

ブチルパラベン (CAS no. 94-26-8)

文献信頼性評価結果

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

○：既存知見から示唆された作用

-：既存知見から示唆されなかった作用

*その他：視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用等

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、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。

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

- Bjerregaard ら(2008)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich、99%) 21±2.8、53±22、58±6、76±10、134±36、369±36µg/L(測定濃度。設定濃度 25、50、75、100、200、400µg/L に相当)に 10 日間ばく露した未成熟ブラウトラウト(*Salmo trutta*)への影響が検討されている。その結果として、76µg/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。

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

- Alslev ら(2005)によって、ブチルパラベン(Sigma、98%) 50、250µg/L(設定濃度。ばく露開始前実測濃度 56±0.1、330±2.0µg/L、ばく露終了後実測濃度 55±1.4、300±12µg/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、250µg/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。

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。

(2) 生殖影響

- Maske ら(2020)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich) 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 日齢雄仔動物において、10mg/kg/day 以上のばく露群で下垂体相対重量、血清中 17 β -エストラジオール濃度の低値、10mg/kg/day のばく露群で体重の高値(1,000mg/kg/day 群は低値)、100mg/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、精囊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 のばく露群で精囊相対重量の高値(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 β -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 β -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日毎精子産生数、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 β* 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、精囊相対重量、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。

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

- Maske 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 β -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 β -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 *ER α* 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 β -エストラジオール濃度、卵巣中黄体数の低値、卵巣中 *ER β* 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。

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。

- Guerra 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。

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 α 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。

- Boberg 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。

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

- Oishi (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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

- Oishi (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。

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

- Riad 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。

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

- Ahn 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。

想定される作用メカニズム：エストロゲン様作用

- Zhang 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。

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

- Ara 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、精巣中還元型グルタチオン濃度、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、精巣上体中精子濃度、正常形態精子率、運動精子率の低値、精巣絶対及び相対重量、精巣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 17β -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。

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

- Zhang 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、精巣絶対重量、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、精巣上体絶対重量、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、精巣絶対重量、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、精巣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、精巣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、精巣絶対重量、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、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、精囊絶対重量、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。

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、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。

- Vo 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ER α mRNA 相対発現量、子宮中ER α 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 182,780 1 mg/kg/dayの同時投与で減弱した。

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

- Gogoi 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(D1)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D1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。

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

- Boberg 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。

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-1 β 、PAI-1 active、IL6、

TNF α 、エストロ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 α* 、卵巣中 *aromatase*、*ER α* 、*ER β* 、*IGF-1*、*CompC3*、*PPAR α* 、*PPAR γ* 、副腎中 *P450c1*、肝臓中 *PPAR α* 、*PPAR γ*)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

- Wei 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 μ M(=1.94、19.4、194、971、1,940、9,710 μ 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 μ M(=19.4 μ 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 μ M(=1.94、19.4、194、971、1,940、9,710 μ 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 μ M(=194 μ 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。

- Watanabe 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 μ M(=1.94、5.82、19.4、58.2、194、582、1,940 μ 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 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、REC₂₀ 値(エストロジオール 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 μ M(=29 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

また、ブチルパラベン(和光純薬、98%) 0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10 μ M(=1.94、5.82、19.4、58.2、194、582、1,940 μ 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 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、REC₂₀ 値 0.29 μ M(=56 μ g/L)の濃度でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

- Terasaki ら(2009)によって、ブチルパラベン(和光純薬) 0.016~1 μ M(=3.10~194 μ g/L)の濃度に4時間ばく露した酵母(メダカエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(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 \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 μ M(=52.4 μ g/L)の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。

また、ブチルパラベン(和光純薬) 0.16~10 μ M(=31.0~1,940 μ g/L)の濃度に4時間ばく露した酵母(ヒトエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーター遺伝子アッセイ(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 \times 10 値 2.3 μ M(=446 μ g/L)の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。

- Byford ら(2002)によって、ブチルパラベン(Sigma、99%) 0.1、1、5、10、50、100 μ M(=19.4、194、970、1,940、9,700、19,400 μ 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 μ M(=194 μ 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。

