

平成26年度第1段階試験管内試験の実施について(案)

1. 実施する試験管内試験の選定の考え方

既存知見をもとに、以下の手順で第1段階試験管内試験として実施する試験を検討する。

(1)第1段階試験管内試験の実施に当たりの考え方

*既存知見の試験管内試験において、今回実施する試験と同等の試験*が実施されていると認められた場合は、第1段階試験管内試験を実施しない。

*同等の試験とは、今回実施する第1段階試験管内試験と同一の動物種の受容体を用いたレポータージーン試験をいう。

*動物試験又は疫学的調査結果から作用メカニズムが推定できない場合として、例えば、エストロゲン様作用と抗アンドロゲン様作用が区別できない場合や、同様に抗エストロゲン様作用とアンドロゲン様作用は区別できない場合がある。その場合には、想定される総ての第1段階試験管内試験を実施し、どちらの作用であるかを確認する。

*既存知見において、作用が認められた知見と認められなかった知見の双方が得られた作用については、いずれであるかを確認するため、第1段階試験管内試験を実施する。

*抗アンドロゲン作用を検出するための第1段階試験管内試験については、試験結果の再現性について再検証中である。このため、本年度の実施は保留とする。

(2)既存知見から示唆される作用の確認

以下の分類区分に従い、既存知見を整理する。

- ◎ : 試験管内試験により示唆される作用(P: 作用が認められた、N: 作用が認められなかった)
- ◎*: 今回実施するレポータージーン試験と同等のレポータージーン試験により示唆される作用(P: 作用が認められた、N: 作用が認められなかった)
- : 単一の作用メカニズムが推定可能な動物試験により示唆される作用(P: 作用が認

められた、N：作用が認められなかった)

(○)：単一の作用メカニズムが推定できない動物試験により類推される作用(P：作用が認められた、N：作用が認められなかった)

—：既存知見なし

(3)実施する第1段階試験管内試験の整理

(1)の考え方にに基づき、実施する試験管内試験を以下のとおり整理する。

○：既存知見では不十分であり、第1段階試験管内試験を実施する。

△：既存知見では不十分であるが、動物試験の結果から類推される作用であり、第1段階試験管内試験を実施する優先度は低い。

■：既存知見(試験管内試験)で十分であるため、第1段階試験管内試験を実施しない(P：作用が認められた N：作用が認められなかった)。

—：既存知見がなく、現時点では第1段階試験管内試験を実施しない。

□：第1段階試験管内試験では確認できない作用であり、生物試験により確認する。

2. 「試験対象となり得る物質」と判断された物質について実施する第1段階試験管内試験

信頼性評価第5回により「試験対象となり得る物質」と判断された8物質について、既存知見から示唆される作用を整理した(表1、詳細は添付資料参照)。これら8物質を対象とし、第1段階試験管内試験として実施する試験を整理した(表2)。

(1)フルタミド

- ・抗アンドロゲン作用について、今回実施するレポーター遺伝子試験とは異なる試験管内試験結果及び動物試験結果から、作用が認められた知見が得られているため、試験管内試験を実施する候補となるが、既に陽性対象物質として第1段階試験管内試験は実施済みである。
- ・甲状腺ホルモン作用及び抗甲状腺ホルモン作用について、動物試験結果から、作用が認められた知見が得られているため、第1段階試験管内試験を実施する。
- ・脱皮ホルモン作用について、動物試験結果から、作用が認められた知見が得られているため、第1段階試験管内試験を実施する。

(2)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—下垂体—生殖腺軸への作用(テストステロン合成阻害)を示すことが類推された知見が得られているが、今回実施する第1段階試験管内試験では確認できない作用であるため、第1段階試験管内試験を実施しない。

(3)二硫化炭素

- ・抗アンドロゲン作用について、動物試験結果及び疫学的調査結果から、作用が認められた知見が得られている。抗アンドロゲン作用を検出するための第1段階試験管内試験については、試験結果の再現性について再検証中である。このため、本年度の実施は保留とする。
- ・甲状腺ホルモン作用及び抗甲状腺ホルモン作用について、疫学的調査結果から、作用が認められた知見が得られているため、第1段階試験管内試験を実施する。

