

## 化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告の 信頼性評価結果と今後の対応（案）

平成 21 年度及び平成 22 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、17 物質に関する報告の信頼性評価の結果をとりまとめたので、以下に示す。（信頼性評価の結果の詳細については、別添参照）

### ○ 平成 21 年度及び平成 22 年度に実施した 17 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（11 物質）

- \*カルバリル：動物試験において、比較的高濃度でミジンコ類、貝類、両生類及びほ乳類の生殖への影響を示すことが示唆され、試験管内試験において、エストロゲン様作用、抗プロゲステロン様作用及び抗甲状腺ホルモン様作用を持つことが示唆されており、また、疫学的調査において尿中 1-ナフトール（カルバリル分解物に相当）濃度と精子濃度、精子運動率及び精子直線速度とに負の相関が認められたため
- \*カルボフラン：動物試験の報告において、ほ乳類の生殖への影響を示すことが示唆されたため
- \*シアナジン：試験管内試験の報告において、抗エストロゲン様作用及び神経内分泌細胞への作用を持つことが示唆されたため
- \*ジウロン：試験管内試験の報告において、抗エストロゲン様作用及び抗アンドロゲン様作用を持つことが示唆されたため
- \*ジクロロボス：動物試験の報告において、ほ乳類の生殖への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、抗アンドロゲン様作用を持つことが示唆されたため
- \*ジクロブロモメタン：動物試験の報告において、ほ乳類の生殖への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、抗生殖腺刺激ホルモン様作用を持つことが示唆され、疫学的調査の報告において、ばく露歴と児の低体重発生率、死産発生率との間に関連性が認められたため
- \*ダイアジノン：動物試験の報告において、ほ乳類の発達への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、比較的高濃度においてエストロゲン様作用を持つことが示唆されたため
- \*フェニトイン：動物試験の報告において、高用量においてほ乳類の生殖及び甲状腺

への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用及び抗甲状腺ホルモン様作用を持つことが示唆され、疫学的調査の報告において、投与歴と血清中ホルモン濃度等の低値等との間に関連性が認められたため

\*フェニトロチオン：動物試験の報告において、ほ乳類及びミジンコ類の生殖への影響並びに魚類の内分泌系への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、アンドロゲン様作用及び抗アンドロゲン様作用を持つことが示唆されたため

\*フェノバルビタール：動物試験の報告において、ほ乳類の生殖及び甲状腺への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、抗エストロゲン様作用を持つことが示唆され、疫学的調査の報告において、投与歴と血清中ホルモン濃度との間に関連性が認められたため

\*ペルフルオロオクタン酸：動物試験において、比較的高濃度で魚類の内分泌系への影響及びほ乳類の生殖への影響、発達への影響及び甲状腺への影響を示すことが示唆され、試験管内試験において、エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用及び抗甲状腺ホルモン様作用を持つことが示唆され、また、疫学的調査において母親血清中ペルフルオロオクタン酸濃度と妊娠までの所要期間との正の相関及び不妊との正の相関が認められたため

## (2) 現時点では試験対象物質としない物質（6物質）

以下の6物質については、今回の信頼性評価の対象となった報告では、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が得られなかったため、現時点では試験対象物質としない。

\*アジピン酸

\*フェナントレン

\*1-ブタノール

\*ベンジルアルコール

\*メタクリル酸メチル

\*EPN

## I. カルバリル

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

カルバリ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、雄性生殖影響、発達・神経影響、エストロゲン様作用、抗プロゲステロン様作用、アンドロゲン様作用、抗甲状腺ホルモン様作用及び芳香族炭化水素受容体への作用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。

#### (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

①Hanazato と Dodson (1995)によって、カルバリル 5、10 $\mu\text{g/L}$ に孵化 24 時間未満令から 9 令までばく露（高溶存酸素条件）されたミジンコ *Daphnia pulex* への影響が検討されている。その結果として、5 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で成熟個体に達するまでの所要日数の遅延、初回産卵における卵数の低値、成熟個体の体長の低値、成長速度の低値が認められた。

また、カルバリル 5、10 $\mu\text{g/L}$ に孵化 24 時間未満令から 9 令までばく露（低溶存酸素条件）されたミジンコ *Daphnia pulex* への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で成長速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、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、初回産卵における卵数の低値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

②Tripathi と Singh(2003)によって、カルバリル 1,000、3,000、6,000、9,000 $\mu\text{g/L}$ に 96 時間ばく露されたモノアラガイ科の一種 *Lymnaea acuminata* への影響が検討されている。その結果として、1,000 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で神経、生殖腺及び肝臓中アセチルコリンエステラーゼ活性の低値、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、用いた被験物質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、産卵数の低値などにより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。

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。

「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。

- ③Vonesh と Buck(2007)によって、カルバリル 7,000 $\mu\text{g/L}$ に 23 日間ばく露されたアマガエル属の一種 *Hyla chrysoscelis* への影響が検討されている。その結果として、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、用いた被験物質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、産卵数の低値などにより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。

#### ○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

- ④Hanazato と Dodson(1992)によって、カルバリル 5、10、15、20 $\mu\text{g/L}$ に 16 時間未満令から成熟までばく露されたミジンコ *Daphnia pulex* 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 1~5 令幼生の体長の低値、成熟個体の体長の低値、3~5 令幼生の neckteeth 保持率の高値、3~5 令幼生に達するまでの所要日数の遅延、成熟個体に達するまでの所要日数の遅延、10 $\mu\text{g/L}$ のばく露区で 5 令幼生生存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、1~5 令幼生の体長の低値、成熟個体の体長の低値、3~5 令幼生の neckteeth 保持率の高値、3~5 令幼生に達するまでの所要日数の遅延、成熟個体に達する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。

- ⑤Rohr ら(2003)によって、カルバリル 0.5、5、50 $\mu\text{g/L}$ に産卵 2 日後から 37 日間ばく露されたサンショウウオの一種 *Ambystoma barbouri* 胚への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu\text{g/L}$ のばく露区でばく露開始から 53 日後の幼生生存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、用いた被験動物が野外で採集した受精卵であることから、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、幼生生存率の低値について、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。

- ⑥Farage-Elawar と Blaker(1992)によって、カルバリル 6、16、65 $\text{mg/kg}$  を受精 15 日目に単回卵内投与されたニワトリ胚への影響が検討されている。その結果として、65 $\text{mg/kg}$  のばく露群で 8~47 日齢行動試験における歩幅の高値、8~47 日齢の行動試験における歩長(同脚間)の低値、8~47 日齢の行動試験における歩幅/歩長(左右脚間)の低値、2 日齢の脳中大脳 5-ヒドロキシインドール酢

酸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、用いた試験動物の成長に関する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、行動試験における歩幅の高値、歩長(同脚間)の低値、歩幅/歩長(左右脚間)の低値、大脳中 5-ヒドロキシインドール酢酸濃度の低値について、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。

#### ○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

⑦Sinha ら(1991b)によって、カルバリル 1,200 $\mu$ g/L に卵黄形成期中において 96 時間ばく露されたナマズの一種 *Clarias batrachus* 雌への影響が検討されている。その結果として、血漿中チロキシン濃度の低値、血漿中トリヨードチロニン濃度の高値、血漿中トリヨードチロニン/チロキシン濃度の高値が認められた。

また、カルバリル 1,200 $\mu$ g/L に卵黄形成期後において 96 時間ばく露されたナマズの一種 *Clarias batrachus* 雌への影響が検討されている。その結果として、血漿中チロキシン濃度の低値、血漿中トリヨードチロニン濃度の高値、血漿中トリヨードチロニン/チロキシ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、用いた被験物質の純度が 50% で不純物の組成が記載されていないこと及び結果の有意差の範囲が記載されていないことから、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。

⑧Choudhury ら(1993)によって、カルバリル 1,660 $\mu$ g/L に最長 90 日間ばく露された成熟雌キノボリウオ *Anabas testudineus* への影響が検討されている。その結果として、卵巣相対重量の低値、血漿及び卵巣中 17 $\beta$ -エストラジオール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、用いた被験物質の純度が 50% で不純物の組成が記載されていないことから、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。

⑨Ghosh ら(1990)によって、カルバリル 1,660 $\mu$ g/L に 30 日間ばく露されたタイワンドジョウ属の一種 *Channa punctatus* への影響が検討されている。その結果として、血漿中性腺刺激ホルモン濃度の低値、下垂体中性腺刺激ホルモン濃度の低値、視床下部中の性腺刺激ホルモン放出ホルモン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、用いた被験物質の入手先及び純度、試験動物の性別及びばく露条件が記載されていないことから、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。

- ⑩Bhattacharya(1993)によって、カルバリル 1,660 $\mu$ g/L に 30 日間ばく露されたタイワンドジョウ属の一種 *Channa punctatus* への影響が検討されている。その結果として、ばく露開始 48 時間後の脳中アセチルコリン濃度の高値、ばく露開始 48 時間後の脳中アセチルコリン活性の低値、ばく露開始 2 日後の血漿中トリヨードチロニン濃度の高値、ばく露開始 2 日後の血漿中チロキシン濃度の低値、ばく露開始 2 日後の血漿中性腺刺激ホルモン濃度の低値、ばく露開始 2 日後の下垂体中性腺刺激ホルモン濃度の低値、ばく露開始 2 日後の視床下部中性腺刺激ホルモン放出ホルモン活性の低値が認められたが、統計学的な有意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、用いた被験物質の入手先及び純度が 50% で不純物の組成が記載されていないことから、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。

- ⑪Sinha ら(1991a)によって、カルバリル 5,000 $\mu$ g/L に産卵前期において 16 日間ばく露されたナマズの一種 *Clarias batrachus* 雌への影響が検討されている。その結果として、血漿中チロキシン濃度の低値、腎臓前葉中チロキシン濃度の高値、血漿、腎臓前葉及び腎臓後葉中トリヨードチロニン濃度の低値、血漿、腎臓前葉及び腎臓後葉中トリヨードチロニン/チロキシン比の低値、腎臓前葉中ペルオキシド活性の高値が認められた。

また、カルバリル 5,000 $\mu$ g/L に産卵期中において 16 日間ばく露されたナマズの一種 *Clarias batrachus* 雌への影響が検討されている。その結果として、血漿及び腎臓前葉中チロキシン濃度の高値、腎臓後葉中チロキシン濃度の低値、血漿中トリヨードチロニン濃度の高値、腎臓後葉中トリヨードチロニン濃度の低値、腎臓後葉中トリヨードチロニン/チロキシン比の高値、腎臓前葉中ペルオキシド活性の高値、腎臓後葉中ペルオキシド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、用いた被験物質の純度が 50% で不純物の組成が記載されていないことから、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。

- ⑫DeRosa ら(1976)によって、セビン (カルバリルを含む製品)20、40、400ppm (餌中濃度) を 10 週齢から 7 週間混餌投与された雌雄ニホンウズラへの影響が検討されている。その結果として、40ppm 以上のばく露群で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、用いた被験物質の入手先、純度及び試験動物の摂餌量が記載されていないことから、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。

⑬Lillie(1973)によって、カルバリル 250、500ppm (餌中濃度) を 32 週齢から 36 週間混餌投与された雌 White Leghorn ニワトリへの影響が検討されている。その結果として、250ppm 以上のばく露群で体重の低値、500ppm ばく露群で 4 週齢仔動物の体重の低値 (成長遅延) が認められたが、日毎産卵率、卵重量、卵比重、日毎摂餌量、受精率、受精卵の孵化率及び胚の外観異常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、体重の低値、仔動物の体重の低値 (成長遅延) 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。

⑭Bursian と Edens (1977)によって、カルバリル 50、150、300、600、900、1,200ppm (餌中濃度) を孵化直後から 14 週間混餌投与された雄ニホンウズラへの影響が検討されている。その結果として、600ppm 以上のばく露群で腎臓相対重量の高値、900ppm のばく露群で肝臓相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、用いた試験動物の入手先、飼育条件及び摂餌量が記載されていないことから、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。

## (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

①Shtenberg と Rybakova (1968)によって、カルバリル 7、14、70mg/kg/day を 1 年間経口投与された雌雄ラットへの影響が検討されている。その結果として、7mg/kg/day 以上のばく露群で精子運動性の低値、14mg/kg/day 以上のばく露群で体重の低値、血液中アセチルコリンエステラーゼ活性の低値、発情間期の長期化による性周期の遅延、70mg/kg/day のばく露群で甲状腺のよう素取り込み速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、用いた被験物質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、精子運動性の低値などにより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。

