

参考資料 2-3

H25 第 2 回作用・影響評価検討部会

資料 1-2 (一部修正)

及び

H26 第 1 回 EXTEND2010 作用・影響評価検討部会

資料 1-2

化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告の
信頼性評価結果(信頼性評価第 5 回続き)(案)

平成 25 年度に開催した「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」において、信頼性評価第 5 回の 22 物質のうち 8 物質に関する信頼性評価の結果を取りまとめたので、以下に示す。なお、22 物質のうち 8 物質については信頼性評価の結果を既に報告済み(EXTEND2010 に基づく平成 25 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平成 25 年 7 月 26 日開催)であり、残り 6 物質については信頼性評価を実施中である(信頼性評価の結果の詳細については、別添参照)。

1. 平成 25 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物質(8 物質)

- *フルタミド：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、ホルモン産生への影響及び脱皮ホルモン様作用を示すことが示唆されたため。
- *アセトアルデヒド：試験管内試験の報告において、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用(テストステロン合成阻害)を示すことが示唆されたため。
- *二硫化炭素：動物試験の報告において、抗アンドロゲン様作用を示すこと、疫学的調査の報告において、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用及び甲状腺への作用を示すことが示唆されたため。
- *フェンバレレート：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—甲状腺軸への作用及び性ホルモンの生合成と性ホルモン受容体生成に関する影響を示すこと、試験管内試験の報告に

において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗プロゲステロン作用、ホルモン産生への影響及び視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用(プロゲステロン合成系)を示すことが示唆されたため。

*過塩素酸：動物試験の報告において、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用、視床下部－下垂体－甲状腺軸への作用及び甲状腺への影響を示すこと、疫学的調査の報告において、抗甲状腺ホルモン様作用を示すことが示唆されたため。

*グリホサート：動物試験の報告において、視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用、ホルモン合成系の作用及び抗アンドロゲン様作用を示すこと、試験管内試験の報告において、ホルモン合成系への作用を示すことが示唆されたため。

*ニトロベンゼン：動物試験の報告において、抗アンドロゲン様作用及び視床下部－下垂体－生殖腺軸への影響を示すこと、試験管内試験の報告において、インヒビン分泌を上昇させる作用を示すことが示唆されたため。

*りん酸トリクレジル：動物試験の報告において、ステロイドホルモン(テストステロン)合成・代謝系への作用、視床下部－下垂体－生殖腺軸への影響を示すこと、試験管内試験の報告において、ステロイドホルモン(テストステロン)合成・代謝系への作用及び抗エストロゲン作用を示すことが示唆されたため。

(2)現時点では試験対象物質としない物質

今回は、該当する物質はなかった。

I. フルタミド

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

フルタミドの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響(甲殻類、魚類、両生類)、生殖影響及び抗アンドロゲン様作用以外の影響(抗プロゲステロン様作用、血圧に及ぼす影響、神経及び行動影響)の有無に関する報告がある。なお、抗アンドロゲン様作用に係る健康影響、試験管内試験及び疫学的調査に関する報告については、記載していない。なお、本物質の主な用途は、医薬品(抗アンドロゲン剤、前立腺がん治療薬)である。

(1)生態影響(甲殻類)

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Andersen ら(2001)によって、フルタミド(設定濃度不詳)に5日間ばく露したカイアシ類アカルチア属の一種 *Acartia tonsa* の卵への影響が検討されている。その結果として、EC₅₀ 値 480µg/L の濃度でノープリウス幼生からコペポダイトへの変態率の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、試験を行った濃度範囲の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ノープリウス幼生からコペポダイトへの変態率の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：脱皮ホルモン様作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

- ②Haeba ら(2008)によって、フルタミド 10、100、1,000µg/L(設定濃度)に24時間未満齢から21日間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響が検討されている。その結果として、1,000µg/L のばく露区で総産仔数の低値、7日目母動物体長の低値、初出産日の遅延が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、総産仔数、母動物体長の低値、初出産日の遅延が認められたが、急性毒性 EC₅₀ 値の約 1/3 の濃度

注：信頼性評価を実施した報告について作用の区分ごとに分類し、信頼性評価の結果として「試験対象物質として選定する根拠として認められる報告」、「内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告」及び「試験対象物質として選定する根拠として認められない報告」に区分した。報告ごとに、著者名、公表年、試験概要及び信頼性評価結果を記載し、作用の認められた濃度・用量の低い順に掲載した。なお、疫学的調査に関する報告については公表年の古い順に掲載した。

において影響が認められており、毒性影響と考えられた。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：毒性

(2)生態影響(魚類)

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Katsiadaki ら(2006)によって、フルタミド 1、10、50、125、250、500 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 6 ヶ月齢以上から 3 週間ばく露(ジヒドロテストステロン 5 $\mu\text{g/L}$ を同時ばく露)した雌イトヨ(*Gasterosteus aculeatus*)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で体重当りのスピギン濃度の低値が認められた。

また、フルタミド 25、250 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 6 ヶ月齢以上から 3 週間ばく露(17 α -メチルテストステロン 0.5 $\mu\text{g/L}$ を同時ばく露)した雌イトヨ(*G. aculeatus*)への影響が検討されている。その結果として、25 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で体重当りのスピギン濃度の低値が認められた。

また、フルタミド 1、10、50、125、250、500 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 6 ヶ月齢以上から 3 週間ばく露(ジヒドロテストステロン 5 $\mu\text{g/L}$ を同時ばく露)した雄イトヨ(*G. aculeatus*)への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で体重当りのスピギン濃度の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、詳細な飼育条件の記載がないこと、用いた統計手法が簡略化されて記載されていることから、一部記載が不十分であると評価された。

「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、スピギン濃度の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

②Chakrabarty ら(2012)によって、フルタミド 33 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に孵化後 50 日齢から 50 日間ばく露した雌ウォーキングキャットフィッシュ(*Clarias batrachus*)への影響が検討されている。その結果として、未成熟卵母細胞存在率の低値、前卵黄形成期卵母細胞存在率、血漿中エストラジオール濃度、卵巣中アロマターゼ比活性、卵巣アロマターゼ *cyp19a1a* mRNA 卵巣中相対発現量、卵巣関連因子 *FOXL2* mRNA 卵巣中相対発現量、オーファン核受容体 *Ad4BP/SF-1* mRNA 卵巣中相対発現量、ステロイド産生急性調節タンパク質 *StAR* mRNA 卵巣中相対発現量、性腺刺激ホルモン放出ホルモン *GnRH* mRNA 脳相対発現量、トリプトファンヒドロキシラーゼ *tph2* mRNA 脳相対発現量、脳アロマターゼ *cyp19a1b* mRNA 脳相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、詳細な飼育条件及び被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、未成熟卵母細胞存在率の低値、前卵黄形成期卵母細胞存在率、血漿中エストラ

ジオール濃度、卵巣中アロマトーゼ比活性、卵巣アロマトーゼ *cyp19a1a* mRNA 卵巣中相対発現量、卵巣関連因子 *FOXL2* mRNA 卵巣中相対発現量、ステロイド産生急性調節タンパク質 *StAR* mRNA 卵巣中相対発現量、性腺刺激ホルモン放出ホルモン *GnRH* mRNA 脳相対発現量、脳アロマトーゼ *cyp19a1b* mRNA 脳相対発現量の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

- ③Rajakumar ら(2012)によって、フルタミド 33µg/L(設定濃度)に孵化後 50 日齢から 50 日間ばく露した雄ウォーキングキャットフィッシュ(*Clarias batrachus*)への影響が検討されている。その結果として、精巣関連因子 *dmrt1* mRNA 精巣中相対発現量、精巣関連因子 *sax9a* mRNA 精巣中相対発現量、精巣関連因子 *wt1* mRNA 精巣中相対発現量、オーファン核受容体 *nr2c1* mRNA 精巣中相対発現量、オーファン核受容体 *Ad4BP/SF-1* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生急性調節タンパク質 *StAR* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生酵素 *11βhsd2* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生酵素 *17βhsd12* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生酵素 *p450c17* mRNA 精巣中相対発現量、ナマズ性腺刺激ホルモン放出ホルモン *cfGnRH* mRNA 脳相対発現量、トリプトファンヒドロキシラーゼ *thh2* mRNA 脳相対発現量、精巣体指数、精巣中生殖細胞に占める一次精原細胞存在率、精巣中生殖細胞に占める精母細胞存在率の低値、精巣中生殖細胞に占める分化精原細胞存在率、血漿中テストステロン濃度、血漿中 11-ケトテストステロン濃度の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、詳細な飼育条件及び被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精巣関連因子 *dmrt1* mRNA 精巣中相対発現量、精巣関連因子 *sax9a* mRNA 精巣中相対発現量、精巣関連因子 *wt1* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生急性調節タンパク質 *StAR* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生酵素 *11βhsd2* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生酵素 *17βhsd12* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生酵素 *p450c17* mRNA 精巣中相対発現量、ナマズ性腺刺激ホルモン放出ホルモン *cfGnRH* mRNA 脳相対発現量、精巣体指数、精巣中生殖細胞に占める一次精原細胞存在率、精巣中生殖細胞に占める精母細胞存在率の低値、精巣中生殖細胞に占める分化精原細胞存在率、血漿中テストステロン濃度、血漿中 11-ケトテストステロン濃度の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。

「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」においては、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。

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－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

- ④Garcia-Reyero ら(2009)によって、フルタミド 50、150、500µg/L に 48 時間ばく露した成熟雌フアットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、50µg/L 以上のばく露区で血漿中エストラジオール濃度の低値が認められた。

また、フルタミド 500 $\mu\text{g/L}$ に 48 時間ばく露した成熟雌ファットヘッドミノー(*P. promelas*)への影響が検討されている。その結果として黄体形成ホルモン mRNA 卵巣中相対発現量の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、詳細な飼育条件の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、血漿中エストロジオール濃度、黄体形成ホルモン mRNA 卵巣中相対発現量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

- ⑤Jolly ら(2009)によって、フルタミド 5、25、50、75、100、250 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 21 日間ばく露(ジヒドロテストステロン 5 $\mu\text{g/L}$ を同時ばく露)した成熟雌イトヨ(*Gasterosteus aculeatus*)への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で体重当りのスピギン濃度の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、詳細な飼育条件の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、スピギン濃度の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

- ⑥Sebire ら(2008)によって、フルタミド 100、500、1,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 21 間ばく露した成熟雌雄イトヨ(*Gasterosteus aculeatus*)への影響が検討されている。その結果として、100 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で、雄巣作り行動(巣を完成させた、または作成途上の)個体率、ばく露 19 日後の雄求愛行動(雌への接近時間)、ばく露 19 日後の雄求愛行動(ジグザグ行動繰り返し回数)の低値、500 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で、雄巣作り行動(穴掘行動を示す)個体率、雄体重当りのスピギン濃度、ばく露 19 日後の雄求愛行動(背中突き刺し行動回数)の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄巣作り行動個体率、雄求愛行動、スピギン濃度の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

- ⑦Filby ら(2007)によって、フルタミド 320 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に孵化後 150 日齢から 21 日間ばく露した雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、

雄において、性発達及び生殖関連蛋白質 AMH mRNA 精巣中相対発現量、性発達及び生殖関連蛋白質 Vasa mRNA 精巣中相対発現量、性発達及び生殖関連蛋白質 DMRT1 mRNA 精巣中相対発現量、成長ホルモン受容体 mRNA 肝臓中相対発現量、インシュリン様成長因子 IGF-1 mRNA 肝臓中相対発現量、インシュリン様成長因子 IGF-1 受容体 mRNA 精巣中相対発現量、グルココルチコイド受容体 mRNA 精巣中相対発現量の低値、エストロゲン受容体 β mRNA 精巣中相対発現量、エストロゲン受容体 γ mRNA 精巣中相対発現量、性ステロイド産生酵素 CYP19A mRNA 精巣中相対発現量、性ステロイド産生酵素 CYP19B mRNA 精巣中相対発現量、性ステロイド産生酵素 11 β HSD2 mRNA 精巣中相対発現量の高値が認められた。雌において、生殖腺体指数、アンドロゲン受容体 mRNA 肝臓中相対発現量、エストロゲン受容体 α mRNA 卵巣中相対発現量、アンドロゲン受容体 mRNA 卵巣中相対発現量、性発達及び生殖関連蛋白質 SF-1 mRNA 卵巣中相対発現量、成長ホルモン受容体 mRNA 肝臓中相対発現量、インシュリン様成長因子 IGF-1 mRNA 肝臓中相対発現量、インシュリン様成長因子 IGF-1 受容体 mRNA 肝臓中相対発現量、甲状腺ホルモン受容体 α mRNA 肝臓中相対発現量、甲状腺ホルモン受容体 β mRNA 肝臓中相対発現量の低値、血漿中ビテロゲニン濃度、性ステロイド産生酵素 CYP19B mRNA 卵巣中相対発現量、性ステロイド産生酵素 11 β HSD2 mRNA 卵巣中相対発現量、成長ホルモン mRNA 卵巣中相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、詳細な飼育条件の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄において、性発達及び生殖関連蛋白質 AMH mRNA 精巣中相対発現量、性発達及び生殖関連蛋白質 Vasa mRNA 精巣中相対発現量、性発達及び生殖関連蛋白質 DMRT1 mRNA 精巣中相対発現量、成長ホルモン受容体 mRNA 肝臓中相対発現量の低値、エストロゲン受容体 β mRNA 精巣中相対発現量、エストロゲン受容体 γ mRNA 精巣中相対発現量、性ステロイド産生酵素 CYP19A mRNA 精巣中相対発現量、性ステロイド産生酵素 CYP19B mRNA 精巣中相対発現量、性ステロイド産生酵素 11 β HSD2 mRNA 精巣中相対発現量の高値が認められ、雌において、生殖腺体指数、アンドロゲン受容体 mRNA 肝臓中相対発現量、エストロゲン受容体 α mRNA 卵巣中相対発現量、アンドロゲン受容体 mRNA 卵巣中相対発現量、性発達及び生殖関連蛋白質 SF-1 mRNA 卵巣中相対発現量、成長ホルモン受容体 mRNA 肝臓中相対発現量、甲状腺ホルモン受容体 α mRNA 肝臓中相対発現量、甲状腺ホルモン受容体 β mRNA 肝臓中相対発現量の低値、血漿中ビテロゲニン濃度、性ステロイド産生酵素 CYP19B mRNA 卵巣中相対発現量、性ステロイド産生酵素 11 β HSD2 mRNA 卵巣中相対発現量、成長ホルモン mRNA 卵巣中相対発現量の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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－下垂体－生殖腺軸への作用

- ⑧Jensenら(2004)によって、フルタミド 62.7 ± 5.9 、 $651\pm 45.0\mu\text{g/L}$ (実測濃度)に 21 日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、 $651\mu\text{g/L}$ のばく露区で累積産卵数の低値、雌雄の血漿中ビテロゲニン濃度、雌の血漿中テストステ

ロン濃度の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、累積産卵数の低値、雌雄の血漿中ビテロゲニン濃度、雌の血漿中テストステロン濃度の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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－下垂体－生殖腺軸への作用

- ⑨Panterら(2004)によって、フルタミド 95.3 ± 1.6 、 320.4 ± 7.7 、 $938.6 \pm 31.3 \mu\text{g/L}$ に 14 日間ばく露した成熟雌雄ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、 $95.3 \mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で雌の血漿中ビテロゲニン濃度の高値、 $938.6 \mu\text{g/L}$ のばく露区で雄の第二次性徴乳頭状小突起数の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雌の血漿中ビテロゲニン濃度の高値、雄の第二次性徴乳頭状小突起数の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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－下垂体－生殖腺軸への作用

○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告

- ⑩Ankleyら(2004)によって、フルタミド $400 \mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 14 日間ばく露した成熟雌ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響(ばく露から更に 14 日間の非ばく露期間後)が検討されている。その結果として、肝臓中ビテロゲニン mRNA 相対発現量の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、詳細な飼育条件の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、実験結果データの記載が少ないこと及び用いた統計処理方法が不十分であることから、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「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」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができなるとされた。

想定される作用メカニズム：不明

- ⑪Nozakaら(2004)によって、フルタミド 90.4 ± 15.3 、 183 ± 27.9 、 375 ± 48.1 、 737 ± 68.3 、 $1,470 \pm 130 \mu\text{g/L}$ に 21 日間ばく露した成熟雄メダカ(*Oryzias latipes*)への影響が検討されている。その結果として、 $1,470 \mu\text{g/L}$ のばく露区で肝臓中ビテロゲニン濃度の高値が認められた。

また、フルタミド 90.4 ± 15.3 、 183 ± 27.9 、 375 ± 48.1 、 737 ± 68.3 、 $1,470 \pm 130 \mu\text{g/L}$ に 21 日間ばく露した成熟雌メダカ(*O. latipes*)への影響が検討されている。その結果として、 $1,470 \mu\text{g/L}$ のばく露

区で肝臓体指数の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄の肝臓中ビテロゲン濃度の高値及び雌の肝臓体指数の高値について、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「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」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定される作用メカニズム：不明

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

⑫Jensen と Ankley(2006)によって、フルタミド 100、500、1,000 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 21 日間ばく露した成熟雌ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)への影響が検討されている。その結果として、500 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で血漿中ビテロゲン濃度の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の入手先及び純度の記載が無いことから、記載が不十分であると評価された。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

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－下垂体－生殖腺軸への作用

(3)生態影響(両生類)

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Massari ら(2010)によって、フルタミド 2.76 $\mu\text{g/L}$ に 4 週間ばく露した成熟雌雄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、雌雄の脳下垂体中アロマターゼ mRNA 相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、脳下垂体中アロマターゼ mRNA 相対発現量の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：ホルモン産生への影響

②Cevasco ら(2008)によって、フルタミド 2.76 $\mu\text{g/L}$ に 4 週間ばく露した成熟雌雄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、雄の精細管直径の低値、雄の精原細胞巢数の高値、雌の閉鎖卵胞存在率の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度の記載がないこと

から、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄の精細管直径の低値、精原細胞巢数の高値、雌の閉鎖卵胞存在率の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

- ③van Wyk ら(2003)によって、フルタミド 100mg/kg/week を 4 週間腹腔内投与した成熟雄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、繁殖腺(母指隆起)上皮厚の低値、繁殖腺(母指隆起)面積の低値、血漿中テストステロン濃度の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、繁殖腺上皮厚、繁殖腺面積の低値、血漿中テストステロン濃度の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

- ④Behrends ら(2010)によって、フルタミド 2.76、276µg/L(設定濃度)に 72 時間(ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン腹側リンパ嚢注射後 24 時間から)ばく露した成熟雄アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)への影響が検討されている。その結果として、2.76µg/L 以上のばく露区で mate calling 行動の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の入手先及び純度の記載が無いことから、記載が不十分であると評価された。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

※参考 生態影響(両生類)(今回評価対象としなかった文献)

- ⑤Knechtges ら(2007)によって、フルタミド 1±4、8±6、9±7、52±20、53±20、130±68、152±65、199±150、220±143µg/L に Nieuwkoop-Faber stage 46(孵化後 48 時間未満幼生)から 30 週間ばく露したニシツメガエル(*Xenopus tropicalis*)への影響が検討されている。その結果として、正常雄体重、正常雌体長、正常雌体重、正常雌卵巣絶対及び相対重量、正常雌血漿中ビテロゲニン濃度の濃度相関的低値傾向、異常(精巣欠損)雄、正常雄肝臓相対重量、正常雄及び異常(精巣欠損)雄の血漿中ビテロゲニン濃度の濃度相関の高値傾向が認められた(ばく露区間の有意差検定は行われていない)。

- ⑥Urbatzka ら(2007)によって、フルタミド 2.76 μ g/L に 4 週間ばく露した成熟雌雄アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) への影響が検討されているが、血漿中テストステロン濃度、血漿中エストラジオール濃度、血漿中ビテロゲニン濃度、肝臓中ビテロゲニン mRNA 相対発現量、肝臓中レチノール結合蛋白質 mRNA 相対発現量、肝臓中トランスフェリン mRNA 相対発現量、肝臓中トランスサイレチン mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。
- ⑦Urbatzka ら(2006)によって、フルタミド 2.76 μ g/L に 4 週間ばく露した成熟雌雄アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) への影響が検討されているが、脳下垂体中黄体形成ホルモン β サブユニット mRNA 相対発現量、脳下垂体中卵胞刺激ホルモン β サブユニット mRNA 相対発現量、脳下垂体中性腺刺激ホルモン放出ホルモン mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。
- ⑧Sassoon と Kelley(1986)によって、フルタミド 500mg/kg を Nieuwkoop-Faber stage 66(変態後 0 ヶ月齢)から 3 ヶ月間腹側リンパ嚢に埋設したへの影響が検討されているが、雄及び雌の喉頭筋肉繊維数には影響は認められなかった。

(4)生殖影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Omezzine ら(2003)によって、フルタミド 0.4、2、10mg/kg/day を妊娠 6 日目から出産前日(妊娠 21 又は 22 日目)まで経口投与した SD ラットが出産した 90 日齢雄仔動物への影響が検討されている。その結果として、0.4mg/kg/day 以上のばく露群で精細管中アポトーシス精子細胞数、精巣中カスパーゼ 3 mRNA 相対発現量、精巣中プロカスパーゼ 3 相対発現量、精巣中カスパーゼ 3 相対発現量、精巣中カスパーゼ 6 mRNA 相対発現量、精巣中プロカスパーゼ 6 相対発現量、精巣中カスパーゼ 6 相対発現量の高値が認められた。

また、フルタミド 10mg/kg/day を 3 日間経口投与した成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、精細管中アポトーシス生殖細胞数の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精細管中アポトーシス精子細胞数、精巣中カスパーゼ 3 mRNA 相対発現量、精巣中プロカスパーゼ 3 相対発現量、精巣中カスパーゼ 3 相対発現量、精巣中カスパーゼ 6 mRNA 相対発現量、精巣中プロカスパーゼ 6 相対発現量、精巣中カスパーゼ 6 相対発現量、精細管中アポトーシス生殖細胞数の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

- ②Svensson(2012)によって、フルタミド 50mg/kg/day を 7 日間皮下投与した雄 Wistar ラット(8～9 週齢)に空 silastic capsule 埋設処置を実施し 3 週間後から投与開始)への影響が検討されている。その結果として、電気ショック回避行動試験(modified Vogel's conflict model)におけるショック許容回数の高値が認められた。

また、フルタミド 50mg/kg/day を 7 日間皮下投与した雄 Wistar ラット(8~9 週齢にジヒドロテストステロン含有 silastic capsule 埋設処置を実施し 3 週間後から投与開始)への影響が検討されている。その結果として、電気ショック回避行動試験(modified Vogel's conflict model)におけるショック許容回数の高値が認められた。

また、フルタミド 50mg/kg/day を 8 日間皮下投与した雄 Wistar ラット(8~9 週齢に空 silastic capsule 埋設処置を実施し 3 週間後から投与開始)への影響が検討されている。その結果として、前立腺絶対重量の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、前立腺絶対重量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

(5)抗アンドロゲン様作用以外と思われる影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

①Gangula ら(2005)によって、フルタミド 10mg/kg/day を 9 ヶ月齢から 4 日間皮下投与した雌 SD ラット(母動物に妊娠 1 日目からカゼイン 6%低蛋白質餌を投与)への影響が検討されている。その結果として、収縮期血圧の低値(正常値への回復)、血清中 17 β エストラジオール濃度の高値(正常値への回復)が認められた。

また、フルタミド 30mg/kg/day を 9 ヶ月齢から 20 日間皮下投与した雄 SD ラット(母動物に妊娠 1 日目からカゼイン 6%低蛋白質餌を投与)への影響が検討されているが、収縮期血圧には影響は認められなかった(高収縮期血圧のまま)。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、低蛋白質餌を投与中の収縮期血圧の低値(正常値への回復)、血清中 17 β エストラジオール濃度の高値(正常値への回復)について、内分泌かく乱作用との関連性が認められないと評価された。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：不明

※参考 抗アンドロゲン様作用以外と思われる影響（今回評価対象としなかった文献）

②Ji ら(2006)によって、フルタミド 1、5、10mg/kg/day を 14 日齢から 3 日間皮下投与した雌 ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、1 mg/kg/day 以上のばく露群でカルシウム結合蛋白質 Calbindin-D9k mRNA 相対発現量、カルシウム結合蛋白質 Calbindin-D9k 相対発現量の

低値が認められた。

また、フルタミド 5、40、100、200mg/kg/day を 14 日齢から 3 日間皮下投与した雌 ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、5 mg/kg/day のばく露群でカルシウム結合蛋白質 Calbindin-D9k 相対発現量の低値が認められた。

③Ahmadiani ら(2003)によって、フルタミド 50、60、75、100mg/kg を単回腹腔内投与した雄 NMRI マウスへの影響が検討されている。その結果として、60mg/kg 以上のばく露群でけいれん発症率、死亡率の低値が認められた。

また、フルタミド 30、60、90mg/kg を単回腹腔内投与した雄 NMRI マウスへの影響が検討されている。その結果として、60mg/kg 以上のばく露群でビククリン誘導性(投与 30 分後にビククリン 0.05mg/L×0.3mL を尾静脈注射)けいれん発作閾値の高値が認められた。

また、90、120、140、160mg/kg を単回腹腔内投与した雄 NMRI マウスへの影響が検討されている。その結果として、140mg/kg 以上のばく露群でロータロッド試験における持久時間の低値が認められた。

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、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、ホルモン産生への影響及び脱皮ホルモン様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

物質名：フルタミド

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果 (Results)を証する 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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連 の有無 ²⁾	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 ³⁾	
(1) 生態影響 (甲殻類)	脱皮ホルモン様作用	①Andersen ら (2001)	△	○P	○
	毒性	②Haeba ら(2008)	△	×	×
(2) 生態影響 (魚類)	抗アンドロゲン様作用	①Katsiadaki ら (2006)	△	○P	○
	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	②Chakrabarty ら (2012)	△	○P	○
	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	③Rajakumar ら (2012)	△	○P	○
	視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用	④Garcia-Reyero ら (2009)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	⑤Jolly ら(2009)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	⑥Sebire ら(2008)	△	○P	○
	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	⑦Filby ら(2007)	△	○P	○
	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	⑧Jensen ら(2004)	○	○P	○
	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	⑨Panter ら(2004)	○	○P	○
	不明	⑩Ankley ら(2004)	△	?	—
不明	⑪Nozaka ら(2004)	○	?	—	

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果 (Results)を証する 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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連 の有無 ²⁾	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 ³⁾	
	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	⑫Jensen と Ankley(2006)	×	—	×
(3) 生態影響 (両生類)	ホルモン産生への影響	①Massari ら(2010)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	②Cevasco ら(2008)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	③van Wyk ら(2003)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	④Behrends ら(2010)	×	—	×
		⑤Knechtges ら(2007)評価未実施			
		⑥Urbatzka ら(2007)評価未実施			
		⑦Urbatzka ら(2006)評価未実施			
		⑧Sassoon と Kelley(1986)評価未実施			
(4) 生殖影響	抗アンドロゲン様作用	①Omezzine ら(2003)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	③Svensson(2012)	△	○P	○
(5) 抗アンドロゲン様作用以外と思われる影響	その他の作用(メカニズムは不明)	①Gangula ら(2005)	△	×	×
		②Ji ら(2006)評価未実施			
		③Ahmadiani ら(2003)評価未実施			

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果 (Results)を証す 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 ¹⁾	内分泌か く乱作用 との関連 の有無 ²⁾	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 ³⁾
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—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、ホルモン産生への影響及び脱皮ホルモン様作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない

2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない

3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

参考文献

Andersen HR, Wollenberger L, Halling-Sørensen B and Kusk KO (2001) Development of copepod nauplii to copepodites - A parameter for chronic toxicity including endocrine disruption. *Environmental Toxicological Chemistry*, 20 (12), 2821-2829.((1)本文中の作用の区分①報告の番号を示す。以下同じ。)

Haeba MH, Hilscherova K, Mazurova E and Blaha L (2008) Selected endocrine disrupting compounds (vinclozolin, flutamide, ketoconazole and dicofol): Effects on survival, occurrence of males, growth, molting and reproduction of *Daphnia magna*. *Environmental Science and Pollution Research International*, 15 (3), 222-227.((1)②)

Katsiadaki I, Morris S, Squires C, Hurst MR, James JD and Scott AP (2006) Use of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) as a sensitive *in vivo* test for detection of environmental antiandrogens. *Environmental Health Perspectives*, 114 Suppl 1, 115-121.((2)①)

Chakrabarty S, Rajakumar A, Raghuveer K, Sridevi P, Mohanachary A, Prathibha Y, Bashyam L, Dutta-Gupta A and Senthilkumaran B (2012) Endosulfan and flutamide, alone and in combination, target ovarian growth in juvenile catfish, *Clarias batrachus*. *Comparative*

Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 155 (3), 491-497.((2)②)

Rajakumar A, Singh R, Chakrabarty S, Murugananthkumar R, Laldinsangi C, Prathibha Y, Sudhakumari CC, Dutta-Gupta A and Senthilkumaran B (2012) Endosulfan and flutamide impair testicular development in the juvenile Asian catfish, *Clarias batrachus*. Aquatic Toxicology, 110-111, 123-132.((2)③)

Garcia-Reyero N, Villeneuve DL, Kroll KJ, Liu L, Orlando EF, Watanabe KH, Sepulveda MS, Ankley GT and Denslow ND (2009) Expression signatures for a model androgen and antiandrogen in the fathead minnow (*Pimephales promelas*) ovary. Environmental Science and Technology, 43 (7), 2614-2619.((2)④)

Jolly C, Katsiadaki I, Morris S, Le Belle N, Dufour S, Mayer I, Pottinger TG and Scott AP (2009) Detection of the anti-androgenic effect of endocrine disrupting environmental contaminants using *in vivo* and *in vitro* assays in the three-spined stickleback. Aquatic Toxicology, 92 (4), 228-239. ((2)⑤)

Sebire M, Allen Y, Bersuder P and Katsiadaki I (2008) The model anti-androgen flutamide suppresses the expression of typical male stickleback reproductive behaviour. Aquatic Toxicology, 90 (1), 37-47.((2)⑥)

Filby AL, Thorpe KL, Maack G and Tyler CR (2007) Gene expression profiles revealing the mechanisms of anti-androgen- and estrogen-induced feminization in fish. Aquatic Toxicology, 81 (2), 219-231.((2)⑦)

Jensen KM, Kahl MD, Makynen EA, Korte JJ, Leino RL, Butterworth BC and Ankley GT (2004) Characterization of responses to the antiandrogen flutamide in a short-term reproduction assay with the fathead minnow. Aquatic Toxicology, 70 (2), 99-110.((2)⑧)

Panter GH, Hutchinson TH, Hurd KS, Sherren A, Stanley RD and Tyler CR (2004) Successful detection of (anti-)androgenic and aromatase inhibitors in pre-spawning adult fathead minnows (*Pimephales promelas*) using easily measured endpoints of sexual development. Aquatic Toxicology, 70 (1), 11-21.((2)⑨)

Ankley GT, Defoe DL, Kahl MD, Jensen KM, Makynen EA, Miracle A, Hartig P, Gray LE, Cardon M and Wilson V (2004) Evaluation of the model anti-androgen flutamide for assessing the mechanistic basis of responses to an androgen in the fathead minnow (*Pimephales promelas*).