(4)フェンバレート

- ・エストロゲン作用について、今回実施するレポータージーン試験とは異なる試験管内試験結果から、作用が認められた知見及び作用が認められなかった知見の相反する知見が得られているため、第1段階試験管内試験を実施する。
- ・抗エストロゲン作用について、今回実施するレポータージーン試験とは異なる試験管内試験結果から、作用が認められた知見が得られているため、第1段階試験管内試験を実施する。
- ・抗アンドロゲン作用について、今回実施するレポータージーン試験とは異なる試験管内試験結果から、作用が認められた知見及び作用が認められなかった知見の相反する知見が得られている。また、動物試験結果から、作用が認められた知見も得られている。抗アンドロゲン作用を検出するための第1段階試験管内試験については、試験結果の再現性について再検証中である。このため、本年度の実施は保留とする。
- ・甲状腺ホルモン作用及び抗甲状腺ホルモン作用について、動物試験結果結果から、作用が認められた知見が得られているため、第1段階試験管内試験を実施する。

(5)過塩素酸

- ・甲状腺ホルモン作用及び抗甲状腺ホルモン作用について、動物試験結果及び疫学的調査結果から、作用が認められた知見及び作用が認められなかった知見の相反する知見が得られているため、第1段階試験管内試験を実施する。

(6)グリホサート

- ・抗アンドロゲン作用について、動物試験結果から、作用が認められた知見が得られている。また、今回実施するレポータージーン試験とは異なる試験管内試験結果から、作用が認められなかった知見も得られている。抗アンドロゲン作用を検出するための第1段階試験管内試験については、試験結果の再現性について再検証中である。このため、本年度の実施は保留とする。

(7)ニトロベンゼン

- ・抗アンドロゲン作用について、動物試験結果から、作用が認められた知見が得られている。抗アンドロゲン作用を検出するための第1段階試験管内試験については、試験結果の再現性について再検証中である。このため、本年度の実施は保留とする。

(8)りん酸トリクレジル

- ・抗エストロゲン作用について、今回実施するレポータージーン試験とは異なる試験管内試験結果から、作用が認められた知見が得られているため、第1段階試験管内試験を実施する。

表1 既存知見から示唆される作用

	検出可能な作用						
	エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモン	抗甲状腺ホルモン	その他
信頼性評価第5回							
フルタミド	—	—	—	(○P)	(○P)	(○P)	(○P)
アセトアルデヒド	—	—	—	—	—	—	(○P)
二硫化炭素	—	—	—	(○P)	(○P)	(○P)	(○P)
フェンバレート	◎P ○N	◎P	○N	◎P ○N (○P)	(○P)	(○P)	(○P)
過塩素酸	—	—	—	—	(○P) (○N)	(○P) (○N)	(○P)
グリホサート	◎N	◎N	—	◎N (○P)	(○N)	(○N)	(○P)
ニトロベンゼン	—	—	—	(○P)	—	—	(○P)
りん酸トリクレジル	◎N	◎P	—	—	—	—	(○P)

◎：試験管内試験により示唆される作用(P：作用が認められた、N：作用が認められなかった)

◎*：今回実施するレポータージーン試験と同等のレポータージーン試験により示唆される作用(同上)

○：単一の作用メカニズムが推定可能な動物試験により示唆される作用(同上)

(○)：単一の作用メカニズムが推定できない動物試験により類推される作用(同上)

—：既存知見なし

表2 第1段階試験群として実施する試験管内試験

	検出可能な作用						
	メダカエストロゲン受容体 α レポーター遺伝子試験		メダカアンドロゲン受容体 β レポーター遺伝子試験		ニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体 β レポーター遺伝子試験		ミジンコ脱皮ホルモン受容体レポーター遺伝子試験
	エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモン	抗甲状腺ホルモン	脱皮ホルモン
信頼性評価第5回							
フルタミド	—	—	—	実施済	○	○	○
アセトアルデヒド	—	—	—	—	—	—	—
二硫化炭素	—	—	—	(○)	○	○	—
フェンバレレート	○	○	■ N	(○)	○	○	—
過塩素酸	—	—	—	—	○	○	—
グリホサート	■ N	■ N	—	(○)	■ N	■ N	—
ニトロベンゼン	—	—	—	(○)	—	—	—
りん酸トリクレジル	■ N	○	—	—	—	—	—
合計 12 試験	1	2	0	0	4	4	1

