung (2009)【16535】          | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (2)エストロゲン作用                               |                           | ①Watanabe ら(2013)【16470】           | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                                           |                           | ②Wei ら(2022)【16436】                | ○                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                                           |                           | ③Terasaki ら(2009)【15837】→(3)②      | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                                           |                           | ④Okubo ら(2001)【16482】→(3)④、(9)①    | ×                                                                                     | —                             | ×                                               |
|                                           |                           | ⑤Koda ら(2005)【13985】               | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (3)エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用                    |                           | ①Vo ら(2010)【10792 再】               | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                                           |                           | ②Terasaki ら(2009)【15837 再】         | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                                           |                           | ③Satoh ら(2000)【16538】              | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
|                                           |                           | ④Okubo ら(2001)【16482 再】            | ×                                                                                     | —                             | ×                                               |
| (4)アンドロゲン作用                               |                           | ①Watanabe ら(2013)【16470 再】         | △                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
| (5)抗アンドロゲン作用                              |                           | ①Watanabe ら(2013)【16470 再】         | △                                                                                     | ○N                            | ×                                               |
| (6)プレグナ<br>ンX受容<br>体への作用                  | ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝能への影響 | ①Fujino ら(2019)【16449】→(11)①、(12)① | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (7)アンドロ<br>スタン受容<br>体への作用                 | ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝能への影響 | ①Fujino ら(2019)【16449 再】           | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (8)ペルオキシ<br>ソーム増<br>殖因子活性<br>化受容体へ<br>の作用 | ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝能への影響 | ①Fujino ら(2019)【16449 再】           | △                                                                                     | ○P                            | ○                                               |
| (9)ヒト乳がん細胞への影響                            | 不明                        | ①Okubo ら(2001)【16482 再】            | ×                                                                                     | —                             | ×                                               |

| 区分               | 著者<br>【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、エストロゲ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、ステロイドホルモン及び甲状腺ホルモン代謝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

Fujino C, Watanabe Y, Sanoh S, Hattori S, Nakajima H, Uramaru N, Kojima H, Yoshinari K, Ohta S and Kitamura S (2019) Comparative study of the effect of 17 parabens on PXR-, CAR- and PPAR $\alpha$ -mediated transcriptional activation. Food and Chemical Toxicology, 133, 110792. 【16449】

Koda T, Umezu T, Kamata R, Morohoshi K, Ohta T and Morita M (2005) Uterotrophic effects of benzophenone derivatives and a *p*-hydroxybenzoate used in ultraviolet screens. Environmental Research, 98 (1), 40-45. 【13985】

Okubo T, Yokoyama Y, Kano K and Kano I (2001) ER-dependent estrogenic activity of parabens assessed by proliferation of human breast cancer MCF-7 cells and expression of ER $\alpha$  and PR. Food and Chemical Toxicology, 39 (12), 1225-1232. 【16482】

Satoh K, Nagai F, Aoki N and Nishijima M (2000) Competitive binding of some alkyl *p*-hydroxybenzoates to human estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$ . Yakugaku Zasshi, 120 (12), 1429-1433. 【16538】

Terasaki M, Kamata R, Shiraishi F and Makino M (2009) Evaluation of estrogenic activity of parabens and their chlorinated derivatives by using the yeast two-hybrid assay and the enzyme-linked immunosorbent assay. Environmental Toxicology and Chemistry, 28 (1), 204-208. 【15837】

Vo TT and Jeung EB (2009) An evaluation of estrogenic activity of parabens using uterine calbindin-d9k gene in an immature rat model. Toxicological Sciences, 112 (1), 68-77. 【16535】

Vo TT, Yoo YM, Choi KC and Jeung EB (2010) Potential estrogenic effect(s) of parabens at the prepubertal stage of a postnatal female rat model. Reproductive Toxicology, 29 (3), 306-316. 【10792】

Watanabe Y, Kojima H, Takeuchi S, Uramaru N, Ohta S and Kitamura S (2013) Comparative study on transcriptional activity of 17 parabens mediated by estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  and androgen receptor. Food and Chemical Toxicology, 57, 227-234. 【16470】

Wei F, Cheng H and Sang N (2022) Comprehensive assessment of estrogenic activities of parabens by *in silico* approach and *in vitro* assays. Science of the Total Environment, 845, 157194. 【16436】