### ○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

②Weil ら(1973)によって、セビン (カルバリルを含む製品)3、7、25、100mg/kg/day を 5 週齢 F<sub>0</sub>か

ら F<sub>2</sub> まで 3 世代に渡って経口投与されたラットへの影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day のばく露群で雌雄の累積死亡率の高値、妊娠率 (F<sub>0b</sub> ※母動物を示す。以下同じ。) の低値、交配から出産までの所用日数 (F<sub>0b</sub>→F<sub>1b</sub>) の高値、新生仔数 (F<sub>1a</sub>、F<sub>2a</sub>) の低値、胎仔数 (F<sub>2a</sub>) の低値、生存胎仔数 (F<sub>2a</sub>) の低値、胚吸収跡発生率 (F<sub>2a</sub>) の高値が認められた。

また、カルバリル 7、25、100、200mg/kg/day を 5 週齢 F<sub>0</sub> から F<sub>2</sub> まで 3 世代に渡って混餌投与されたラットへの影響が検討されている。その結果として、200mg/kg/day のばく露群で交配から出産までの所用日数 (F<sub>1a</sub>) 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、死亡率の高値が認められた用量での妊娠率の低値、交配から出産までの所用日数の高値、新生仔数の低値、胎仔数の低値、生存胎仔数の低値、胚吸収跡発生率の高値について、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。

③Lechner と Abdel-Rahman(1984)によって、カルバリル 1、10、100mg/kg/day を交尾前から妊娠 20 日目まで 3 ヶ月間経口投与された SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day のばく露群で母動物の体重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、用いた被験物質の入手先、純度及び試験動物の入手先に関する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、母動物の体重の低値について、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。

④Gregory ら(1993)によって、カルバリル 500ppm (餌中濃度) を交配から 7 週間混餌投与された雌雄成熟ハツカネズミへの影響が検討されている。その結果として、500ppm のばく露群で出産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、用いた試験動物の入手先に関する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、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。

⑤Collins ら(1971)によって、カルバリル 2,000、5,000、10,000ppm (餌中濃度) を離乳後 F<sub>0</sub> から F<sub>2</sub> まで 3 世代に渡って混餌投与された雌雄ラットへの影響が検討されている。その結果として、2,000ppm 以上のばく露群で雌雄の新生仔離乳時体重 (F<sub>0a</sub>、F<sub>0b</sub>、F<sub>1a</sub>、F<sub>1b</sub>、F<sub>2a</sub> 及び F<sub>2b</sub> ※母動物を示す。以下同じ。) の低値、5,000ppm 以上のばく露群で同腹仔数 (F<sub>0a</sub> 及び F<sub>1a</sub>) の低値、0 日齢新生仔生存数 (F<sub>0a</sub>、F<sub>1a</sub> 及び F<sub>1b</sub>) の低値、4 日齢新生仔生存数 (F<sub>0a</sub>、F<sub>0b</sub>、F<sub>1a</sub> 及び F<sub>1b</sub>) の

低値、離乳仔生存数 ( $F_{0a}$ 、 $F_{0b}$ 、 $F_{1a}$  及び  $F_{1b}$ ) の低値、10,000ppm のばく露群で同腹仔数 ( $F_{0b}$  及び  $F_{1b}$ ) の低値、0 日齢新生仔生存数 ( $F_{0b}$ ) の低値、受胎率 ( $F_{1a}$  及び  $F_{1b}$ ) の低値が認められた。

また、カルバリル 2,000、4,000、6,000、10,000ppm (餌中濃度) を離乳後  $F_0$  から  $F_2$  まで 3 世代に渡って混餌投与された雌雄スナネズミへの影響が検討されている。その結果として、2,000ppm 以上のばく露群で 4 日齢新生仔生存数 ( $F_{1a}$ 、 $F_{1b}$ 、 $F_{2a}$  及び  $F_{2b}$ ) の低値、離乳仔生存数 ( $F_{2a}$  及び  $F_{2b}$ ) の低値、2,000、4,000ppm のばく露群で 0 日齢新生仔生存数 ( $F_{2a}$ ) の低値、2,000、6,000、10,000ppm のばく露群で受胎率 ( $F_{2b}$ ) の低値、0 日齢新生仔生存数 ( $F_{2b}$ ) の低値、2,000、10,000ppm のばく露群で受胎率 ( $F_{2b}$ ) の低値、同腹仔数 ( $F_{2b}$ ) の低値、4,000ppm 以上のばく露群で雄新生仔離乳時体重 ( $F_{0a}$ ) の低値、4 日齢新生仔生存数 ( $F_{0a}$ ) の低値、同腹仔数 ( $F_{1a}$ ) の低値、0 日齢新生仔生存数 ( $F_{1a}$ ) の低値、離乳仔生存数 ( $F_{1a}$  及び  $F_{1b}$ ) の低値、雌新生仔離乳時体重 ( $F_{2b}$ ) の低値、4,000ppm のばく露群で受胎率 ( $F_{0a}$ ) の低値、雄新生仔離乳時体重 ( $F_{2a}$ ) の低値、6,000ppm 以上のばく露群で 4 日齢新生仔生存数 ( $F_{0b}$ ) の低値、10,000ppm のばく露群で離乳仔生存数 ( $F_{0a}$  及び  $F_{0b}$ ) の低値、0 日齢新生仔生存数 ( $F_{0a}$ 、 $F_{1b}$ ) の低値、受胎率 ( $F_{1a}$  及び  $F_{1b}$ ) の低値、同腹仔数 ( $F_{1b}$ ) の低値、雄新生仔離乳時体重 ( $F_{1a}$ ) の低値、雌新生仔離乳時体重 ( $F_{1a}$ 、 $F_{1b}$  及び  $F_{2a}$ ) 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、用いた被験物質の入手先、試験動物の離乳の日齢及び摂餌量に関する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、雌雄の新生仔離乳時体重の低値、同腹仔数の低値、0 日齢新生仔生存数の低値、4 日齢新生仔生存数の低値、離乳仔生存数の低値、受胎率の低値について、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。

#### ○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

⑥Weil ら(1972)によって、カルバリル 20、100、500mg/kg/day を妊娠 5 日目 (98 日齢で交配) から妊娠 15 日目まで混餌投与された Carworth-Elias ラットへの影響が検討されている。その結果として、20mg/kg/day のばく露群で 21 日齢同腹仔生存数の低値、4 日齢から 21 日齢までの新生仔生存率の低値が認められた。

また、カルバリル 20、100、500mg/kg/day を妊娠 1 日目 (98 日齢で交配) から妊娠 19~21 日目まで混餌投与された Carworth-Elias ラットへの影響が検討されている。その結果として、500mg/kg/day のばく露群で出産 4 日目の同腹仔生存数の低値、21 日齢同腹仔生存数の低値、誕生から 4 日齢までの新生仔生存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、同腹仔生存数の低値、新生仔生存率の低値について、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。

### (3) 雄性生殖影響

#### ○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

①Pantら(1996)によって、カルバリル 25、50、100mg/kg/day を 60 日間（週 5 日）経口投与された成熟雄 Druckerly ラットへの影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上のばく露群で運動精子率の低値、精巣上体中精子数の低値、奇形精子率の高値が認められた。

また、カルバリル 25、50、100mg/kg/day を 60 日間（週 5 日）経口投与された幼若雄 Druckerly ラットへの影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上のばく露群で運動精子率の低値、精巣上体中精子数の低値、奇形精子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、用いた試験動物の週齢や飼育条件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、運動精子率の低値、精巣上体中精子数の低値、奇形精子率の高値などにより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。

②Pantら(1995)によって、カルバリル 50、100mg/kg/day を 90 日間（週 5 日）経口投与された成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上のばく露群で運動精子率の低値、精巣上体中精子数の低値、奇形精子率の高値、精巣中ラクテートデヒドロゲナーゼ活性の高値、精巣中 $\gamma$ -グルタミルトランススベプチダーゼ活性の高値、100mg/kg/day のばく露群で精巣中グルコース-6 リン酸デヒドロゲナーゼ活性の低値、精巣中ソルビトールデヒドロゲナーゼ活性の低値、体重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、運動精子率の低値、精巣上体中精子数の低値、奇形精子率の高値などにより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

③Luca と Balan(1987)によって、カルバリル 12.5、25、125mg/kg/day を最長 18 ヶ月間混餌投与された成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、12.5mg/kg/day 以上のばく露群で尾側精巣上体中精子の形態異常精子発生率の高値、骨髄細胞染色体異常発生率の高値が認められたが、有意差検定は行われていない。

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、用いた試験動物の入手先、被験物質の入手先や純度が記載されていないこと及び試験結果の有意差検定が行われていないことから、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。

- ④ Thomas ら(1974)によって、カルバリル 8.5、17、35mg/kg/day を 5 日間経口投与された Swiss-Webster マウスへの影響が検討されている。その結果として、精巣相対重量、前立腺相対重量、前立腺中への標識テストステロン取り込み率に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、用いた試験動物の入手先、各ばく露区の個体数及び飼育条件が記載されていないことから、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。

#### (4) 発達・神経影響

##### ○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

- ① Murray ら(1979)によって、カルバリル 150、200mg/kg/day を妊娠 6 日目から 13 日間経口投与された NZW ウサギへの影響が検討されている。その結果として、150mg/kg/day 以上のばく露群で母動物増加体重の低値、150mg/kg/day のばく露群で胎仔体重の低値、200mg/kg/day のばく露群で同腹胚吸収数の高値、奇形（臍帯ヘルニア）胎仔数の高値が認められた。

また、カルバリル 100、150mg/kg/day を妊娠 6 日目から 10 日間経口投与された CF-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、150mg/kg/day のばく露群で母動物死亡率の高値、母動物増加体重の低値が認められた。

また、カルバリル 1,166mg/kg/day を妊娠 6 日目から 10 日間混餌投与された CF-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、1,166mg/kg/day のばく露群で母動物増加体重の低値、胎仔体重の低値、胎仔頭臀長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、母動物増加体重の低値、胎仔体重の低値、同腹胚吸収数の高値、奇形（臍帯ヘルニア）胎仔数の高値、胎仔頭臀長の低値について、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、評価ができなるとされた。

##### ○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

- ② Ray と Poddar(1985)によって、カルバリル 50、100、200、400mg/kg を単回経口投与された成熟雄 CF ラットへの影響が検討されている。その結果として、50mg/kg 以上のばく露群で投与 1 時間後の振戦の重篤度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、用いた試験動物の入手先及び被験物質の投与方法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、振戦の重篤度スコアの高値について、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。

③Mathur と Bhatnagar(1991)によって、カルバリル 100、150、200mg/kg を妊娠 8 日目に単回経口投与された Swiss マウスへの影響が検討されている。その結果として、100mg/kg 以上のばく露群で胎仔奇形（中手骨、前指骨及び後指骨の部分的骨化）発生率の高値、100 及び 150mg/kg のばく露群で胎盤重量の高値、100mg/kg のばく露群で胎仔奇形（腎盂肥大、頭蓋骨、胸骨及び脊柱の部分的骨化、肋骨数減少）発生率の高値、150mg/kg 以上のばく露群で胎仔奇形（開眼、小脳室肥大）発生率の高値、150mg/kg/day のばく露群で胎仔体重の低値、200mg/kg/day のばく露群で母動物増加体重の低値、着床数の低値、同腹胎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、用いた試験動物の飼育条件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、胎仔奇形発生率の高値、胎盤重量の高値、胎仔体重の低値、母動物増加体重の低値、着床数の低値、同腹胎仔数の低値について、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。

## (5) エストロゲン様作用

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Klotz ら(1997)によって、カルバリルについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 を用いたレポーターアッセイ（プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有する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、カルバリルは、0.1 $\mu$ M の濃度においてルシフェラーゼの発現を誘導し、0.1 $\mu$ M の濃度において 17 $\beta$ -エストラジオール 0.5nM によるルシフェラーゼの発現を阻害した。

また、Ishikawa 子宮内膜がん細胞を用いたレポーターアッセイにおいては、0.1 $\mu$ M の濃度において 17 $\beta$ -エストラジオール 1nM によるルシフェラーゼの発現を阻害したが、0.1 $\mu$ M の濃度においてルシフェラーゼの発現を誘導しなかった。

また、カルバリルについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 エストロゲン受容体への結合阻害試験が検討されている。その結果として、カルバリルは、1、10 $\mu$ M の濃度において 17 $\beta$ -エストラジオール 0.5nM の受容体結合を阻害した。