○：既存知見では不十分であり、第1段階試験管内試験を実施する。

△：既存知見では不十分であるが、動物試験結果から類推される作用であり、第1段階試験管内試験を実施する優先度は低い。

■：既存知見(試験管内試験)で十分であるため、第1段階試験管内試験を実施しない(P：作用が認められた N：作用が認められなかった)。

—：既存知見がなく、現時点では第1段階試験管内試験を実施しない。

(○)：保留

信頼性評価第5回において対象とした8物質：計12試験

*メダカエストロゲン受容体 α レポーター遺伝子試験(エストロゲン作用)

1物質：フェンバレレート

*メダカエストロゲン受容体 α レポーター遺伝子試験(抗エストロゲン作用)

2物質：フェンバレレート、りん酸トリクレジル

*ニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体 β レポーター遺伝子試験(甲状腺ホルモン作用)

4物質：フルタミド、二硫化炭素、フェンバレレート、過塩素酸

*ニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体 β レポーター遺伝子試験(抗甲状腺ホルモン作用)

4物質：フルタミド、二硫化炭素、フェンバレレート、過塩素酸
*ミジンコ脱皮ホルモン受容体レポーター遺伝子試験(脱皮ホルモン作用)
1物質：フルタミド

「第 1 段階試験管内試験として実施する試験(案)」の検討に用いた報告について

「第 1 段階試験管内試験として実施する試験(案)」の検討に当たっては、これまでに行った信頼性評価により「試験対象物質となり得る物質」と判断された物質について、信頼性評価において参照した化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告を再度確認した上で、表 1 及び表 2 を作成した。

1. 表 1 及び表 2 の作成の根拠とした報告

(1)フルタミド

①生態影響(甲殻類)

1) Andersen 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。

想定される作用メカニズム：脱皮ホルモン様作用

②生態影響(魚類)

1) Katsiadaki ら(2006)によって、フルタミド 1、10、50、125、250、500µg/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 µg/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、10µg/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、250µg/L(設定濃度)に 6 ヶ月齢以上から 3 週間ばく露(17α-メチルテストステロン 0.5µg/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、25µg/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、500µg/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 5µg/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、50µg/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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

2) Chakrabarty 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 脳中相対発現量の高値が認められた。

想定される作用メカニズム：視床下部－下垂体－生殖腺軸への作用

- 3) Rajakumar ら(2012)によって、フルタミド 33 μ g/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 *11 β hsd2* mRNA 精巣中相対発現量、ステロイド産生酵素 *17 β hsd12* 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 脳中相対発現量、トリプトファンヒドロキシラーゼ *thh2* mRNA 脳中相対発現量、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。

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

- 4) Garcia-Reyero ら(2009)によって、フルタミド 50、150、500 μ g/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、50 μ g/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 μ g/L に 48 時間ばく露した成熟雌フアットヘッドミノー(*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。

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

- 5) Jolly ら(2009)によって、フルタミド 5、25、50、75、100、250 μ 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 μ 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 μ 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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

- 6) Sebire ら(2008)によって、フルタミド 100、500、1,000 μ g/L(設定濃度)に 21 日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 μ 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 μ 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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

- 7) Filby ら(2007)によって、フルタミド 320 μ 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、

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。

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

8) Jensen 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。

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

9) Panter 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。

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)

1) Massari 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。

想定される作用メカニズム：ホルモン産生への影響

2) Cevasco 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、雄の精原細胞数の高値、雌の閉鎖卵胞存在率の高値が認められた。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

3) van 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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

④生殖への影響

1) Omezzine 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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

2) Svensson(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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

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.

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.

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.
- Rajakumar A, Singh R, Chakrabarty S, Muruganankumar 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

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.

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.

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.

Svensson AI (2012) Flutamide treatment induces anxiolytic-like behavior in adult castrated rats. *Pharmacological Reports*, 64 (2), 275-281.

(2)アセトアルデヒド

①ライディッヒ細胞への影響

1) Santucci 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。

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)

参考文献

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.

(3)二硫化炭素

①生殖への影響

1) Zenick ら(1984)によって、二硫化炭素 607 \pm 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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

2) Tepe と Zenick ら(1984)によって、 607 ± 47 ppm(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 ± 47 ppm(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、 607 ppm 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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

②疫学的調査

1) Zhou 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 $1.7 \sim 14.8$ mg/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。

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

2) Takebayashi 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 ± 2.04 ppm、尿中 2-チオチアゾリジン-4-カルボン酸濃度中央値 1.11 ± 2.31 mg/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。

想定される作用メカニズム：甲状腺への作用

3)Wägar 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。

想定される作用メカニズム：抗アンドロゲン様作用

4)Wägar 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。

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.