Environmental Science and Technology, 38 (23), 6322-6327.((2)⑩)

Nozaka T, Abe T, Matsuura T, Sakamoto T, Nakano N, Maeda M and Kobayashi K (2004) Development of vitellogenin assay for endocrine disrupters using medaka (*Oryzias latipes*). Environmental Sciences, 11 (2), 99-121.((2)⑪)

Jensen KM and Ankley GT (2006) Evaluation of a commercial kit for measuring vitellogenin in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). Ecotoxicology and Environmental Safety, 64 (2), 101-105.((2)⑫)

Massari A, Urbatzka R, Cevasco A, Canesi L, Lanza C, Scarabelli L, Kloas W and Mandich A (2010) Aromatase mRNA expression in the brain of adult *Xenopus laevis* exposed to Lambro River water and endocrine disrupting compounds. General and Comparative Endocrinology, 168 (2), 262-268.((3)①)

Cevasco A, Urbatzka R, Bottero S, Massari A, Pedemonte F, Kloas W and Mandich A (2008) Endocrine disrupting chemicals (EDC) with (anti)estrogenic and (anti)androgenic modes of action affecting reproductive biology of *Xenopus laevis*: II. Effects on gonad histomorphology. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 147 (2), 241-251. ((3)②)

van Wyk JH, Pool EJ and Leslie AJ (2003) The effects of anti-androgenic and estrogenic disrupting contaminants on breeding gland (nuptial pad) morphology, plasma testosterone levels, and plasma vitellogenin levels in male *Xenopus laevis* (African clawed frog). Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 44 (2), 247-256.((3)③)

Behrends T, Urbatzka R, Krackow S, Elepfandt A and Kloas W (2010) Mate calling behavior of male South African clawed frogs (*Xenopus laevis*) is suppressed by the antiandrogenic endocrine disrupting compound flutamide. General and Comparative Endocrinology, 168 (2), 269-274.((3)④)

Knechtges PL, Sprando RL, Porter KL, Brennan LM, Miller MF, Kumsher DM, Dennis WE, Brown CC and Clegg ED (2007) A novel amphibian tier 2 testing protocol: a 30-week exposure of *Xenopus tropicalis* to the antiandrogen flutamide. Environmental Toxicology and Chemistry, 26 (3), 555-564.((3)⑤)

Urbatzka R, Bottero S, Mandich A, Lutz I and Kloas W (2007) Endocrine disrupters with

- (anti)estrogenic and (anti)androgenic modes of action affecting reproductive biology of *Xenopus laevis*: I. Effects on sex steroid levels and biomarker expression. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 144 (4), 310-318.((3)⑥)
- Urbatzka R, Lutz I, Opitz R and Kloas W (2006) Luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, and gonadotropin releasing hormone mRNA expression of *Xenopus laevis* in response to endocrine disrupting compounds affecting reproductive biology. *General and Comparative Endocrinology*, 146 (2), 119-125.((3)⑦)
- Sassoon D and Kelley DB (1986) The sexually dimorphic larynx of *Xenopus laevis*: development and androgen regulation. *American Journal of Anatomy*, 177 (4), 457-472.((3)⑧)
- Omezzine A, Chater S, Mauduit C, Florin A, Tabone E, Chuzel F, Bars R and Benahmed M (2003) Long-term apoptotic cell death process with increased expression and activation of caspase-3 and -6 in adult rat germ cells exposed *in utero* to flutamide. *Endocrinology*, 144 (2), 648-661.((4)①)
- Svensson AI (2012) Flutamide treatment induces anxiolytic-like behavior in adult castrated rats. *Pharmacological Reports*, 64 (2), 275-281.((4)②)
- Gangula PR, Reed L and Yallampalli C (2005) Antihypertensive effects of flutamide in rats that are exposed to a low-protein diet *in utero*. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 192 (3), 952-960.((5)①)
- Ji YK, Lee GS, Choi KC and Jeung EB (2006) Anti-progestogenic effect of flutamide on uterine expression of calbindin-D9k mRNA and protein in immature mice. *Reproductive Toxicology*, 22 (4), 694-701.((5)②)
- Ahmadiani A, Mandgary A and Sayyah M (2003) Anticonvulsant effect of flutamide on seizures induced by pentylenetetrazole: involvement of benzodiazepine receptors. *Epilepsia*, 44 (5), 629-635.((5)③)

II. アセトアルデヒド

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

アセトアルデヒドの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響及びライディッヒ細胞への影響の有無に関する報告がある。なお、本物質の主な用途は、酢酸、過酢酸、無水酢酸、酢酸エチル、ラクトニトリル、ポリアセトアルデヒド、ペンタエリスリトール、エチルアルコール、アクロレイン、パラアルデヒド、グリオキザール、ピリジン等の製造原料、魚の防腐剤、防カビ剤、防虫剤、写真現像用、燃料配合剤、溶剤、還元剤、医療用、香料、接着剤等である。

(1)生殖影響

○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告

①Lähdetie ら(1988)によって、アセトアルデヒド 62.5、125、250mg/kg/day を5日間腹腔内投与した雄マウス(C57B1/6J×C3H/He 交配種)への影響が検討されている。その結果として、250mg/kg/day のばく露群で投与開始から5週間後の精巣上体中精子数の高値が認められた。

なお、精巣相対重量、精嚢相対重量には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、試験動物の週齢及び被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精巣上体中精子数の高値について、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「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」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定される作用メカニズム：不明

(2)ライディッヒ細胞への影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Santucci ら(1983)によって、アセトアルデヒド5、10 μ M(=225、441 μ g/L)に1時間ばく露した雄ラット由来ライディッヒ細胞(60日齢成熟雄 Wistar ラット由来一次培養細胞)への影響が検討されている。その結果として、225 μ g/L以上のばく露区でヒト絨毛ゴナドトロピン刺激性テストステロン産生量の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ヒト絨毛ゴナドトロピン刺激性テストステロン産生量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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(テストステロン合成阻害)

※参考

(3)発達影響（今回評価対象としなかった文献）

①Caoら(2007)によって、アセトアルデヒド 0.032mg/kg を単回静脈内投与(1分間隔で二回に分けて注射。ニコチン 0.03mg/kg を同時投与)した 27 日齢雄 SD ラットへの影響(投与直後から 30 分間の行動試験を実施した後に断頭及び採血)が検討されている。その結果として、オープンフィールド試験における探索行動回数の高値が認められた。なお、視床下部傍室核中 c-fos mRNA 相対発現量、視床傍室核中 c-fos mRNA 相対発現量、血清中コルチコステロン濃度には影響は認められなかった。

また、アセトアルデヒド 0.032mg/kg を単回静脈内投与(1分間隔で二回に分けて注射。ニコチン 0.03mg/kg を同時投与)した 90 日齢雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、オープンフィールド試験における探索行動回数の低値、視床下部傍室核中 c-fos mRNA 相対発現量、血清中コルチコステロン濃度の高値が認められた。

また、アセトアルデヒド 0.032mg/kg を単回静脈内投与(1分間隔で二回に分けて注射。ニコチン 0.03mg/kg を同時投与)した 27 日齢及び 90 日齢雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として(27 日齢及び 90 日齢を合わせて有意差検定)、扁桃体中心核中 c-fos mRNA 相対発現量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中央滞在時間、分界条上丘中 c-fos mRNA 相対発現量、分界条床核中 c-fos mRNA 相対発現量、側坐核中 c-fos mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

なお、ニコチン 0.03mg/kg を同時投与しない場合は、いずれの日齢においてもこれらの影響は認められなかった。

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、試験管内試験の報告において、視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用(テストステロン合成阻害)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

物質名：アセトアルデヒド

区分		著者	作業班会議における信頼性評価結果		
			報告結果(Results)を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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	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 ³⁾
(1)	生殖影響	①Lähdetie ら (1988)	△	?	—
(2)	ライデール細胞への影響	①Santucci ら (1983)	△	○P	○
(3)	発達影響	①Cao ら(2007) 評価未実施			
今後の対応案		試験管内試験の報告において、視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用(テストステロン合成阻害)を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない

2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない

3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

参考文献

Lähdetie J (1988) Effects of vinyl acetate and acetaldehyde on sperm morphology and meiotic micronuclei in mice. Mutation Research, 202 (1), 171-178.((1)本文中の作用の区分①報告の番号を示す。以下同じ。)

Santucci L, Graham TJ and Van Thiel DH (1983) Inhibition of testosterone production by rat Leydig cells with ethanol and acetaldehyde: prevention of ethanol toxicity with 4-methylpyrazole. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 7 (2), 135-139.((2)①)

Cao J, Belluzzi JD, Loughlin SE, Keyler DE, Pentel PR and Leslie FM (2007) Acetaldehyde, a major constituent of tobacco smoke, enhances behavioral, endocrine, and neuronal responses to nicotine in adolescent and adult rats. *Neuropsychopharmacology*, 32 (9), 2025-2035.((3)①)

Ⅲ. 二硫化炭素

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

二硫化炭素の内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響の有無に関する報告及び疫学的調査に関する報告がある。なお、本物質の主な用途は、溶剤（セロハン、レーヨン製造時）、殺虫剤・医薬品原料、ゴム加硫促進剤、浮遊選鉱剤、重金属捕捉剤等である。

(1) 生殖影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Zenick ら(1984)によって、二硫化炭素 607±47ppm(チャンバー内空气中測定濃度)を 80～90 日齢から 10 週間(週 5 日、日毎 6 時間)吸入ばく露した雄 LE ラットへの影響が検討されている。その結果として、体重、射精精液中精子数、交配試験におけるマウント潜時、交配試験における射精潜時の低値が認められた。なお、交配試験におけるマウント回数、交配試験における挿入回数、運動精子率、交配試験における精子プラグ重量、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、輸精管絶対重量、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、精巣上体中精子数、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には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、射精精液中精子数、交配試験におけるマウント潜時、交配試験における射精潜時の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

②Tepe と Zenick ら(1984)によって、607±47ppm(チャンバー内空气中測定濃度)を 80～90 日齢から 10 週間(週 5 日、日毎 5 時間)吸入ばく露した雄 LE ラットへの影響が検討されている。その結果として、交配試験におけるマウント潜時、交配試験における射精潜時、射精精液中精子数、精巣上体中精子数の低値が認められた。なお、体重、精巣絶対重量、精巣上体尾絶対重量、精巣上体絶対重量、精囊絶対重量、輸精管絶対重量、前立腺絶対重量、正常形態精子率、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には影響は認められなかった。

また、二硫化炭素 348±27、607±47ppm(チャンバー内空气中測定濃度)を 80～90 日齢から 10 週間(週 5 日、日毎 5 時間)吸入ばく露した雄 LE ラットへの影響が検討されている。その結果として、607ppm のばく露区で体重の低値が認められたが、精巣上体中精子数、正常形態精子率には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、交配試験におけるマウント潜時、交配試験における射精潜時、射精精液中精子数、精巣上体中精子数の低値が認められ、内分泌かく乱作用と

の関連性が認められると評価された。「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」においては、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。
想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

※参考 生殖影響（今回評価対象としなかった文献）

- ③Saillenfait ら(1989)によって、二硫化炭素 104.5±8.5、197.5±15.9、396.9±36.9、817.2±70.3ppm(チャンバー内空气中測定濃度)を妊娠6日目から15日間(日毎6時間)吸入ばく露したSDラットへの影響が検討されている。その結果として、396.9ppm以上のばく露区で母動物増加体重、母動物補正増加体重(増加体重－妊娠子宮重量)、雄胎仔体重、雌胎仔体重の低値、胎仔胸骨分節欠損発生率の高値が認められた。なお、同腹着床数、同腹吸収胚数、同腹生存胎仔数、同腹死亡胎仔数、胎仔性比、胎仔外表変化発生率、胎仔柔組織変化発生率には影響は認められなかった。
- ④Tsai ら(2000)によって、二硫化炭素 300、600、1,200mg/kg/day を妊娠6日目から10日間経口投与したWistarラットへの影響(妊娠21日目)が検討されているが、母動物体重、母動物増加体重、同腹着床数、胎仔生存率、胎仔外表奇形発生率には影響は認められなかった。

(2)疫学的調査

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Zhou ら(1988)によって、二硫化炭素について、中国上海市の5ビスコースレーヨン工場において1964年から1985年にかけて、女性の職業ばく露と月経及び出産影響との関連性について検討されている。その結果として、ばく露群(二硫化炭素ばく露業務に従事する女性265名、平均ばく露濃度1.7～14.8mg/m³、月経異常発生率35.9%)と非ばく露群(製糸工場にて二硫化炭素ばく露がない業務に従事するage-matched女性291名、月経異常発生率18.2%)との比較において、月経異常総発生率(特に不規則周期、異常出血)の高値が認められた。なお、妊娠中毒症、つわり、自然流産、死産、早産、遅産、奇形発生率には影響は認められなかった。

また、ばく露濃度と月経異常発生率(特に不規則周期、異常出血)とについて正の相関性が認められた。

また、ばく露濃度と月経異常発生率とについて(COXモデル分析)正の相関性が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ばく露群と非ばく露群との比較において、月経異常総発生率の高値の低値、ばく露濃度と月経異常発生率とについて正の相関性が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

- ②Takebayashi ら(2003)によって、二硫化炭素について、日本のビスコースレーヨン11工場において1992年から1999年にかけて(ベースライン調査1992年～1993年、フォローアップ調査1998

年～1999年、フォローアップ率 89.9%)、男性の職業ばく露と内分泌系失調との関連性について検討されている。その結果として、ばく露群(二硫化炭素ばく露業務に従事する男性 259名、平均年齢 35.6±7.7歳、平均ばく露歴 19.3±8.1年、二硫化炭素ばく露濃度中央値 4.44±2.04ppm、尿中2-チオチアゾリジン-4-カルボン酸濃度中央値 1.11±2.31mg/g creatinine)と非ばく露群(有害化学物質ばく露がない業務に従事する男性 352名、平均年齢 35.9±9.1歳)との比較(フォローアップ調査の多重直線回帰分析)において、血清中サイロキシン濃度の低値、グリコヘモグロビン HbA_{1c}率の高値が認められた。

なお、空腹時血中グルコース濃度、血清中インシュリン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度、血清中卵胞刺激ホルモン濃度、血清中副腎皮質刺激ホルモン濃度、血清中テストステロン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中トリヨードサイロニン濃度、血清中サイロキシン結合グロブリン濃度、性欲減退(問診による)影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ばく露群と非ばく露群との比較において、血清中サイロキシン濃度の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：甲状腺への作用

③Wägarら(1983)によって、二硫化炭素について、フィンランドのビスコースレーヨン工場において1940年代から1980年代にかけての男性の職業ばく露と血清中ホルモン濃度との関連性について検討されている。その結果として、ばく露群(二硫化炭素ばく露業務に従事する男性 69名、平均年齢 40.5歳、平均ばく露期間 12.5年)と非ばく露群(二硫化炭素ばく露がない業務に従事する男性 24名、平均年齢 38.7歳)との比較において、年齢 39歳以下かつばく露歴 1年～9年の群において、性ホルモン結合グロブリン濃度の低値、遊離テストステロン係数、卵胞刺激ホルモン濃度、黄体形成ホルモン濃度の高値、年齢 39歳以下かつばく露歴 10年～36年の群において、卵胞刺激ホルモン濃度の高値、年齢 40歳以上かつばく露歴 10年～36年の群において、卵胞刺激ホルモン濃度、黄体形成ホルモン濃度の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ばく露群と非ばく露群との比較において、性ホルモン結合グロブリン濃度の低値、遊離テストステロン係数の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

④Wägarら(1981)によって、二硫化炭素について、フィンランドのビスコースレーヨン工場において1940年代から1980年代にかけての男性の職業ばく露と血清中ホルモン濃度との関連性について検討されている。その結果として、ばく露群(二硫化炭素ばく露業務に従事する男性15名、平均年齢50.2歳、平均ばく露期間23年)と非ばく露群(二硫化炭素ばく露がない業務に従事するage-matched男性16名)との比較において、血清中黄体形成ホルモン、卵胞刺激ホルモン濃度の高値が認められた。

なお、サイロキシシン、トリヨードサイロニン、甲状腺刺激ホルモン、コルチゾール、テストステロン、プロラクチン濃度、遊離サイロキシシン係数、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン投与後の甲状腺刺激ホルモン濃度及びプロラクチン濃度には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、サイロキシシン、トリヨードサイロニン、甲状腺刺激ホルモン、コルチゾール、テストステロン、プロラクチン濃度、遊離サイロキシシン係数、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン投与後の甲状腺刺激ホルモン濃度及びプロラクチン濃度には影響は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：血清中ホルモン濃度への作用

※参考 疫学的調査（今回評価対象としなかった文献）

⑤Vanhoorneら(1994)によって、二硫化炭素について、ベルギーのビスコースレーヨン工場において(調査期間の記載なし、1993年以前と思われる)、男性の職業ばく露と生殖影響との関連性について検討されている。その結果として、ばく露群(二硫化炭素ばく露業務に従事する男性43名、平均年齢33.3歳、累積ばく露係数(ばく露濃度[mg/m³]×ばく露期間[year])中央値224)と非ばく露群(有害化学物質ばく露がない業務に従事する男性35名、平均年齢33.2歳)との比較(多重ロジスティック回帰分析)において、累積ばく露係数の不能発生率、性欲減退発生率とに正の相関が認められた。

なお、もうけた子供数、精液質(運動精子率、濃度、正常形態精子率等)には影響は認められなかった。

⑥Vanhoorneら(1993)によって、二硫化炭素について、ベルギーのビスコースレーヨン工場において(調査期間の記載なし、1993年以前と思われる)、男性の職業ばく露と血清中ホルモン濃度との関連性について検討されている。その結果として、ばく露群(二硫化炭素ばく露業務に従事する男性117名、平均年齢32.0歳、累積ばく露係数(ばく露濃度[mg/m³]×ばく露期間[year])平均値382.6及び中央値180.0)と非ばく露群(有害化学物質ばく露がない業務に従事する男性66名、平均年齢34.8歳)との比較において、血清中プロラクチン濃度の低値が認められた。

なお、累積ばく露係数と遊離サイロキシシン、黄体形成ホルモン、卵胞刺激ホルモン、プロラクチン、テストステロン濃度とには関連性は認められなかった。

⑦Lindbohmら(1991)によって、二硫化炭素について、フィンランドにおいて1973年から1982年代にかけての妊娠(99,186件、自然流産発生率8.8%。このうち、父親に高度の二硫化炭素ばく露歴が

ある妊娠 30 件については流産発生 2 件)について父親の二硫化炭素ばく露と自然流産発生率との関連性について検討されているが、ばく露群と非ばく露群との比較における自然流産発生率の補正オッズ比は 0.8(95%信頼区間 0.2~3.3)であり、関連性は認められなかった。

※参考

(3)副腎影響(今回評価対象としなかった文献)

①Caroldi ら(1984a)によって、二硫化炭素 2 mg/L(チャンバー内空气中設定濃度)を 4 時間吸入ばく露した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、副腎中ドーパミン濃度、副腎中 3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸濃度の低値が認められた。

なお、副腎中アドレナリン濃度、副腎中ノルアドレナリン濃度、副腎中 3,4-ジヒドロキシフェニルグリコール濃度には影響は認められなかった。

②Caroldi ら(1984b)によって、二硫化炭素 2 mg/L(チャンバー内空气中設定濃度)を 4 時間吸入ばく露した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、副腎中ノルアドレナリン濃度、副腎中アドレナリン濃度の低値、副腎中ドーパミン濃度、副腎中 3,4-ジヒドロキシフェニル酢酸濃度の高値が認められた。なお、副腎中 3,4-ジヒドロキシフェニルグリコール濃度には影響は認められなかった。

2. 総合的判断(案)

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を示すこと、疫学的調査の報告において、抗アンドロゲン様作用、視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用及び甲状腺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

物質名：二硫化炭素

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	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 ³⁾	
(1) 生殖影響	抗アンドロゲン様作用	①Zenick ら(1984)	○	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	②Tepe と Zenick(1984)	○	○P	○
		③Saillenfait ら(1989)評価未実施			
		④Tsai ら(2000)評価未実施			
(2) 疫学的調査	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	①Zhou ら(1988)	○	○P	○
	甲状腺への作用	②Takebayashi ら(2003)	○	○P	○
	抗アンドロゲン様作用	③Wägar ら(1983)	○	○P	○
	血清中ホルモン濃度への作用	④Wägar ら(1981)	○	○N	×
		⑤Vanhoorne ら(1994)評価未実施			
		⑥Vanhoorne ら(1993)評価未実施			
		⑦Lindbohm ら(1991)評価未実施			
(3) 副腎影響		①Caroldi ら(1984a) 評価未実施			
		②Caroldi ら(1984b) 評価未実施			
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を示すこと、疫学的調査の報告において、抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用及び甲状腺への作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。				

1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない

2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない

3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、
—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

参考文献

Zenick H, Blackburn K, Hope E and Baldwin D (1984) An evaluation of the copulatory, endocrinologic, and spermatotoxic effects of carbon disulfide in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 73 (2), 275-283.((1)本文中の作用の区分①報告の番号を示す。以下同じ。)

Tepe SJ and Zenick H (1984) The effects of carbon disulfide on the reproductive system of the male rat. *Toxicology*, 32 (1), 47-56.((1)②)

Saillenfait AM, Bonnet P and de Ceaurriz J (1989) Effects of inhalation exposure to carbon disulfide and its combination with hydrogen sulfide on embryonal and fetal development in rats. *Toxicology Letters*, 48 (1), 57-66.((1)③)

Tsai ML, Chang JH, Huang BM and Liu MY (2000) *In vivo* exposure to carbon disulfide increases the contraction frequency of pregnant rat uteri through an indirect pathway. *Life Sciences*, 66 (3), 201-208.((1)④)

Zhou SY, Liang YX, Chen ZQ and Wang YL (1988) Effects of occupational exposure to low-level carbon disulfide (CS₂) on menstruation and pregnancy. *Industrial Health*, 26 (4), 203-214.((2)①)

Takebayashi T, Nishiwaki Y, Nomiyama T, Uemura T, Yamauchi T, Tanaka S, Sakurai H and Omae K (2003) Lack of relationship between occupational exposure to carbon disulfide and endocrine dysfunction: a six-year cohort study of the Japanese rayon workers. *Journal of Occupational Health*, 45 (2), 111-118.((2)②)

Wägar G, Tolonen M, Tanner P and Helpio E (1983) Serum gonadotropins and testosterone in men occupationally exposed to carbon disulfide. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 11 (4-6), 691-701.((2)③)

Wägar G, Tolonen M, Stenman UH and Helpio E (1981) Endocrinologic studies in men exposed occupationally to carbon disulfide. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 7 (3-4), 363-371.((2)④)

Vanhoorne M, Comhaire F and De Bacquer D (1994) Epidemiological study of the effects of carbon disulfide on male sexuality and reproduction. Archives of Environmental Health, 49 (4), 273-278.((2)⑤)

Vanhoorne M, Vermeulen A and De Bacquer D (1993) Epidemiological study of endocrinological effects of carbon disulfide. Archives of Environmental Health, 48 (5), 370-375.((2)⑥)

Lindbohm ML, Hemminki K, Bonhomme MG, Anttila A, Rantala K, Heikkila P and Rosenberg MJ (1991) Effects of paternal occupational exposure on spontaneous abortions. American Journal of Public Health, 81 (8), 1029-1033.((2)⑦)