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、溶媒 DMSO の濃度が比較的高い

(1%) 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、ルシフェラーゼの発現の誘導、17 $\beta$ -エストラジオールによるルシフェラーゼの発現の阻害及び 17 $\beta$ -エストラジオールの受容体結合の阻害などにより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。

#### ○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

②Blairら(2000)によって、カルバリルについて、SD ラット子宮細胞エストロゲン受容体への結合阻害試験が検討されている。その結果として、カルバリルは、1~1,000 $\mu$ M の濃度において 17 $\beta$ -エストラジオール 1nM の受容体結合に対し IC<sub>50</sub> 値を示さなかった。

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、エストロゲン受容体以外の受容体ないし結合タンパクの関与が否定できないため、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 $\beta$ -エストラジオールの受容体結合に対し IC<sub>50</sub> 値を示さなかったことについて、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。

#### ○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

③Lemaireら(2006)によって、HeLa ヒト子宮がん細胞を用いたレポーターアッセイ (プロモータ領域にエストロゲン受容体  $\alpha$  応答性配列を有する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、カルバリルは、3、10 $\mu$ M の濃度において 17 $\beta$ -エストラジオール 0.1nM によるルシフェラーゼの発現を阻害したが、0.01、0.03、0.1、0.3、1、3、10、30 $\mu$ M の濃度においてルシフェラーゼの発現を誘導しなかった。

また、カルバリルについて、HeLa ヒト子宮がん細胞エストロゲン受容体  $\alpha$  への結合阻害試験が検討されている。その結果として、カルバリルは、3、10 $\mu$ M の濃度において 17 $\beta$ -エストラジオール 0.1nM の受容体結合を阻害した。

また、カルバリルについて、HeLa ヒト子宮がん細胞を用いたレポーターアッセイ (プロモータ領域にエストロゲン受容体  $\beta$  応答性配列を有する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、カルバリルは、10、30 $\mu$ M の濃度においてルシフェラーゼの発現を誘導し、10 $\mu$ M の濃度において 17 $\beta$ -エストラジオール 0.1nM によるルシフェラーゼの発現を阻害した。

また、カルバリルについて、HeLa ヒト子宮がん細胞エストロゲン受容体  $\beta$  への結合阻害試験が検討されている。その結果として、カルバリルは、10 $\mu$ M の濃度において 17 $\beta$ -エストラジオール 0.1nM の受容体結合を阻害した。

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、被験物質の入手先や純度が記載さ

れていないこと及び図に記載された試験濃度と本文に記載された試験濃度が一致しないことから、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。

## (6) 抗プロゲステロン様作用

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Klotzら(1997)によって、カルバリルについて、ヒト乳がん細胞 T47D を用いたレポーターアッセイ(プロモータ領域にヒトプロゲステロン受容体応答性配列を有する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、カルバリルは、0.1 $\mu$ M の濃度においてルシフェラーゼの発現を誘導し、0.1 $\mu$ M の濃度においてプロゲステロン 1nM によるルシフェラーゼの発現を阻害した。

また、カルバリルについて、ヒト乳がん細胞 T47D プロゲステロン受容体への結合阻害試験が検討されている。その結果として、カルバリルは、1、10 $\mu$ M の濃度においてプロゲステロン受容体アゴニスト R5020 1nM の受容体結合を阻害した。

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、用いた溶媒 DMSO の濃度が比較的高い(1%)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、ルシフェラーゼの発現の誘導、プロゲステロンによるルシフェラーゼの発現の阻害及びプロゲステロン受容体アゴニスト R5020 の受容体結合の阻害などにより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。

②Chengら(2006)によって、カルバリル 1、5、25、125 $\mu$ M に 24 時間ばく露されたヒト顆粒膜黄体細胞への影響が検討されている。その結果として、1 $\mu$ M 以上のばく露区で卵胞刺激ホルモン誘導性プロゲステロン分泌量の低値、5 $\mu$ M 以上のばく露区で卵胞刺激ホルモン誘導性 cAMP 分泌量の低値、25 $\mu$ M 以上のばく露区でプロゲステロン分泌量の低値、cAMP 分泌量の低値が認められた。

また、カルバリル 25、125 $\mu$ M に 24 時間ばく露されたヒト顆粒膜黄体細胞への影響が検討されている。その結果として、25 $\mu$ M 以上のばく露区でプロゲステロン分泌量の低値、*StAR* (ステロイド合成急性調節蛋白質) mRNA 発現量の低値、cAMP 分泌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、卵胞刺激ホルモン誘導性プロゲステロン分泌量の低値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

## (7) 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

①Schein ら(1979)によって、カルバリルについて、Swiss-Webster マウス前立腺細胞アンドロゲン受容体への結合阻害試験が検討されている。その結果として、カルバリルは、0.01、0.1、1、10 $\mu$ Mの濃度において5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 1nM の受容体結合に対し IC<sub>50</sub> 値を示さなかった。

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、5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 1nM の受容体結合に対し IC<sub>50</sub> 値を示さなかった。「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) 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る報告

①Sun ら(2008)によって、カルバリルについて、ヒト肝がん細胞 HepG2 を用いたレポーターアッセイ(リガンド結合領域に甲状腺ホルモン受容体  $\beta$  応答性配列を有する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、カルバリルは、IC<sub>50</sub> 値 84 $\mu$ M の濃度においてトリヨードチロニン 5nM によるルシフェラーゼの発現を阻害したが、10、50、100 $\mu$ M の濃度においてルシフェラーゼの発現を誘導しなかった。

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、用いたリガンド結合領域及びレポータープラスミドに関する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、トリヨードチロニンによるルシフェラーゼの発現の阻害などにより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。

## (9) 芳香族炭化水素受容体への作用

### ○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

①Bohonowych と Denison(2007)によって、カルバリルについて、Hartley モルモット肝細胞芳香族炭化水素受容体への結合阻害試験が検討されている。その結果として、カルバリルは、IC<sub>50</sub> 値 100 $\mu$ M の濃度において2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-*p*-ダイオキシン 2nM の受容体結合を阻害した。

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、用いた被験物質の純度の記載がないことから、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。

#### (10) 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

①Meekerら(2004)によって、カルバリルについて、米国ボストン市 Massachusetts General Hospital にて 2000 年 1 月から 2003 年 4 月にかけて不妊症診断に訪れた女性の配偶者（男性 272 名）への影響が検討されている。その結果として、尿中 1-ナフトール（カルバリル分解物に相当）濃度のロジスティック回帰分析（三分位間）において、精子濃度（ $p = 0.01$ ）及び精子運動率（ $p = 0.01$ ）とに負の相関（低濃度三分位と中及び高濃度三分位間）が認められた。また、1-ナフトール（カルバリル分解物に相当）濃度の多変数線形回帰分析（三分位間）において精子運動率（ $p = 0.03$ ）及び精子直線速度（ $p = 0.02$ ）とに負の相関が認められた。

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、尿中 1-ナフトール（カルバリル分解物に相当）濃度と精子濃度、精子運動率及び精子直線速度とに負の相関が認められたなどの内分泌系への影響が示唆され、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。

②Meekerら(2006b)によって、カルバリルについて、米国ボストン市 Massachusetts General Hospital にて 2000 年 1 月から 2003 年 4 月にかけて不妊症診断に訪れた女性の配偶者（男性 268 名）への影響が検討されている。その結果として、尿中 1-ナフトール（カルバリル分解物に相当）濃度の多変数線形回帰分析（五分位間）において血清中テストステロン濃度とに負の相関（補正回帰係数  $-24.31$ 、95%信頼区間  $-43.3 \sim -5.21$ ）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、尿中 1-ナフトール（カルバリル分解物に相当）濃度と血清中テストステロン濃度とに負の相関が認められたなどの内分泌系への影響が示唆され、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

③Whortonら(1979)によって、カルバリルについて、米国 Union Carbide Corporation 社にて生産又は梱包作業に 1 年以上従事した社内作業従事者（男性 101 名）への影響が検討されている。その結果として、社外作業従事者（男性 90 名）との比較において、精子減少症患者発生率の高値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、ばく露量について記載されていないことから、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。

- ④Savitzら(1997)によって、カルバリルについて、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、作物用除草剤としてのカルバリルの使用と流産 23 件とにリスク率 15.2%（補正オッズ比 1.9、95%信頼区間 1.1~3.1）、作物用殺虫剤としてのカルバリルの使用と流産 13 件とにリスク率 17.6%（補正オッズ比 2.1、95%信頼区間 1.1~4.1）、牧場用除草剤としてのカルバリルの使用と流産 11 件とにリスク率 11.3%（補正オッズ比 1.3、95%信頼区間 0.6~2.5）、作物用除草剤としてのカルバリルの使用と未熟仔 6 件とにリスク率 4.9%（補正オッズ比 0.7、95%信頼区間 0.3~1.8）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、ばく露量について記載されていないことから、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。

- ⑤Xiaら(2005)によって、カルバリルについて、中国常州市にて職業ばく露した工場内作業従事者（男性 16 名）への影響が検討されている。その結果として、工場内非ばく露集団（男性 16 名）及び工場外非ばく露集団（男性 16 名）との比較において、精子形態異常率（総）、精子形態異常率（頭部）、精子形態異常率（尾部）、精子中 DNA 断片化発生率、二染色体精子出現率、零染色体性精子出現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、対照者の選定方法について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、精子形態異常率、精子中 DNA 断片化発生率、二染色体精子出現率、零染色体性精子出現率の高値について、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。

- ⑥Meekerら(2006a)によって、カルバリルについて、米国ボストン市 Massachusetts General Hospital にて 2000 年 1 月から 2003 年 4 月にかけて不妊症診断に訪れた女性の配偶者（男性 322 名）への影響が検討されている。その結果として、尿中 1-ナフトール（カルバリル分解物に相当）濃度の多変数線形回帰分析（五分位間）において血清中チロキシン濃度、血清中総トリヨードチロニン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度とに関連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、尿中 1-ナフトール（カルバリル分解物に相

当) 濃度と血清中チロキシン濃度、血清中総トリヨードチロニン濃度、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度とに関連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。

## 2. 総合的判断 (案)

カルバリルに関する報告について信頼性評価を実施した結果、動物試験において、ミジンコ類、貝類、両生類及びほ乳類の生殖への影響を示すことが示唆され、試験管内試験において、エストロゲン様作用、抗プロゲステロン様作用及び抗甲状腺ホルモン様作用を持つことが示唆されており、また、疫学的調査において尿中 1-ナフトール (カルバリル分解物に相当) 濃度と精子濃度、精子運動率及び精子直線速度とに負の相関が認められた。

以上に基づき、本物質は内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得ると判断された。

なお、信頼性評価のまとめを表 1 に示した。

表 1 信頼性評価のまとめ(1)

物質名：カルバリル

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)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(1) 生態影響	①Hanazato と Dodson	○	○P	○
	②Tripathi と Sinha	△	○P	○
	③Vonesh と Bask	△	○P	○
	④Hanazato と Dodson	○	?	—
	⑤Rohr ら	△	?	—
	⑥Farage-Elawar と Blaker	△	?	—
	⑦Sinha ら	×	—	×
	⑧Choudhury ら	×	—	×
	⑨Ghosh ら	×	—	×
	⑩Bhattacharya	×	—	×
	⑪Sinha ら	×	—	×
	⑫DeRosa ら	×	—	×
	⑬Lillie	○	×	×
	⑭Bursian と Edens	×	—	×
(2) 生殖影響	①Shtenberg と Rybakova	△	○P	○
	②Weil ら	○	?	—
	③Lechner と Abdel-Rahman	△	?	—
	④Gregory ら	△	?	—
	⑤Collins ら	△	?	—
	⑥Weil ら	○	×	×
(3) 雄性生殖影響	①Pant ら	△	○P	○
	②Pant ら	○	○P	○
	③Luca と Balan	×	—	×
	④Thomas ら	×	—	×
(4) 発達・神経影響	①Murray ら	○	?	—
	②Ray と Poddar	△	×	×
	③Mathur と Bhatnagal	△	×	×
(5) エストロゲン様作用	①Klotz ら	△	○P	○
	②Blair ら	△	?	—
	③Lemaire ら	△	×	×

表 1 信頼性評価のまとめ(2)

物質名：カルバリル

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)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(6) 抗プロゲステロン様作用	①Klotz ら	△	○P	○
	②Cheng ら	○	○P	○
(7) アンドロゲン様作用	①Schein ら	△	○N	×
(8) 抗甲状腺ホルモン様作用	①Sun ら	△	○P	○
(9) 芳香族炭化水素受容体への作用	①Bohonowych と Denison	×	—	×
(10) 疫学的調査	①Meeker ら	○	○P	○
	②Meeker ら	○	○P	○
	③Whorton ら	×	—	×
	④Savitz ら	×	—	×
	⑤Xia ら	△	×	×
	⑥Meeker ら	○	○N	×
今後の対応案	動物試験において、比較的高濃度でミジンコ類、貝類、両生類及びほ乳類の生殖への影響を示すことが示唆され、試験管内試験において、エストロゲン様作用、抗プロゲステロン様作用及び抗甲状腺ホルモン様作用を持つことが示唆されており、また、疫学的調査において尿中 1-ナフトール（カルバリル分解物に相当）濃度と精子濃度、精子運動率及び精子直線速度とに負の相関が認めら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

Bhattacharya S (1993) Target and non-target effects of anticholinesterase pesticides in fish.