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

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.

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.

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.

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.

(4)フェンバレレート

①生殖影響

1)Pine 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 日齢から膣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 以上のばく露群で膣開口日の遅延、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。

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

2)Liu ら(2011)によって、フェンバレレート(異性体混合物)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 17β-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 17β-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。

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

3)Arena ら(2008)によって、フェンバレレート(異性体混合物)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(異性体混合物)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。

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

②甲状腺影響

- 1) Giray ら(2010)によって、フェンバレレート(異性体混合物)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。
- 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

③エストロゲン作用

- 1) Chen ら(2002)によって、フェンバレレート(異性体混合物)0.00001～1 μM(=0.0042～420 μg/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 μg/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(異性体混合物)0.0001～1 μM(=0.042～420 μg/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 μg/L)以上の濃度で PS2 mRNA の発現を誘導した。

- 2) Go ら(1999)によって、フェンバレレート(異性体混合物)0.001～100 μM(=0.42～42,000 μg/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 μg/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(異性体混合物)30 μM(=12,600 μg/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)。

- 3) Garey と Wolff (1998)によって、フェンバレレート(異性体混合物)0.1～10 μM(=42.0～4,200 μg/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 μM(=462 μg/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(異性体混合物)30 μM(=12,600 μg/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。

4)Kunimatsu ら(2002)によって、エスフェンバレレート(異性体混合物)5、10、20mg/kg/day を3日間経口投与した卵巢摘出雌 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(異性体混合物)20、40、80mg/kg/day を3日間経口投与した卵巢摘出雌 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。

④抗エストロゲン作用

1)Kim ら(2004)によって、フェンバレレート(異性体混合物)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。

2)Chen 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(異性体混合物)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。

⑤アンドロゲン作用

1)Kunimatsu 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、精嚢絶対重量、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(異性体混合物)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、精嚢絶対重量、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。

⑥抗アンドロゲン作用

1)Xu ら(2006)によって、フェンバレレート(異性体混合物)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 -ジヒドロテストステロン 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。

2)Kunimatsu 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、精嚢絶対重量、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(異性体混合物)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、精嚢絶対重量、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。

⑦プロゲステロン作用

1)Garey と Wolff (1998)によって、フェンバレレート(異性体混合物)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。

⑧抗プロゲステロン作用

1)Garey と Wolff (1998)によって、フェンバレレート(異性体混合物)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。

⑨卵胞及び顆粒膜細胞への影響

1)Fei ら(2010)によって、フェンバレレート(異性体混合物)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 μ M(=2,100 μ g/L)以上のばく露区でテストステロン産生量、17 β -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。

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

2)Chen ら(2005)によって、フェンバレレート(異性体混合物)1、5、25、125、625 μ M(=420、2,100、10,500、52,500、262,500 μ 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 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、25 μ M(=10,500 μ 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(異性体混合物)25、125 μ M(=10,500、52,500 μ 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 μ M(=10,500 μ 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(異性体混合物)1、5、25、125、625 μ 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 μM (=2,100 $\mu\text{g/L}$)以上のばく露区で P450sec 相対発現量の低値、25 μM (=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。
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

3)He ら(2004)によって、フェンバレレート(異性体混合物) 1、5、25、125 μM (=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 μM (=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 μM (=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(異性体混合物) 5、25、125 μM (=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 μM (=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。
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

⑩ライディッヒ腫瘍細胞への影響

1)Qu ら(2012)によって、フェンバレレート(異性体混合物) 1、5、25、125 μM (=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 μM (=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 μM (=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(異性体混合物)25 μM (=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 μM (=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。

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

2)Qu ら(2008)によって、フェンバレレート(異性体混合物) 1、5、25、125 μM (=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 μM (=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(異性体混合物) 1、5、25、125 μM (=420、2,100、10,500、52,500 $\mu\text{g/L}$)に 24 時間(フォルスコリン 10 μM 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 μM (=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(異性体混合物) 1、5、25、125 μM (=420、2,100、10,500、52,500 $\mu\text{g/L}$)に 24 時間(8-ブromo-cAMP 500 μM 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 μM (=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(異性体混合物) 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シュ腫瘍細胞 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。

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

参考文献

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

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.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

(5)過塩素酸

①生態影響(魚類)