Caroldi S, Jarvis JA and Magos L (1984a) *In vivo* inhibition of dopamine- β -hydroxylase in rat adrenals during exposure to carbon disulphide. Archives of Toxicology, 55 (4), 265-267.((3)①)

Caroldi S, Jarvis J and Magos L (1984b) Stimulation of dopamine- β -hydroxylase in rat adrenals by repeated exposures to carbon disulphide. Biochemical Pharmacology, 33 (12), 1933-1936.((3)②)

IV. フェンバレレート

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

フェンバレレート及びその構成物質であるエスフェンバレレート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、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、アンドロゲン、抗アンドロゲン作用、プロゲステロン作用、抗プロゲステロン作用、卵胞及び顆粒膜細胞への影響、ライディッヒ腫瘍細胞への影響及び精子への影響の有無に関する報告がある。なお、本物質の主な用途は、農薬(殺虫剤)である。

(1)生態影響

○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告

①Day と Kaushik (1987)によって、フェンバレレート 0.005、0.01、0.05、0.10 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 48 時間齢以後から死亡までばく露したミジンコ属の一種(*Daphnia galeata mendotae*)への影響が検討されている。その結果として、0.005 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で出産当産仔数の低値、0.01 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で総出産仔数の低値、0.01 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で生存日数、出産回数の低値(ただし 0.005 $\mu\text{g/L}$ のばく露区では高値)が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、出産当産仔数、総出産仔数、生存日数、出産回数の低値について、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「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」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定される作用メカニズム：毒性

②Pieters と Liess (2006)によって、フェンバレレート 0.03、0.1、0.3、0.6、1.0 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 24 時間齢未満から 24 時間ばく露したオオミジンコ(*Daphnia magna*)への影響(ばく露終了から 21 日間試験)が検討されている。その結果として、0.3 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で増殖速度の低値、初出産までの所要日数の遅延、0.6 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で生存率、累積総産仔数の低値が認められた。

また、フェンバレレート 0.03、0.06、0.13、0.25、0.50 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に貧栄養条件にて 24 時間齢未満から 21 日間ばく露したオオミジンコ(*D. magna*)への影響(ばく露終了から 21 日間試験)が検討されている。その結果として、0.3 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で増殖速度の低値、0.6 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で初出産までの所要日数の遅延、1.0 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で体長の低値、累積総産仔数の低値(0.1 及び 0.3 $\mu\text{g/L}$ のばく露区では高値)が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、増殖速度、生存率、累積総産仔数、体長の低値、初出産までの所要日数の遅延について、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。

「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」においては、内分泌

かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定される作用メカニズム：毒性

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

- ③McKee と Knowles (1986)によって、フェンバレレート 0.03、0.06、0.13、0.25、0.50 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に富栄養条件にて 24 時間齢未満から 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、0.25 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で累積出産仔数の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の入手先及び純度の記載が無いことから、記載が不十分であると評価された。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：毒性

※参考 生態影響（今回評価対象としなかった文献）

- ④Floyd ら(2008)によって、フェンバレレート 0.072 \pm 0.01、0.455 \pm 0.03、1.142 \pm 0.19 $\mu\text{g/L}$ (測定濃度)に 8 日齢から 4 時間ばく露したファットヘドミノー(*Pimephales promelas*)幼生への影響が検討されている。その結果として、0.455 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で視運動試験における遊泳時間（ばく露終了直後 10 分間）の低値、摂餌量低下個体率（ばく露終了 1 日後）、遊泳異常個体率（ばく露終了 1 日後）、対幼若イトヨ被捕食試験（ばく露終了直後 45 分間）における被捕食率の高値が認められた。

(2)生殖影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Pine ら(2008)によって、エスフェンバレレート 0.5、1、5 mg/kg/day を 22 日齢から膈開口日まで経口投与した幼若雌 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、1 mg/kg/day 以上のばく露群で膈開口日の遅延、血清中エストラジオール濃度(29 日齢朝 10:00)、血清中黄体形成ホルモン濃度(29 日齢朝 15:00)の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、膈開口日の遅延、血清中エストラジオール濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

- ②Liu ら(2011)によって、フェンバレレート 7.5、30mg/kg/day を 28 日齢から 56 日齢まで経口投与した雌雄 ICR マウスへの影響(大脳皮質中濃度及び相対発現量を測定)が検討されている。その結果

として、雄において、7.5mg/kg/day 以上のばく露群で 17 β -HSD 相対発現量の低値、アンドロゲン受容体相対発現量の高値、30mg/kg/day のばく露群でテストステロン濃度の低値、エストロゲン受容体 β 相対発現量の高値が認められた。雌において、7.5mg/kg/day 以上のばく露群でテストステロン濃度、アンドロゲン受容体相対発現量の高値、30mg/kg/day のばく露群で 17 β -エストラジオール濃度、CYP450sc 相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度の記載がないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄において、テストステロン濃度の低値、アンドロゲン受容体相対発現量、エストロゲン受容体 β 相対発現量の高値が認められ、雌において、テストステロン濃度、アンドロゲン受容体相対発現量、17 β -エストラジオール濃度の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：性ホルモンの生合成と性ホルモン受容体生成に関する影響

③Arena ら(2008)によって、フェンバレレート 20、40mg/kg/day を 30 日間経口投与した成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、20mg/kg/day 以上のばく露群で精巣絶対重量の低値、40mg/kg/day のばく露群で精巣上体絶対重量、日毎精巣中精子産生量、日毎精巣重量当精子産生量、精巣中精子数、精巣重量当精子数、精巣上体中精子数、精巣上体重量当精子数の低値が認められた。

また、フェンバレレート 0.4、1、4、8、40mg/kg/day を 20~22 日齢から 3 日間経口投与した雌 Wistar ラットへの影響が検討されているが、子宮相対重量には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、日毎精巣中精子産生量、日毎精巣重量当精子産生量、精巣中精子数、精巣重量当精子数、精巣上体中精子数、精巣上体重量当精子数の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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-下垂体-生殖腺軸への作用

※参考 生殖影響（今回評価対象としなかった文献）

④Zhao ら(2011)によって、フェンバレレート 15、60mg/kg/day を 28 日間経口投与した成熟雄 CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、15mg/kg/day 以上のばく露群で精巣絶対及び相対重量の低値、精細管中アポトーシス細胞数、精細管中アポトーシス細胞率、精巣中精細管 Stage VII-VIII 存在率、精巣中活性カスパーゼ-3 相対発現量、精巣中活性カスパーゼ-3/プロカスパーゼ-3 比、精巣中 Fas 相対発現量、精巣中 FasL 相対発現量の高値、60mg/kg/day のばく露群で精巣中精細管 Stage IX-XII 存在率、精巣中プロカスパーゼ-3 相対発現量の高値が認められた。

- ⑤Zhang ら(2010)によって、フェンバレレート 30mg/kg/day を妊娠 13 日目から妊娠 18 日目まで経口投与した CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、雄胎仔において、肛門生殖突起間距離、精巣中 P45017a mRNA 相対発現量、精巣中 P45017a 相対発現量、精巣中 StAR 相対発現量、精巣中ライディッヒ細胞の小型クラスター存在率の低値が認められた。また、80 日齢雄胎仔において、精巣中精細管 Stage VII-VIII 存在率、精巣中 P45017a mRNA 相対発現量、精巣中 P45017a 相対発現量、精巣中 17β-HSD mRNA 相対発現量、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、精巣上体中精子数の低値が認められた。
- ⑥Guerra ら(2011)によって、フェンバレレート 40mg/kg/day を妊娠 12 日目から哺育 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、雌仔動物において、1 日齢体重、75 日齢体重、75 日齢卵巣絶対及び相対重量、75 日齢前胎卵胞数、75 日齢黄体数の低値が認められた。また、80 日齢雌仔動物の交配試験(妊娠 20 日目に開腹)において、母動物体重、生存胎仔数の低値、初期吸収胚数、着床後胚消失率の高値が認められた。
- ⑦Nassr ら(2010)によって、フェンバレレート 40mg/kg/day を妊娠 12 日目から哺育 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、雄及び雌新生仔において、体重の低値が認められた。また、60 日齢雄仔動物において、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、日毎精巣中精子産生量、精巣中精子数、精巣上体頭部及び胴部中精子数、精巣上体頭部及び胴部中精子数重量当精子数、交配試験における射精後の初挿入行動潜時の低値、交配試験における射精回数の高値が認められた。
- ⑧Zhang ら(2009)によって、フェンバレレート 60mg/kg/day を妊娠 0 日目から哺育 21 日目まで経口投与した ICR マウスへの影響が検討されている。その結果として、21 日齢雄離乳仔において、精巣絶対及び相対重量、精巣中ライディッヒ細胞数、精巣中 P450scc mRNA 相対発現量、精巣中 P450scc 相対発現量、精巣中 P45017a 相対発現量の低値、精巣中精細管アポトーシス発生率、精細管中生殖細胞アポトーシス発生率、精巣中アポトーシス係数の高値が認められた。また、80 日齢雄仔動物において、精巣絶対及び相対重量、前立腺(精嚢も含む)絶対及び相対重量、精巣上体中精子数、精巣中精細管 Stage VII-VIII 存在率の低値が認められた。
- ⑨Zhang ら(2010)によって、フェンバレレート 60mg/kg/day を 35 日齢から 63 日齢まで経口投与した CD-1 マウス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、血清中テストステロン濃度、精巣中テストステロン濃度、精巣中 StAR mRNA 相対発現量、精巣中 P45017a 相対発現量、精巣中 P45017a mRNA 相対発現量、精巣中 P450scc 相対発現量、精巣中 P450scc mRNA 相対発現量の低値、精巣中アポトーシス細胞密度、精細管アポトーシス発生頻度の高値が認められた。

(3)甲状腺影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Giray ら(2010)によって、フェンバレレート 100mg/kg/day を 1 週間腹腔内投与(3 週齢から 7 週間の各種餌投与における最後週に相当)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、普通餌投与条件において、血清中総トリヨードサイロニン濃度の高値が認められた。また、

ヨウ素欠乏餌投与条件において、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値、甲状腺相対重量、血清中総サイロキシン濃度、血清中総トリヨードサイロニン濃度の高値が認められた。セレン欠乏餌投与条件において、血清中総サイロキシン濃度の低値、甲状腺相対重量、血清中総トリヨードサイロニン濃度の高値、ヨウ素及びセレン欠乏餌投与条件において、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値、血清中総サイロキシン濃度、血清中総トリヨードサイロニン濃度の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、投与期間の記載が不明確であること、用いた統計解析手法が最適ではないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、血清中総トリヨードサイロニン濃度の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

(4)エストロゲン作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Chen ら(2002)によって、フェンバレレート 0.00001～1 μM (=0.0042～420 $\mu\text{g/L}$)の濃度に 144 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による E-Screen Assay(細胞増殖試験)が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、0.0001 μM (=0.042 $\mu\text{g/L}$)以上の濃度で細胞増殖を誘導した(エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182.780 による誘導阻害も確認)。

また、フェンバレレート 0.0001～1 μM (=0.042～420 $\mu\text{g/L}$)の濃度に 6 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 によるエストロゲン応答遺伝子 PS2 mRNA 相対発現量への影響が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、1 μM (=420 $\mu\text{g/L}$)以上の濃度で PS2 mRNA の発現を誘導した。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、細胞増殖及び PS2 mRNA 発現の誘導が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

②Go ら(1999)によって、フェンバレレート 0.001～100 μM (=0.42～42,000 $\mu\text{g/L}$)の濃度に 6 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による E-Screen Assay(細胞増殖試験)が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、10 μM (=4,200 $\mu\text{g/L}$)以上の濃度で細胞増殖を誘導した。

また、フェンバレレート 30 μM (=12,600 $\mu\text{g/L}$)の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 によるエストロゲン応答遺伝子 PS2 mRNA 相対発現量への影響が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、PS2 mRNA の発現を誘導した(ただし、エストロゲン受容体アンタゴニスト ICI 182.780 による誘導阻害なし)。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、細胞増殖及び PS2 mRNA 発現の誘導が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

- ③Garey と Wolff (1998)によって、フェンバレレート 0.1~10 μ M(=42.0~4,200 μ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト子宮内膜腺がん細胞 Ishikawa Var-I によるアルカリ性フォスファターゼ活性相対発現量への影響が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、EC₅₀ 値 1.1 μ M(=462 μ g/L)の濃度でアルカリ性フォスファターゼ活性発現を誘導した。

また、フェンバレレート 30 μ M(=12,600 μ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト子宮内膜腺がん細胞 Ishikawa Var-I によるアルカリ性フォスファターゼ活性相対発現量への影響が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、アルカリ性フォスファターゼ活性発現を誘導した。

この報告については、「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」においては、用いた細胞の入手先が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、アルカリ性フォスファターゼ活性発現の誘導が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

- ④Kunimatsu ら(2002)によって、エスフェンバレレート 5、10、20mg/kg/day を 3 日間経口投与した卵巣摘出雌 SD ラットへの影響(OECD 準拠子宮肥大試験)が検討されているが、体重、肝臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、子宮絶対及び相対重量には影響は認められなかった。

また、フェンバレレート 20、40、80mg/kg/day を 3 日間経口投与した卵巣摘出雌 SD ラットへの影響(OECD 準拠子宮肥大試験)が検討されているが、体重、肝臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、子宮絶対及び相対重量には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、子宮絶対及び相対重量には影響は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

※参考 エストロゲン作用 (今回評価対象としなかった文献)

- ⑤Gao ら(2010)によって、フェンバレレート 0.1、1、10 μ M(=42、420、4,200 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した子宮平滑筋腫細胞 UtLM(ヒトエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲ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活性発

現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ活性発現誘導は認められなかった。

また、フェンバレレート 0.1、1、10 μ M(=42、420、4,200 μ g/L)の濃度に24時間ばく露した子宮平滑筋腫細胞 UtLM(ヒトエストロゲン受容体 β を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲ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活性発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ活性発現誘導は認められなかった。

フェンバレレート 0.1、1、10 μ M(=42、420、4,200 μ g/L)の濃度に24時間ばく露した子宮平滑筋細胞 UtSMC(ヒトエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲ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活性発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ活性発現誘導は認められなかった。

また、フェンバレレート 0.1、1、10 μ M(=42、420、4,200 μ g/L)の濃度に24時間ばく露した子宮平滑筋細胞 UtSMC(ヒトエストロゲン受容体 β を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲ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活性発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ活性発現誘導は認められなかった。

⑥Saitoら(2000)によって、フェンバレレート 10 μ M(=4,200 μ g/L)の濃度に40時間ばく露したヒト子宮頸がん細胞 Hela(ヒトエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲ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)が検討されているが、細胞増殖誘導は認められなかった。

また、フェンバレレート 10 μ M(=4,200 μ g/L)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)によるレポーターアッセイ(エストロゲ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 β ガラクトシダーゼ活性発現誘導)が検討されているが、 β ガラクトシダーゼ活性発現誘導は認められなかった。

(5)抗エストロゲン作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Kimら(2004)によって、フェンバレレート 1 μ M(=420 μ g/L)の濃度に6時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7による E-Screen Assay(細胞増殖試験)が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、17 β -エストラジオール 0.1nMによる細胞増殖誘導を阻害した。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、17 β -エストラジオールによる細胞増殖誘導の阻害が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

②Chenら(2002)によって、SDラット子宮サイトゾル由来エストロゲン受容体を用いた結合阻害試験が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、IC₅₀値 479 μ M(=201,000 μ g/L)の濃度で標識 17 β -エストラジオール 1nMによる結合を阻害した。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、標識 17 β -エストラジオールの結合の阻害が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

※参考 抗エストロゲン作用（今回評価対象としなかった文献）

③Gao ら(2010)によって、フェンバレレート 1 μ M(=420 μ g/L)までの濃度範囲で、ヒトエストロゲン受容体 α を用いた結合阻害試験が検討されているが、17 β -エストラジオール 5.9nM による結合に対する阻害は認められなかった。結合阻害は認められなかった。

また、フェンバレレート 1 μ M(=420 μ g/L)までの濃度範囲で、ヒトエストロゲン受容体 β を用いた結合阻害試験が検討されているが、17 β -エストラジオール 20.8nM の結合に対する阻害は認められなかった。

④Saito ら(2000)によって、フェンバレレート 10 μ M(=4,200 μ g/L)の濃度に 40 時間ばく露したヒト子宮頸がん細胞 Hela (ヒトエストロゲン受容体 α を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲ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)が検討されているが、17 β -エストラジオール 0.1nM による細胞増殖誘導の阻害は認められなかった。

また、フェンバレレート 10 μ M(=4,200 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)によるレポーターアッセイ(エストロゲ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 β ガラクトシダーゼ活性発現誘導)が検討されているが、17 β -エストラジオール 0.1nM による β ガラクトシダーゼ活性発現誘導の阻害は認められなかった。

また、フェンバレレート 0.01~10 μ M(=4.2~4,200 μ g/L)の濃度範囲で、ヒトエストロゲン受容体 α を用いた結合阻害試験(蛍光ポーラリゼーション法)が検討されているが、結合阻害は認められなかった。

(6)アンドロゲン作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

①Kunimatsu ら(2002)によって、エスフェンバレレート 5、10、20mg/kg/day を 5 日間経口投与した精巣摘出雄 SD ラットへの影響(OECD 準拠 Hershberger 試験)が検討されているが、体重、肝臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、肛門挙筋(球海綿体筋を含む)絶対重量には影響は認められなかった。

また、フェンバレレート 20、40、80mg/kg/day を 5 日間経口投与した精巣摘出雄 SD ラットへの影響(OECD 準拠 Hershberger 試験)が検討されているが、体重、肝臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、肛門挙筋(球海綿体筋を含む)絶対重量には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価され

た。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、肛門挙筋絶対重量には影響は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

(7)抗アンドロゲン作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Xu ら(2006)によって、フェンバレレート 0.1、1、10 μ M(=42、420、4,200 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲ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クロラムフェニコールトランスフェラーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、10 μ M(=4,200 μ g/L)の濃度で 5 α -ジヒドロテストテロン 0.5nM によるクロラムフェニコールトランスフェラーゼ発現誘導を阻害した。

この報告については、「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」においては、試験結果に推定値が記載されていることから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、5 α -ジヒドロテストテロンによるクロラムフェニコールトランスフェラーゼ発現誘導の阻害が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

②Sun ら(2007)によって、フェンバレレート 1、10、100 μ M(=4420、4,200、42,000 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 (ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲ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、フェンバレレートは、100 μ M(=42,000 μ g/L)の濃度で 5 α -ジヒドロテストテロン 1nM によるルシフェラーゼ発現誘導を阻害した。

この報告については、「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」においては、被験物質の入手先及び純度の記載が無いことから、記載が不十分であると評価された。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

③Kunimatsu ら(2002)によって、エスフェンバレレート 5、10、20mg/kg/day を 5 日間経口投与(及びテストステロンプロピオネート 0.25mg/kg/day を 5 日間連続皮下注射)した精巣摘出雄 SD ラットへの影響(OECD 準拠 Hershberger 試験)が検討されている。その結果として、20mg/kg/day の投与群で、体重、腎臓絶対重量(相対重量は有意差なし)の低値が認められたが、肝臓絶対及び相対重量、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、肛門挙筋(球海綿体筋を含む)絶対重量には影響は認められな

かった。

また、フェンバレレート 20、40、80mg/kg/day を5日間経口投与(及びテストステロンプロピオネート 0.25mg/kg/day を5日間連続皮下注射)した精巣摘出雄 SD ラットへの影響(OECD 準拠 Hershberger 試験)が検討されている。その結果として、80mg/kg/day の投与群で、体重、腎臓絶対重量の低値(相対重量は有意差なし)が認められたが、肝臓絶対及び相対重量、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、肛門挙筋(球海綿体筋を含む)絶対重量には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精囊絶対重量、前立腺絶対重量、肛門挙筋絶対重量には影響は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

(8)プロゲステロン作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

①Garey と Wolff (1998)によって、フェンバレレート 30 μ M(=12,600 μ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D によるアルカリ性フォスファターゼ活性相対発現量への影響が検討されているが、アルカリ性フォスファターゼ発現誘導は認められなかった。

この報告については、「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」においては、用いた細胞の入手先が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、アルカリ性フォスファターゼ発現誘導は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

※参考 プロゲステロン作用 (今回評価対象としなかった文献)

②Kim ら(2005)によって、フェンバレレート 1 μ M(=420 μ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D によるアルカリ性フォスファターゼ活性相対発現量への影響が検討されているが、アルカリ性フォスファターゼ発現誘導は認められなかった。

③Sumida ら(2001)によって、フェンバレレート 0.001、0.01、0.1、10 μ M(=0.42、4.2、42、420、4,200 μ g/L)の濃度に 28 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D (ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(プロゲステロ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活性発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ活性発現誘導は認められなかった。

また、フェンバレレート 10 μ M(=4,200 μ g/L)の濃度に 4 時間ばく露した酵母(ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(プロゲステロ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 β ガラクトシダーゼ活性発現誘導)が検討されているが、 β ガラクトシダーゼ活性

発現誘導は認められなかった。

(9)抗プロゲステロン作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Garey と Wolff (1998)によって、フェンバレレート 30 μ M(=12,600 μ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D によるアルカリ性フォスファターゼ活性相対発現量への影響が検討されている。その結果として、フェンバレレートは、プロゲステロン 1 ppm によるアルカリ性フォスファターゼ活性誘導を阻害した。

この報告については、「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」においては、用いた細胞の入手先が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、プロゲステロンによるアルカリ性フォスファターゼ活性誘導の阻害が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

※参考 抗プロゲステロン作用（今回評価対象としなかった文献）

- ②Kim ら(2005)によって、フェンバレレート 1 μ M(=420 μ g/L)の濃度に 48 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D によるアルカリ性フォスファターゼ活性相対発現量への影響が検討されているが、プロゲステロン 10nM によるアルカリ性フォスファターゼ発現誘導の阻害は認められなかった。

- ③Sumida ら(2001)によって、フェンバレレート 10 μ M(=4,200 μ g/L)に 28 時間ばく露したヒト乳がん細胞 T47D (ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(プロゲステロ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活性発現誘導)が検討されているが、プロゲステロン 10nM によるルシフェラーゼの阻害は認められなかった。

また、フェンバレレート 10 μ M(=4,200 μ g/L)に 4 時間ばく露した酵母(ヒトプロゲステロン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(プロゲステロ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 β ガラクトシダーゼ活性発現誘導)が検討されているが、プロゲステロン 10nM による β ガラクトシダーゼ活性発現誘導の阻害は認められなかった。

また、フェンバレレート 0.001~10 μ M(=0.42~4,200 μ g/L)の濃度範囲で、ヒトプロゲステロン受容体(無傷ヒト乳がん細胞 T47D)を用いた結合阻害試験が検討されているが、標識プロゲステロン 300nM による結合の阻害は認められなかった。

(10)卵胞及び顆粒膜細胞への影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Fei ら(2010)によって、フェンバレレート 1、5、25 μ M(=420、2,100、10,500 μ g/L)に 72 時間ばく露したラット由来前胞状卵胞への影響が検討されている。その結果として、1 μ M(=420 μ g/L)以上のばく露区で細胞直径、プロゲステロン産生量、StAR mRNA 相対発現量の低値、5

$\mu\text{M}(=2,100\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でテストステロン産生量、 17β -エストラジオール産生量、P450scc mRNA 相対発現量の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、プロゲステロン産生量、StAR mRNA 相対発現量、テストステロン産生量、 17β -エストラジオール産生量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：ホルモン産生への影響、卵胞生育阻害

②Chen ら(2005)によって、フェンバレレート 1、5、25、125、625 $\mu\text{M}(=420、2,100、10,500、52,500、262,500\mu\text{g/L})$ に 24 時間ばく露したラット由来顆粒膜細胞(一次培養)への影響が検討されている。その結果として、5 $\mu\text{M}(=2,100\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でプロゲステロン産生量の低値、25 $\mu\text{M}(=10,500\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区で P450sec 相対発現量の低値、StAR 相対発現量の高値が認められた。

また、フェンバレレート 25、125 $\mu\text{M}(=10,500、52,500\mu\text{g/L})$ に 24 時間ばく露したラット由来顆粒膜細胞(一次培養)への影響が検討されている。その結果として、25 $\mu\text{M}(=10,500\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でプロゲステロン産生量(基底状態)、プロゲステロン産生量(2 mg/L 卵胞刺激ホルモン刺激性)、プロゲステロン産生量(1 mM 8-Br-cAMP 刺激性)の低値が認められた。

また、フェンバレレート 1、5、25、125、625 $\mu\text{M}(=420、2,100、10,500、52,500、262,500\mu\text{g/L})$ に 24 時間ばく露したラット由来顆粒膜細胞(一次培養、卵胞刺激ホルモン 2 mg/L 共存下)への影響が検討されている。その結果として、5 $\mu\text{M}(=2,100\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区で P450sec 相対発現量の低値、25 $\mu\text{M}(=10,500\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区で cAMP 相対発現量の低値が認められた。(8783)(〇〇P、p.33~34)

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、プロゲステロン産生量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン産生の阻害

③He ら(2004)によって、フェンバレレート 1、5、25、125 $\mu\text{M}(=420、2,100、10,500、52,500\mu\text{g/L})$ に 24 時間ばく露したヒト由来黄体形成顆粒細胞(一次培養、アカゲザル卵胞刺激ホルモン 200ng/mL 共存下)への影響が検討されている。その結果として、5 $\mu\text{M}(=2,100\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でプロゲステロン産生量の低値、125 $\mu\text{M}(=52,500\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区で cAMP 産生量の低値が認められた。

また、フェンバレレート 5、25、125 $\mu\text{M}(=2,100、10,500、52,500\mu\text{g/L})$ に 24 時間ばく露したヒ

ト由来黄体形成顆粒細胞(一次培養)への影響が検討されている。その結果として、 $5\mu\text{M}(=2,100\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でカルモジュリン産生量の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、プロゲステロン産生量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン産生の阻害

(11)ライディッヒ腫瘍細胞への影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Quら(2012)によって、フェンバレレート1、5、25、 $125\mu\text{M}(=420, 2,100, 10,500, 52,500\mu\text{g/L})$ に24時間(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 0.1U/mL に4時間処理後)ばく露したマウス由来ライディッヒ腫瘍細胞 MLTC-1 への影響が検討されている。その結果として、 $1\mu\text{M}(=420\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でインシュリン様成長因子 IGF-1 mRNA 相対発現量の低値、 $25\mu\text{M}(=10,500\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でインシュリン様成長因子 IGF-1 産生量、プロゲステロン産生量の低値が認められた。

また、フェンバレレート $25\mu\text{M}(=10,500\mu\text{g/L})$ に24時間(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 0.1U/mL に4時間処理後)ばく露したマウス由来ライディッヒ腫瘍細胞 MLTC-1 への影響が検討されている。その結果として、 $25\mu\text{M}(=10,500\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区で細胞外シグナル調節キナーゼ 1/2 相対活性の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、プロゲステロン産生量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン産生の阻害