Science of Total Environment, Supplement, 859-866. ((1) 本文中の作用の区分⑩報告の番号を示す。以下同じ。)

Blair RM, Fang H, Branham WS, Hass BS, Dial SL, Moland CL, Tong W, Shi L, Perkins R and Sheehan DM (2000) The estrogen receptor relative binding affinities of 188 natural and xenochemicals: structural diversity of ligands. *Toxicological Sciences*, 54 (1), 138-153. ((5) ②)

Bohonowych JE and Denison MS (2007) Persistent binding of ligands to the aryl hydrocarbon receptor. *Toxicological Sciences*, 98 (1), 99-109. ((9) ①)

Bursian SJ and Edens FW (1977) The prolonged exposure of Japanese quail to carbaryl and its effects on growth and reproductive parameters. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 17 (3), 360-368. ((1) ⑭)

Cheng S, Chen J, Qiu Y, Hong X, Xia Y, Feng T, Liu J, Song L, Zhang Z and Wang X (2006) Carbaryl inhibits basal and FSH-induced progesterone biosynthesis of primary human granulosa-lutein cells. *Toxicology*, 220 (1), 37-45. ((6) ②)

Choudhury C, Ray AK, Bhattacharya S and Bhattacharya S (1993) Non lethal concentrations of pesticide impair ovarian function in the freshwater perch, *Anabas testudineus*. *Environmental Biology of Fishes*, 36 (3), 319-324. ((1) ⑧)

Collins TFX, Hansen WH and Keeler HV (1971) The effect of carbaryl (Sevin) on reproduction of the rat and the gerbil. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 19 (2), 202-216. ((2) ⑤)

DeRosa CT, Taylor DH, Farrell MP and Seilkop SK (1976) Effects of Sevin on the reproductive biology of the *Coturnix*. *Poultry Science*, 55 (6), 2133-2141. ((1) ⑫)

Farage-Elawar M and Blaker WD (1992) Chick embryo exposure to carbamates alters neurochemical parameters and behavior. *Journal of Applied Toxicology*, 12 (6), 421-426. ((1) ⑥)

Ghosh P, Bhattacharya S and Bhattacharya S (1990) Impairment of the regulation of gonadal function in *Channa punctatus* by metacid-50 and carbaryl under laboratory and field conditions. *Biomedical and Environmental Sciences*, 3 (1), 106-112. ((1) ⑨)

Gregory DA, Johnson DL and Thompson BH (1993) The impact of bran baits treated with the insecticides carbaryl, chlorpyrifos, and dimethoate on the survivorship and reproductive success of non-target mouse populations. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 45 (1-2), 95-103. ((2) ④)

Hanazato T and Dodson SI (1992) Complex effects of a kairomone of *Chaoborus* and an insecticide on *Daphnia pulex*. *Journal of Plankton Research*, 14 (12), 1743-1755. ((1) ④)

Hanazato T and Dodson SI (1995) Synergistic effects of low oxygen concentration, predator kairomone, and a pesticide on the cladoceran *Daphnia pulex*. *Limnology and Oceanography*, 40 (4), 700-709. ((1) ①)

Klotz DM, Arnold SF and McLachlan JA (1997) Inhibition of 17 beta-estradiol and progesterone activity in human breast and endometrial cancer cells by carbamate insecticides. *Life Sciences*, 60 (17), 1467-1475. ((5) ①、(6) ①)

- Lechner DM and Abdel-Rahman MS (1984) A teratology study of carbaryl and malathion mixtures in rat. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 14 (2-3), 267-278. ((2) ③)
- Lemaire G, Mnif W, Mauvais P, Balaguer P and Rahmani R (2006) Activation of alpha- and beta-estrogen receptors by persistent pesticides in reporter cell lines. *Life Sciences*, 79 (12), 1160-1169. ((5) ③)
- Lillie RJ (1973) Studies on the reproductive performance and progeny performance of caged White Leghorns fed malathion and carbaryl. *Poultry Science*, 52 (1), 266-272. ((1) ⑬)
- Luca D and Bălan M (1987) Sperm abnormality assay in the evaluation of the genotoxic potential of carbaryl in rats. *Morphology and Embryology*, 33 (1), 19-22. ((3) ③)
- Mathur A and Bhatnagar P (1991) A teratogenic study of carbaryl in Swiss albino mice. *Food and Chemical Toxicology*, 29 (9), 629-632. ((4) ③)
- Meeker JD, Ryan L, Barr DB, Herrick RF, Bennett DH, Bravo R and Hauser R (2004) The relationship of urinary metabolites of carbaryl/naphthalene and chlorpyrifos with human semen quality. *Environmental Health Perspectives*, 112 (17), 1665-1670. ((10) ①)
- Meeker JD, Barr DB and Hauser R (2006a) Thyroid hormones in relation to urinary metabolites of non-persistent insecticides in men of reproductive age. *Reproductive Toxicology*, 22 (3), 437-442. ((10) ⑥)
- Meeker JD, Ryan L, Barr DB and Hauser R (2006b) Exposure to nonpersistent insecticides and male reproductive hormones. *Epidemiology*, 17 (1), 61-68. ((10) ②)
- Murray FJ, Staples RE and Schwetz BA (1979) Teratogenic potential of carbaryl given to rabbits and mice by gavage or by dietary inclusion. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 51 (1), 81-89. ((4) ①)
- Pant N, Srivastava SC, Prasad AK, Shankar R and Srivastava SP (1995) Effects of carbaryl on the rat's male reproductive system. *Veterinary and Human Toxicology*, 37 (5), 421-425. ((3) ②)
- Pant N, Shankar R and Srivastava SP (1996) Spermatotoxic effects of carbaryl in rats. *Human and Experimental Toxicology*, 15 (9), 736-738. ((3) ①)
- Ray SK and Poddar MK (1985) Central cholinergic-dopaminergic interaction in carbaryl-induced tremor. *European Journal of Pharmacology*, 119 (3), 251-253. ((4) ③)
- Rohr JR, Elskus AA, Shepherd BS, Crowley PH, McCarthy TM, Niedzwiecki JH, Sager T, Sih A and Palmer BD (2003) Lethal and sublethal effects of atrazine, carbaryl, endosulfan, and octylphenol on the streamside salamander (*Ambystoma barbouri*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22 (10), 2385-2392. ((1) ⑤)
- Savitz DA, Arbuckle T, Kaczor D and Curtis KM (1997) Male pesticide exposure and pregnancy outcome. *American Journal of Epidemiology*, 146 (12), 1025-1036. ((10) ④)
- Schein LG, Donovan MP, Thomas JA and Felice PR (1979) Effects of pesticides on <sup>3</sup>H-dihydrotestosterone binding to cytosol proteins from various tissues of the mouse. *Journal of*

Environmental Pathology and Toxicology, 3 (1-2), 461-470. ((7) ①)

Shtenberg AI and Rybakova MN (1968) Effect of carbaryl on the neuroendocrine system of rats. Food and Cosmetics Toxicology, 6 (4), 461-467. ((2) ①)

Sinha N, Lal B and Singh TP (1991a) Carbaryl-induced thyroid dysfunction in the freshwater catfish *Clarias batrachus*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 21 (3), 240-247. ((1) ①)

Sinha N, Lal B and Singh TP (1991b) Pesticides induced changes in circulating thyroid hormones in the freshwater catfish *Clarias batrachus*. Comparative Biochemistry and Physiology C, 100 (1-2), 107-110. ((1) ⑦)

Sun H, Shen OX, Xu XL, Song L and Wang XR (2008) Carbaryl, 1-naphthol and 2-naphthol inhibit the beta-1 thyroid hormone receptor-mediated transcription *in vitro*. Toxicology, 249 (2-3), 238-242. Thomas JA, Dieringer CS, and Schein L (1974) Effects of carbaryl on mouse organs of reproduction. Toxicology and Applied Pharmacology, 28 (1), 142-145. ((8) ①)

Thomas JA, Dieringer CS and Schein L (1974) Effects of carbaryl on mouse organs of reproduction. Toxicology and Applied Pharmacology, 28 (1), 142-145. ((3) ④)

Tripathi PK and Singh A (2003) Toxic effects of dimethoate and carbaryl pesticides on reproduction and related enzymes of the freshwater snail *Lymnaea acuminata*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 71 (3), 535-542. ((1) ②)

Vonesh JR and Buck JC (2007) Pesticide alters oviposition site selection in gray treefrogs. Oecologia, 154 (1), 219-226. ((1) ③)

Weil CS, Woodside MD, Carpenter CP and Smyth HF Jr (1972) Current status of tests of carbaryl for reproductive and teratogenic effect. Toxicology and Applied Pharmacology, 21 (3), 390-404. ((2) ⑥)

Weil CS, Woodside MD, Bernard JB, Condra NI, King JM and Carpenter CP (1973) Comparative effect of carbaryl on rat reproduction and guinea pig teratology when fed either in the diet or by stomach intubation. Toxicology and Applied Pharmacology, 26 (4), 621-638. ((2) ②)

Whorton MD, Milby TH, Stubbs HA, Avashia BH and Hull EQ (1979) Testicular function among carbaryl-exposed employees. Journal of Toxicology and Environmental Health, 5 (5), 929-941. ((10) ③)

Xia Y, Cheng S, Bian Q, Xu L, Collins MD, Chang HC, Song L, Liu J, Wang S and Wang X (2005) Genotoxic effects on spermatozoa of carbaryl-exposed workers. Toxicological Sciences, 85 (1), 615-623. ((10) ⑤)

## II. カルボフラン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

カルボフランの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、生殖影響、エストロゲン様作用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。

#### (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ない報告

①Waring と Moore (1997) によって、カルボフラン 1.1、2.7、6.5、13.9、22.7 $\mu\text{g/L}$  に 5 日間ばく露された成熟雄アトランティックサーモン *Salmo salar* (投与終了前に生殖行動惹起ホルモンの一種プロスタグランジン F2 $\alpha$  に 5 時間ばく露) への影響が検討されている。その結果として、2.7 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で精巢相対重量の低値、血漿中 17,188-ジヒドロキシ-4-プログネン-3-オン濃度の低値、6.5 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で血漿中テストステロン/ケトテストステロ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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

#### (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

①Pant ら (1995) によって、カルボフラン 0.1、0.2、0.4、0.8 $\text{mg/kg/day}$  を 60 日間 (週 5 日) 経口投与された幼若雄 Druckrey ラットへの影響が検討されている。その結果として、0.2 $\text{mg/kg/day}$  以上のばく露群で精巢上体中総精子数の低値、精巢上体中運動精子率の低値、精巢上体中精子総奇形率の高値、精巢上体絶対及び相対重量の低値、精囊絶対及び相対重量の低値、腹側前立腺絶対及び相対重量の低値、凝固腺絶対及び相対重量の低値、精巢中グルコース-6-P デヒドロゲナーゼ及びソルビトールデヒドロゲナーゼ活性の低値、精巢中 $\gamma$ -グルタミルトランスペプチダーゼ及び乳酸デヒドロゲナーゼ活性の高値、0.4 $\text{mg/kg/day}$  以上のばく露群で精巢相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、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、精巢上体中総精子数の低値、精巢上体中運動精子率の低値、精巢上体中精子総奇形率の高値、精巢上体絶対及び相対重量の低値、精囊絶対及び相対重量の低値、腹側前立腺絶対及び相対重量の低値、凝固腺絶対及び相対重量の低値、精巢相対重量の低値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