1)Liu ら(2006)によって、過塩素酸ナトリウム 10、100 μ g/L(NaClO₄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 μ 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

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。

想定される作用メカニズム：甲状腺への影響

2) Mukhi ら(2005)によって、過塩素酸アンモニウム 11 \pm 0、90 \pm 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。

想定される作用メカニズム：甲状腺への影響

3) Li 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。

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) Schmidt 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。

想定される作用メカニズム：甲状腺への影響

5) Bradford ら(2005)によって、過塩素酸ナトリウム 180 \pm 103、900 \pm 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。

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

6) Park 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。

想定される作用メカニズム：視床下部一下垂体—甲状腺軸への作用

7)Raldúaら(2009)によって、過塩素酸カリウム 10、180、540、1,260、1,980 μM (=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 μM (=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。

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

8)Patiñoら(2003)によって、過塩素酸アンモニウム 18,000 \pm 200、677,000 \pm 22,000 $\mu\text{g/L}$ (ClO_4^- 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、18,000 $\mu\text{g/L}$ 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、18,000 $\mu\text{g/L}$ 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、677,000 $\mu\text{g/L}$ 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。

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

9)Mukhiら(2007)によって、過塩素酸ナトリウム 100,000、250,000 $\mu\text{g/L}$ (ClO_4^- 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、100,000 $\mu\text{g/L}$ 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250,000 $\mu\text{g/L}$ 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。

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

②生態影響(両生類)

1)Golemanら(2002)によって、過塩素酸アンモニウム 5 \pm 2、18 \pm 2、146 \pm 6、1,412 \pm 32、14,400 \pm 70、133,000 \pm 2,500、425,000 \pm 45,000 $\mu\text{g/L}$ (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、5 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で前肢出現率の低値、18 $\mu\text{g/L}$ 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 $\mu\text{g/L}$ (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。

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

2)Huら(2006)によって、過塩素酸ナトリウム 0.87 \pm 0.09、8.18 \pm 0.38、93.24 \pm 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時間未満胚)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 μ 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。

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

3)Tietge ら(2005)によって、過塩素酸ナトリウム 18 \pm 1、62 \pm 1、247 \pm 11、972 \pm 23、4,000 \pm 25 μ g/L(ClO₄⁻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 μ 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 μ 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 \pm 1、17 \pm 1、34 \pm 1、69 \pm 2、127 \pm 3 μ g/L(ClO₄⁻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 μ 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 \pm 1、62 \pm 1、247 \pm 11、972 \pm 23、4,000 \pm 25 μ g/L(ClO₄⁻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 μ g/L 以上のばく露区で到達 NF stage の低値、4,000 μ g/L ばく露区で体重の高値が認められた。

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

4)Goleman ら(2002)によって、過塩素酸アンモニウム 2 \pm 1、59 \pm 5、14,140 \pm 348 μ g/L(ClO₄⁻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 μ 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 μ 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。

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

5)Hornung ら(2010)によって、過塩素酸ナトリウム 0.04~44 μ M(=5~5,000 μ g/L、ClO₄⁻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、IC₅₀ 値 1.2 μ M(=150 μ g/L、ClO₄⁻換算濃度)の濃度で分泌を阻害した。

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

③生態影響(鳥類)

1)Chen ら(2008)によって、過塩素酸アンモニウム 2,000、4,000mg/L(NH₄ClO₄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。

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

④甲状腺影響

1)York 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。

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

2)Siglin 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。

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

3)Paulus 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。

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)York 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、3mg/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、雌仔動物陰開口日、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。

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

5) Gilbert 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、4.5mg/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、140.3mg/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。

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

6) York 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、10mg/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、30mg/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。

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

7)Stoker 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。

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

⑤疫学的調査

1)Brechner 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、母親の水道水経由ばく露(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。

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

2)Steinmaus 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 1.24~1.89)、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 1.22~1.33)が認められた。

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

3)Braverman 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。

想定される作用メカニズム：抗甲状腺ホルモン様作用

- 4) Buffler 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。
- 5) Kelsh 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。
- 6) Lamm 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 1.17mg/day)、低ばく露作業従事者群(14 名、過塩素酸吸入量 3.98 \pm 2.69mg/day)、中ばく露作業従事者群(8 名、過塩素酸吸入量 10.89 \pm 8.69mg/day)及び高ばく露作業従事者(14 名、過塩素酸吸入量 33.62 \pm 14.52mg/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。
- 7) Li 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 μ g/L 未満 \sim 15 μ 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 μ 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。
- 8) Li 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 μ g/L 未満 \sim 15 μ 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 μ 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。