②Quら(2008)によって、フェンバレレート1、5、25、 $125\mu\text{M}(=420, 2,100, 10,500, 52,500\mu\text{g/L})$ に24時間(コレラトキシン 30ng/mL に4時間処理後)ばく露したマウス由来ライディッヒ腫瘍細胞 MLTC-1 への影響が検討されている。その結果として、 $1\mu\text{M}(=420\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でプロゲステロン産生量の低値が認められた。

また、フェンバレレート1、5、25、 $125\mu\text{M}(=420, 2,100, 10,500, 52,500\mu\text{g/L})$ に24時間(フォルスコリン $10\mu\text{M}$ に4時間処理後)ばく露したマウス由来ライディッヒ腫瘍細胞 MLTC-1 への影響が検討されている。その結果として、 $5\mu\text{M}(=2,100\mu\text{g/L})$ 以上のばく露区でプロゲステロン産生量の低値が認められた。

また、フェンバレレート1、5、25、 $125\mu\text{M}(=420, 2,100, 10,500, 52,500\mu\text{g/L})$ に24時間(8-

プロモ-cAMP 500 μ M に4時間処理後)ばく露したマウス由来ライディッチ腫瘍細胞 MLTC-1 への影響が検討されている。その結果として、5 μ M(=2,100 μ g/L)以上のばく露区でプロゲステロン産生量の低値が認められた。

また、フェンバレレート 1、5、25、125 μ M(=420、2,100、10,500、52,500 μ g/L)に24時間(ヒト絨毛性ゴナドトロピン 0.1U/mL に4時間処理後)ばく露したマウス由来ライディッチ腫瘍細胞 MLTC-1 への影響が検討されている。その結果として、5 μ M(=2,100 μ g/L)以上のばく露区でプロゲステロン産生量、P450sec mRNA 相対発現量、P450sec 相対発現量、StAR mRNA 相対発現量、StAR 相対発現量の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、プロゲステロン産生量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン産生の阻害

(12)精子への影響

○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告

①Song ら(2008)によって、フェンバレレート 1、4、16、64 μ M(=420、1,680、6,720、26,880 μ g/L)に1時間ばく露したラット由来精子への影響が検討されている。その結果として、16 μ M(=6,720 μ g/L)以上のばく露区で Beat Frequency (BCF:頭部振動数)、Linearity (LIN:直線性)の低値、64 μ M(=26,880 μ g/L)のばく露区で前進運動性精子率、Progressive Velocity (VSL:直線地点移動速度)の低値、Path Velocity (VAP:進行方向性速度)の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、Beat Frequency、Linearity、前進運動性精子率、Progressive Velocity の低値、Path Velocity の高値について、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「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」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定される作用メカニズム：不明

※参考

(13)発達影響（今回評価対象としなかった文献）

①Meng ら(2011)によって、フェンバレレート 7.5、30mg/kg/day を28日齢から56日齢まで経口投与した雌雄 ICR マウスへの影響(67~73日齢にかけて行動試験を実施)が検討されている。その結果として、雄において、7.5mg/kg/day のばく露群でオープンフィールド探索及び不安行動試験における peripheral time の低値、30mg/kg/day のばく露群で Morris 水迷路試験における遊泳速度、

オープンフィールド探索及び不安行動試験における white alley 侵入潜時の低値が認められた。また雌において、7.5mg/kg/day 以上のばく露群で Morris 水迷路試験における Time Proportion of objective quadrant、逃避行動潜時、遊泳距離の低値、7.5mg/kg/day 以上のばく露群で Morris 水迷路試験における objective quadrant 横断回数の低値、30mg/kg/day のばく露群でオープンフィールド探索及び不安行動試験における peripheral time の高値が認められた。

※参考

(14) 子宮平滑筋細胞への影響（今回評価対象としなかった文献）

①Gao ら(2010)によって、フェンバレレート 0.01、0.1、1、10 μ M(=4.2、42、420、4,200 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した子宮平滑筋腫細胞 UtLM への影響が検討されている。その結果として、0.1 μ M(=42 μ g/L)以上のばく露区で細胞増殖試験における BrdU 取り込み率の高値、10 μ M(=4,200 μ g/L)以上のばく露区で細胞増殖試験における細胞数の高値が認められた。

フェンバレレート 10 μ M(=4,200 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した子宮平滑筋腫細胞 UtLM への影響が検討されている。その結果として、アポトーシス細胞率の低値、コラーゲン I mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、フェンバレレート 0.01、0.1、1、10 μ M(=4.2、42、420、4,200 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した子宮平滑筋細胞 UtSMC への影響が検討されている。その結果として、0.1 μ M(=42 μ g/L)以上のばく露区で細胞増殖試験における細胞数の高値、1 μ M(=420 μ g/L)以上のばく露区で細胞増殖試験における BrdU 取り込み率の高値が認められた。

フェンバレレート 10 μ M(=4,200 μ g/L)の濃度に 24 時間ばく露した子宮平滑筋細胞 UtSMC への影響が検討されている。その結果として、アポトーシス細胞率の低値、コラーゲン I mRNA 相対発現量の高値が認められた。

2. 総合的判断(案)

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—下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用及び性ホルモンの生合成と性ホルモン受容体生成に関する影響を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗プロゲステロン作用、ホルモン産生への影響及び視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用(プロゲステロン合成系)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：フェンバレレート

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	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 ³⁾	
(1) 生態影響	毒性	①Day と Kaushik (1987)	○	?	—
	毒性	②Pieters と Liess (2006)	○	?	—
	毒性	③McKee と Knowles (1986)	×	—	×
	評価未実施	④Floyd ら(2008)			
(2) 生殖影響	視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用	①Pine ら(2008)	○	○P	○
	性ホルモンの合成と性ホルモン受容体生成に関する影響	②Liu ら(2011)	△	○P	○
	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	③Arena ら(2008)	○	○P	○
		④Zhao ら(2011)評価未実施			
		⑤Zhang ら(2010)評価未実施			
		⑥Guerra ら(2011)評価未実施			
		⑦Nassr ら(2010)評価未実施			
		⑧Zhang ら(2009)評価未実施			
(3) 甲状腺影響	視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	①Giray ら(2010)	△	○P	○

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	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 ³⁾	
(4)エストロゲン作用	①Chen ら(2002)	○	○P	○	
	②Go ら(1999)	○	○P	○	
	③Garey と Wolff (1998)	△	○P	○	
	④Kunimatsu ら(2002)	○	○N	×	
	⑤Gao ら(2010)評価未実施				
	⑥Saito ら(2000)評価未実施				
(5)抗エストロゲン作用	①Kim ら(2004)	○	○P	○	
	②Chen ら(2002)	○	○P	○	
	③Gao ら(2010)評価未実施				
	④Saito ら(2000)評価未実施				
(6)アンドロゲン作用	①Kunimatsu ら(2002)	○	○N	×	
(7)抗アンドロゲン作用	①Xu ら(2006)	○	○P	○	
	②Sun ら(2006)	×	—	×	
	③Kunimatsu ら(2002)	○	○N	×	
(8)プロゲステロン作用	①Garey と Wolff (1998)	△	○N	×	
	②Kim ら(2005)評価未実施				
	③Sumida ら(2001)評価未実施				
(9)抗プロゲステロン作用	①Garey と Wolff (1998)	△	○P	○	
	②Kim ら(2005)評価未実施				
	③Sumida ら(2001)評価未実施				
(10) 卵胞	ホルモン産生への影響、卵胞生育阻害	①Fei ら(2010)	○	○P	○

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	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 ³⁾	
及び顆粒膜細胞への影響	ステロイドホルモン産生の阻害	②Chen ら(2005)	○	○P	○
	ステロイドホルモン産生の阻害	③He ら(2004)	○	○P	○
(11) ライディック腫瘍細胞への影響	ステロイドホルモン産生の阻害	①Qu ら(2012)	○	○P	○
	ステロイドホルモン産生の阻害	②Qu ら(2008)	○	○P	○
(12) 精子への影響	不明	①Song ら(2008)	○	?	—
(13) 発達影響		①Meng ら(2011)評価未実施			

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	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 ³⁾
(14) 子宮平滑筋細胞への影響	①Gaoら(2010)評価未実施			
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—甲状腺軸への作用及び性ホルモンの生合成と性ホルモン受容体生成に関する影響を示すこと、試験管内試験の報告において、エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用、抗プロゲステロン作用、ホルモン産生への影響及び視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用(プロゲステロン合成系)を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない

2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない

3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

参考文献

Day K and Kaushik NK (1987) An assessment of the chronic toxicity of the synthetic pyrethroid, fenvalerate, to *Daphnia galeata mendotae*, using life tables. Environmental Pollution, 44 (1), 13-26.((1)本文中の作用の区分①報告の番号を示す。以下同じ。)

Pieters BJ and Liess M (2006) Maternal nutritional state determines the sensitivity of *Daphnia magna* offspring to short-term Fenvalerate exposure. Aquatic Toxicology, 76 (3-4), 268-277.((1)②)

- McKee MJ and Knowles CO (1986) Effects of fenvalerate on biochemical parameters, survival, and reproduction of *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 12 (1), 70-84.((1)③)
- Floyd EY, Geist JP and Werner I (2008) Acute, sublethal exposure to a pyrethroid insecticide alters behavior, growth, and predation risk in larvae of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27 (8), 1780-1787.((1)③)
- Pine MD, Hiney JK, Lee B and Dees WL (2008) The pyrethroid pesticide esfenvalerate suppresses the afternoon rise of luteinizing hormone and delays puberty in female rats. *Environmental Health Perspectives*, 116 (9), 1243-1247.((2)①)
- Liu P, Meng XH, Wang H, Ji YL, Zhao M, Zhao XF, Xu ZM, Chen YH, Zhang C and Xu DX (2011) Effects of pubertal fenvalerate exposure on testosterone and estradiol synthesis and the expression of androgen and estrogen receptors in the developing brain. *Toxicology Letters*, 201 (2), 181-189.((2)①)
- Arena AC, Fernandez CD, Porto EM, Bissacot DZ, Pereira OC and Kempinas WG (2008) Fenvalerate, a pyrethroid insecticide, adversely affects sperm production and storage in male rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 71 (23), 1550-1558.((2)③)
- Zhao XF, Wang Q, Ji YL, Wang H, Liu P, Zhang C, Zhang Y and Xu DX (2011) Fenvalerate induces germ cell apoptosis in mouse testes through the Fas/FasL signaling pathway. *Archives of Toxicology*, 85 (9), 1101-1108.((2)④)
- Zhang H, Wang H, Ji YL, Zhang Y, Yu T, Ning H, Zhang C, Zhao XF, Wang Q, Liu P and Xu DX (2010) Maternal fenvalerate exposure during pregnancy persistently impairs testicular development and spermatogenesis in male offspring. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (5), 1160-1169.((2)⑤)
- Guerra MT, de Toledo FC and Kempinas Wde G (2011) *In utero* and lactational exposure to fenvalerate disrupts reproductive function in female rats. *Reproductive Toxicology*, 32 (3), 298-303. ((2)⑥)
- Nassr AC, Arena AC, Toledo FC, Bissacot DZ, Fernandez CD, Spinardi-Barbisan AL, Pires PW and Kempinas WG (2010) Effects of gestational and lactational fenvalerate exposure on immune and reproductive systems of male rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 73 (13-14), 952-964.((2)⑦)

Zhang H, Wang H, Ji YL, Ning H, Yu T, Zhang C, Zhang Y, Zhao XF, Wang Q, Liu P, Meng XH and Xu DX (2009) Lactational fenvalerate exposure permanently impairs testicular development and spermatogenesis in mice. *Toxicology Letters*, 191 (1), 47-56.((2)⑧)

Zhang H, Wang H, Wang Q, Zhao XF, Liu P, Ji YL, Ning H, Yu T, Zhang C, Zhang Y, Meng XH and Xu DX (2010) Pubertal and early adult exposure to fenvalerate disrupts steroidogenesis and spermatogenesis in mice at adulthood. *Journal of Applied Toxicology*, 30 (4), 369-377.((2)⑨)

Giray B, Caglayan A, Erkekoglu P and Hincal F (2010) Fenvalerate exposure alters thyroid hormone status in selenium- and/or iodine-deficient rats. *Biological Trace Element Research*, 135 (1-3), 233-241.((3)①)

Chen H, Xiao J, Hu G, Zhou J, Xiao H and Wang X (2002) Estrogenicity of organophosphorus and pyrethroid pesticides. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 65 (19), 1419-1435.((4)①、(5)②)

Go V, Garey J, Wolff MS and Pogo BG (1999) Estrogenic potential of certain pyrethroid compounds in the MCF-7 human breast carcinoma cell line. *Environmental Health Perspectives*, 107 (3), 173-177.((4)②)

Garey J and Wolff MS (1998) Estrogenic and antiprogestagenic activities of pyrethroid insecticides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 251 (3), 855-859.((4)③、(8)①、(9)①)

Kunimatsu T, Yamada T, Ose K, Sunami O, Kamita Y, Okuno Y, Seki T and Nakatsuka I (2002) Lack of (anti-) androgenic or estrogenic effects of three pyrethroids (esfenvalerate, fenvalerate, and permethrin) in the Hershberger and uterotrophic assays. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 35 (2 Pt 1), 227-237.((4)④、(6)①、(7)③)

Gao X, Yu L, Castro L, Moore AB, Hermon T, Bortner C, Sifre M and Dixon D (2010) An endocrine-disrupting chemical, fenvalerate, induces cell cycle progression and collagen type I expression in human uterine leiomyoma and myometrial cells. *Toxicology Letters*, 196 (3), 133-141.((4)⑤、(5)③、(14)①)

Saito K, Tomigahara Y, Ohe N, Isobe N, Nakatsuka I and Kaneko H (2000) Lack of significant estrogenic or antiestrogenic activity of pyrethroid insecticides in three *in vitro* assays based on classic estrogen receptor alpha-mediated mechanisms. *Toxicological Sciences*, 57 (1), 54-60.((4)⑥、

(5)④)

Kim IY, Shin JH, Kim HS, Lee SJ, Kang IH, Kim TS, Moon HJ, Choi KS, Moon A and Han SY (2004) Assessing estrogenic activity of pyrethroid insecticides using *in vitro* combination assays. *Journal of Reproduction and Development*, 50 (2), 245-255.((5)①)

Xu LC, Sun H, Chen JF, Bian Q, Song L and Wang XR (2006) Androgen receptor activities of *p,p'*DDE, fenvalerate and phoxim detected by androgen receptor reporter gene assay. *Toxicology Letters*, 160 (2), 151-157.((7)①)

Sun H, Xu XL, Xu LC, Song L, Hong X, Chen JF, Cui LB and Wang XR (2007) Antiandrogenic activity of pyrethroid pesticides and their metabolite in reporter gene assay. *Chemosphere*, 66 (3), 474-479. ((7)②)

Kim IY, Han SY, Kang TS, Lee BM, Choi KS, Moon HJ, Kim TS, Kang IH, Kwack SJ, Moon A, Ahn MY and Kim HS (2005) Pyrethroid insecticides, fenvalerate and permethrin, inhibit progesterone-induced alkaline phosphatase activity in T47D human breast cancer cells. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 68 (23-24), 2175-2186.((8)②、(9)②)

Sumida K, Saito K, Ooe N, Isobe N, Kaneko H and Nakatsuka I (2001) Evaluation of *in vitro* methods for detecting the effects of various chemicals on the human progesterone receptor, with a focus on pyrethroid insecticides. *Toxicology Letters*, 118 (3), 147-155.((8)③、(9)③)

Fei J, Qu JH, Ding XL, Xue K, Lu CC, Chen JF, Song L, Xia YK, Wang SL and Wang XR (2010) Fenvalerate inhibits the growth of primary cultured rat preantral ovarian follicles. *Toxicology*, 267 (1-3), 1-6.((10)①)

Chen J, Chen H, Liu R, He J, Song L, Bian Q, Xu L, Zhou J, Xiao H, Dai G, Chang HC and Wang X (2005) Effects of fenvalerate on progesterone production in cultured rat granulosa cells. *Reproductive Toxicology*, 20 (2), 195-202.((10)②)

He J, Chen J, Liu R, Wang S, Song L, Chang HC and Wang X (2004) Alterations of FSH-stimulated progesterone production and calcium homeostasis in primarily cultured human luteinizing-granulosa cells induced by fenvalerate. *Toxicology*, 203 (1-3), 61-68.((10)③)

Qu JH, Fei J, Hong X, Chen JF, Gu AH, Sun H, Xu XL, Song L, Wang SL and Wang XR (2012) Involvement of IGF-I signaling pathway in the regulation of steroidogenesis in mouse Leydig cells

treated with fenvalerate. *Toxicology*, 292 (2-3), 151-155.((11)①)

Qu JH, Hong X, Chen JF, Wang YB, Sun H, Xu XL, Song L, Wang SL and Wang XR (2008) Fenvalerate inhibits progesterone production through cAMP-dependent signal pathway. *Toxicology Letters*, 176 (1), 31-39.((11)②)

Song L, Wang YB, Sun H, Yuan C, Hong X, Qu JH, Zhou JW and Wang XR (2008) Effects of fenvalerate and cypermethrin on rat sperm motility patterns *in vitro* as measured by computer-assisted sperm analysis. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 71 (5), 325-332.((12)①)

Meng XH, Liu P, Wang H, Zhao XF, Xu ZM, Chen GH and Xu DX (2011) Gender-specific impairments on cognitive and behavioral development in mice exposed to fenvalerate during puberty. *Toxicology Letters*, 203 (3), 245-251.((13)①)

V. 過塩素酸

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

過塩素酸の内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響(魚類)、生態影響(両生類)、生態影響(鳥類)、甲状腺影響の有無に関する報告及び疫学的調査に関する報告がある。本物質は、甲状腺濾胞における能動的輸送に関与しているナトリウム・ヨードシンポータに高親和性を示し、ヨウ素の取り込みを阻害することが作用メカニズムとして知られている。

なお、本物質の主な用途は、分析化学用試薬、金属・合金・鉱石などの溶解、有機合成用触媒である。本物質は、平成 21 年度要調査項目等存在状況調査の水質調査において検出されている。

(1)生態影響(魚類)

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Liu ら(2006)によって、過塩素酸ナトリウム 10、100 $\mu\text{g/L}$ (NaClO_4 換算設定濃度)に約 2.5 ヶ月齢から 90 日間ばく露した雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で甲状腺濾胞内コロイド面積率の低値、甲状腺濾胞上皮細胞厚、甲状腺濾胞内血管新生密度の高値、100 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で甲状腺濾胞内コロイド面積の低値、甲状腺濾胞過形成発生率の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、甲状腺濾胞内コロイド面積率及び面積の低値、甲状腺濾胞上皮細胞厚、甲状腺濾胞内血管新生密度、甲状腺濾胞過形成発生率の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：甲状腺への影響

②Mukhi ら(2005)によって、過塩素酸アンモニウム 11 ± 0 、 90 ± 3 、 $1,131 \pm 23$ 、 $11,480 \pm 335 \mu\text{g/L}$ (ClO_4^- 換算測定濃度)に 12 週間ばく露した成熟雌雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、11 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で甲状腺濾胞でのコロイド状サイロイドリング(抗サイロキシン免疫抗体反応)密度の低値、90 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で甲状腺濾胞内血管新生密度の高値、1,131 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で甲状腺濾胞細胞厚の高値が認められた。

注：信頼性評価を実施した報告について作用の区分ごとに分類し、信頼性評価の結果として「試験対象物質として選定する根拠として認められる報告」、「内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告」及び「試験対象物質として選定する根拠として認められない報告」に区分した。報告ごとに、著者名、公表年、試験概要及び信頼性評価結果を記載し、作用の認められた濃度・用量の低い順に掲載した。なお、疫学的調査に関する報告については公表年の古い順に掲載した。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、甲状腺濾胞でのコロイド状サイロイドリング(抗サイロキシン免疫抗体反応)密度の低値、甲状腺濾胞内血管新生密度、甲状腺濾胞細胞厚の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：甲状腺への影響

- ③Liら(2011)によって、過塩素酸マグネシウム5、50 $\mu\text{g/L}$ (ClO_4^- 換算設定濃度)に受精後72時間齢から21日間ばく露したチャイニーズレアミノー(*Gobiocypris rarus*)への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で全身中甲状腺関連遺伝子 *d2* mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、過塩素酸マグネシウム5、50 $\mu\text{g/L}$ (ClO_4^- 換算設定濃度)に4ヶ月齢から21日間ばく露したチャイニーズレアミノー(*G. rarus*)への影響が検討されている。その結果として、雄において、5 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で脳中甲状腺関連遺伝子 *d2* mRNA 相対発現量、脳中甲状腺関連遺伝子 *d3* 及び *nis* mRNA 相対発現量の低値、肝臓中甲状腺関連遺伝子 *nis* mRNA 相対発現量の高値、50 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で血漿中トリヨードサイロニン濃度の低値が認められた。雌において、5 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で脳中甲状腺関連遺伝子 *d3* 及び *nis* mRNA 相対発現量の低値、肝臓中甲状腺関連遺伝子 *nis* mRNA 相対発現量、肝臓体指数の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、血漿中トリヨードサイロニン濃度の低値等が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

- ④Schmidtら(2012)によって、過塩素酸カリウム62.5、125、250、500、5,000 $\mu\text{g/L}$ (KClO_4 換算設定濃度)に受精後3日齢から35日間ばく露したゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、125 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で肥満度(condition factor)の低値、5,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で全身中サイロキシン濃度の低値、下垂体中甲状腺刺激ホルモン産生細胞数、腺性下垂体表面積、腺性下垂体表面積/神経性下垂体表面積比の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、全身中サイロキシン濃度の低値、下垂体中甲状腺刺激ホルモン産生細胞数の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：甲状腺への影響

- ⑤Bradfordら(2005)によって、過塩素酸ナトリウム 180 ± 103 、 900 ± 360 、 $7,100 \pm 390$ 、 $68,000 \pm 4,000$ 、 $667,000 \pm 49,000 \mu\text{g/L}$ (ClO_4^- 換算測定濃度)に30日間ばく露した成熟雌カダヤシ属の一種 (*Gambusia holbrooki*)への影響が検討されている。その結果として、 $180 \mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で全身中サイロキシン濃度の低値、甲状腺濾胞上皮細胞厚、甲状腺濾胞過形成発生率、甲状腺濾胞肥大発生率、甲状腺濾胞内コロイド減少発生率、甲状腺損傷重篤度(組織病理学的スコア)の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、全身中サイロキシン濃度、甲状腺濾胞上皮細胞厚、甲状腺濾胞過形成発生率、甲状腺濾胞肥大発生率、甲状腺濾胞内コロイド減少発生率、甲状腺損傷重篤度(組織病理学的スコア)の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

- ⑥Parkら(2006)によって、過塩素酸ナトリウム $1,150 \pm 100$ 、 $7,310 \pm 3,320$ 、 $99,250 \pm 9,960 \mu\text{g/L}$ (ClO_4^- 換算測定濃度)へに最長8週間ばく露した成熟雌カダヤシ属の一種 (*Gambusia holbrooki*)への影響が検討されている。その結果として、 $1,150 \mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で6週間後の甲状腺濾胞過形成発生率及び重篤度、甲状腺濾胞肥大発生率及び重篤度、甲状腺濾胞内コロイド減少発生率及び重篤度、8週間後の同腹卵数/標準体長の高値、 $1,150 \mu\text{g/L}$ 及び $99,250 \mu\text{g/L}$ のばく露区で8週間後の生殖腺体指数の高値、 $99,250 \mu\text{g/L}$ のばく露区で8週間後の同腹卵一個当り重量の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、甲状腺濾胞過形成発生率及び重篤度、甲状腺濾胞肥大発生率及び重篤度、甲状腺濾胞内コロイド減少発生率及び重篤度の高値等が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

- ⑧Raldúaら(2009)によって、過塩素酸カリウム 10 、 180 、 540 、 $1,260$ 、 $1,980 \mu\text{M}$ (=995、17,900、53,700、125,000、197,000 $\mu\text{g/L}$ 、 ClO_4^- 換算設定濃度)に受精後48時間齢から受精後120時間齢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、 $180 \mu\text{M}$ (=17,900 $\mu\text{g/L}$)以上のばく露区で甲状腺濾胞中抗サイロキシン免疫抗体反応強度の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度及び試験動物の入手先が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、甲状腺濾胞中抗サイロキシン免疫抗体反応強度の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

- ⑨Patiño ら(2003)によって、過塩素酸アンモニウム 18,000±200、677,000±22,000µg/L(ClO₄⁻換算測定濃度)に最長 8 週間ばく露した成熟雌雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、18,000µg/L 以上のばく露区で甲状腺濾胞細胞核面積、甲状腺濾胞内血管新生発生率の高値、18,000µg/L のばく露区で甲状腺濾胞過形成発生率、甲状腺濾胞内コロイド減少発生率の高値、677,000µg/L のばく露区で 4 週間後の累積産卵容積の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、モニタリングを実施した試験水槽の水質が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、甲状腺濾胞細胞核面積、甲状腺濾胞内血管新生発生率、甲状腺濾胞過形成発生率、甲状腺濾胞内コロイド減少発生率の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

- ⑩Mukhi ら(2007)によって、過塩素酸ナトリウム 100,000、250,000µg/L(ClO₄⁻換算設定濃度)に受精後 3 日齢から最長受精後 43 日齢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、100,000µg/L 以上のばく露区で受精後 43 日齢での体長の低値、受精後 33 日齢での甲状腺濾胞上皮細胞厚、甲状腺濾胞内コロイド減少重篤度の高値、100,000 と 250,000µg/L の濃度で雄性比の濃度相関的減少傾向(区間有意差検定なし)が認められた。

この報告については、「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」においては、モニタリングを実施した試験水槽の水質が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、甲状腺濾胞上皮細胞厚、甲状腺濾胞内コロイド減少重篤度の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

- ⑦Mukhi と Patiño(2007)によって、過塩素酸ナトリウム 10,000、100,000µg/L(ClO₄⁻換算設定濃度)に 10 週間以上(雌雄混合で 10 週間。その後は雌雄を隔離してからばく露を継続し、12~16 週間後

にかけて交配及び産卵試験)ばく露した成熟雌雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、10,000µg/L以上のばく露区で12週間後の累積産卵体積、14週間後に受精した卵中サイロキシン濃度、16週間後の雌体重、雌全身中サイロキシン濃度、1週間当りの産卵体積の低値、受精した卵直径の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の入手先及び純度の記載が無いことから、記載が不十分であると評価された。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

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

※参考 生態影響(魚類)(今回評価対象としなかった文献)

- ①Manzon と Youson(1997)によって、過塩素酸カリウム 100,000µg/L(ClO_4^- 換算設定濃度)に24週間ばく露したウミヤツメ(*Petromyzon marinus*)幼生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、血漿中トリヨードサイロニン濃度の低値、変態率の高値が認められた。
- ②Liu ら(2008)によって、過塩素酸ナトリウム 120,600µg/L(ClO_4^- 換算測定濃度)に受精後6日齢から受精後37日齢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、甲状腺濾胞内コロイド面積の低値、甲状腺濾胞上皮細胞厚の高値が認められた。
- ③Manzon と Youson(1999)によって、過塩素酸カリウム 500,000µg/L(ClO_4^- 換算設定濃度)に23週間ばく露したウミヤツメ(*Petromyzon marinus*)幼生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、血漿中トリヨードサイロニン濃度の低値、変態率、死亡率の高値が認められた。

(2)生態影響(両生類)