②Pant ら (1997) によって、カルボフラン 0.2、0.4 $\text{mg/kg/day}$  を出産日から離乳日まで 21 日間経

口投与された雌 Druckrey ラットの 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 のばく露群で精巣上体中総精子数の低値、精巣上体中運動精子率の低値、精巣上体中精子総奇形率の高値、精巣中ソルビトールデヒドロゲナーゼ活性の低値、精巣中乳酸デヒドロゲナーゼ及びγ-グルタミルトランスペプチダーゼ活性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、精巣上体中総精子数の低値、精巣上体中運動精子率の低値、精巣上体中精子総奇形率の高値などの内分泌系への影響が示唆され、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

③Beard ら (1997) によって、カルボフラン 0.05mg/kg/day を交配 3 週間前から出産後 8 週間まで混餌投与された雌ミンクへの影響が検討されている。その結果として、離乳時の新生仔血清中プロジェステロンコルチゾール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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

④Beard と Rawlings (1998) によって、カルボフラン 0.05mg/kg/day を三世代に渡って混餌投与された雌雄ミンクへの影響が検討されている。その結果として、30 週齢 F<sub>2</sub> 雌の体重の高値、42 週齢 F<sub>1</sub> 雄の血清中チロキシン濃度の低値、42 週齢 F<sub>2</sub> 雄の副腎皮質空胞化重篤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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

⑤Jayatunga ら (1998a) によって、カルボフラン 0.2、0.4、0.8mg/kg/day を妊娠 1 日目から 5 日間経口投与された Wistar ラットへの影響（妊娠 14 日目に開腹し着床状況を観察後、縫合）が検討されている。その結果として、0.2mg/kg/day 以上のばく露群で投与 5 日後の立ち上がり行動回数の低値、投与 5 日後の自発運動活性の低値、5 日齢新生仔頭蓋長の低値、0.2mg/kg/day のばく露群で投与 5 日後の穴を覗き込む行動 (head-dip) 回数の低値、0.4mg/kg/day 以上のばく露群で着床数の低値、着床率の低値、出産率の低値、着床前胚消失率の高値、0.4mg/kg/day のばく露群で新生仔生存率の低値、胚の生存出産率の低値、5 日齢新生仔体長及び体重増加率の高値、妊娠期間の遅延、新生仔被毛発現及び眼瞼開裂日の早期化が認められた。

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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

- ⑥Jayatunga ら (1998b) によって、カルボフラン 0.2、0.4、0.8mg/kg/day を妊娠 8 日目から 5 日間経口投与された Wistar ラットへの影響 (妊娠 17 日目に開腹し着床状況を観察後、縫合) が検討されている。その結果として、0.2mg/kg/day 以上のばく露群で 1 日齢新生仔体重の低値、0.2 及び 0.4mg/kg/day のばく露群で妊娠 17 日目胚の頭頸長の低値、0.2 及び 0.8mg/kg/day のばく露群で眼瞼開裂日の遅延、0.2mg/kg/day のばく露群で妊娠 17 日目の着床数の低値、新生仔雌性比の高値、新生仔雄性比の低値、0.4mg/kg/day 以上のばく露群で 5 日齢新生仔頭蓋長及び頭頸長の低値、新生仔被毛発現日の遅延、投与 5 日後の穴を覗き込む行動 (head-dip) 回数の低値、0.4mg/kg/day のばく露群で投与 5 日後の穴を覗き込む行動、crossing 及び立ち上がり行動回数の低値、胚が出産及び生存出産に至る率の低値、妊娠 17 日目生存着床数の低値、着床後胚消失率の高値、妊娠期間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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

- ⑦Rawlings ら (1998) によって、カルボフラン 0.3mg/kg/day を 43 日間 (週 3 日) 経口投与された 1~4 年齢雌 polypay ヤギへの影響が検討されている。その結果として、投与 36 日目の血清中チロキシン濃度の高値が認められたが、血清中コルチゾール、インシュリン、エストラジオール濃度に有意な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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

- ⑧Baligar と Kaliwal (2002) によって、カルボフラン 0.4、0.7、1.0、1.3mg/kg/day を 30 日間経口投与された幼若雌 Swiss マウスへの影響が検討されている。その結果として、1mg/kg/day 以上のばく露群で発情周期回数の低値、発情前期及び発情期の日数の低値、発情間期の日数の高値、健常卵胞数の低値、閉鎖卵胞数の高値、1.3mg/kg/day のばく露群で体重の低値、卵巣相対重量の低値、発情後期日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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

### (3) エストロゲン様作用

#### ○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

①Petitら(1997)によって、カルボフランについて、BJ-ECZ酵母を用いたレポーターアッセイ(プロモータ領域にニジマスエストロゲン受容体応答性配列を有する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、カルボフランは、0.01~100μMの濃度においてβ-ガラクトシダーゼの発現を誘導しなかった。

また、ニジマス肝臓細胞を用いたピテロジェニン試験においても、0.01~100μMの濃度においてピテロジェニンの発現を誘導しなかった。

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、用いた被験物質の純度、試験動物の性別及び結果の有意差検定の方法が記載されていないことから、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。

### (4) 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ない報告

①Saldanaら(2007)によって、カルボフランについて、米国Iowa及びNorth Carolina州にて1993年から1997年にかけて農薬散布資格者及びその家族(25年以内に妊娠歴がある女性11,273名)への影響が検討されている。その結果として、妊娠糖尿病発症と農業用農薬ばく露(混合、散布、関連器具の修理)とに補正オッズ比2.2(95%信頼区間1.5~3.3)で正の相関、妊娠糖尿病発症とカルボフランばく露歴に補正オッズ比約2~3で正の相関が認められた。

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、カルボフラン以外の農薬もばく露しており、カルボフラン単独の評価ができないことから、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。

## 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、ほ乳類の生殖への影響を示すことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表2に示した。

表2 信頼性評価のまとめ

物質名：カルボフラン

区分	筆頭著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果 (Results) を検証するために必要である『材料と方法 (Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(1)生態影響	①Waring と Moore	×	—	×
(2)生殖影響	①Pant ら	○	○P	○
	②Pant ら	○	○P	○
	③Beard ら	×	—	×
	④Beard と Rawlings	×	—	×
	⑤Jayatunga ら	×	—	×
	⑥Jayatunga ら	×	—	×
	⑦Rawlings ら	×	—	×
	⑧Baligar と Kaliwal	×	—	×
(3)エストロゲン様作用	①Petit ら	×	—	×
(4)疫学的調査	①Saldana ら	×	—	×
今後の対応案	動物試験の報告において、ほ乳類の生殖への影響を示すことが示唆されたため内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。			

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

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

？：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、

—：評価を行わない

3)○：試験対象物質として選定する根拠として認められる、×：試験対象物質として選定する根拠として認められない、

—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

#### 参考文献

Baligar PN and Kaliwal BB (2002) Reproductive toxicity of carbofuran to the female mice: effects on estrous cycle and follicles. *Industrial Health*, 40 (4), 345-352. ((2) ⑧)

Beard AP, McRae AC, and Rawlings NC (1997) Reproductive efficiency in mink (*Mustela vison*) treated with the pesticides lindane, carbofuran and pentachlorophenol. *Journal of Reproduction and Fertility*, 111 (1), 21-28. ((2) ③)

Beard AP and Rawlings NC (1998) Reproductive effects in mink (*Mustela vison*) exposed to the pesticides Lindane, Carbofuran and Pentachlorophenol in a multigeneration study. *Journal of Reproduction and Fertility*, 113 (1), 95-104. ((2) ④)

Jayatunga YNA, Dangalle CD, and Ratnasooriya WD (1998a) Hazardous effects of carbofuran on

pregnancy outcome of rats. *Medical Science Research*, 26 (1), 33-37. ((2) ⑤)

Jayatunga YN, Dangalle CD, and Ratnasooriya WD (1998b) Effects of mid-term exposure to carbofuran on pregnancy outcome of rats. *Medical Science Research*, 26 (10), 679-683. ((2) ⑥)

Pant N, Prasad AK, Srivastava SC, Shankar R, and Srivastava SP (1995) Effect of oral administration of carbofuran on male reproductive system of rat. *Human and Experimental Toxicology*, 14 (11), 889-894. ((2) ①)

Pant N, Shankar R, and Srivastava SP (1997) *In utero* and lactational exposure of carbofuran to rats: effect on testes and sperm. *Human and Experimental Toxicology*, 16 (5), 267-272. ((2) ②)

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. ((3) ①)

Rawlings NC, Cook SJ, and Waldbillig D (1998) Effects of the pesticides carbofuran, chlorpyrifos, dimethoate, lindane, triallate, trifluralin, 2,4-D, and pentachlorophenol on the metabolic endocrine and reproductive endocrine system in ewes. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 54 (1), 21-36. ((2) ⑦)

Saldana TM, Basso O, Hoppin JA, Baird DD, Knott C, Blair A, Alavanja MC, and Sandler DP (2007) Pesticide exposure and self-reported gestational diabetes mellitus in the Agricultural Health Study. *Diabetes Care*, 30 (3), 529-534. ((4) ①)

Waring CP and Moore A (1997) Sublethal effects of carbamate pesticide on pheromonal mediated endocrine function in mature male Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. *Fish Physiology and Biochemistry*, 17 (1-6), 203-211. ((1) ①)

### III. シアナジン

#### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

シアナジンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、生殖影響、エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、抗プロゲステロン様作用、神経内分泌細胞への作用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。

##### (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ない報告

①Kashian と Dodson (2002) によって、シアナジン 10~100µg/L (実測値) に 12 日間ばく露した成熟オオミジンコ *Daphnia magna* への影響が検討されている。その結果として、100µg/L のばく露区で出産率及び同腹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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

##### (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ない報告

①O'Conner ら (2000) によって、シアナジン 25、75、100mg/kg/day を 4 日間腹腔投与した卵巣摘出 49 日齢雌 CD ラットへの影響が検討されている。その結果として、25mg/kg/day 以上のばく露群で体重の低値、子宮上皮細胞厚の高値、100mg/kg/day のばく露群で血清中プロラクチン濃度の高値が認められたが、子宮絶対重量、子宮膨張個体数、発情周期異常個体数、子宮基底細胞増殖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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

##### (3) エストロゲン様作用

###### ○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

①Soto ら (1995) によって、シアナジン 0.001~10µM に 6 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験 (E-Screen アッセイ) が検討されている。その結果として、シアナジンは、細胞増殖を誘導しなかった。

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、用いた被験物質の入手先及び純度が記載されていないことから、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。

②O'Conner ら (2000) によって、シアナジン 0.01~10 $\mu$ M に 3 日間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導) が検討されている。その結果として、シアナジンは、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現を誘導しなかった。

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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

#### (4) 抗エストロゲン様作用

##### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Tran ら (1996) によって、シアナジンについて、ヒトエストロゲン受容体を用いた結合阻害試験 (17 $\beta$ -エストラジオール 2nM 共存下) が検討されている。その結果として、シアナジンは、10、100 $\mu$ M の濃度において結合を阻害した。

また、シアナジン 0.207、0.414、2.075、10 $\mu$ M に (17 $\beta$ -エストラジオール 0.5nM 共存下) 12 時間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導) が検討されている。その結果として、シアナジンは、0.414 $\mu$ M 以上の濃度において  $\beta$ -ガラクトシダーゼの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、図表の記載に不備があり、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、ヒトエストロゲン受容体を用いた結合阻害試験での結合阻害及び酵母によるレポーターアッセイでの  $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現誘導阻害など抗エストロゲン様作用を持つことが示唆され、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

②O'Conner ら (2000) によって、シアナジン 0.01~10 $\mu$ M (17 $\beta$ -エストラジオール 0.8nM 共存下) に 3 日間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導) が検討されている。その結果として、シアナジンは、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現誘導を阻害しなかった。

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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

#### (5) 抗プロゲステロン様作用

##### ○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

①Jin ら (1997) によって、シアナジン 1 $\mu$ M (プロゲステロン 10nM 共存下) に 12 時間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導) が検討されている。その結果として、シアナジンは、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現誘導を阻害しなかった。

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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

#### (6) 神経内分泌細胞への作用

##### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Das ら (2003) によって、シアナジン 100 $\mu$ M に 24 時間ばく露したラット褐色細胞腫細胞 PC12 (神経内分泌細胞の一種) が検討されている。その結果として、ノルエピネフリン濃度 (細胞内)、ノルエピネフリン濃度 (細胞外)、チロシンヒドロキシラーゼ濃度 (細胞内+細胞外)、ドーパミン- $\beta$ -ヒドロキシラーゼ発現濃度 (細胞内+細胞外) 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、用いた培地の組成に関する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、ノルエピネフリン濃度、チロシンヒドロキシラーゼ濃度、ドーパミン- $\beta$ -ヒドロキシラーゼ発現濃度の高値など神経内分泌細胞への作用を持つことが示唆され、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。