- 9)Gibbs 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。
- 10)Pearce 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。
- 11)Amitai 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 $340 \mu\text{g}/\text{L}$ 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 $42 \sim 94 \mu\text{g}/\text{L}$)、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 $3 \mu\text{g}/\text{L}$ 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。
- 12)Télliez 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 $113.9 \pm 13.9 \mu\text{g}/\text{L}$ 、尿中過塩素酸濃度 $128.9 \pm 127 \mu\text{g}/\text{L}$)、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 $5.82 \pm 0.63 \mu\text{g}/\text{L}$ 、尿中過塩素酸濃度 $73.2 \pm 178.1 \mu\text{g}/\text{L}$)、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 $0.46 \pm 0.29 \mu\text{g}/\text{L}$ 、尿中過塩素酸濃度 $16 \pm 14.3 \mu\text{g}/\text{L}$)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。

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.
- 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.

- 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.
- 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.
- 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.

- 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.
- 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.
- 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.

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.

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.

Télliez Télliez 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.

(6) グリホサート

①生態影響

1) Soso 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)3,600µg/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。

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

2)Howe 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。

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

②生殖影響

1)Romano 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。

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

2)Dallegrave 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。

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

③エストロゲン作用

1)Petit 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。

④抗エストロゲン作用

1)Gasnier 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、 IC_{50} 値 $3,406.9\mu M(=576,000\mu g/L)$ 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 $3,087.5\mu M(=522,000\mu g/L)$ 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。

⑤抗アンドロゲン作用

1) Gasnier 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、IC₅₀ 値 660.1 μ M(=112,000 μ g/L)の濃度で 5 α -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、IC₅₀ 値 2.13 μ M(=360 μ g/L)の濃度で 5 α -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、IC₅₀ 値 53.2 μ M(=8,990 μ g/L)の濃度で 5 α -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 μ 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、IC₅₀ 値は検出されなかった。

⑥ライディツヒ腫瘍細胞への影響

1)Walsh ら(2000)によって、グリホサート(Roundup、180g/L)12,500、25,000、50,000、100,000 μ g/L に 2 時間ばく露したマウス由来ライディツヒ腫瘍細胞 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 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、グリホサート(Roundup、180g/L)25,000 μ g/L に 2 又は 4 時間ばく露したマウス由来ライディツヒ腫瘍細胞 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 μ M 22R-ヒドロキシコレステロール共存下)、3 β -HSD mRNA 相対発現量、StAR 相対発現量の低値が認められた。

想定される作用メカニズム：ホルモン合成系への作用

⑦アロマターゼへの影響

1)Richard 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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。

想定される作用メカニズム：アロマターゼ活性阻害

2)Gasnier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、400g/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、450g/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。

想定される作用メカニズム：アロマターゼ活性阻害

⑧疫学的調査

1)Arbuckle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。

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

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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

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.

(7)ニトロベンゼン

①生殖影響

1)Kawashima 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。

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—生殖腺軸への影響

②セルトリ細胞への影響

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。

想定される作用メカニズム：インヒビン分泌上昇

参考文献

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.

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.

(8)りん酸トリクレジル

①生態影響

1)Liu ら(2012)によって、りん酸トリクレジル(異性体混合物)8、40、200 μ 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、肝臓中ビテロジェニン 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ビテロジェニン 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。

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-下垂体-生殖腺軸への影響

②生殖影響

1)Chapin 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。

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

③エストロゲン作用

1)Liu ら(2012)によって、りん酸トリクレジル(異性体混合物)10 $\mu\text{g/L}$ 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。

④抗エストロゲン作用

1)Liu ら(2012)によって、りん酸トリクレジル(異性体混合物)10 $\mu\text{g/L}$ 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。

⑤ライディッヒ細胞への影響

1)Chapin ら(1990)によって、りん酸トリ- σ クレジル 1、3、10、30 μM (=368、1,100、3,680、11,000 $\mu\text{g/L}$)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 μM (=368 $\mu\text{g/L}$)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 μM (=3,680 $\mu\text{g/L}$)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 μM (=11,000 $\mu\text{g/L}$)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。

想定される作用メカニズム：テストステロン合成系

⑥副腎がん細胞への影響

1)Liu 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。

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

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.

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.