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Goleman ら(2002)によって、過塩素酸アンモニウム 5 ± 2 、 18 ± 2 、 146 ± 6 、 $1,412 \pm 32$ 、 $14,400 \pm 70$ 、 $133,000 \pm 2,500$ 、 $425,000 \pm 45,000$ µg/L(ClO_4^- 換算測定濃度)に NF stage 4~10(産卵24時間未満胚)から70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、5µg/L以上のばく露区で前肢出現率の低値、18µg/L以上のばく露区で後肢長、尾完全消失率の低値が認められた。

また、過塩素酸アンモニウム $19,800 \pm 6,700$ µg/L(ClO_4^- 換算測定濃度)に NF stage 60 幼生から14日間ばく露したアフリカツメガエル(*X. laevis*)への影響が検討されている。その結果として、尾完全消失率の低値、尾長の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、前肢出現率、後肢長、尾完全消失率の低値、尾長の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

②Hu ら(2006)によって、過塩素酸ナトリウム 0.87 ± 0.09 、 8.18 ± 0.38 、 93.24 ± 7.45 、 $1,130.71 \pm 29.83 \mu\text{g/L}$ (ClO_4^- 換算測定濃度)に NF stage 4～10(産卵 24 時間未滿胚)から最長 69 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、 $8.18 \mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で 38 日後の甲状腺濾胞内コロイド状サイロイドリング(抗サイロキシン免疫抗体反応)密度の低値、 $93.24 \mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で 69 日後の前肢出現率、尾完全消失率、後肢長の低値、38 日後の甲状腺濾胞上皮細胞厚、甲状腺濾胞内コロイド減少スコアの高値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、甲状腺濾胞内コロイド状サイロイドリング(抗サイロキシン免疫抗体反応)密度、前肢出現率、尾完全消失率、後肢長の低値、甲状腺濾胞上皮細胞厚、甲状腺濾胞内コロイド減少スコアの高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

③Tietge ら(2005)によって、過塩素酸ナトリウム 18 ± 1 、 62 ± 1 、 247 ± 11 、 972 ± 23 、 $4,000 \pm 25 \mu\text{g/L}$ (ClO_4^- 換算測定濃度)に NF stage 54 幼生から 14 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、 $18 \mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で甲状腺濾胞内コロイド減少発生頻度、甲状腺濾胞細胞肥大発生頻度及び重篤度、甲状腺濾胞細胞過形成発生頻度及び重篤度の高値、 $247 \mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で到達 NF stage の低値、体重の高値が認められた。

また、過塩素酸ナトリウム 9 ± 1 、 17 ± 1 、 34 ± 1 、 69 ± 2 、 $127 \pm 3 \mu\text{g/L}$ (ClO_4^- 換算測定濃度)に NF stage 51 幼生から 44 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、 $69 \mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で甲状腺総面積の高値が認められた。

また、過塩素酸ナトリウム 18 ± 1 、 62 ± 1 、 247 ± 11 、 972 ± 23 、 $4,000 \pm 25 \mu\text{g/L}$ (ClO_4^- 換算測定濃度)に NF stage 51 幼生から 14 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、 $247 \mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で到達 NF stage の低値、 $4,000 \mu\text{g/L}$ ばく露区で体重の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、甲状腺濾胞内コロイド減少発生頻度、甲状腺濾胞細胞肥大発生頻度及び重篤度、甲状腺濾胞細胞過形成発生頻度及び重篤度、甲状腺総面積の高値、到達 NF stage の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

- ④Goleman ら(2002)によって、過塩素酸アンモニウム 2 ± 1 、 59 ± 5 、 $14,140 \pm 348 \mu\text{g/L}$ (ClO_4^- 換算測定濃度)に NF stage 4~10(産卵 24 時間未満胚)から 70 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、 $59 \mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で全身中サイロキシン濃度、雄性比、後肢長さの低値、甲状腺濾胞上皮細胞厚の高値、 $14,140 \mu\text{g/L}$ のばく露区で前肢出現率、尾完全消失率の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、全身中サイロキシン濃度、雄性比、後肢長さ、前肢出現率、尾完全消失率の低値、甲状腺濾胞上皮細胞厚の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用

- ⑤Hornung ら(2010)によって、過塩素酸ナトリウム $0.04 \sim 44 \mu\text{M}$ ($= 5 \sim 5,000 \mu\text{g/L}$ 、 ClO_4^- 換算濃度)に 48 時間ばく露した NF stage 59 アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) 幼生由来甲状腺による甲状腺刺激ホルモン誘導性サイロキシン分泌阻害試験が検討されている。その結果として、過塩素酸ナトリウムは、 IC_{50} 値 $1.2 \mu\text{M}$ ($= 150 \mu\text{g/L}$ 、 ClO_4^- 換算濃度)の濃度で分泌を阻害した。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、甲状腺刺激ホルモン誘導性サイロキシン分泌阻害が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

※参考 生態影響(両生類)(今回評価対象としなかった文献)

- ⑥Tietge ら(2010)によって、過塩素酸ナトリウム $4,000 \mu\text{g/L}$ (ClO_4^- 換算設定濃度)に NF stage 54 幼生から最長 8 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、血液中サイロキシン濃度(6 日後)、甲状腺中 3-モノヨード-L-サイロシン濃度(4、6 日後)、甲状腺中 3,5-ジヨード-L-サイロシン濃度(2、4、6 日後)、甲状腺中サイロキシン濃度(2、4、6 日後)、甲状腺中細胞数(6 日後)の低値、甲状腺濾胞細胞過形成発生頻度及び重篤度、甲状腺濾胞細胞肥大発生頻度及び重篤度、甲状腺濾胞内コロイド減少発生頻度及び重篤度、甲状腺濾胞びまん性肥大発生頻度及び重篤度の高値が認められた。
- ⑦Helbing ら(2007a)によって、過塩素酸ナトリウム $4,000 \mu\text{g/L}$ (ClO_4^- 換算設定濃度)に NF stage 54 幼生から最長 96 時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、48 時間後の脳中フェロセラゼ mRNA 相対発現量、48 時間後の脳中 nsRbp(神経系特異的 RNA 結合蛋白質)mRNA 相対発現量、48 時間後の脳中 TSH α (甲状腺刺激ホルモン β サブユニット)mRNA 相対発現量、96 時間後の脳中 MBP(ミエリン塩基性蛋白質)mRNA 相対発現量、96 時間後の脳中 β アミロイド前駆体蛋白質 mRNA 相対発現量、96 時間後の脳中マスキン mRNA 相対発現量の高値が認められた。

⑧ Helbing ら(2007b)によって、過塩素酸ナトリウム 4,000 μ g/L(ClO₄⁻換算設定濃度)に NF stage 54 幼生から最長 96 時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、48 時間後の尾中インポーチン mRNA 相対発現量の低値、24 時間後の後肢中インポーチン mRNA 相対発現量、96 時間後の後肢中メタロチオネイン mRNA 相対発現量、24 時間後の後肢中 51kDa サイロセラチン type II mRNA 相対発現量、48 時間後の尾中 51kDa サイロセラチン type II mRNA 相対発現量の高値が認められた。

⑨ Zhang ら(2006)によって、過塩素酸 4,000 μ g/L(ClO₄⁻換算設定濃度)に NF stage 54 幼生から最長 96 時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、48、96 時間後の脳中 TSH α (甲状腺ホルモン受容体 α)mRNA 相対発現量の高値が認められた。

⑩ Opitz と Kloas(2010)によって、過塩素酸ナトリウム 20,000 μ g/L(ClO₄⁻換算設定濃度)に NF stage 46(受精後 7 日齢幼生)から 10 日間(NF stage 52 到達に相当)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、機能的 NaI シンポータ蛋白質 slc5a5 mRNA 相対発現量、甲状腺ペルオキシダーゼ tpo mRNA 相対発現量、甲状腺刺激ホルモン受容体 tshr mRNA 相対発現量、II 型デオナーゼ dio2 mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、過塩素酸ナトリウム 20,000 μ g/L(ClO₄⁻換算設定濃度)に NF stage 46(受精後 7 日齢幼生)から 5 日間(NF stage 50 到達に相当)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、機能的 NaI シンポータ蛋白質 slc5a5 mRNA 相対発現量、甲状腺ペルオキシダーゼ tpo mRNA 相対発現量、甲状腺刺激ホルモン受容体 tshr mRNA 相対発現量の高値が認められた。

⑪ Opitz ら(2009)によって、過塩素酸ナトリウム 20,000 μ g/L(ClO₄⁻換算設定濃度)に NF stage 51(受精後 14 日齢幼生)から 12 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、到達 NF stage、後脚長、甲状腺中 tie-2(endothelium-specific receptor tyrosine kinase 2)mRNA 相対発現量、甲状腺中 gstp1(glutathione S-transferase, pi)mRNA 相対発現量の低値、下垂体中 tshb-A mRNA 相対発現量、甲状腺中 slc5a5(solute carrier transporter 5a5)mRNA 相対発現量、甲状腺中 tpo(thyroid peroxidase)mRNA 相対発現量、甲状腺中 tshr(thyroid-stimulating hormone receptor)mRNA 相対発現量、甲状腺中 eif4a1 mRNA 相対発現量、甲状腺中 hsoa5 mRNA 相対発現量、甲状腺中 sar1a(sar1a protein)mRNA 相対発現量、甲状腺中 rnp24(coated vesicle membrane protein rnp24)mRNA 相対発現量、甲状腺中 gadd153(transcription factor gadd153) mRNA 相対発現量、甲状腺中 asns mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、過塩素酸ナトリウム 20,000 μ g/L(ClO₄⁻換算設定濃度)に NF stage 51(受精後 14 日齢幼生)から 8 日間ばく露したアフリカツメガエル(*X. laevis*)への影響が検討されている。その結果として、

脳中 thrb(thyroid hormone receptor β) mRNA 相対発現量、脳中 btebl-A(basic transcription element-binding protein 1) mRNA 相対発現量、脳中 mcm2(minichromosome maintenance protein 2)mRNA 相対発現量、脳中 pcna(proliferating cell nuclear antigen) mRNA 相対発現量、脳中 kif2c(kinesin family member 2C) mRNA 相対発現量の低値、脳中 dapl 1(death-associated protein-like 1) mRNA 相対発現量の高値が認められた。

⑫Opitz ら(2006)によって、過塩素酸ナトリウム 20,000 μ g/L(ClO_4^- 換算設定濃度)に NF stage 52 幼生から 12 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、到達 NF stage の低値、甲状腺中 TSH β (甲状腺刺激ホルモン β サブユニット)mRNA 相対発現量、甲状腺中 NIS(NaI シンポータ蛋白質)mRNA 相対発現量の高値が認められた。

(3)生態影響(鳥類)

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Chen ら(2008)によって、過塩素酸アンモニウム 2,000、4,000mg/L(NH_4ClO_4 換算飲水中設定濃度)を 3~4 ヶ月齢から 6 週間飲水投与した雌ニホンウズラ(*Coturnix japonica*)への影響が検討されている。その結果として、2,000mg/L 以上のばく露群で甲状腺中サイロキシン濃度の低値、甲状腺絶対重量の高値、4,000mg/L のばく露群で血漿中サイロキシン濃度、甲状腺中トリヨードサイロニン濃度、日毎産卵数の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、甲状腺中サイロキシン濃度の低値、甲状腺絶対重量の高値、血漿中サイロキシン濃度、甲状腺中トリヨードサイロニン濃度、日毎産卵数の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用、毒性

※参考 生態影響(鳥類)(今回評価対象としなかった文献)

②Gentles ら(2005)によって、過塩素酸アンモニウム 1mM(120mg/L、 NH_4ClO_4 換算飲水中設定濃度)を 30 日間飲水投与した成熟雌ボブホウイトウズラ(*Colinus virginianus*)への影響が検討されている。その結果として、甲状腺濾胞内コロイド面積の低値、甲状腺濾胞上皮細胞厚の高値が認められた。

③Chen ら(2009)によって、過塩素酸アンモニウム 2,000mg/L(NH_4ClO_4 換算飲水中設定濃度)を 4~5 日齢から 2 週間飲水投与したニホンウズラ(*Coturnix japonica*)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、血漿中トリヨードサイロニン濃度、甲状腺中サイロキシン濃度の低値が認められた。

また、過塩素酸アンモニウム 2,000mg/L(NH_4ClO_4 換算飲水中設定濃度)を 4~5 日齢から 7.5 週

間飲水投与したニホンウズラ(*C. japonica*)への影響が検討されている。その結果として、甲状腺中サイロキシン濃度、甲状腺中トリヨードサイロニン濃度の低値、甲状腺絶対重量の高値が認められた。

(4)甲状腺影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①York ら(2005)によって、過塩素酸アンモニウム 0.01、0.1、1、30mg/kg/day を交配 14 日前から最長哺育 10 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、妊娠 21 日目母動物において、0.01mg/kg/day 以上のばく露群で血清中サイロキシン濃度の低値、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、30mg/kg/day のばく露群で血清中トリヨードサイロニン濃度の低値、甲状腺絶対及び相対重量、甲状腺濾胞内コロイド減少発生率、甲状腺濾胞肥大発生率の高値が認められた。哺育 10 日目母動物において、0.01mg/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、30mg/kg/day のばく露群で血清中サイロキシン濃度の低値、甲状腺絶対及び相対重量、甲状腺濾胞内コロイド減少発生率、甲状腺濾胞肥大発生率の高値が認められた。22 日齢雄仔動物において、0.01mg/kg/day 以上のばく露群で血清中サイロキシン濃度の低値、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、1 mg/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、30 mg/kg/day のばく露群で体重、甲状腺絶対及び相対重量、甲状腺濾胞内コロイド減少発生率の高値が認められた。22 日齢雌仔動物において、0.01mg/kg/day 以上のばく露群で体重の高値、0.1mg/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、1 mg/kg/day 以上のばく露群で甲状腺絶対及び相対重量の高値、30mg/kg/day のばく露群で血清中トリヨードサイロニン濃度の低値、甲状腺濾胞内コロイド減少発生率の高値が認められた。

なお、妊娠期間日数、同腹着床数、同腹新生仔数、同腹死産仔数、新生仔死亡率(1 日齢、2～5 日齢、6～8 日齢)、新生仔体重(1 日齢、8 日齢、10 日齢)には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、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の低値、体重、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、甲状腺絶対及び相対重量、甲状腺濾胞内コロイド減少発生率、甲状腺濾胞肥大発生率の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

②Siglin ら(2000)によって、過塩素酸アンモニウム 0.01、0.05、0.2、1、10mg/kg/day を 7 週齢から 90 日間飲水投与した雌雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、0.01mg/kg/day 以上のばく露群で雌雄血清中サイロキシン濃度、雌雄血清中トリヨードサイロニン濃度の低値、0.2mg/kg/day 以上のばく露群で雄血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、10mg/kg/day 以上のばく露群で雌雄甲状腺絶対及び相対重量、雌血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雌雄血清中サイロキシン濃度、雌雄血清中トリヨードサイロニン濃度の低値、雌雄血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、雌雄甲状腺絶対及び相対重量の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

- ③Paulus ら(2007)によって、過塩素酸カリウム 0.14、0.69、3.4mg/kg/day を8週齢以上から5週間飲水投与した雌 SD ラット(普通餌にて飼育)への影響が検討されている。その結果として、0.14mg/kg/day 以上のばく露群で甲状腺ヨウ素取り込み率の低値が認められた。

また、過塩素酸カリウム 0.14、0.69、3.4mg/kg/day を8週齢以上から5週間飲水投与した雄 SD ラット(投与期間も含め14週間ヨウ素欠乏餌にて飼育)への影響が検討されている。その結果として、3.4mg/kg/day のばく露群で甲状腺ヨウ素取り込み率の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、甲状腺ヨウ素取り込み率の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

- ⑤York ら(2004)によって、過塩素酸アンモニウム 0.1、1、3、10mg/kg/day を妊娠0日目から哺育10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、1 mg/kg/day 以上のばく露群で5日齢雄仔動物の甲状腺濾胞内腔直径、5日齢仔動物(雌雄混合)血清中サイロキシン濃度、5日齢仔動物(雌雄混合)血清中トリヨードサイロニン濃度の低値、3 mg/kg/day 以上のばく露群で5日齢雄仔動物の甲状腺濾胞内腔面積、5日齢雌仔動物の甲状腺濾胞肥大重篤度、5日齢雌仔動物の甲状腺濾胞内腔直径の低値、10mg/kg/day のばく露群で5日齢雄仔動物の甲状腺濾胞肥大重篤度、5日齢雌仔動物の甲状腺濾胞内腔面積の低値、5日齢仔動物(雌雄混合)血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、5日齢雌仔動物の甲状腺濾胞上皮細胞厚の高値が認められた。

なお、妊娠期間、着床数、同腹生存新生仔数、1、8、14、22日齢新生仔体重、67~92日齢雄仔動物包皮分離日、雌仔動物膈開口日、哺育22日目母動物体重、哺育22日目母動物の甲状腺絶対及び相対重量、哺育22日目母動物の甲状腺濾胞コロイド減少発生頻度及び重篤度、哺育22日目母動物の甲状腺濾胞肥大発生頻度、哺育22日目母動物の甲状腺濾胞過形成発生頻度、67~69、81~86、90~92日齢仔動物体重、67~69、81~86、90~92日齢仔動物の甲状腺絶対及び相対重量、90~92日齢仔動物の甲状腺濾胞コロイド減少発生頻度及び重篤度、90~92日齢仔動物の甲状腺濾胞肥大発生頻度、90~92日齢仔動物の甲状腺濾胞過形成発生頻度、12日齢仔動物脳絶対重量、81~86日齢仔動物終脳絶対相対重量、81~86日齢仔動物間脳及び中脳絶対相対重量、81~86日齢仔動物延髄及び脳橋絶対相対重量、81~86日齢仔動物小脳絶対相対重量、23~32日齢仔動物の受

動的回避行動試験、59～70日齢仔動物の水迷路行動試験、14、18、22、59日齢仔動物の自発運動試験、23、60日齢仔動物の聴覚性驚愕行動試験には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、甲状腺濾胞内腔直径、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、甲状腺濾胞内腔面積、甲状腺濾胞肥大重篤度、甲状腺濾胞内腔面積の低値、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、甲状腺濾胞上皮細胞厚の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

⑥Gilbert と Sui(2008)によって、過塩素酸アンモニウム 4.5 ± 0.11 、 44.2 ± 0.70 、 140.3 ± 2.95 mg/kg/day を妊娠6日目から出産後30日目まで飲水投与したLEラットへの影響が検討されている。その結果として、 4.5 mg/kg/day 以上のばく露群で雌雄仔動物海馬シナプス伝達におけるフィールドポテンシャルベースラインの低値、 44.2 mg/kg/day 以上のばく露群で21日齢雌雄仔動物血清中サイロキシン濃度、21日齢雌雄仔動物血清中トリヨードサイロニン濃度の低値、 140.3 mg/kg/day のばく露群で母動物血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、雌雄仔動物海馬シナプス伝達における long-term potentiation(LTP)の高値が認められた。

なお、母動物体重、母動物血清中トリヨードサイロニン濃度、仔動物体重、仔動物脳絶対重量、仔動物海馬絶対重量、21日齢仔動物血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、仔動物の自発運動試験成績、仔動物の Morris 水迷路試験成績、仔動物の恐怖条件付試験成績には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、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の低値、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

⑦York ら(2001)によって、過塩素酸アンモニウム 0.01、0.1、1、10、30、100mg/kg/day を妊娠6日目から妊娠28日目まで飲水投与したNZWウサギへの影響が検討されている。その結果として、 10 mg/kg/day 以上のばく露群で甲状腺濾胞上皮細胞肥大発生率の高値、 30 mg/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、妊娠子宮絶対重量、甲状腺絶対及び相対重量、血清中トリヨードサイロニン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、黄体数、着床数、同腹胎仔数、吸収胚を含む妊娠数、同腹生存胎仔体重、変化の認められる胎仔率には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、甲状腺濾胞上皮細胞肥大発生率の高値、血清中サイロキシン濃度の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。

「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」においては、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。

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

- ⑧Stokerら(2006)によって、過塩素酸アンモニウム 62.5、125、250、500mg/kg/day を 21 日齢から 53 日齢まで経口投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、62.5mg/kg/day 以上のばく露群で甲状腺濾胞内コロイド面積の低値、甲状腺濾胞上皮細胞厚の高値、125mg/kg/day 以上のばく露群で血清中サイロキシン濃度の低値、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、250 mg/kg/day のばく露群で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、前立腺腹葉絶対重量、精囊絶対重量、右精巣絶対重量、左精巣絶対重量、右精巣上体絶対重量、両腎臓絶対重量、肝臓絶対重量、下垂体前葉絶対重量、包皮分離日、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。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、甲状腺濾胞内コロイド面積、血清中サイロキシン濃度の低値、甲状腺濾胞上皮細胞厚、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中テストステロン濃度の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

- ④Ozpinarら(2011)によって、過塩素酸アンモニウム 0.006、0.34、12.75mg/kg/day(06:30、11:30、16:30 に三等分とする)を 15 日間混餌投与したした哺育期雌アカゲザルへの影響が検討されている。その結果として、0.34mg/kg/day 以上のばく露群でヨウ素取り込み率の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、各用量における試験動物数が 1 頭であることから、記載が不十分であると評価された。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

※参考 甲状腺影響(今回評価対象としなかった文献)

- ⑨Smithら(2006)によって、過塩素酸ナトリウム 0.55 ± 0.07 mg/kg/day を 21 日間(ペア化せず隔離飼育)飲水投与した成熟雌雄プレーリーハタネズミ (*Microtus ochrogaster*)への影響が検討されている。その結果として、雌雄甲状腺濾胞上皮細胞厚の高値が認められた。

また、更に投与 22 日目からペア化し更に 51 日目まで過塩素酸ナトリウム $0.40 \pm 0.04 \text{mg/kg/day}$ を飲水投与した成熟雄プレーリーハタネズミ (*M. ochrogaster*) への影響が検討されている。その結果として、血清中サイロキシン濃度、甲状腺濾胞上皮細胞厚の高値が認められた。

また、過塩素酸ナトリウム $0.876 \pm 0.027 \text{mg/kg/day}$ を 21 日間(ペア化せず隔離飼育)飲水投与した成熟雌雄シロアシネズミ属の一種(*Peromyscus maniculatus*) への影響が検討されている。その結果として、雄血清中トリヨードサイロニン濃度の高値が認められた。

また、更に投与 22 日目からペア化し更に 51 日目まで過塩素酸ナトリウム $1.043 \pm 0.053 \text{mg/kg/day}$ を飲水投与した成熟雄シロアシネズミ属の一種(*P. maniculatus*) への影響が検討されたが、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。

⑩Mahle ら(2003)によって、過塩素酸アンモニウム 1mg/kg/day を妊娠 2 日目から出産後 10 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、妊娠 20 日目において、母動物血清中サイロキシン濃度、母動物血清中トリヨードサイロニン濃度、胎仔血清中サイロキシン濃度の低値、母動物血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、胎仔血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値が認められた。出産後 10 日目において、母動物血清中サイロキシン濃度、雌仔動物血清中サイロキシン濃度の低値、母動物血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、雄仔動物血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、雌仔動物血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値が認められた。

⑪Kunisue ら(2011)によって、過塩素酸アンモニウム 10mg/kg/day を 14 日間飲水投与した成熟雄 SD ラット(普通餌にて飼育)への影響が検討されている。その結果として、血清中サイロキシン濃度の低値が認められた。

また、過塩素酸アンモニウム 10mg/kg/day を 14 日間飲水投与した成熟雄 SD ラット(投与期間も含め 2.5 ヶ月間ヨウ素欠乏餌にて飼育)への影響が検討されている。その結果として、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の低値が認められた。

(5)疫学的調査

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Brechtner ら(2000)によって、過塩素酸アンモニウムについて、米国 Arizona 州において 1994 年 10 月から 1997 年 12 月にかけて、母親の水道水経路ばく露(過塩素酸アンモニウムに汚染された Mead 湖下流の Colorado 川由来)と新生児甲状腺影響との関連性について検討されている。その結果として、ばく露群(Yuma 地域に居住する母親が出産した新生児 1,099 件、1999 年 8 月の水道水中過塩素酸濃度 6 ppb)と対照群(Flagstaff 地域に居住する母親が出産した新生児 443 件、1999 年 9 月の水道水中過塩素酸検出なし)との比較において、新生児血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ばく露群と対照群との比較において、新生児血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」におい

ては、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。

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

- ②Steinmausら(2010)によって、過塩素酸について、米国 California 州において 1998 年にかけて、母親の水道水経由ばく露と新生児甲状腺影響との関連性について検討されている。その結果として、ばく露群(出産 45,750 件、母親平均年齢 27.5 ± 6.2 歳、水道水中過塩素酸濃度 $5 \mu\text{g/L}$ 超)と非ばく露群(出産 451,708 件、母親平均年齢 28.1 ± 6.3 歳、水道水中過塩素酸濃度 $5 \mu\text{g/L}$ 以下)との比較において、新生児血中甲状腺刺激ホルモン濃度(出産後 24 時間以内に採血)が $25 \mu\text{U/mL}$ 以上となる率の補正オッズ比 $1.53(n=102, 95\%$ 信頼区間 $1.24 \sim 1.89)$ 、新生児血中甲状腺刺激ホルモン濃度(出産後 24 時間以後に採血)が $8 \mu\text{U/mL}$ 以上となる率について補正オッズ比 $1.27(n=2,711, 95\%$ 信頼区間 $1.22 \sim 1.33)$ が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ばく露群と非ばく露群との比較において、新生児血中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

- ③Bravermanら(2005)によって、過塩素酸アンモニウムについて、米国 Utah 州 Cedar 市の工場内において 2004 年 4 月から 2004 年 7 月にかけて、ばく露による甲状腺影響が検討されている。その結果として、ばく露群(過塩素酸アンモニウム工場作業従事者 29 名、作業従事歴 1.7 年以上。血清中過塩素酸濃度は作業ばく露中で $838.4 \pm 1,268.4 \mu\text{g/L}$ 、作業ばく露前で $2.0 \pm 7.6 \mu\text{g/L}$)の作業ばく露中と作業ばく露前との比較において、放射性ヨウ素の甲状腺摂取の低値、血清中サイロキシン濃度、トリヨードサイロニン濃度、血漿中遊離サイロキシン係数の高値が認められた。

なお、ばく露群(同上)と対照群(同地域の非ばく露ボランティア 12 名。ばく露群と年齢、身長、体重に有意差なし。血清中過塩素酸濃度 $0.0 \mu\text{g/L}$ (記載通り))との作業ばく露前での比較において、尿中ヨウ素/クレアチニン比の低値が認められた。

なお、血清中甲状腺関連ホルモン(甲状腺刺激ホルモン、サイロキシン、トリヨードサイロニン)、血清中遊離サイロキシン係数、血清中サイログロブリン濃度、甲状腺体積に差は認められなかった。

また、作業ばく露中での比較においても、血清中甲状腺関連ホルモン(甲状腺刺激ホルモン、サイロキシン、トリヨードサイロニン)、血清中遊離サイロキシン係数、血清中サイログロブリン濃度、甲状腺体積、尿中ヨウ素/クレアチニン比に差は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、作業ばく露中と作業ばく露前との比較において、放射性ヨウ素の甲状腺摂取の低値、血清中サイロキシン濃度、トリヨードサイロニン濃度、血漿中遊離サイロキシン係数の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、