#### (7) 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ない報告

①Munger ら (1997) によって、シアナジン (シアナジンを含む農薬 35 種類及び VOC35 種類について水道水中濃度の測定を実施) について、米国 Iowa 州 Rathbun 郡の水道供給地域 (人口 2,500 名以下) における 1984 年から 1990 年の出産への影響が検討されている。その結果として、ばく

露群(Rathbun Regional Water Associationから水道水の供給を受けている13地域に居住する492名。水道水のシアナジン汚染状況は検出率100%、平均濃度 $1.4 \pm 0.5 \text{mg/L}$ 、濃度中央値 $1.4 \text{mg/L}$ )では対照群(Rathbun Regional Water Associationから水道水の供給を受けていない38地域に居住する1,267名。水道水のシアナジン汚染状況は検出率26.3%、平均濃度 $0.3 \pm 0.5 \text{mg/L}$ 、濃度中央値 $0 \text{mg/L}$ )との比較において、子宮内胎児発育遅延(IUGR)発生率の高値(1.8倍、95%信頼区間1.2~2.6、 $p=0.004$ )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、シアナジン以外の農薬もばく露しており、シアナジン単独の評価ができないことから、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。

## 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、抗エストロゲン様作用及び神経内分泌細胞への作用を持つことが示唆された。

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：シアナジン

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 検証するために必要 である『材料と方法 (Materials and Methods)』に関する記 載の有無及びその評 価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱 作用との関連 の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作 用に関する試験 対象物質として 選定する根拠と しての評価 <sup>3)</sup>
(1)生態影響	①Kashian と Dodson	×	—	×
(2)生殖影響	①O'Conner ら	×	—	×
(3)エストロゲン 様作用	①Soto ら	×	—	×
	②O'Conner ら	×	—	×
(4)抗エストロゲ ン様作用	①Tran ら	△	○P	○
	②O'Conner ら	×	—	×
(5)抗プロゲステ ロン様作用	①Jin ら	×	—	×
(6) 神経内分泌 細胞への作用	①Das ら	△	○P	○
(7)疫学的調査	①Munger ら	×	—	×
今後の対応案	試験管内試験の報告において、抗エストロゲン様作用及び神経内分泌細胞への作用を持つ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

Das PC, McElroy WK, and Cooper RL (2003) Potential mechanisms responsible for chlorotriazine-induced alterations in catecholamines in pheochromocytoma (PC12) cells. Life Sciences, 73 (24), 3123-3138. ((6) ①)

Jin L, Tran DQ, Ide CF, McLachlan JA, and Arnold SF (1997) Several synthetic chemicals inhibit progesterone receptor-mediated transactivation in yeast. Biochemical and Biophysical Research Communications, 233 (1), 139-146. ((5) ①)

Kashian DR and Dodson SI (2002) Effects of common-use pesticides on developmental and

reproductive processes in *Daphnia*. *Toxicology and Industrial Health*, 18 (5), 225-235. ((1) ①)

Munger R, Isacson P, Hu S, Burns T, Hanson J, Lynch CF, Cherryholmes K, Van Dorpe P, and Hausler WJ Jr (1997) Intrauterine growth retardation in Iowa communities with herbicide-contaminated drinking water supplies. *Environmental Health Perspectives*, 105 (3) 308-314. ((7) ①)

O'Connor JC, Plowchalk DR, Van Pelt CS, Davis LG, and Cook JC (2000) Role of prolactin in chloro-*S*-triazine rat mammary tumorigenesis. *Drug and Chemical Toxicology*, 23 (4), 575-601. ((2) ①, (3) ②, (4) ②)

Soto AM, Sonnenschein C, Chung KL, Fernandez MF, Olea N, and Serrano FO (1995) The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: An update on estrogenic environmental pollutants. *Environmental Health Perspectives*, 103 (suppl. 7), 113-122. ((3) ①)

Tran DQ, Kow KY, McLachlan JA, and Arnold SF (1996) The inhibition of estrogen receptor-mediated responses by chloro-*S*-triazine-derived compounds is dependent on estradiol concentration in yeast. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 227 (1), 140-146. ((4) ①)

## IV. ジウロン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ジウロンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響、エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、抗甲状腺ホルモン様作用、CYP19 アロマターゼ活性の阻害及び性ステロイド合成及び代謝経路への影響に関する報告がある。

#### (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、評価が出来ない報告

①Fernandes ら (2007) によって、ジウロン 125、250mg/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、125mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓絶対及び相対重量の高値が認められた。しかし、体重、精巣絶対及び相対重量、精巣上体絶対及び相対重量、輸精管絶対及び相対重量、腹側精嚢絶対及び相対重量、精細管絶対及び相対重量、腎臓絶対及び相対重量、血漿中テストステロン濃度、精巣中精子日毎産生数、尾部精巣上体中精子数、頭部及び胴部精巣上体中精子数、尾部精巣上体中精子通過時間、頭部及び胴部精巣上体中精子通過時間、性行動試験（初回マウント潜時、初回挿入潜時、初回射精に至るまでの挿入回数、初回射精潜時、初回射精後の挿入潜時、初回射精後の挿入回数、射精回数）には影響が認められなかった。

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、肝臓絶対及び相対重量の高値について、精巣絶対及び相対重量、精巣上体絶対及び相対重量、輸精管絶対及び相対重量、腹側精嚢絶対及び相対重量、精細管絶対及び相対重量、血漿中テストステロン濃度、精巣中精子日毎産生数、尾部精巣上体中精子数、頭部及び胴部精巣上体中精子数、尾部精巣上体中精子通過時間、頭部及び胴部精巣上体中精子通過時間、性行動試験（初回マウント潜時、初回挿入潜時、初回射精に至るまでの挿入回数、初回射精潜時、初回射精後の挿入潜時、初回射精後の挿入回数、射精回数）には影響が認められなかったため、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。

#### (2) エストロゲン様作用

○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

①Vinggaard ら (1999) によって、ジウロン 0.001、0.1、1、10 $\mu$ M に 9 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験 (E-Screen アッセイ) が検討されている。その結果として、ジウロンは、細胞増殖を誘導しなかった。

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、ヒト乳がん細胞 MCF-7 の増殖を誘導しな

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。

- ②Petit ら (1997) によって、ジウロン 0.01~100 $\mu$ M に 4 時間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にニジマスエストロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導) が検討されている。その結果として、ジウロンは、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現を誘導しなかった。

また、ジウロン 0.01~100 $\mu$ M に 48 時間ばく露した雄ニジマス肝臓細胞によるピテロゲニンアッセイが検討されている。その結果として、ジウロンは、ピテロゲニンの発現を誘導しなかった。

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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

- ③Noguerol ら (2006) によって、ジウロン 0.11~110 $\mu$ g/L に 2 時間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導) が検討されている。その結果として、ジウロンは、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現を誘導しなかった。

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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

### (3) 抗エストロゲン様作用

#### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

- ①Orton ら (2009) によって、ジウロン 0.008~15.6 $\mu$ M (17 $\beta$ -エストラジオール 0.25nM 共存下) に 3~6 日間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導) が検討されている。その結果として、ジウロンは、0.98~31.3 $\mu$ M の濃度において  $\beta$ -ガラクトシダーゼの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、ばく露濃度の記載に不備があることから、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、酵母によるレポーターアッセイでは  $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現誘導を阻害したことから抗エストロゲン様作用を持つことが示唆され、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。

#### (4) 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る報告

①Orton ら (2009) によって、ジウロン 0.008~15.6 $\mu$ M (テストステロン 2.5nM 共存下) に 3~6 日間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導) が検討されている。その結果として、ジウロンは、15.6~31.3 $\mu$ M の濃度において  $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現誘導を阻害した。

また、ジウロン 6.25、62.5 $\mu$ M に 20 時間ばく露したアフリカツメガエル卵母細胞への影響が検討されている。その結果として、62.5 $\mu$ M の濃度においてヒト絨毛性ゴナドトロピン刺激性テストステロン産生濃度の低値、ヒト絨毛性ゴナドトロピン刺激性排卵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、ばく露濃度の記載に不備があることから、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、酵母によるレポーターアッセイでは  $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現誘導を阻害したことから抗アンドロゲン様作用を持つことが示唆され、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

②Bauer ら (1998) によって、ジウロンについて、ブタ子宮アンドロゲン受容体を用いた結合阻害試験 (5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 0.4nM 共存下) が検討されている。その結果として、ジウロンは、RBA (対 5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン相対結合親和力、5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロンの  $K_D$  値を 8.6nM とする) 0.000024 の濃度において結合を阻害した。

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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

③Lo ら (2007) によって、ジウロン (濃度記載なし) に 1 時間ばく露したヒト前立腺がん細胞 LNCaP への影響が検討されている。その結果として、ジウロンは、テストステロン 5 $\alpha$ -レダクターゼ活性を阻害しなかった。

また、ジウロンについて、ヒト前立腺組織サイトゾルを用いた試験が検討されている。その結果として、ジウロン (濃度記載なし) は、テストステロン 5 $\alpha$ -レダクターゼ活性を阻害しなかった。

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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

#### (5) 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

①Van den Berg ら (1991) によって、ジウロンについて、チロキシン受容体を用いた結合阻害試験（非標識チロキシンの IC<sub>50</sub> 値 0.04 $\mu$ M が検出できる濃度の標識チロキシン共存下）が検討されている。その結果として、ジウロンは、100 $\mu$ M の濃度においても結合を阻害しなかった。

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、標識チロキシン共存下でチロキシン受容体との結合を阻害しなかった。「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) CYP19 アロマターゼ活性の阻害

##### ○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

①Vinggaard ら (2000) によって、ジウロンについて、ヒト胎盤ミクロソームを用いた試験が検討されている。その結果として、ジウロンは、50 $\mu$ M の濃度で CYP19 アロマターゼ活性（4-アンドロステン-4-オール-3,17-ジオンを基質とする）を阻害しなかった。

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、CYP19 アロマターゼ活性を阻害しなかった。

「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) 性ステロイド合成及び代謝経路への影響

##### ○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

①Thibaut と Porte (2004) によって、ジウロンについて、コイ精巣ミクロソームを用いた試験が検討されている。その結果として、ジウロンは、100 $\mu$ M の濃度で 17 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性、5 $\alpha$ -レダクターゼ活性を阻害しなかった。

また、ジウロンについて、コイ卵巣ミクロソームを用いた試験が検討されている。その結果として、ジウロンは、1,000 $\mu$ M の濃度で 20 $\alpha$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性、20 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性を阻害しなかった。

また、ジウロンについて、コイ肝臓ミクロソームを用いた試験が検討されている。その結果として、ジウロンは、100 $\mu$ M の濃度で 17 $\beta$ -エストラジオールスルホトランスフェラーゼ活性を阻害しなかった。1,000 $\mu$ M の濃度でテストステロン:UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ活性、17 $\beta$ -エストラジオール:UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ活性を阻害しなかった。

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、用いた試験生物が野外から採集したものあることから、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、17 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性、5 $\alpha$ -レダクターゼ活性、20 $\alpha$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性、20 $\beta$ -ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ活性、17 $\beta$ -エストラジオールスルホトランスフェラーゼ活性、テストステロン：UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ活性、17 $\beta$ -エストラジオール：UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ活性を阻害しなかった。「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、試験管内試験の報告において、抗エストロゲン様作用及び抗アンドロゲン様作用を持つことが示唆された。

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：ジウロン

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)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(1)生殖影響	①Fernandes ら	○	?	—
(2)エストロゲン様作用	①Vinggaard ら	○	○N	×
	②Petit ら	×	—	×
	③Noguerol ら	×	—	×
(3)抗エストロゲン様作用	①Orton ら	△	○P	○
(4)抗アンドロゲン様作用	①Orton ら	△	○P	○
	②Bauer ら	×	—	×
	③Lo ら	×	—	×
(5)抗甲状腺ホルモン様作用	①Van den Berg ら	△	○N	×
(6)CYP19 アロマターゼ活性の阻害	①Vinggaard ら	○	○N	×
(7)性ステロイド合成及び代謝経路への影響	①Thibaut と Porte	△	○N	×
今後の対応案	試験管内試験の報告において、抗エストロゲン様作用及び抗アンドロゲン様作用を持つ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