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。

- Routledge ら(1998)によって、ブチルパラベン(Sigma, 99%) 0.1~10 μ M(=19.4~1,940 μ 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 β -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、EC₅₀ 値約 1 μ M(=194 μ g/L)の濃度で β -ガラクトシダーゼ発現誘導が認められた。

また、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。

- Lemini 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。

- Ohta 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 週齢で卵巣摘出处置)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 週齢で卵巣摘出处置)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。

(6) エストロゲン作用又は抗エストロゲン作用

- Vo 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 α 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、IC₅₀ 値 4.98 μ M(=967 μ 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 β 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、IC₅₀ 値 5.24μM(=1,020μg/L)の濃度で結合阻害が認められた。

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。

- Terasaki ら(2009)によって、ブチルパラベン(和光純薬) 0.0038~38μM(=0.737~7,370μg/L)の濃度でヒトエストロゲン受容体 α 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、IC₅₀ 値 20μM(=3,880μg/L)の濃度で結合阻害が認められた。
- Satoh ら(2000)によって、ブチルパラベン(東京化成、99%) 0.1~1,000μM(=19.4~194,000μg/L)の濃度でヒトエストロゲン受容体 α (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、IC₅₀ 値 24μM(=4,660μg/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 β (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、IC₅₀ 値 24μM(=4,660μg/L)の濃度で結合阻害が認められた。

- Routledge ら(1998)によって、ブチルパラベン(Sigma、99%) 0.05、0.5、5、50、500μM(=9.71、97.1、971、9710、97100μg/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、IC₅₀ 値約 100μM(=97,100μg/L)の濃度で結合阻害が認められた。
- Byford ら(2002)によって、ブチルパラベン(Sigma、99%) 0.016、0.16、1.6、16、160、320、1600μM(=3.1、31、310、3,100、31,000、155,000、310,000μg/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、IC₅₀ 値約 160μM(=31,000μg/L)の濃度で結合阻害が認められた。

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。

- Lemini ら(2003)によって、ブチルパラベン(Sigma) 0.001、0.01、0.1、1、10、100、500、1,000μM(=0.194、1.94、19.4、194、1,940、19,400、97,000、194,000μg/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、IC₅₀ 値約 500μM(=97,000μg/L)の濃度で結合阻害が認められた。

(7) 抗アンドロゲン作用

- Chen 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、10μM(=0.0194、0.194、1.94、19.4、194、1,940μg/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、10μM(=1,940μg/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。

(8) プレグナン X 受容体への作用

- Fujino ら(2019)によって、ブチルパラベン(和光純薬、98%) 0.3、1、3、10、30μM(=58.2、194、582、1,940、5,820μg/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 μ M(=1,940 μ 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 μ M(=5.82、19.2、58.2、194、582、1,940、5,820 μ 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 μ M(=1,940 μ 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。

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

(9) アンドロスタン受容体への作用

- Fujino ら(2019)によって、ブチルパラベン(和光純薬、98%) 1、3、10、30 μ M(=194、582、1,940、5,820 μ 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、30 μ M(=5,820 μ g/L)の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

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

(10) ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体への作用

- Fujino ら(2019)によって、ブチルパラベン(和光純薬、98%) 1、3、10、30 μ M(=194、582、1,940、5,820 μ 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 μ M(=5,820 μ g/L)の濃度区でルシフェラーゼ発現誘導が認められた。

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

- Hu ら(2013)によって、ブチルパラベン(Acros Organics) 100 μ M(=19,400 μ 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 γ : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ)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 γ 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 γ を標的とした siRNA の共存により、その影響は消失した。

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

(11) 副腎皮質ホルモン作用

- Hu ら(2013)によって、ブチルパラベン(Acros Organics) 100 μ M(=19,400 μ 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 μ M(=19,400 μ 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 μ M(=19,400 μ 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。

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。

(12) 脂肪関連細胞への影響

- Hu ら(2013)によって、ブチルパラベン(Acros Organics) 1、10、100 μ M(=194、1,940、19,400 μ 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 μ M(=19,400 μ g/L)の濃度区でペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(PPAR γ : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ) mRNA 相対発現量、転写因子 C/EBP α (CCAAT/ enhancer binding protein α) 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 μ 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 μ M(=9,700 μ 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。

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 μ M(=9,700 μ 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 μ M(=19,400 μ 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。