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。

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告

⑥Leungら(2012)によって、過塩素酸について、米国 Massachusetts 州 Boston 市において 2008 年 11 月から 2011 年 5 月にかけて、母親のばく露と新生児甲状腺影響との関連性について検討されているが、乳児とその母親 64 組(母乳哺育に限定、母親平均年齢 28.7 ± 7.9 歳、乳児平均月齢 1.6 ± 0.5 ヶ月)の多変数線形回帰分析において過塩素酸ばく露(母乳中濃度、母親尿中濃度、乳児尿中濃度)と乳児血清中甲状腺関連ホルモン(甲状腺刺激ホルモン、遊離サイロキシン)濃度とに相関性は認められなかった。

この報告については、「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」においては、尿中過塩素酸濃度がクレアチニン補正されておらず、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、乳児とその母親の多変数線形回帰分析において過塩素酸ばく露と乳児血清中甲状腺関連ホルモン濃度とに相関性は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「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」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

⑦Blountら(2009)によって、過塩素酸について、米国 New Jersey 州において、出産前過塩素酸ばく露と新生児発育影響との関連性について検討されているが、帝王切開出産 150 件(妊娠 37 週以後、単一児妊娠、非貧血母親に限定)の血清(臍帯血)中過塩素酸濃度の四分位間比較において、新生児の頭囲、体重、身長とに相関性は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、帝王切開出産 150 件の血清(臍帯血)中過塩素酸濃度の四分位間比較において、新生児の頭囲、体重、身長とに相関性は認められず、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「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」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

⑬Pearceら(2010)によって、過塩素酸について、英国 Wales 地方 Cardiff 市又はイタリア Turino 市において 2002 年から 2006 年にかけて、妊娠期間中ばく露と甲状腺影響との関連性が検討されているが、甲状腺機能低下妊娠女性(英国 374 名、イタリア 262 名。単一児妊娠 16 週未満)の多重線形回帰分析において尿中過塩素酸濃度と血清中甲状腺関連ホルモン(甲状腺刺激ホルモン、遊離サイロキシン)濃度とに相関性は認められなかった。また、甲状腺機能正常妊娠女性(英国 480 名、イタリア 526 名。単一児妊娠 16 週未満)の多重線形回帰分析においても尿中過塩素酸濃度と血清中甲状腺関連ホルモン(甲状腺刺激ホルモン、遊離サイロキシン)濃度とに相関性は認められなかった。

この報告については、「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」においては、尿中過塩素酸濃度がクレアチニン

補正されておらず、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、甲状腺機能低下妊娠女性の多重線形回帰分析において尿中過塩素酸濃度と血清中甲状腺関連ホルモン濃度とに相関性は認められず、また、甲状腺機能正常妊娠女性の多重線形回帰分析においても尿中過塩素酸濃度と血清中甲状腺関連ホルモン濃度とに相関性は認められなかったことから、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「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」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

④Bufflerら(2006)によって、過塩素酸について、米国 California 州において 1998 年にかけて、母親の水道水経由ばく露と新生児甲状腺影響との関連性について検討されているが、高ばく露群(新生児 50,326 名、水道水中過塩素酸濃度 5 μ g/L 超)と低ばく露群(新生児 291,931 名、水道水中過塩素酸濃度 5 μ g/L 以下)との比較において、高甲状腺刺激ホルモン症発症率の補正有病オッズ比、甲状腺機能低下症発症率の補正有病オッズ比にばく露との相関性は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、高ばく露群と低ばく露群との比較において、高甲状腺刺激ホルモン症発症率の補正有病オッズ比、甲状腺機能低下症発症率の補正有病オッズ比にばく露との相関性は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

⑤Kelshら(2003)によって、過塩素酸について、米国 California 州において 1983 年 1 月から 1997 年 12 月にかけて、母親の水道水経由ばく露と新生児甲状腺影響との関連性について検討されているが、ばく露群(新生児 81,402 名、母親は Redlands 市に 1983 年から 1997 年にかけて在住。水道水中過塩素酸濃度は最高 9 mg/L、平均 1 mg/L 未満)と非ばく露群(新生児 2,081 名、母親は San Bernardino 郡及び Riverside 郡に在住、水道水中過塩素酸は未検出)との比較において、高甲状腺刺激ホルモン症発症率の補正有病オッズ比、甲状腺機能低下症発症率の補正有病オッズ比にばく露との相関性は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ばく露群と非ばく露群との比較において、高甲状腺刺激ホルモン症発症率の補正有病オッズ比、甲状腺機能低下症発症率の補正有病オッズ比にばく露との相関性は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

⑧Lammら(1999)によって、過塩素酸アンモニウムについて、米国 Utah 州 Cedar 市 American Pacific Corporation 工場内において、ばく露による甲状腺及び血液影響が検討されているが、非ばく露作

業従事者群(アジド作業従事者 21 名、過塩素酸吸入量 $0.88 \pm 1.17 \text{mg/day}$)、低ばく露作業従事者群(14 名、過塩素酸吸入量 $3.98 \pm 2.69 \text{mg/day}$)、中ばく露作業従事者群(8 名、過塩素酸吸入量 $10.89 \pm 8.69 \text{mg/day}$)及び高ばく露作業従事者(14 名、過塩素酸吸入量 $33.62 \pm 14.52 \text{mg/day}$)の群間比較において血清中甲状腺関連ホルモン(甲状腺刺激ホルモン、サイロキシン、トリヨードサイロニン)、血清中遊離サイロキシン係数、甲状腺ホルモン結合比、甲状腺ペルオキシダーゼ抗体反応力価、血液学的パラメータ(赤血球数、白血球数、好中球数、リンパ球数、血小板数)に差は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、非ばく露作業従事者群、低ばく露作業従事者群、中ばく露作業従事者群及び高ばく露作業従事者の群間比較において血清中甲状腺関連ホルモン(甲状腺刺激ホルモン、サイロキシン、トリヨードサイロニン)、血清中遊離サイロキシン係数、甲状腺ホルモン結合比、甲状腺ペルオキシダーゼ抗体反応力価、血液学的パラメータ(赤血球数、白血球数、好中球数、リンパ球数、血小板数)に差は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

⑨Liら(2000)によって、過塩素酸について、米国 Nevada 州において 1998 年 4 月から 1999 年 6 月にかけて、母親の水道水経由ばく露と新生児甲状腺影響との関連性について検討されているが、ばく露群(Las Vegas 市:新生児 17,308 名、水道水中過塩素酸濃度 $4 \mu\text{g/L}$ 未満 $\sim 15 \mu\text{g/L}$)と対照群(Reno 市:新生児 5,882 名、水道水中過塩素酸未検出 $4 \mu\text{g/L}$ 未満)との比較において、新生児血清中サイロキシン濃度に差は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ばく露群と対照群との比較において、新生児血清中サイロキシン濃度に差は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

⑩Liら(2000)によって、過塩素酸について、米国 Nevada 州において 1998 年 9 月から 1999 年 10 月にかけて、母親の水道水経由ばく露と新生児甲状腺影響との関連性について検討されているが、ばく露群(Las Vegas 市:新生児 403 名、水道水中過塩素酸濃度 $4 \mu\text{g/L}$ 未満 $\sim 15 \mu\text{g/L}$)と対照群(Reno 市:新生児 133 名、水道水中過塩素酸未検出 $4 \mu\text{g/L}$ 未満)との比較において、新生児血清中甲状腺刺激ホルモン濃度に差は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、ばく露群と対照群との比較において、新生児血清中甲状腺刺激ホルモン濃度に差は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認め

られないと評価された。

⑪Gibbs ら(1998)によって、過塩素酸アンモニウムについて、米国 Nevada 州 Las Vegas 市近郊の過塩素酸アンモニウム製造及び配合工場において 1994 年又は 1997 年から 1998 年にかけて、推定累積ばく露と甲状腺、骨髄、肝臓、腎臓影響との関連性について検討されているが、1944 年対照群(工場内関連作業非従事男性 101 名、女性 19 名。推定累積ばく露量 $75 \pm 59 \mu\text{g}/\text{kg}$)、低ばく露群(男性 20 名、女性 6 名。推定累積ばく露量 $3,369 \pm 1,771 \mu\text{g}/\text{kg}$)、高ばく露群(男性 19 名、女性 3 名。推定累積ばく露量 $28,629 \pm 21,038 \mu\text{g}/\text{kg}$)及び 1997～1998 年対照群(工場内関連作業非従事男性 60 名、女性 12 名。推定累積ばく露量 $93 \pm 65 \mu\text{g}/\text{kg}$)、低ばく露群(男性 13 名、女性 5 名。推定累積ばく露量 $3,649 \pm 1,661 \mu\text{g}/\text{kg}$)、高ばく露群(男性 27 名、女性 4 名。推定累積ばく露量 $40,773 \pm 23,263 \mu\text{g}/\text{kg}$)の多重回帰分析において推定累積ばく露量と甲状腺パラメータ(血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、遊離サイロキシン率)、骨髄パラメータ(ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、白血球数、血小板数)、肝臓パラメータ(SGOT 値、GGTP 値)、腎臓パラメータ(血清中クレアチニン濃度、血中尿素窒素値)とに相関性は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、対照群、低ばく露群及び高ばく露群の多重回帰分析において推定累積ばく露量と甲状腺パラメータ(血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、遊離サイロキシン率)、骨髄パラメータ(ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、白血球数、血小板数)、肝臓パラメータ(SGOT 値、GGTP 値)、腎臓パラメータ(血清中クレアチニン濃度、血中尿素窒素値)とに相関性は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

⑫Pearce ら(2011)によって、過塩素酸について、米国 California 州 Los Angeles 市 Los Angeles County Hospital 又はアルゼンチン Córdoba 州 Córdoba 市 Univesidad Nacional de Córdoba において 2004 年から 2007 年にかけて、妊娠期間中ばく露と甲状腺影響との関連性について検討されているが、第 1 三半期にある妊娠女性(米国 134 名、平均妊娠期間 9.1 ± 2.2 週。アルゼンチン 107 名、平均妊娠期間 10.0 ± 2.0 週)の多変数線形回帰分析において尿中過塩素酸濃度と血清中甲状腺関連ホルモン(甲状腺刺激ホルモン、遊離サイロキシン、トリヨードサイロニン)濃度とに相関性は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、妊娠期間中ばく露と甲状腺影響との関連性について検討されているが、第 1 三半期にある妊娠女性の多変数線形回帰分析において尿中過塩素酸濃度と血清中甲状腺関連ホルモン(甲状腺刺激ホルモン、遊離サイロキシン、トリヨードサイロニン)濃度とに相関性は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

⑬Amitai ら(2007)によって、過塩素酸について、イスラエルにおいて 2004 年 1 月 1 日から 9 月 30

日にかけて、母親の水道水経由ばく露と新生児甲状腺影響との関連性について検討されているが、高ばく露群(Morasha 地域に居住する母親及び新生児 97 組、母親の出産平均年齢 31.2 ± 4.8 歳、水道水中過塩素酸濃度 $340 \mu\text{g/L}$ 以上)、中ばく露群(Ramat Hasharon 地域に居住する母親及び新生児 216 組、母親の出産平均年齢 32.3 ± 4.3 歳、水道水中過塩素酸濃度 $42 \sim 94 \mu\text{g/L}$)、低ばく露群(Herzilyah 地域に居住する母親及び新生児 843 組、母親の出産平均年齢 31.4 ± 4.6 歳、水道水中過塩素酸濃度 $3 \mu\text{g/L}$ 未満)との比較において、妊娠期間、新生児体重、新生児血清中サイロキシン濃度、新生児性比にばく露との相関性は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、高ばく露群、中ばく露群、低ばく露群との比較において、妊娠期間、新生児体重、新生児血清中サイロキシン濃度、新生児性比にばく露との相関性は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

⑮Téllez ら(2005)によって、過塩素酸について、チリ北部の 3 都市において 2002 年 11 月から 2004 年 4 月にかけて、母親の水道水経由ばく露と新生児甲状腺影響との関連性について検討されているが、高ばく露群(Taltal 市：妊娠 65 件、出産時年齢 23.1 ± 6.2 歳、水道水中過塩素酸濃度 $113.9 \pm 13.9 \mu\text{g/L}$ 、尿中過塩素酸濃度 $128.9 \pm 127 \mu\text{g/L}$)、中ばく露群(Chañaral 市：妊娠 53 件、出産時年齢 28.2 ± 6.3 歳、水道水中過塩素酸濃度 $5.82 \pm 0.63 \mu\text{g/L}$ 、尿中過塩素酸濃度 $73.2 \pm 178.1 \mu\text{g/L}$)、低ばく露群(Antofagasta 市：妊娠 66 件、出産時年齢 25.0 ± 6.0 歳、水道水中過塩素酸濃度 $0.46 \pm 0.29 \mu\text{g/L}$ 、尿中過塩素酸濃度 $16 \pm 14.3 \mu\text{g/L}$)の Kruskal-Wallis 検定において、母親血清中サイログロブリン濃度、母親血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、新生児体長、新生児体重、新生児頭囲、新生児血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、新生児遊離サイロキシン濃度に差は認められなかった。

また、回帰分析においても、母親血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、母親遊離サイロキシン濃度、新生児体長、新生児体重、新生児頭囲、新生児血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、新生児遊離サイロキシン濃度に差は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、高ばく露群、中ばく露群、低ばく露群の Kruskal-Wallis 検定において、母親血清中サイログロブリン濃度、母親血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、新生児体長、新生児体重、新生児頭囲、新生児血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、新生児遊離サイロキシン濃度に差は認められなかった。また、回帰分析においても、母親血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、母親遊離サイロキシン濃度、新生児体長、新生児体重、新生児頭囲、新生児血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、新生児遊離サイロキシン濃度に差は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

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、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用及び甲状腺への影響を示すこと、疫学的調査の報告において、抗甲状腺ホルモン様作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表5に示した。

表5 信頼性評価のまとめ

物質名：過塩素酸

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	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 ³⁾	
(1) 生態影響(魚類)	甲状腺への影響	①Liu ら(2006)	○	○P	○
	甲状腺への影響	②Mukhi ら(2005)	○	○P	○
	視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用	③Li ら(2011)	○	○P	○
	甲状腺への影響	④Schmidt ら(2012)	△	○P	○
	視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用	⑤Bradford ら(2005)	○	○P	○
	視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用	⑥Park ら(2006)	○	○P	○
	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	⑦Mukhi と Patiño(2007)	×	—	×
	抗甲状腺ホルモン様作用	⑧Raldúa ら(2009)	△	○P	○
	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	⑨Patiño ら(2003)	△	○P	○
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、抗甲状腺ホルモン様作用	⑩Mukhi ら(2007)	△	○P	○
		⑪Manzon と Youson(1997) 評価未実施			
		⑫Liu ら(2008) 評価未実施			

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	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 ³⁾	
	⑬Manzon と Youson(1999) 評価未実施				
(2) 生態影響 (両生類)	視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	①Goleman ら(2002)	○	○P	○
	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	②Hu ら(2006)	○	○P	○
	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	③Tietge ら(2005)	△	○P	○
	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、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、	④Goleman ら(2002)	○	○P	○
	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	⑤Hornung ら(2010)	○	○P	○
		⑥Tietge ら(2010) 評価未実施			
		⑦Helbing ら(2007a) 評価未実施			
		⑧Helbing ら(2007b) 評価未実施			
		⑨Zhang ら(2006) 評価未実施			
		⑩Opitz と Kloas(2010) 評価未実施			
		⑪Opitz ら(2009) 評価未実施			
		⑫Opitz ら(2006) 評価未実施			
(3) 生態影響 (鳥)	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、毒性	①Chen ら(2008)	△	○P	○
		②Gentles ら(2005) 評価未実施			

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	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 ³⁾	
類)		③Chen ら(2009) 評価未実施			
(4) 甲状腺影響	視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	①York ら(2005)	○	○P	○
	視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	②Siglin ら(2000)	○	○P	○
	視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	③Paulus ら(2007)	○	○P	○
		④Ozpinar ら(2011)	×	—	×
	視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	⑤York ら(2004)	○	○P	○
	視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用	⑥Gilbert と Sui(2008)	△	○P	○
	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	⑦York ら(2001)	○	○P	○
	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	⑧Stoker ら(2006)	○	○P	○
		⑨Smith ら(2006) 評価未実施			
		⑩Mahle ら(2003) 評価未実施	:		
	⑪Kunisue ら(2011) 評価未実施				
(5) 疫学的調査	抗甲状腺ホルモン様作用	①Brechner ら(2000)	○	○P	○
	抗甲状腺ホルモン様作用	②Steinmaus ら(2010)	○	○P	○
	抗甲状腺ホルモン様作用	③Braverman ら(2005)	○	○P	○
		④Buffler ら(2006)	○	○N	×
		⑤Kelsh ら(2003)	○	○N	×
		⑥Leung ら(2012)	△	?	—
		⑦Blount ら(2009)	○	?	—
		⑧Lamm ら(1999)	○	○N	×
		⑨Li ら(2000)	○	○N	×
		⑩Li ら(2000)	○	○N	×
		⑪Gibbs ら(1998)	○	○N	×
		⑫Pearce ら(2011)	○	○N	×
		⑬Pearce ら(2010)	△	?	—

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	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 ³⁾
	⑭Amitai ら(2007)	○	○N	×
	⑮Téllez ら(2005)	○	○N	×
今後の対応案	動物試験の報告において、抗甲状腺ホルモン様作用、視床下部一下垂体一甲状腺軸への作用、視床下部一下垂体一生殖腺軸への作用及び甲状腺への影響を示すこと、疫学的調査の報告において、抗甲状腺ホルモン様作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない

2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない

3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

参考文献

Liu FJ, Wang JS and Theodorakis CW (2006) Thyrotoxicity of sodium arsenate, sodium perchlorate, and their mixture in zebrafish *Danio rerio*. Environmental Science and Technology, 40 (10), 3429-3436.

Mukhi S, Carr JA, Anderson TA and Patiño R (2005) Novel biomarkers of perchlorate exposure in zebrafish. Environmental Toxicology and Chemistry, 24 (5), 1107-1115.

Li W, Zha J, Yang L, Li Z and Wang Z (2011) Regulation of iodothyronine deiodinases and sodium iodide symporter mRNA expression by perchlorate in larvae and adult Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*). Marine Pollution Bulletin, 63 (5-12), 350-355.

Schmidt F, Schnurr S, Wolf R and Braunbeck T (2012) Effects of the anti-thyroidal compound potassium-perchlorate on the thyroid system of the zebrafish. Aquatic Toxicology, 109, 47-58.

Bradford CM, Rinchar J, Carr JA and Theodorakis C (2005) Perchlorate affects thyroid function in eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) at environmentally relevant concentrations. Environmental Science and Technology, 39 (14), 5190-5195.

- Park JW, Rinchar J, Liu F, Anderson TA, Kendall RJ and Theodorakis CW (2006) The thyroid endocrine disruptor perchlorate affects reproduction, growth, and survival of mosquitofish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63 (3), 343-352.
- Mukhi S and Patiño R (2007) Effects of prolonged exposure to perchlorate on thyroid and reproductive function in zebrafish. *Toxicological Sciences*, 96 (2), 246-254.
- Raldúa D and Babin PJ (2009) Simple, rapid zebrafish larva bioassay for assessing the potential of chemical pollutants and drugs to disrupt thyroid gland function. *Environmental Science and Technology*, 43 (17), 6844-6850.
- Patiño R, Waincott MR, Cruz-Li EI, Balakrishnan S, McMurry C, Blazer VS and Anderson TA (2003) Effects of ammonium perchlorate on the reproductive performance and thyroid follicle histology of zebrafish. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22 (5), 1115-1121.
- Mukhi S, Torres L and Patiño R (2007) Effects of larval-juvenile treatment with perchlorate and co-treatment with thyroxine on zebrafish sex ratios. *General and Comparative Endocrinology*, 150 (3), 486-494.
- Manzon RG and Youson JH (1997) The effects of exogenous thyroxine (T₄) or triiodothyronine (T₃), in the presence and absence of potassium perchlorate, on the incidence of metamorphosis and on serum T₄ and T₃ concentrations in larval sea lampreys (*Petromyzon marinus* L.). *General and Comparative Endocrinology*, 106 (2), 211-220.
- Liu F, Gentles A and Theodorakis CW (2008) Arsenate and perchlorate toxicity, growth effects, and thyroid histopathology in hypothyroid zebrafish *Danio rerio*. *Chemosphere*, 71 (7), 1369-1376.
- Manzon RG and Youson JH (1999) Temperature and KClO₄-induced metamorphosis in the sea lamprey (*Petromyzon marinus*). *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C, Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 124 (3), 253-257.
- Goleman WL, Urquidi LJ, Anderson TA, Smith EE, Kendall RJ and Carr JA (2002) Environmentally relevant concentrations of ammonium perchlorate inhibit development and metamorphosis in *Xenopus laevis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21 (2), 424-430.
- Hu F, Sharma B, Mukhi S, Patiño R and Carr JA (2006) The colloidal thyroxine (T₄) ring as a

novel biomarker of perchlorate exposure in the African clawed frog *Xenopus laevis*. *Toxicological Sciences*, 93 (2), 268-277.

Tietge JE, Holcombe GW, Flynn KM, Kosian PA, Korte JJ, Anderson LE, Wolf DC and Degitz SJ (2005) Metamorphic inhibition of *Xenopus laevis* by sodium perchlorate: Effects on development and thyroid histology. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24 (4), 926-933.

Goleman WL, Carr JA and Anderson TA (2002) Environmentally relevant concentrations of ammonium perchlorate inhibit thyroid function and alter sex ratios in developing *Xenopus laevis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21 (3), 590-597.

Tietge JE, Butterworth BC, Haselman JT, Holcombe GW, Hornung MW, Korte JJ, Kosian PA, Wolfe M and Degitz SJ (2010) Early temporal effects of three thyroid hormone synthesis inhibitors in *Xenopus laevis*. *Aquatic Toxicology*, 98 (1), 44-50.

Helbing CC, Bailey CM, Ji L, Gunderson MP, Zhang F, Veldhoen N, Skirrow RC, Mu R, Lesperance M, Holcombe GW, Kosian PA, Tietge J, Korte JJ and Degitz SJ (2007a) Identification of gene expression indicators for thyroid axis disruption in a *Xenopus laevis* metamorphosis screening assay. Part 1. Effects on the brain. *Aquatic Toxicology*, 82 (4), 227-241.

Helbing CC, Ji L, Bailey CM, Veldhoen N, Zhang F, Holcombe GW, Kosian PA, Tietge J, Korte JJ and Degitz SJ (2007b) Identification of gene expression indicators for thyroid axis disruption in a *Xenopus laevis* metamorphosis screening assay. Part 2. Effects on the tail and hindlimb. *Aquatic Toxicology*, 82 (4), 215-226.

Zhang F, Degitz SJ, Holcombe GW, Kosian PA, Tietge J, Veldhoen N and Helbing CC (2006) Evaluation of gene expression endpoints in the context of a *Xenopus laevis* metamorphosis-based bioassay to detect thyroid hormone disruptors. *Aquatic Toxicology*, 76 (1), 24-36.

Opitz R and Kloas W (2010) Developmental regulation of gene expression in the thyroid gland of *Xenopus laevis* tadpoles. *General and Comparative Endocrinology*, 168 (2), 199-208.

Opitz R, Schmidt F, Braunbeck T, Wuertz S and Kloas W (2009) Perchlorate and ethylenethiourea induce different histological and molecular alterations in a non-mammalian vertebrate model of thyroid goitrogenesis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 298 (1-2), 101-114.

Opitz R, Trubiroha A, Lorenz C, Lutz I, Hartmann S, Blank T, Braunbeck T and Kloas W (2006)

- Expression of sodium-iodide symporter mRNA in the thyroid gland of *Xenopus laevis* tadpoles: Developmental expression, effects of antithyroidal compounds, and regulation by TSH. *Journal of Endocrinology*, 190 (1), 157-170.
- Hornung MW, Degitz SJ, Korte LM, Olson JM, Kosian PA, Linnum AL and Tietge JE (2010) Inhibition of thyroid hormone release from cultured amphibian thyroid glands by methimazole, 6-propylthiouracil, and perchlorate. *Toxicological Sciences*, 118 (1), 42-51.
- Gentles A, Surles J and Smith EE (2005) Evaluation of adult quail and egg production following exposure to perchlorate-treated water. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24 (8), 1930-1934.
- Chen Y, McNabb FM and Sible JC (2009) Perchlorate exposure induces hypothyroidism and affects thyroid-responsive genes in liver but not brain of quail chicks. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 57 (3), 598-607.
- Chen Y, Sible JC and McNabb FM (2008) Effects of maternal exposure to ammonium perchlorate on thyroid function and the expression of thyroid-responsive genes in Japanese quail embryos. *General and Comparative Endocrinology*, 159 (2-3), 196-207.
- York RG, Barnett J, Girard MF, Mattie DR, Bekkedal MV, Garman RH and Strawson JS (2005) Refining the effects observed in a developmental neurobehavioral study of ammonium perchlorate administered orally in drinking water to rats. II. Behavioral and neurodevelopment effects. *International Journal of Toxicology*, 24 (6), 451-467.
- Siglin JC, Mattie DR, Dodd DE, Hildebrandt PK and Baker WH (2000) A 90-day drinking water toxicity study in rats of the environmental contaminant ammonium perchlorate. *Toxicological Sciences*, 57 (1), 61-74.
- Paulus BF, Bazar MA, Salice CJ, Mattie DR and Major MA (2007) Perchlorate inhibition of iodide uptake in normal and iodine-deficient rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 70 (13), 1142-1149.
- Ozpinar A, Golub MS, Poppenga RH, Blount BC and Gillespie JR (2011) Thyroid status of female rhesus monkeys and preliminary information on impact of perchlorate administration. *Laboratory Animals*, 45 (3), 209-214.

- Smith PN, Severt SA, Jackson JW and Anderson TA (2006) Thyroid function and reproductive success in rodents exposed to perchlorate via food and water. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25 (4), 1050-1059.
- York RG, Barnett J, Jr., Brown WR, Garman RH, Mattie DR and Dodd D (2004) A rat neurodevelopmental evaluation of offspring, including evaluation of adult and neonatal thyroid, from mothers treated with ammonium perchlorate in drinking water. *International Journal of Toxicology*, 23 (3), 191-214.
- Mahle DA, Yu KO, Narayanan L, Mattie DR and Fisher JW (2003) Changes in cross-fostered Sprague-Dawley rat litters exposed to perchlorate. *International Journal of Toxicology*, 22 (2), 87-94.
- Gilbert ME and Sui L (2008) Developmental exposure to perchlorate alters synaptic transmission in hippocampus of the adult rat. *Environmental Health Perspectives*, 116 (6), 752-760.
- Kunisue T, Fisher JW and Kannan K (2011) Modulation of thyroid hormone concentrations in serum of rats coadministered with perchlorate and iodide-deficient diet. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 61 (1), 151-158.
- York RG, Brown WR, Girard MF and Dollarhide JS (2001) Oral (drinking water) developmental toxicity study of ammonium perchlorate in New Zealand white rabbits. *International Journal of Toxicology*, 20 (4), 199-205.
- Stoker TE, Ferrell JM, Laws SC, Cooper RL and Buckalew A (2006) Evaluation of ammonium perchlorate in the endocrine disruptor screening and testing program's male pubertal protocol: Ability to detect effects on thyroid endpoints. *Toxicology*, 228 (1), 58-65.
- Brechner RJ, Parkhurst GD, Humble WO, Brown MB and Herman WH (2000) Ammonium perchlorate contamination of Colorado River drinking water is associated with abnormal thyroid function in newborns in Arizona. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 42 (8), 777-782.
- Steinmaus C, Miller MD and Smith AH (2010) Perchlorate in drinking water during pregnancy and neonatal thyroid hormone levels in California. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 52 (12), 1217-1524.