Bauer ER, Meyer HH, Stahlschmidt-Allner P, and Sauerwein H (1998) Application of an androgen receptor assay for the characterisation of the androgenic or antiandrogenic activity of various phenylurea herbicides and their derivatives. *Analyst*, 123 (12), 2485-2487. ((4) ②)

Fernandes GS, Arena AC, Fernandez CD, Mercadante A, Barbisan LF, and Kempinas WG (2007) Reproductive effects in male rats exposed to diuron. *Reproductive Toxicology*, 23 (1), 106-112. (( 1 ) ①)

Lo S, King I, Alléra A, and Klingmüller D (2007) Effects of various pesticides on human 5alpha-reductase activity in prostate and LNCaP cells. *Toxicology in vitro*, 21 (3), 502-508. (( 4 ) ③)

Noguerol TN, Boronat S, Casado M, Raldúa D, Barceló D, and Piña B (2006) Evaluating the interactions of vertebrate receptors with persistent pollutants and antifouling pesticides using recombinant yeast assays. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385 (6), 1012-1019. (( 2 ) ③)

Orton F, Lutz I, Kloas W, and Routledge EJ (2009) Endocrine disrupting effects of herbicides and pentachlorophenol: *in vitro* and *in vivo* evidence. *Environmental Science and Technology*, 15, 43 (6), 2144-2150. (( 3 ) ①, ( 4 ) ①)

Petit F, P Le Goff, JP Cravedi, Y Valotaire, and F Pakdel (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. (( 2 ) ②)

Thibaut R and Porte C (2004) Effects of endocrine disrupters on sex steroid synthesis and metabolism pathways in fish. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 92 (5), 485-494. (( 7 ) ①)

Van den Berg KJ, van Raaij JA, Bragt PC, and Notten WRF (1991) Interactions of halogenated industrial chemicals with transthyretin and effects on thyroid hormone levels *in vivo*. *Archives of toxicology*, 65 (1), 15-19. (( 5 ) ①)

Vinggaard AM, Breinholt V, and Larsen JC (1999) Screening of selected pesticides for oestrogen receptor activation *in vitro*. *Food Additives and Contaminants*, 116 (12), 533-542. (( 2 ) ①)

Vinggaard AM, Hnida C, Breinholt V, and Larsen JC (2000) Screening of selected pesticides for inhibition of CYP19 aromatase activity *in vitro*. *Toxicology in Vitro*, 14 (3), 227-234. (( 6 ) ①)

## V. ジクロロボス

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ジクロロボスの内分泌かく乱作用に関連する報告として、雄性生殖影響、神経発達影響、エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用及びアロマターゼ活性の誘導の有無に関する報告がある。

#### (1) 雄性生殖影響

##### ○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

①Okamuraら(2005)によって、ジクロロボス 1、2、4mg/kg/day を 9 週間連続(毎週 6 日)皮下投与した 10 週齢雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、1mg/kg/day 以上のばく露群で血漿中コリンエステラーゼ活性の低値、1、4mg/kg/day のばく露群で精巣上体尾中精子の運動精子率の低値、2mg/kg/day 以上のばく露群で赤血球中コリンエステラーゼ活性の低値、4mg/kg/day のばく露群で、体重の低値、肝臓絶対重量の低値、精巣上体相対重量の高値、左精巣相対重量の高値、左甲状腺絶対重量の高値が認められたが、血漿中テストステロン濃度には変化が認められなかった。

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、精巣上体尾中精子の運動精子率の低値、精巣上体相対重量の高値、左精巣相対重量の高値、左甲状腺絶対重量の高値などの内分泌系への影響が示唆され、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

②Dean と Thorpe (1972) によって、ジクロロボス 2.1、5.8µg/L に 28 日間連続(毎日 23 時間)吸入ばく露した雄 CF1 Swiss マウスへの影響が検討されている。その結果として、非ばく露雌との交配による妊孕性試験において、ばく露後 7 週間後のみ同腹総着床数の低値が認められたが、用量依存性もなく、優性致死作用はないと判断されていた。

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、ばく露後 7 週間後のみに認められた同腹総着床数の低値について、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。

③Krause (1977) によって、ジクロロボス 5mg/kg/day を 3 週間連続(毎週 3 日)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、体重、精巣絶対重量、精囊絶対

重量、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、精巣中テストステロン濃度には影響が認められなかった。

また、ジクロルボス 10mg/kg/day を 2 週間連続（隔日）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、体重、精巣絶対重量、精嚢絶対重量、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、精巣中テストステロン濃度には影響が認められなかった。

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、用いた被験物質の入手先及び純度、試験動物の入手先が記載されていないことから、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。

## (2) 神経発達影響

### ○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

①Lazarini ら (2004) によって、ジクロルボス 8mg/kg/day を妊娠 6 日目から 10 日間連続経口投与した Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、成熟後雄仔動物の行動試験において、オープンフィールド試験での回転運動頻度の低値、活動停止時間の高値、アポモルフィン誘導性常同行動試験でのスコアの低値、成受動的回避課題試験での潜時の低値が認められたが、新生仔における耳介展開日、切歯萌出日、眼瞼開裂日、精巣下降日、膣開口日、手掌把握反射日、正向反射日、走地反射日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、用いた被験物質の入手先及び純度、試験動物の入手先が記載されていないことから、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。

## (3) エストロゲン様作用

### ○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

①Andersen ら (2002) によって、ジクロルボス 0.01~50 $\mu$ M に 6 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験 (E-Screen アッセイ) が検討されている。その結果として、ジクロルボスは、細胞増殖を誘導しなかった。

また、ジクロルボス 0.01~50 $\mu$ M に 24 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有する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、ジクロルボスは、ルシフェラーゼの発現を誘導しなかった。

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、ヒト乳がん細胞 MCF-7 の増殖を誘導しなかった。また、ヒト乳がん細胞 MCF-7 によるレポーターアッセイではルシフェラーゼの発現を誘導しなかった「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。

#### (4) 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

①Tavassoli ら (2007) によって、ジクロロボス 0.1 $\mu$ M (合成アンドロゲン R1881 0.1nM 共存下) に 3 日間ばく露したヒト前立腺がん細胞 LNCaP によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトアンドロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた増幅緑色蛍光タンパク質 EGFP 発現誘導) が検討されている。その結果として、ジクロロボスは、EGFP 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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

②Andersen ら (2002) によって、ジクロロボス 0.01~50 $\mu$ M に 24 時間ばく露したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトアンドロゲン受容体応答性配列を有する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、ジクロロボスは、ルシフェラーゼの発現を誘導しなかった。

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、チャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 によるレポーターアッセイではルシフェラーゼの発現を誘導しなかった。「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る報告

①Andersen ら (2002) によって、ジクロロボス 0.01~50 $\mu$ M (メチルトレンボロン 0.1nM 共存下) に 24 時間ばく露したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトアンドロゲン受容体応答性配列を有する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、ジクロロボスは、20 $\mu$ M の濃度でルシフェラーゼの発現を阻害した。

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、チャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO-K1 によるレポーターアッセイではルシフェラーゼの発現を阻害したことから抗アンドロゲン様作用を持つことが示唆され、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

②Xu ら (2008) によって、ジクロルボス 0.1、1、10 $\mu$ M (5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 1nM 共存下) に 24 時間ばく露したアフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトアンドロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導) が検討されている。その結果として、ジクロルボスは、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現を誘導しなかった。

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、アフリカミドリザル腎臓細胞 CV-1 によるレポーターアッセイでは  $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現を誘導しなかった。「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) アロマトラーゼ活性の誘導

#### ○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

①Andersen ら (2002) によって、ジクロルボスについて、ヒト胎盤ミクロソームを用いた試験が検討されている。その結果として、ジクロルボスは、50 $\mu$ M の濃度でアロマトラーゼ活性を阻害しなかった。

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、アロマトラーゼ活性を阻害しなかった。「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、ほ乳類の生殖への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、抗アンドロゲン様作用を持つことが示唆された。

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：ジクロロボス

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)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(1)雄性生殖影響	①Okamura ら	○	○P	○
	②Dean と Thorpe	○	×	×
	③Krause	×	—	×
(2)神経発達影響	①Lazarini ら	×	—	×
(3)エストロゲン様作用	①Andersen ら	○	○N	×
(4)アンドロゲン様作用	①Tavassoli ら	×	—	×
	②Andersen ら	○	○N	×
(5)抗アンドロゲン様作用	①Andersen ら	○	○P	○
	②Xu ら	○	○N	×
(6)アロマターゼ活性の誘導	①Andersen ら	○	○N	×
今後の対応案	動物試験の報告において、ほ乳類の生殖への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、抗アンドロゲン様作用を持つ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, Vinggaard AM, Rasmussen TH, Gjermandsen IM, and Bonefeld-Jørgensen EC (2002) Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity *in vitro*. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 179 (1), 1-12. ((3) ①、(4) ②、(5) ①、(6) ①)

Dean BJ and Thorpe E (1972) Studies with dichlorvos vapour in dominant lethal mutation tests on mice. *Archiv für Toxikologie*, 30 (1), 51-59. ((1) ②)

Krause W (1977) Influence of DDT, DDVP and malathion on FSH, LH and testosterone serum levels and testosterone concentration in testis. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 18 (2), 231-242. (( 1 ) ③)

Lazarini CA, Lima RY, Guedes AP, and Bernardi MM (2004) Prenatal exposure to dichlorvos: physical and behavioral effects on rat offspring. *Neurotoxicology and Teratology*, 26 (4), 607-614. (( 2 ) ①)

Okamura A, Kamijima M, Shibata E, Ohtani K, Takagi K, Ueyama J, Watanabe Y, Omura M, Wang H, Ichihara G, Kondo T, and Nakajima T (2005) A comprehensive evaluation of the testicular toxicity of dichlorvos in Wistar rats. *Toxicology*, 213 (1-2), 129-137. (( 1 ) ①)

Tavassoli P, Snoek R, Ray M, Rao LG, and Rennie PS (2007) Rapid, non-destructive, cell-based screening assays for agents that modulate growth, death, and androgen receptor activation in prostate cancer cells. *Prostate*, 67 (4), 416-426. (( 4 ) ①)

Xu LC, Liu L, Ren XM, Zhang MR, Cong N, Xu AQ, and Shao JH (2008) Evaluation of androgen receptor transcriptional activities of some pesticides *in vitro*. *Toxicology*, 243 (1-2) 59-65. (( 5 ) ②)

## VI. ジクロロプロモメタン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ジクロロプロモメタンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響、抗生殖腺刺激ホルモン様作用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。

#### (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

①Christian ら (2002) によって、ジクロロプロモメタン 50、150、450ppm (4.1~12.6、11.6~40.2、29.5~109.0mg/kg/day に相当) を交配 70 日前から交配 106~118 日後まで飲水投与された雌雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、50、150ppm の投与群で父動物の精子細胞密度の低値、150ppm 以上の投与群で新生仔雌の膈開口日の遅延、新生仔雄の包皮分離日の遅延、450ppm の投与群で母動物の体重の低値、母動物の脳相対重量の高値、肝臓相対重量の高値、左腎臓絶対及び相対重量の高値、右腎臓相対重量の高値、21 日齢新生仔の体重の低値、脳絶対及び相対重量の低値、脾臓絶対重量の低値、胸腺絶対重量の低値が認められた。

また、この親動物から誕生及び離乳後、更に 64 日間飲水投与された F<sub>1</sub>雌雄 SD ラット仔動物への影響が検討されている。その結果として、50ppm 以上の投与群で雄雌仔動物の交配までの所要日数の遅延、4 日齢 F<sub>2</sub>新生仔の生存率の低値、50ppm の投与群で雄仔動物の精囊液絶対重量の低値、150ppm 以上の投与群で雄仔動物の体重の低値、雌仔動物の左卵巢絶対重量の低値、胸腺絶対重量の低値、450ppm 投与群で雄仔動物の左右精巣相対重量の高値、精囊絶対及び相対重量の高値、脳相対重量の高値、雌仔動物の体重の低値、脾臓絶対及び相対重量の低値、雌仔動物の左右腎臓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、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、父動物の精子細胞密度の低値、新生仔雌の膈開口日の遅延、新生仔雄の包皮分離日の遅延などの内分泌系への影響が示唆され、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。

②Narotsky ら (1997) によって、ジクロロプロモメタン 25、50、75mg/kg/day を妊娠 6 日目から 10 日間経口投与された F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上のばく露群で妊娠 6~8 日目母動物の体重増加量の低値、75mg/kg/day のばく露群で全胚吸収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、全胚吸収発生率の高値などにより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。