(13) ヒト乳がん細胞への影響

- Wróbel と Gregoraszczyk (2013)によって、ブチルパラベン(Sigma) 0.0002、0.002、0.02、0.2、2 μM (=0.0388、0.388、3.88、38.8、388 $\mu\text{g/L}$)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 μM (=0.0388 $\mu\text{g/L}$)以上の濃度区で細胞増殖率(96 時間)の高値、0.0002 μM (=0.0388 $\mu\text{g/L}$)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 μM (=3.88 $\mu\text{g/L}$)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 μM (=0.0388、0.388、3.88、38.8、388 $\mu\text{g/L}$)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 μM (=0.0388 $\mu\text{g/L}$)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 μM (=3.88 $\mu\text{g/L}$)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。

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

- Williams と Darbre (2019)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich) 0.01 μM (=1.94 $\mu\text{g/L}$)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 μM (=1,940 $\mu\text{g/L}$)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 β -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 μM (=1.94 $\mu\text{g/L}$)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 μM (=1,940 $\mu\text{g/L}$)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 β -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 μM (=1.94 $\mu\text{g/L}$)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 μM (=1,940 $\mu\text{g/L}$)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 β -エストラジオール産生量が認められた。

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 α 、エストロゲン受容体 β 、プロゲステロン受容体を発現($\text{ER}\alpha^+$ 、 $\text{ER}\beta^+$ 、 PR^+)しているのに対し、HMF3A 細胞はエストロゲン受容体 β 、プロゲステロン受容体を発現($\text{ER}\alpha^-$ 、 $\text{ER}\beta^+$ 、 PR^+)している点に注意を要すると判断された。

- Wróbel と Gregoraszczyk (2014)によって、ブチルパラベン(Sigma) 0.02 μM (=3.88 $\mu\text{g/L}$)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 α) mRNA 相対発現量(24 時間)、エストロゲン受容体(ER) α 蛋白質相対発現量(48 時間)、*ESR2* (エストロゲン受容体 β) 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 β 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 β 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 μ M(=3.88 μ 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 α 蛋白質相対発現量(48、72 時間)、ER β 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。

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

- Terasaka ら(2006)によって、ブチルパラベン(Sigma-Aldrich) 10 μ M(=1,940 μ 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 β -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。

想定される作用メカニズム：エストロゲン作用

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Boberg J, Metzdorff 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.
- 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.
- 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.
- 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 α -mediated transcriptional activation. *Food and Chemical Toxicology*, 133, 110792.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Kang KS, Che JH, Ryu DY, Kim TW, Li GX and Lee YS (2002) Decreased sperm number and motile activity on the F₁ offspring maternally exposed to butyl *p*-hydroxybenzoic acid (butyl paraben). *Journal of Veterinary Medical Science*, 64 (3), 227-235.
- 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.
- Maske P, Dighe V and Vanage G (2018) *n*-Butylparaben exposure during perinatal period impairs fertility of the F₁ generation female rats. *Chemosphere*, 213, 114-123.
- 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 F₁ generation male rats. *Environmental Pollution*, 256, 112957.
- 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.
- Oishi S (2001) Effects of butylparaben on the male reproductive system in rats. *Toxicology and Industrial Health*, 17 (1), 31-39.
- Oishi S (2002) Effects of butyl paraben on the male reproductive system in mice. *Archives of Toxicology*, 76 (7), 423-429.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Satoh K, Nagai F, Aoki N and Nishijima M (2000) Competitive binding of some alkyl *p*-hydroxybenzoates to human estrogen receptor α and β . *Yakugaku Zasshi*, 120 (12), 1429-1433.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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 α and β and androgen receptor. *Food and Chemical Toxicology*, 57, 227-234.
- 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.
- 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.
- Wróbel A and Gregoraszczyk 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.
- Wróbel AM and Gregoraszczyk E (2014) Actions of methyl-, propyl- and butylparaben on estrogen receptor- α and - β and the progesterone receptor in MCF-7 cancer cells and non-cancerous MCF-10A cells. *Toxicology Letters*, 230 (3), 375-381.
- 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.
- 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 E₂ levels in male rat

offspring. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37 (2), 705-717.

(令和7年度第1回化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会 資料1-2より抜粋)