- Braverman LE, He X, Pino S, Cross M, Magnani B, Lamm SH, Kruse MB, Engel A, Crump KS and Gibbs JP (2005) The effect of perchlorate, thiocyanate, and nitrate on thyroid function in workers exposed to perchlorate long-term. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 90 (2), 700-706.
- Buffler PA, Kelsh MA, Lau EC, Edinboro CH, Barnard JC, Rutherford GW, Daaboul JJ, Palmer L and Lorey FW (2006) Thyroid function and perchlorate in drinking water: An evaluation among California newborns, 1998. *Environmental Health Perspectives*, 114 (5), 798-804.
- Kelsh MA, Buffler PA, Daaboul JJ, Rutherford GW, Lau EC, Barnard JC, Exuzides AK, Madl AK, Palmer LG and Lorey FW (2003) Primary congenital hypothyroidism, newborn thyroid function, and environmental perchlorate exposure among residents of a Southern California community. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 45 (10), 1116-1127.
- Leung AM, Braverman LE, He X, Schuller KE, Roussilhes A, Jahreis KA and Pearce EN (2012) Environmental Perchlorate and Thiocyanate Exposures and Infant Serum Thyroid Function. *Thyroid*. [Epub ahead of print]
- Blount BC, Rich DQ, Valentin-Blasini L, Lashley S, Ananth CV, Murphy E, Smulian JC, Spain BJ, Barr DB, Ledoux T, Hore P and Robson M (2009) Perinatal exposure to perchlorate, thiocyanate, and nitrate in New Jersey mothers and newborns. *Environmental Science and Technology*, 43 (19), 7543-7549.
- Lamm SH, Braverman LE, Li FX, Richman K, Pino S and Howearth G (1999) Thyroid health status of ammonium perchlorate workers: A cross-sectional occupational health study. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 41 (4), 248-260.
- Li Z, Li FX, Byrd D, Deyhle GM, Sesser DE, Skeels MR and Lamm SH (2000) Neonatal thyroxine level and perchlorate in drinking water. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 42 (2), 200-205.
- Li FX, Byrd DM, Deyhle GM, Sesser DE, Skeels MR, Katkowsky SR and Lamm SH (2000) Neonatal thyroid-stimulating hormone level and perchlorate in drinking water. *Teratology*, 62 (6), 429-431.
- Gibbs JP, Ahmad R, Crump KS, Houck DP, Leveille TS, Findley JE and Francis M (1998) Evaluation of a population with occupational exposure to airborne ammonium perchlorate for

possible acute or chronic effects on thyroid function. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 40 (12), 1072-1082.

Pearce EN, Spencer CA, Mestman JH, Lee RH, Bergoglio LM, Mereshian P, He X, Leung AM and Braverman LE (2011) Effect of environmental perchlorate on thyroid function in pregnant women from Cordoba, Argentina, and Los Angeles, California. *Endocrine Practice*, 17 (3), 412-417.

Pearce EN, Lazarus JH, Smyth PP, He X, Dall'amico D, Parkes AB, Burns R, Smith DF, Maina A, Bestwick JP, Jooman M, Leung AM and Braverman LE (2010) Perchlorate and thiocyanate exposure and thyroid function in first-trimester pregnant women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 95 (7), 3207-3215.

Amitai Y, Winston G, Sack J, Wasser J, Lewis M, Blount BC, Valentin-Blasini L, Fisher N, Israeli A and Leventhal A (2007) Gestational exposure to high perchlorate concentrations in drinking water and neonatal thyroxine levels. *Thyroid*, 17 (9), 843-850.

Téllez Téllez R, Michaud Chacon P, Reyes Abarca C, Blount BC, van Landingham CB, Crump KS and Gibbs JP (2005) Long-term environmental exposure to perchlorate through drinking water and thyroid function during pregnancy and the neonatal period. *Thyroid*, 15 (9), 963-975.

VI. グリホサート

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

グリホサート(製剤名：ラウンドアップ)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、抗アンドロゲン作用、ライディッチ腫瘍細胞への影響、アロマターゼへの影響の有無及び疫学的調査に関する報告がある。

なお、本物質の主な用途は、農薬(除草剤)である。

本物質は、平成 15 年度要調査項目等存在状況調査の水質調査において検出されている。

(1)生態影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

③Soso ら(2007)によって、グリホサート配合物(Roundup WG、640g/kg)3,600 μ g/L(設定濃度)に 30 日間ばく露した成熟雌サウスアメリカンキャットフィッシュ(*Rhamdia quelen*)への影響(ばく露開始から 40 日後)が検討されている。その結果として、血漿中エストラジオール濃度の低値、血漿中コルチゾール濃度の高値が認められた。

なお、生殖腺体指数、肝臓体指数、血漿中テストステロン濃度、肝臓中アラニントランスフェラーゼ、肝臓中アスパルテートトランスフェラーゼには影響は認められなかった。

また、グリホサート配合物(Roundup WG、640g/kg)3,600 μ g/L(設定濃度)に 30 日間ばく露した成熟雌サウスアメリカンキャットフィッシュ(*R. quelen*)への影響(ばく露開始から 40 日後にコイ下垂体抽出物注射による産卵誘導)が検討されている。その結果として、孵化率の低値が認められた。

なお、産卵率、卵母細胞数には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、製剤を用いており、グリホサートのみの影響が特定できないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、血漿中エストラジオール濃度、孵化率の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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、ホルモン合成系のかく乱

○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告

②William と Semlitsch(2010)によって、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Roundup Weather Max、48.8%カリウム塩)0.6、700 μ g/L(設定濃度、カルボン酸換算)に Gosner stage 25 から Gosner stage42(前肢出現)までばく露したアメリカヒキガエル(*Bufo americanus*)への影響が検討されている。その結果として、700 μ g/L のばく露区で Gosner stage42 到達までの所要日数の遅延が認められた。

また、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Roundup Original Max、48.7%カリウム塩)0.6、

700µg/L(設定濃度、カルボン酸換算)に Gosner stage 25 から Gosner stage42(前肢出現)までばく露したアメリカヒキガエル(*B. americanus*)への影響が検討されている。その結果として、700µg/Lのばく露区で Gosner stage42 到達までの所要日数の遅延が認められた。

この報告については、「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」においては、製剤を用いており、グリホサートのみの影響が特定できないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、Gosner stage42 到達までの所要日数の遅延について毒性と考えられ、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「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」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定される作用メカニズム：毒性

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

①Howe ら(2004)によって、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Roundup Original、カルボン酸換算濃度 360g/L、ポリオキシエチレン化アミン類約 15%含有)600、1,800µg/L(設定濃度、カルボン酸換算)に Gosner stage25 から Gosner stage42(前肢出現)までばく露したヒョウガエル(*Rana pipiens*)への影響が検討されている。その結果として、600µg/L 以上のばく露区で Gosner stage42 での生存率、Gosner stage42 での SVL(吻端—総排泄口長)、尾長の低値、性比における間性の出現、1,800µg/L のばく露区で Gosner stage42 到達までの所要日数の遅延、尾部欠損発生率の高値が認められた。

また、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Roundup Transorb、カルボン酸換算濃度 360g/L、ポリオキシエチレン化アミン類約 15%含有)600、1,800µg/L(設定濃度、カルボン酸換算)に Gosner stage25 から Gosner stage42(前肢出現)までばく露したヒョウガエル(*R. pipiens*)への影響が検討されている。その結果として、600µg/L 以上のばく露区で Gosner stage42 での生存率、Gosner stage42 での SVL(吻端—総排泄口長)の低値、性比における間性の出現、Gosner stage42 到達までの所要日数の遅延、1,800µg/L のばく露区で尾長の低値、尾部欠損発生率の高値が認められた。

なお、これらのグリホサート剤の配合成分であるポリオキシエチレン化アミン類(Monsanto 社製 POEA、ポリオキシエチレン化獣脂アミン類 67~73%)に Gosner stage 25 から Gosner stage42(前肢出現)までばく露したヒョウガエル(*R. pipiens*)への影響が検討されている。その結果として、600µg/L 以上のばく露区で Gosner stage42 での生存率、Gosner stage42 での SVL(吻端—総排泄口長)の低値、尾部欠損発生率の高値、性比における間性の出現、600µg/L のばく露区で Gosner stage42 到達までの所要日数の遅延、1,800µg/L のばく露区で尾長の低値が認められた。

なお、グリホサート(Monsanto 社製 Glyphosate、カルボン酸換算濃度 570g/L)1,800µg/L(設定濃度、カルボン酸換算)に Gosner stage 25 から Gosner stage42(前肢出現)までばく露したヒョウガエル(*R. pipiens*)への影響が検討されているが、Gosner stage42 到達までの所要日数、Gosner stage42 での生存率、Gosner stage42 での SVL(吻端—総排泄口長)、尾部欠損発生率、尾長には影響は認められず、性比における間性の出現も認められなかった。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度が来刺されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、Gosner stage42 到達までの所要日数、Gosner stage42 での生存率、Gosner stage42 でのSVL(吻端—総排泄口長)、尾部欠損発生率、尾長には影響は認められず、性比における間性の出現も認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用

※参考 生態影響(今回評価対象としなかった文献)

- ④Cauble と Wagner(2005)によって、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Roundup、50.2%イソプロピルアミン塩)1,000µg/L(設定濃度)に孵化2週間後から 43 日間ばく露したアカガエル属の一種(*Rana cascadae*)への影響が検討されている。その結果として、寿命の低値、水面上頭部突出までの所要日数、前肢出現までの所要日数、後肢出現までの所要日数、上陸までの所要日数の早期化が認められた。
- ⑤Xie ら(2005)によって、グリホサート(Dow AgroSciences 社製)110µg/L(設定濃度)に7日間ばく露した幼若ニジマス(学名の記載なし)への影響が検討されているが、血漿中ビテロゲニン濃度には影響は認められなかった。

(2)生殖影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Romano ら(2010)によって、グリホサート5、50、250mg/kg/day を23日齢から53日齢まで経口投与した幼若雄 Wistar 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細管上皮厚の低値、精細管内腔直径の高値、50mg/kg/day 以上のばく露群で包皮分離日の遅延、250mg/kg/day のばく露群で精巣相対重量、副腎絶対重量の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精細管上皮厚の低値、精細管内腔直径、精巣相対重量、副腎絶対重量の高値、包皮分離日の遅延が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、ホルモン合成系への影響

- ②Dallegrave ら(2007)によって、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Roundup 360g/L、界面活性剤としてポリオキシエチレンアミン 18%w/v)50、150、450mg/kg/day を妊娠期間(21~23日間)及び哺育期間(21日間)に経口投与した Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、新生仔において、150mg/kg/day 以上のばく露群で雌仔動物の膈開口日の遅延、450mg/kg/day のばく

露群で雄仔動物の包皮分離日の早期化が認められた。

なお、新生仔性比、新生仔生存率、離乳仔生存率、同腹仔動物数、新生仔体重、離乳仔体重、雄仔動物の精巣下降日には影響は認められなかった。

また、65日齢(継続ばく露せず)雄仔動物において、450mg/kg/dayのばく露群で血清中テストステロン濃度の低値が認められた。

なお、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、日毎精子産生数、総精子数、精子輸送所要日数、形態異常精子率、精子産生精細管率、精細管直径には影響は認められなかった。

また、140日齢(継続ばく露せず)雄仔動物において、50及び450mg/kg/dayのばく露群で日毎精子産生数、総精子数の低値が認められた。

なお、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、精子輸送所要日数、形態異常精子率、精子産生精細管率、精細管直径、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。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、陰開口日の遅延、包皮分離日の早期化、血清中テストステロン濃度、日毎精子産生数、総精子数の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用、ホルモン合成系への影響、視床下部-下垂体-生殖腺軸への作用

※参考 生殖影響(今回評価対象としなかった文献)

③Romanoら(2012)によって、グリホサート配合物(Monsanto社製 Roundup Transorb、ジイソプロピルアミン塩として648g/L、不活性成分594g/L)50mg/kg/dayを妊娠18日目から出産後4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、雄新生仔において包皮分離日の早期化が認められた。

また、60日齢(継続ばく露せず)雄仔動物において、精細管内腔直径、尾部精巣上体中精子滞在日数の低値、精細管上皮厚、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、血清中黄体形成ホルモン濃度、下垂体中黄体形成ホルモンmRNA相対発現量、下垂体中黄体形成ホルモン相対発現量、下垂体中卵巣刺激ホルモンmRNA相対発現量、精巣中総精子産生数、精巣重量当総精子産生数、精巣中日毎精子産生数、精巣重量当日毎精子産生数、頭部及び胴部精巣上体中精子数、精嚢相対重量(液体を含まない)、胴部精巣上体相対重量、尾部精巣上体相対重量の高値が認められた。また、60日齢(継続ばく露せず)雄仔動物の行動試験において、雌エリア総滞在時間、パートナー嗜好スコア、初マウント潜時、初挿入潜時、初射精潜時の高値が認められた。

※参考

(3) 発達影響(今回評価対象としなかった文献)

①Dallegrave ら(2003)によって、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Roundup 360g/L、界面活性剤としてポリオキシエチレンアミン 18%w/v)500、750、1,000mg/kg/day を妊娠妊娠6日目から妊娠15日目まで経口投与した Wistar ラットへの影響(妊娠21日目に開腹)が検討されている。その結果として、500mg/kg/day 以上のばく露群で胎仔骨格変化発生率の高値、1,000mg/kg/day のばく露群で母動物死亡率が認められた。

なお、母動物体重、母動物摂餌量、母動物摂水量、母動物心臓相対重量、母動物肺相対重量、母動物肝臓相対重量、母動物右腎臓相対重量、母動物左腎臓相対重量、母動物脾臓相対重量、黄体数、着床数、肺吸収率、同腹胎仔数、胎仔外表奇形発生率には影響は認められなかった。

(4) エストロゲン作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

①Petit ら(1997)によって、グリホサート 0.01~100 μ M(=1.69~16,900 μ g/L)の濃度に4時間ばく露した酵母(ニジマスエストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲ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 β -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、発現誘導は認められなかった。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、発現誘導は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

(5) 抗エストロゲン作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

①Gasnier ら(2009)によって、グリホサート配合物(Monsanto 社製、Roundup Express、7.2g/L)に24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)によるレポーターアッセイ(エストロゲ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 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、グリホサート配合物は、IC₅₀ 値 86.5 μ M(=14,600 μ g/L)の濃度で 17 β -エストラジオール 10nM による β -ガラクトシダーゼ発現誘導を阻害した。同様にヒト肝臓がん細胞 HepG2(ヒトエストロゲン受容体 β を発現)における IC₅₀ 値は 104.8 μ M(=17,700 μ g/L)であった。

また、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Bioforce 又は Extra 360、360g/L)に24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)によるレポーターアッセイ(エストロゲ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 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、グリホサート配合物は、IC₅₀ 値 3,406.9 μ M(=576,000 μ g/L)の濃度で 17 β -エストラジオール 10nM による β -ガラクトシダーゼ発現誘導を阻害した。同様にヒト肝臓がん細胞 HepG2(ヒトエストロゲン受容体 β を発現)における IC₅₀ 値は 3,087.5 μ M(=522,000 μ g/L)

であった。

また、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Grands Travaux、400g/L)に 24 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)によるレポーターアッセイ(エストロゲ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 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、グリホサート配合物は、 IC_{50} 値 $14.2\mu M(=2,400\mu g/L)$ の濃度で 17β -エストラジオール $10nM$ による β -ガラクトシダーゼ発現誘導を阻害した。同様にヒト肝臓がん細胞 HepG2(ヒトエストロゲン受容体 β を発現)における IC_{50} 値は $7.1\mu M(=1,200\mu g/L)$ であった。

また、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Grands Travaux plus、450g/L)に 24 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)によるレポーターアッセイ(エストロゲ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 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、グリホサート配合物は、 IC_{50} 値 $53.2\mu M(=8,990\mu g/L)$ の濃度で 17β -エストラジオール $10nM$ による β -ガラクトシダーゼ発現誘導を阻害した。なお、ヒト肝臓がん細胞 HepG2(ヒトエストロゲン受容体 β を発現)における IC_{50} 値は検出されなかった。

また、グリホサート(Sigma-Aldrich 社製)500,000、2,000,000、3,000,000 $\mu g/L$ に 24 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)によるレポーターアッセイ(エストロゲ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 β -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、発現誘導阻害は認められなかった。なお、ヒト肝臓がん細胞 HepG2(ヒトエストロゲン受容体 β を発現)においても発現誘導阻害は認められなかった。

このように、グリホサート配合物では配合成分の単独影響あるいは配合物としての複合影響と認められる場合があったが、グリホサート単体では影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、発現誘導阻害は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

(6)抗アンドロゲン作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

①Gasnier ら(2009)によって、グリホサート配合物(Monsanto 社製、Roundup Express、7.2g/L)に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 HDA-MB453-kb2(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲ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 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、グリホサート配合物は、 IC_{50} 値 $32.8\mu M(=5,550\mu g/L)$ の濃度で 5α -ジヒドロテストステロン $0.1nM$ による β -ガラクトシダーゼ発現誘導を阻害した。

また、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Bioforce 又は Extra 360、360g/L)に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 HDA-MB453-kb2(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ

(アンドロゲ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 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、グリホサート配合物は、 IC_{50} 値 $660.1\mu M (=112,000\mu g/L)$ の濃度で 5α -ジヒドロテストステロン $0.1nM$ による β -ガラクトシダーゼ発現誘導を阻害した。

また、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Grands Travaux、 $400g/L$)に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 HDA-MB453-kb2(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲ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 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、グリホサート配合物は、 IC_{50} 値 $2.13\mu M (=360\mu g/L)$ の濃度で 5α -ジヒドロテストステロン $0.1nM$ による β -ガラクトシダーゼ発現誘導を阻害した。

また、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Grands Travaux plus、 $450g/L$)に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 HDA-MB453-kb2(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲ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 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、グリホサート配合物は、 IC_{50} 値 $53.2\mu M (=8,990\mu g/L)$ の濃度で 5α -ジヒドロテストステロン $0.1nM$ による β -ガラクトシダーゼ発現誘導を阻害した。

また、グリホサート(Sigma-Aldrich 社製) $100,000$ 、 $500,000$ 、 $1,500,000\mu g/L$ に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 HDA-MB453-kb2(ヒトアンドロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(アンドロゲ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 β -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されているが、 IC_{50} 値は検出されなかった。

このように、グリホサート配合物では配合成分の単独影響あるいは配合物としての複合影響と認められる場合があったが、グリホサート単体では影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、レポーターアッセイが検討されているが、 IC_{50} 値は検出されなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

(7)ライディッヒ腫瘍細胞への影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Walsh ら(2000)によって、グリホサート(Roundup、 $180g/L$) $12,500$ 、 $25,000$ 、 $50,000$ 、 $100,000\mu g/L$ に 2 時間ばく露したマウス由来ライディッヒ腫瘍細胞 MA-10 への影響($1mM$ ジブチル cAMP 共存下)が検討されている。その結果として、 $25,000\mu g/L$ 以上のばく露区でプロゲステロン産生量の低値が認められた。

また、グリホサート(Roundup、 $180g/L$) $25,000\mu g/L$ に 2 又は 4 時間ばく露したマウス由来ライディッヒ腫瘍細胞 MA-10 への影響($1mM$ ジブチル cAMP 共存下)が検討されている。その結果として、プロゲステロン産生量、P450scc 活性($25\mu M$ 22R-ヒドロキシコレステロール共存下)、 3β -HSD mRNA 相対発現量、StAR 相対発現量の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、プロゲステロン産生量、StAR 相対発現量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：ホルモン合成系への作用

(8)アロマターゼへの影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

①Richard ら(2005)によって、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Roundup、360g/L)100,000、200,000、400,000、600,000、800,000 $\mu\text{g/L}$ に 18 時間ばく露したヒト胎盤絨毛がん細胞 JEG3 への影響が検討されている。その結果として、100,000 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区でアロマターゼ活性の低値が認められた。

また、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Roundup、360g/L)100,000、200,000、400,000、600,000、800,000 $\mu\text{g/L}$ に 18 時間ばく露したヒト胎盤絨毛がん細胞 JEG3 への影響が検討されている。その結果として、200,000 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区でアロマターゼ mRNA 相対発現量の低値が認められた。

また、グリホサート(Sigma-Aldrich 社製)100,000、200,000、400,000、600,000、800,000、1,000,000、2,000,000、4,000,000、6,000,000、8,000,000 $\mu\text{g/L}$ に 18 時間ばく露したヒト胎盤絨毛がん細胞 JEG3 への影響が検討されているが、アロマターゼ活性には影響は認められなかった。

また、グリホサート(Sigma-Aldrich 社製)200,000、600,000、1,000,000 $\mu\text{g/L}$ に 18 時間ばく露したヒト胎盤絨毛がん細胞 JEG3 への影響が検討されているが、アロマターゼ mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、アロマターゼ活性には影響は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：アロマターゼ活性阻害

②Gasnier ら(2009)によって、グリホサート配合物(Monsanto 社製、Roundup Express、7.2g/L) 3,000,000、5,000,000、8,000,000 $\mu\text{g/L}$ に 24 時間ばく露したヒト肝臓がん細胞 HepG2 への影響が検討されている。その結果として、300,000 及び 8,000,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でアロマターゼ活性の低値、300,000 及び 5,000,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でアロマターゼ mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Bioforce 又は Extra 360、360g/L)800,000、1,000,000、3,000,000 $\mu\text{g/L}$ に 24 時間ばく露したヒト肝臓がん細胞 HepG2 への影響が検討されている。その結

果として、800,000 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区でアロマターゼ活性の低値、800,000 及び 3,000,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でアロマターゼ mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Grands Travaux、400 g/L)10,000、30,000、50,000 $\mu\text{g/L}$ に 24 時間ばく露したヒト肝臓がん細胞 HepG2 への影響が検討されている。その結果として、10,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でアロマターゼ活性の低値、50,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でアロマターゼ mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、グリホサート配合物(Monsanto 社製 Grands Travaux plus、450 g/L)50,000、60,000、70,000 $\mu\text{g/L}$ に 24 時間ばく露したヒト肝臓がん細胞 HepG2 への影響が検討されている。その結果として、50,000 及び 60,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でアロマターゼ活性の低値、アロマターゼ mRNA 相対発現量の高値が認められた。

また、グリホサート(Sigma-Aldrich 社製)600,000、2,000,000、3,000,000 $\mu\text{g/L}$ に 24 時間ばく露したヒト肝臓がん細胞 HepG2 への影響が検討されているが、アロマターゼ mRNA 相対発現量には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、アロマターゼ活性には影響は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：アロマターゼ活性阻害

(9)疫学的調査

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

②Arbuckle ら(2001)によって、グリホサートについて、カナダ Ontario Farm Family Health Study にて(1991 年から 1992 年にかけてと思われる)どちらか一名が農場で働く夫婦(女性年齢は 44 歳以下とし 2,110 件、妊娠 3,936 件このうち 395 件が流産)への影響が検討されている。その結果として、妊娠前グリホサートばく露(3 ヶ月以内)における後期流産(妊娠 12~19 週間)17 件にオッズ比 1.7(95%信頼区間 1.0~2.9)及び早期流産(妊娠 12 週間未満)16 件にオッズ比 1.1(95%信頼区間 1.0~2.9)、妊娠前グリホサートばく露(第 1 三半期)における後期流産(妊娠 12~19 週間)12 件にオッズ比 1.4(95%信頼区間 0.8~2.5)及び早期流産(妊娠 12 週間未満)10 件にオッズ比 0.8(95%信頼区間 0.4~1.6)が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、妊娠前グリホサートばく露における後期流産及び早期流産が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

①Savitzら(1997)によって、グリホサートについて、カナダ Ontario Farm Family Health Study にて 1991 年から 1992 年にかけて農場内作業従事者(夫婦 1,898 組、妊娠 3,984 件)への影響が検討されている。その結果として、男性の作物用除草剤としてのグリホサートの使用と流産 17 件とにリスク率 13.7%(補正オッズ比 1.5、95%信頼区間 0.8~2.7)、男性の牧場用除草剤としてのグリホサートの使用と流産 13 件とにリスク率 13.4%(補正オッズ比 1.4、95%信頼区間 0.7~2.8)、男性の作物用除草剤としてのグリホサートの使用と早産(妊娠期間 37 週間未満)5 件とにリスク率 5.1%(補正オッズ比 2.4、95%信頼区間 0.8~7.9)、男性の作物用除草剤としてのグリホサートの使用と未熟児(10th percentile 未満)5 件とにリスク率 5.2%(補正オッズ比 0.8、95%信頼区間 0.2~2.3)が認められた。

この報告については、「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」においては、ばく露を示す指標が測定されておらず、記載が不十分であると評価された。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

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、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、ホルモン合成系の作用及び抗アンドロゲン様作用を示すこと、試験管内試験の報告において、ホルモン合成系への作用を示すことが示唆された。

本物質を試験対象とした報告には、以下の例があった。

- ①本物質が配合された製剤ランドアップを被験物質とした報告
- ②本物質を被験物質とした報告
- ③本物質が配合された製剤ランドアップ及び本物質を被験物質とした報告

③の報告の結果が、ランドアップについては「作用が認められた」が、本物質については「作用が認められなかった」場合には、「作用が認められなかった」と判断した。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 6 に示した。

表6 信頼性評価のまとめ

物質名：グリホサート

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	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 ³⁾	
(1) 生態影響	視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用	①Howe ら(2004)	△	○N	×
	毒性	②William と Semlitsch(2010)	△	?	—
	視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用、ホルモン合成系のかく乱	③Soso ら(2007)	△	○P	○
		④Cauble と Wagner(2005) 評価未実施			
		⑤Xie ら(2005) 評価未実施			
(2) 生殖影響	抗アンドロゲン様作用、ホルモン合成系への影響、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	①Romano ら(2010)	△	○P	○
	抗アンドロゲン様作用、ホルモン合成系への影響、視床下部一下垂体—生殖腺軸への作用	③Dallegrave ら(2007)	○	○P	○
		②Romano ら(2012) 評価未実施			
(3) 発達影響		①Dallegrave ら(2003) 評価未実施			
(4) エストロゲン作用		①Petit ら(1997)	△	○N	×
(5) 抗エストロゲン作用		①Gasnier ら(2009)	△	○N	×

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	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 ³⁾	
(6)抗アンドロゲン作用	①Gasnier ら(2009)	△	○N	×	
(7) ライディッツヒ腫瘍細胞への影響	①Walsh ら(2000)	△	○P	○	
(8) アロマターゼへの影響	アロマターゼ活性阻害	①Richard ら(2005)	△	○N	×
	アロマターゼ活性阻害	②Gasnier ら(2009)	△	○N	×
(9) 疫学的調査		①Savitz ら(1997)	×	—	×
	視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用	②Arbuckle ら(2001)	×	—	×
今後の対応案	動物試験の報告において、視床下部—下垂体—生殖腺軸への作用、ホルモン合成系の作用及び抗アンドロゲン様作用を示すこと、試験管内試験の報告において、ホルモン合成系への作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。				

1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない

2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作

用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない

3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、
—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

参考文献

Howe CM, Berrill M, Pauli BD, Helbing CC, Werry K and Veldhoen N (2004) Toxicity of glyphosate-based pesticides to four North American frog species. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23 (8), 1928-1938.

Williams BK and Semlitsch RD (2010) Larval responses of three midwestern anurans to chronic, low-dose exposures of four herbicides. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58 (3), 819-827.

Cauble K and Wagner RS (2005) Sublethal effects of the herbicide glyphosate on amphibian metamorphosis and development. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75 (3), 429-435.

Soso AB, Barcellos LJ, Ranzani-Paiva MJ, Kreutz LC, Quevedo RM, Anziliero D, Lima M, Silva LB, Ritter F, Bedin AC and Finco JA (2007) Chronic exposure to sub-lethal concentration of a glyphosate-based herbicide alters hormone profiles and affects reproduction of female Jundia (*Rhamdia quelen*). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23 (3), 308-313.

Xie L, Thripleton K, Irwin MA, Siemering GS, Mekebri A, Crane D, Berry K and Schlenk D (2005) Evaluation of estrogenic activities of aquatic herbicides and surfactants using a rainbow trout vitellogenin assay. *Toxicological Sciences*, 87 (2), 391-398.

Romano RM, Romano MA, Bernardi MM, Furtado PV and Oliveira CA (2010) Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology. *Archives of Toxicology*, 84 (4), 309-317.

Romano MA, Romano RM, Santos LD, Wisniewski P, Campos DA, de Souza PB, Viau P, Bernardi MM, Nunes MT and de Oliveira CA (2012) Glyphosate impairs male offspring reproductive development by disrupting gonadotropin expression. *Archives of Toxicology*, 86 (4), 663-673.

Dallegrave E, Mantese FD, Oliveira RT, Andrade AJ, Dalsenter PR and Langeloh A (2007) Pre- and postnatal toxicity of the commercial glyphosate formulation in Wistar rats. *Archives of Toxicology*,

81 (9), 665-673.

Dallegrave E, Mantese FD, Coelho RS, Pereira JD, Dalsenter PR and Langeloh A (2003) The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup in Wistar rats. *Toxicology Letters*, 142 (1-2), 45-52.

Petit F, Le Goff P, Cravedi JP, Valotaire Y and Pakdel F (1997) Two complementary bioassays for screening the estrogenic potency of xenobiotics: Recombinant yeast for trout estrogen receptor and trout hepatocyte cultures. *Journal of Molecular Endocrinology*, 19 (3), 321-335.

Gasnier C, Dumont C, Benachour N, Clair E, Chagnon MC and Seralini GE (2009) Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. *Toxicology*, 262 (3), 184-191.

Walsh LP, McCormick C, Martin C and Stocco DM (2000) Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environmental Health Perspectives*, 108 (8), 769-776.

Richard S, Moslemi S, Sipahutar H, Benachour N and Seralini GE (2005) Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase. *Environmental Health Perspectives*, 113 (6), 716-720.

Savitz DA, Arbuckle T, Kaczor D and Curtis KM (1997) Male pesticide exposure and pregnancy outcome. *American Journal of Epidemiology*, 146 (12), 1025-1036.

Arbuckle TE, Lin Z and Mery LS (2001) An exploratory analysis of the effect of pesticide exposure on the risk of spontaneous abortion in an Ontario farm population. *Environmental Health Perspectives*, 109 (8), 851-857.

VII. ニトロベンゼン

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ニトロベンゼンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響及びセルトリ細胞生殖細胞への影響の有無に関する報告がある。

なお、本物質の主な用途は、アニリン原料、染料や香料の合成中間体、毒性ガス、溶剤、酸化剤、塵埃防止剤などである。

本物質は、平成 18 年度要調査項目等存在状況調査の水質調査において検出されている。

(1) 生殖影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

③Kawashima ら(1995)によって、ニトロベンゼン 60mg/kg/day を 10 週齢から最長 70 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、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、精巣上体尾中精子数、精子運動性スコア、精子直進運動速度、精子生存率、精子形態異常率、妊孕率の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、精巣上体尾中精子数、精子運動性スコア、精子直進運動速度、精子生存率、精子形態異常率、妊孕率の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

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—生殖腺軸への影響

○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない報告

①Cattley ら(1994)によって、ニトロベンゼン 1.00±0.14、4.96±0.30、24.8±1.2、49.1±3.1ppm(チャンバー内空气中測定濃度)を 63 日齢から 24 ヶ月間(週 5 日、日毎 6 時間)ばく露した雌雄 B6C3F1 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、24.8ppm 以上のばく露区で甲状腺濾胞細胞過形成発生率の高値、49.1ppm のばく露区で甲状腺濾胞細胞腺腫発生率、精巣上体過形成発生率の高値が認められた。また雌において、乳腺がん発生率、胸腺退縮発生率の高値が認められた。

また、ニトロベンゼン 1.00±0.14、4.96±0.30、24.8±1.2、49.1±3.1ppm(チャンバー内空气中測定濃度)を 62 日齢から 15 ヶ月間(週 5 日、日毎 6 時間)ばく露した雄 CD ラットへの影響が検討されている。その結果として、24.8ppm 以上のばく露区で精巣びまん性萎縮発生率、精巣上体過形成発生率の高値が認められた。

また、ニトロベンゼン 1.00±0.14、4.96±0.30、24.8±1.2、49.1±3.1ppm(チャンバー内空气中測定濃度)を 62 日齢から 15 ヶ月間(週 5 日、日毎 6 時間)ばく露した雌雄 F344 ラットへの影響が検

討されている。その結果として、雌において 24.8ppm 以上のばく露区で子宮内膜間質ポリープ発生率の高値が認められた。雄において、甲状腺濾胞細胞過形成発生率、甲状腺濾胞細胞腺腫又はがん発生率、精巣びまん性萎縮発生率、精巣間質細胞腫、精巣上体過形成発生率には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、甲状腺腫瘍とメトヘモグロビン血症・貧血と考え、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「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」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定される作用メカニズム：毒性(甲状腺腫瘍とメトヘモグロビン血症、貧血)

②Dodd ら(1987)によって、ニトロベンゼン 1.00±0.01、10.0±0.2、40.1±0.8ppm(チャンバー内空气中測定濃度)を 18 週間(交配前 10 週間、交配期間 2 週間、出産後 20 日目まで。ただし雄は交配前 10 週間、交配期間 2 週間まで。週 5 日、日毎 6 時間)吸入ばく露した雌雄 F₀ SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、10.0ppm のばく露区で新生仔雄性比の低値、40.1ppm のばく露区で妊娠率、20 日齢雄及び雌仔動物体重、父動物精巣絶対重量、父動物精巣上体重量の低値が認められた。なお、出産率、妊娠期間、生存仔出産率、同腹着床数、同腹吸収胚数、同腹胚吸収率、同腹新生仔数、新生仔生存率、1 日齢仔動物生存率、4 日齢仔動物生存率、離乳仔生存率には影響は認められなかった。

更に、F₀が産出した F₁に対しニトロベンゼン 0.98±0.02、9.8±0.1、39.4±0.6ppm(チャンバー内空气中測定濃度)を離乳 2 週間後から 18 週間(交配前 10 週間、交配期間 2 週間、出産後 20 日目まで。ただし雄は交配前 10 週間、交配期間 2 週間まで。週 5 日、日毎 6 時間)吸入ばく露した雌雄 SD ラットへの二世世代影響が検討されている。その結果として、9.8ppm のばく露区で同腹着床数の低値、39.4ppm のばく露区で妊娠率、出産率の低値が認められた。なお、生存仔出産率、妊娠期間、同腹着床数、同腹吸収胚数、同腹胚吸収率、同腹新生仔数、新生仔生存率、新生仔雄性比、1 日齢仔動物生存率、4 日齢仔動物生存率、離乳仔生存率には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、新生仔雄性比、妊娠率、雌仔動物体重、父動物精巣絶対重量、父動物精巣上体重量、同腹着床数、出産率の低値について、内分泌かく乱作用との関連性は不明と評価された。「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」においては、内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができないとされた。

想定される作用メカニズム：体重への影響、雄生殖器への影響と妊孕性への作用

※参考 生殖影響(今回評価対象としなかった文献)

④Tyl ら(1987)によって、ニトロベンゼン 1.06±0.054、9.8±0.28、39.4±1.49ppm(チャンバー内空気

中測定濃度)を妊娠6日目から10日間(日毎6時間)吸入ばく露したSDラットへの影響が検討されている。その結果として、母動物影響として、9.8ppm以上のばく露区で脾臓絶対及び相対重量の高値、39.4ppmのばく露区で増加体重の低値が認められたが、体重、補正体重(体重－妊娠子宮重量)、妊娠子宮重量、肝臓絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量には認められなかった。また、生殖影響として、同腹黄体数、同腹着床数、着床前胚消失率、同腹生存胚数、同腹消失胚数、胎仔雄性比、雄及び雌胎仔体重、胎仔外表奇形及び変化発生率、胎仔内臓奇形及び変化発生率、胎仔骨格奇形及び変化発生率には影響は認められなかった。

⑤Linderら(1992)によって、ニトロベンゼン300mg/kgを単回経口投与した102～103日齢雄SDラットへの影響(投与14日後)が検討されている。その結果として、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、精巣上体頭中精子数、精巣上体尾中精子数の低値、精巣上体頭中形態異常精子発生率、精巣上体尾中形態異常精子発生率の高値が認められた。なお、体重、前立腺絶対重量、精囊絶対重量、精巣中精子頭部濃度及び数、運動精子率、精液中精子濃度、精子運動速度には影響は認められなかった。

また、300mg/kgを単回経口投与した102～103日齢雄SDラットへの影響(投与2日後)が検討されているが、体重、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、前立腺絶対重量、精囊絶対重量、精巣中精子頭部濃度及び数、精巣上体頭中精子数、精巣上体尾中精子数、精巣上体頭中形態異常精子発生率、精巣上体尾中形態異常精子発生率、精液中精子濃度、運動精子率、精子運動速度。体重、精巣絶対重量、精巣上体絶対重量、前立腺絶対重量、精囊絶対重量、精巣中精子頭部濃度及び数、精巣上体頭中精子数、精巣上体尾中精子数、精巣上体頭中形態異常精子発生率、精巣上体尾中形態異常精子発生率、精液中精子濃度、運動精子率、精子運動速度には影響は認められなかった。

(2)セルトリ細胞への影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Allenbyら(1990)によって、ニトロベンゼン0.01、0.05、0.1、0.5、1、5、10、50、100 μ M(=1.23、6.15、12.3、61.5、123、615、1,230、6,150、12,300 μ g/L)に24時間ばく露した雄Wistarラット由来セルトリ培養細胞への影響が検討されている。その結果として、0.01、0.05、0.1、0.5、1、5、100 μ M(=1.23、6.15、12.3、61.5、123、615、12,300 μ g/L)のばく露区でインヒビン分泌量の高値が認められた。

また、ニトロベンゼンニトロベンゼン0.01、0.05、0.1、0.5、1、5、10、50、100 μ M(=1.23、6.15、12.3、61.5、123、615、1,230、6,150、12,300 μ g/L)に24時間ばく露した雄Wistarラット由来セルトリ細胞(生殖細胞との混合培養)への影響が検討されている。その結果として、0.01、0.05、0.1、0.5、1、5 μ M(=1.23、6.15、12.3、61.5、123、615 μ g/L)のばく露区でインヒビン分泌量の高値、5 μ M(=615 μ g/L)のばく露区で剥離細胞数の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、インヒビン分泌量、剥離細胞数の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：インヒビン分泌上昇

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及び視床下部一下垂体—生殖腺軸への影響を示すこと、試験管内試験の報告において、インヒビン分泌を上昇させる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

物質名：ニトロベンゼン

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	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 ³⁾	
(1) 生殖影響	毒性(甲状腺腫瘍とメトヘモグロビン血症、貧血)	①Cattley ら(1994)	○	?	—
	体重への影響、雄生殖器への影響と妊孕性への作用	②Dodd ら(1987)	○	?	—
	抗アンドロゲン様作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への影響	③Kawashima ら(1995)	○	○P	○
		④Tyl ら(1987) 評価未実施			
		⑤Linder ら(1992) 評価未実施			

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	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 ³⁾
(2) セルトリ細胞への影響	①Allenby ら(1990)	○	○P	○
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及び視床下部一下垂体一生殖腺軸への影響を示すこと、試験管内試験の報告において、インヒビン分泌を上昇させる作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない

2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない

3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

参考文献

Cattley RC, Everitt JI, Gross EA, Moss OR, Hamm TE, Jr. and Popp JA (1994) Carcinogenicity and toxicity of inhaled nitrobenzene in B6C3F1 mice and F344 and CD rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 22 (3), 328-340.

Dodd DE, Fowler EH, Snellings WM, Pritts IM, Tyl RW, Lyon JP, O'Neal FO and Kimmerle G (1987) Reproduction and fertility evaluations in CD rats following nitrobenzene inhalation. *Fundamental and Applied Toxicology*, 8 (4), 493-505.

Tyl RW, France KA, Fisher LC, Dodd DE, Pritts IM, Lyon JP, O'Neal FO and Kimmerle G (1987) Development toxicity evaluation of inhaled nitrobenzene in CD rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 8 (4), 482-492.

Kawashima K, Usami M, Sakemi K and Ohno Y (1995) Studies on the establishment of appropriate spermatogenic endpoints for male fertility disturbance in rodent induced by drugs and chemicals. I. Nitrobenzene. *Journal of Toxicological Sciences*, 20 (1), 15-22.

Linder RE, Strader LF, Slott VL and Suarez JD (1992) Endpoints of spermatotoxicity in the rat after short duration exposures to fourteen reproductive toxicants. *Reproductive Toxicology*, 6 (6), 491-505.

Allenby G, Sharpe RM and Foster PM (1990) Changes in Sertoli cell function *in vitro* induced by nitrobenzene. *Fundamental and Applied Toxicology*, 14 (2), 364-375.

VIII. リン酸トリクレジル

1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

リン酸トリクレ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、ライディッチ細胞への影響及び副腎がん細胞への影響の有無に関する報告がある。

なお、本物質の主な用途は、農業用ビニルフィルム、電線コンパウンド、建材関係の塩化ビニル樹脂の可塑剤、合成ゴムコンパウンドの軟化剤・可塑剤、難燃剤、不燃性作動液、ガソリン添加剤、潤滑油添加剤、安定剤などである。

本物質は、平成 14 年度要調査項目等存在状況調査の底質調査において検出されている。

(1)生態影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Liu ら(2012)によって、リン酸トリクレジル(異性体混合物) 8、40、200 $\mu\text{g/L}$ (設定濃度)に 14 時間ばく露した成熟雌雄ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)への影響が検討されている。その結果として、雄において、40 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で血漿中テストステロン濃度の低値、40 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で肝臓中 CYP17 mRNA 相対発現量の低値、200 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で血漿中ケトテストステロン濃度の低値、血漿中 17 β エストラジオール濃度、肝臓中 CYP19A mRNA 相対発現量、肝臓中ピテロジェニン mRNA 相対発現量の高値が認められた。雌において、40 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で肝臓中ピテロジェニン mRNA 相対発現量の低値、肝臓中 CYP17 mRNA 相対発現量、血漿中テストステロン濃度の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、試験動物の入手先が明記されておらず、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、雄において、血漿中テストステロン濃度、肝臓中 CYP17 mRNA 相対発現量、血漿中ケトテストステロン濃度の低値、血漿中 17 β エストラジオール濃度、肝臓中 CYP19A mRNA 相対発現量、肝臓中ピテロジェニン mRNA 相対発現量の高値が認められた。雌において、肝臓中ピテロジェニン mRNA 相対発現量の低値、肝臓中 CYP17 mRNA 相対発現量、血漿中テストステロン濃度の高値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン合成・代謝系のかく乱、視床下部一下垂体一生殖腺軸への影響

※参考 生態影響(今回評価対象としなかった文献)

②Somkuti ら(1987)によって、リン酸トリ- σ クレジル 100mg/kg/day を 18 日間経口投与した成熟雄 Leghorn ニワトリへの影響が検討されている。その結果として、体重増加率、右精巣絶対重量、運

動精子率の低値が認められた。

また、りん酸トリ- σ クレジル 750mg/kg を単回経口投与した成熟雄 Leghorn ニワトリへの影響が検討されているが、投与から 18 日後の体重増加率、右精巣絶対重量、運動精子率には影響は認められなかった。

- ③Wu と Leng(2000)によって、りん酸トリ- σ クレジル 750mg/kg を単回経口投与した成熟雌 Beijing Whites ニワトリへの影響が検討されている。その結果として、投与 14 日後の血清中 17β エストラジオール濃度の低値が認められた。なお、投与 14 日後の血清中プロゲステロン濃度、投与 10 日後の卵殻腺中 Ca^{2+} -ATPase 比活性、投与 10 日後の卵殻腺中 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 比活性には影響は認められなかった。

(2)生殖影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ③Chapin ら(1990)によって、りん酸トリ- σ クレジル 150mg/kg/day を 5 日間経口投与した成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中テストステロン濃度(ヒト絨毛ゴナドトロピン 0.1 IU 静脈注射後)の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、血清中テストステロン濃度(ヒト絨毛ゴナドトロピン 0.1 IU 静脈注射後)の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：テストステロン合成系への作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

- ①Somkuti ら(1987)によって、りん酸- σ トリクレジル 10、25、50、75、100mg/kg/day を 63 日間経口投与した成熟雄 F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、10mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中非特異的エステラーゼ(NTE)比活性の低値、50mg/kg/day 以上のばく露群で精巣中神経毒性エステラーゼ比活性、運動精子率、精巣上体尾中精子濃度の低値、形態異常精子率の高値、75mg/kg/day のばく露群で精巣相対重量の低値が認められた。なお、体重には影響は認められなかった。

また、りん酸- p トリクレジル 100mg/kg/day を 63 日間経口投与した成熟雄 F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、精巣上体尾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、運動精子率、形態異常精子率、精巣中非特異的エステラーゼ(NTE)比活性、精巣中神経毒性エステラーゼ比活性には影響は認められなかった。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精巣中非特異的エステラーゼ(NTE)への毒

性影響と考えられた。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：NTE への毒性

②Chen ら(2012)によって、りん酸トリ- σ クレジル 100、200、400mg/kg/day を 14 日間経口投与した成熟雄 KM マウス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、精巣上体中精子数、精巣中非特異的エステラーゼ(NTE)比活性の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、被験物質の純度及び 1 群当たりの動物数が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、精巣中非特異的エステラーゼ(NTE)への毒性影響と考えられた。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

想定される作用メカニズム：NTE への毒性

※参考 生殖影響(今回評価対象としなかった文献)

④Somkuti ら(1987)によって、りん酸トリ- σ クレジル 150mg/kg/day を 21 日間経口投与した成熟雄 F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、運動精子率、精巣上体尾中精子濃度、精巣中非特異的エステラーゼ(NTE)比活性、精巣中神経毒性エステラーゼ比活性、脳中アセチルコリンエステラーゼ比活性、脳神経毒性エステラーゼ比活性の低値が認められた。

※参考

(3)発達影響(今回評価対象としなかった文献)

①Tocco ら(1987)によって、りん酸トリ- σ クレジル 87.5、175、350mg/kg/day を妊娠 6 日目から 13 日間経口投与した LE ラットへの影響(妊娠 21 日目に試験)が検討されている。その結果として、87.5mg/kg/day のばく露群で雄及び雌胎仔体重の高値が認められた。なお、母動物体重、母動物増加体重、同腹着床数、着床前胚消失率、胚吸収率、胎仔性比、胎仔外表奇形発生率、胎仔内臓奇形発生率、胎仔骨格奇形発生率には影響は認められなかった。

(4)エストロゲン作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められない報告

①Liu ら(2012)によって、りん酸トリクレジル(異性体混合物)10 μ g/L の濃度に 72 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MVLN(ヒトエストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲ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活性発現誘導)が検討されているが、ルシフェラーゼ活性発現誘導は認められなかった。

この報告については、「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」においては、用いた細胞の入手先が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」に

においては、ルシフェラーゼ活性発現誘導は認められなかった。「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」においては、試験対象物質として選定する根拠として認められないと評価された。

(5)抗エストロゲン作用

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Liu ら(2012)によって、りん酸トリクレジル(異性体混合物)10 μ g/L の濃度に 72 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MVLN(ヒトエストロゲン受容体を発現)によるレポーターアッセイ(エストロゲ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活性発現誘導)が検討されている。その結果として、りん酸トリクレジルは、17 β -エストラジオール 100nM によるルシフェラーゼ活性発現誘導を阻害した。

この報告については、「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」においては、用いた細胞の入手先が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、17 β -エストラジオール 100nM によるルシフェラーゼ活性発現誘導を阻害したため、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

(6)ライディッヒ細胞への影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Chapin ら(1990)によって、りん酸トリ- σ クレジル 1、3、10、30 μ M(=368、1,100、3,680、11,000 μ g/L) に 18 時間ばく露したラット由来ライディッヒ細胞(成熟雄 SD ラット由来一次培養細胞)への影響が検討されている。その結果として、1 μ M(=368 μ g/L)以上のばく露区で非特異的エステラーゼ(NSE)比活性の低値、10 μ M(=3,680 μ g/L)以上のばく露区でヒト絨毛性ゴナドトロピン誘導性テストステロン産生量の低値、30 μ M(=11,000 μ g/L)以上のばく露区でヒト絨毛性ゴナドトロピン誘導性テストステロン産生量の低値が認められた。

この報告については、「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」においては、十分に記載されていると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、非特異的エステラーゼ(NSE)比活性、ヒト絨毛性ゴナドトロピン誘導性テストステロン産生量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：テストステロン合成系

(7)副腎がん細胞への影響

○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Liu ら(2012)によって、りん酸トリクレジル(異性体混合物) 1、10、100、1,000 $\mu\text{g/L}$ の濃度に 48 時間ばく露したヒト副腎がん細胞 H295R への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で 17 β -エストラジオール産生量の高値、100 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区でテストステロン産生量、CYP11A1 mRNA 相対発現量の高値、1,000 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で SULT1E1 mRNA 相対発現量、SULT2A1 mRNA 相対発現量の低値、CYP11B2 mRNA 相対発現量、CYP19A1 mRNA 相対発現量、HSD3 β mRNA 相対発現量の高値が認められた。

この報告については、「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」においては、用いた細胞の入手先が記載されていないことから、一部記載が不十分であると評価された。「内分泌かく乱作用との関連の有無」においては、17 β -エストラジオール産生量、テストステロン産生量、CYP11A1 mRNA 相対発現量、CYP11B2 mRNA 相対発現量、CYP19A1 mRNA 相対発現量、HSD3 β mRNA 相対発現量の高値、SULT1E1 mRNA 相対発現量、SULT2A1 mRNA 相対発現量の低値が認められ、内分泌かく乱作用との関連性が認められると評価された。「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」においては、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。

想定される作用メカニズム：ステロイドホルモン合成・代謝系のかく乱

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、ステロイドホルモン(テストステロン)合成・代謝系への作用、視床下部-下垂体-生殖腺軸への影響を示すこと、試験管内試験の報告において、ステロイドホルモン(テストステロン)合成・代謝系への作用及び抗エストロゲン作用を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 8 に示した。

表8 信頼性評価のまとめ

物質名：りん酸トリクレジル

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果			
		報告結果(Results)を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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	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 ³⁾	
(1) 生態影響	ステロイドホルモン合成・代謝系のかく乱、視床下部一下垂体—生殖腺軸への影響	①Liu ら(2012)	△	○P	○
		②Somkuti ら(1987) 評価未実施			
		③Wu と Leng(2000) 評価未実施			
(2) 生殖影響	NTE への毒性	①Somkuti ら(1987)	○	×	×
	NTE への毒性	②Chen ら(2012)	△	×	×
	テストステロン合成系への作用	③Chapin ら(1990)	○	○P	○
		④Somkuti ら(1987) 評価未実施			
(3) 発達影響		①Tocco ら(1987) 評価未実施			
(4) エストロゲン作用		①Liu ら(2012)	△	○N	×
(5) 抗エストロゲン作用		①Liu ら(2012)	△	○P	○

区分	著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を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 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	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 ³⁾
(6) ライディッツヒ細胞への影響	①Chapin ら(1990)	○	○P	○
(7) 副腎がん細胞への影響	①Liu ら(2012)	△	○P	○
今後の対応案	動物試験の報告において、ステロイドホルモン(テストステロン)合成・代謝系への作用、視床下部一下垂体—生殖腺軸への影響を示すこと、試験管内試験の報告において、ステロイドホルモン(テストステロン)合成・代謝系への作用及び抗エストロゲン作用を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

1)○：十分に記載されている、△：一部記載が不十分である、×：記載が不十分である、—：評価を行わない

2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる(P：作用が認められる、N：作用が認められない)、?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない

3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

参考文献

Liu X, Ji Kand Choi K (2012) Endocrine disruption potentials of organophosphate flame retardants

and related mechanisms in H295R and MVLN cell lines and in zebrafish. *Aquatic Toxicology*, 114-115, 173-181.

Somkuti SG, Lapadula DM, Chapin RE, Lamb JCt and Abou-Donia MB (1987) Testicular toxicity following oral administration of tri- σ -cresyl phosphate (TOCP) in roosters. *Toxicology Letters*, 37 (3), 279-290.

Wu YJ and Leng XF (2000) Effects of tri- σ -cresyl phosphate on serum estrogen and progesterone concentration and ATPase activity in the shell gland of adult hens. *Chemosphere*, 41 (1-2), 183-186.

Somkuti SG, Lapadula DM, Chapin RE, Lamb JCt and Abou-Donia MB (1987) Reproductive tract lesions resulting from subchronic administration (63 days) of tri- σ -cresyl phosphate in male rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 89 (1), 49-63.

Chen JX, Xu LL, Mei JH, Yu XB, Kuang HB, Liu HY, Wu YJ and Wang JL (2012) Involvement of neuropathy target esterase in tri-*ortho*-cresyl phosphate-induced testicular spermatogenesis failure and growth inhibition of spermatogonial stem cells in mice. *Toxicology Letters*, 211 (1), 54-61.

Chapin RE, Phelps JL, Somkuti SG, Heindel JJ and Burka LT (1990) The interaction of Sertoli and Leydig cells in the testicular toxicity of tri- σ -cresyl phosphate. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 104 (3), 483-495.

Somkuti SG, Lapadula DM, Chapin RE, Lamb JCt and Abou-Donia MB (1987) Time course of the tri- σ -cresyl phosphate-induced testicular lesion in F-344 rats: enzymatic, hormonal, and sperm parameter studies. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 89 (1), 64-72.

Tocco DR, Randall JL, York RG and Smith MK (1987) Evaluation of the teratogenic effects of Tri-*ortho*-cresyl phosphate in the Long-Evans hooded rat. *Fundamental and Applied Toxicology*, 8 (3), 291-297.