- ③Bielmeier ら (2001) によって、ジクロロブロモメタン 75、100mg/kg を妊娠 9 日目に単回経口投与された F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、75mg/kg/day 以上のばく露群で全胚吸収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、全胚吸収発生率の高値などにより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。

- ④Bielmeier ら (2007) によって、ジクロロブロモメタン 100mg/kg/day を妊娠 6 日目から 4 日間経口投与された F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day のばく露群で血清中及び黄体中プロゲステロン濃度の低値、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、黄体のプロゲステロン及びβ-エストラジオール分泌速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、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、血清中及び黄体中プロゲステロン濃度の低値、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値、黄体のプロゲステロン及びβ-エストラジオール分泌速度の低値などにより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

- ⑤Klinefelter ら (1995) によって、ジクロロブロモメタン 22、39mg/kg/day を 52 週間飲水投与された成熟雄 F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、運動性精子の直線地点移動速度 (VSL) の低値、進行方向速度 (VAP) の低値、曲線地点移動速度 (VCL) 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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

- ⑥Potter ら (1996) によって、ジクロロブロモメタン 97、195mg/kg/day を 7 日間経口投与された雄 F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、97mg/kg/day 以上のばく露群で血清中テストステロン濃度の低値、195mg/kg/day のばく露群で体重の低値、腎臓相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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

## (2) 抗生殖腺刺激ホルモン様作用

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Bielmeier ら (2007) によって、ジクロロプロモメタン 10、100、3,000 $\mu$ M に 24 時間ばく露したラット卵胞への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M 以上のばく露区でヒト絨毛性ゴナドトロピン刺激性プロゲステロン分泌量の低値、3,000 $\mu$ M のばく露区でヒト絨毛性ゴナドトロピン刺激性  $\beta$ -エストラジオール分泌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、ヒト絨毛性ゴナドトロピン刺激性プロゲステロン分泌量の低値、ヒト絨毛性ゴナドトロピン刺激性  $\beta$ -エストラジオール分泌量の低値が認められたことから抗生殖腺刺激ホルモン様作用を持つことが示唆され、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 (2004) によって、ジクロロプロモメタン 0.0005、0.02、0.2、20、200、2,000 $\mu$ M に 48 時間ばく露したヒト胎盤栄養膜細胞への影響が検討されている。その結果として、0.0005 $\mu$ M 以上のばく露区で絨毛性ゴナドトロピン分泌量の低値、200 $\mu$ M 以上のばく露区で多核細胞存在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、絨毛性ゴナドトロピン分泌量の低値が認められたことから抗生殖腺刺激ホルモン様作用を持つことが示唆され、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。

③Chen ら (2003) によって、ジクロロプロモメタン 0.02、20、2,000 $\mu$ M に 24 時間ばく露したヒト胎盤栄養膜細胞への影響が検討されている。その結果として、0.02 $\mu$ M 以上のばく露区で絨毛性ゴナドトロピン分泌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、ばく露時間が1段階と少ないことから、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、絨毛性ゴナドトロピン分泌量の低値が認められたことから抗生殖腺刺激ホルモン様作用を持つことが示唆され、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。

### (3) 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

①Wrightら(2004)によって、ジクロロブロモメタンについて、米国 Massachusetts 州の人口一万人以上の 109 都市における 1995 年から 1998 年の出産 196,000 件(新生児体重 200g 以上、妊娠期間 22~45 週間)への影響が検討されている。その結果として、水道水中ジクロロブロモメタン濃度の三分位群(<5 $\mu$ g/L、5~13 $\mu$ g/L、13~46 $\mu$ g/L)間比較において、児の低体重(体重分布において低体重側の 10%)発生率とに正の相関(最高三分位群/最低三分位群の補正オッズ比 1.15、95%信頼区間 1.08~1.22)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、水道水中ジクロロブロモメタン濃度と児の低体重発生率とに正の相関が認められたなどの内分泌系への影響が示唆され、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。

②Kingら(2000)によって、ジクロロブロモメタンについて、カナダ Nova Scotia 州にて 1988 年から 1995 年の出産 49,756 件(単一児、新生児体重 500g 以上)への影響が検討されている。その結果として、水道水中ジクロロブロモメタン濃度の四分位群(~5 $\mu$ g/L、5~9 $\mu$ g/L、10~19 $\mu$ g/L、20 $\mu$ g/L~)間比較において、死産総発生率(最高四分位群/最低四分位群の補正相対リスク比 1.98、95%信頼区間 1.23~3.49)、原因不明の死産発生率(最高四分位群/最低四分位群の補正相対リスク比 1.35、95%信頼区間 0.57~3.19)、呼吸停止による死産発生率(最高四分位群/最低四分位群の補正相対リスク比 1.75、95%信頼区間 0.72~4.22)とに正の相関が認められた。

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、水道水中ジクロロブロモメタン濃度と死産総発生率、原因不明の死産発生率、呼吸停止による死産発生率とに正の相関が認められたなどの内分泌系への影響が示唆され、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。

#### ○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価が出来ない報告

③Dodds と King(2001)によって、ジクロロブロモメタンについて、カナダ Nova Scotia 州にて 1988 年から 1995 年の出産 49,842 件(単一児)への影響が検討されている。その結果として、水道水中ジクロロブロモメタン濃度の四分位群(~5 $\mu$ g/L、5~9 $\mu$ g/L、10~19 $\mu$ g/L、20 $\mu$ g/L~)間比較において、神経管欠損発生率(最高四分位群/最低四分位群の補正相対リスク比 2.5、95%信頼区

間 1.2～5.1) とに正の相関が認められた。

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、水道水中ジクロロプロモメタン濃度と神経管欠損発生率との正の相関について、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。

#### ○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

④MacLehose ら (2008) によって、ジクロロプロモメタンについて、米国都市部 3 地域 (水道水中において塩素系の消毒副生成物濃度が中程度の群、塩素系の消毒副生成物が総じて低濃度の群、臭素系の消毒副生成物濃度が中程度の群) にて 2000 年から 2004 年の妊婦 1,315 名 (18 歳以上、妊娠 12 ヶ月未満) への影響が検討されている。その結果として、ジクロロプロモメタンの水道水中濃度、日毎摂取量、シャワー・入浴による日毎ばく露量と妊娠に至るまでの日数とに関連性は見出せなかった。

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、ジクロロプロモメタンの水道水中濃度、日毎摂取量、シャワー・入浴による日毎ばく露量と妊娠に至るまでの日数とに関連性は見出せなかった。「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、ほ乳類の生殖への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、抗生殖腺刺激ホルモン様作用を持つことが示唆され、疫学的調査の報告においてばく露歴と児の低体重発生率、死産発生率との間に関連性が認められた。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 6 に示した。

表6 信頼性評価のまとめ

物質名：ジクロロプロモメタン

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)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(1)生殖影響	①Christian ら	○	○P	○
	②Narotsky ら	○	○P	○
	③Bielmeier ら	○	○P	○
	④Bielmeier ら	○	○P	○
	⑤Klinefelter ら	×	—	×
	⑥Potter ら	×	—	×
(2)抗生殖腺刺激ホルモン様作用	①Bielmeier ら	○	○P	○
	②Chen ら	○	○P	○
	③Chen ら	△	○P	○
(3)疫学的調査	①Wright ら	○	○P	○
	②King ら	○	○P	○
	③Dodds と King	○	?	—
	④MacLehose ら	○	○N	×
今後の対応案	動物試験の報告において、ほ乳類の生殖への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、抗生殖腺刺激ホルモン様作用を持つことが示唆され、疫学的調査の報告においてばく露歴と児の低体重発生率、死産発生率との間に関連性が認めら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

Bielmeier SR, Best DS, Guidici DL, and Narotsky MG (2001) Pregnancy loss in the rat caused by bromodichloromethane. *Toxicological Sciences*, 59 (2), 309-315. ((1) ③)

Bielmeier SR, Murr AS, Best DS, Harrison RA, Pegram RA, Goldman JM, and Narotsky MG (2007) Effects of bromodichloromethane on *ex vivo* and *in vitro* luteal function and bromodichloromethane tissue dosimetry in the pregnant F344 rat. *Toxicology in Vitro*, 21 (5), 919-928. ((1) ④、(2) ①)

Chen J, Douglas GC, Thirkill TL, Lohstroh PN, Bielmeier SR, Narotsky MG, Best DS, Harrison RA, Natarajan K, Pegram RA, Overstreet JW, and Lasley BL (2003) Effect of

bromodichloromethane on chorionic gonadotrophin secretion by human placental trophoblast cultures. *Toxicological Sciences*, 76 (1), 75-82. (( 2 ) ③)

Chen J, Thirkill TL, Lohstroh PN, Bielmeier SR, Narotsky MG, Best DS, Harrison RA, Natarajan K, Pegram RA, Overstreet JW, Lasley BL, and Douglas GC (2004) Bromodichloromethane inhibits human placental trophoblast differentiation. *Toxicological Sciences*, 78 (1), 166-74. (( 2 ) ②)

Christian MS, York RG, Hoberman AM, Fisher LC, and Brown WR (2002) Oral (drinking water) two-generation reproductive toxicity study of bromodichloromethane (BDCM) in rats. *International Journal of Toxicology*, 21 (2), 115-146. (( 1 ) ①)

Dodds L and King WD (2001) Relation between trihalomethane compounds and birth defects. *Occupational and Environmental Medicine*, 58 (7), 443-446. (( 3 ) ③)

King WD, Dodds L, and Allen AC (2000) Relation between stillbirth and specific chlorination by-products in public water supplies. *Environmental Health Perspectives*, 108 (9), 883-886. (( 3 ) ②)

Klinefelter GR, Suarez JD, Roberts NL, and DeAngelo AB (1995) Preliminary screening for the potential of drinking water disinfection byproducts to alter male reproduction. *Reproductive Toxicology*, 9 (6), 571-578. (( 1 ) ⑤)

MacLehose RF, Savitz DA, Herring AH, Hartmann KE, Singer PC, and Weinberg HS (2008) Drinking water disinfection by-products and time to pregnancy. *Epidemiology*, 19 (3), 451-458. (( 3 ) ④)

Narotsky MG, Pegram RA, and Kavlock RJ (1997) Effect of dosing vehicle on the developmental toxicity of bromodichloromethane and carbon tetrachloride in rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 40 (1), 30-36. (( 1 ) ②)

Potter CL, Chang LW, DeAngelo AB, and Daniel FB (1996) Effects of four trihalomethanes on DNA strand breaks, renal hyaline droplet formation and serum testosterone in male F-344 rats. *Cancer Letters*, 106 (2), 235-242. (( 1 ) ⑥)

Wright JM, Schwartz J, and Dockery DW (2004) The effect of disinfection by-products and mutagenic activity on birth weight and gestational duration. *Environmental Health Perspectives*, 112 (8), 920-925. (( 3 ) ①)

## VII. ダイアジノン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ダイアジノンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、生殖影響、発達影響、甲状腺影響、エストロゲン様作用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。

#### (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ない報告

- ①Moore と Waring (1996) によって、ダイアジノン 0.06、0.26、0.49、1.42、3.12、4.82、7.52、15.22 $\mu\text{g/L}$  (実測値) に 5 日間 (ばく露終了前 3 時間、排卵期雌魚の尿によるプライミング処理を実施) ばく露した成熟雄アトランティックサーモン *Salmo salar* への影響が検討されている。その結果として、0.06 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で血漿中 17,18 $\beta$ -ジヒドロキシ-4-プログネン-3-オン濃度の低値、放出精子相対重量の低値、0.26 $\mu\text{g/L}$  以上のばく露区で血漿中ゴナドトロピン II 濃度の低値、0.26、0.49、1.42、7.52、15.22 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で血漿中 11-ケトテストステロン濃度の低値、0.49、7.52、15.22 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で血漿中テストステロ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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

#### (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ない報告

- ①Ducolomb ら (2009) によって、ダイアジノン 50、100、500 $\mu\text{M}$  に 7 時間ばく露したブタ成熟卵細胞への影響が検討されている。その結果として、 $\text{IC}_{50}$  値 502 $\mu\text{M}$  の濃度で受精率の低値が認められた。

また、ダイアジノン 50、100、500 $\mu\text{M}$  に 96 時間ばく露したブタ人工受精胚への影響が検討されている。その結果として、 $\text{IC}_{50}$  値 344 $\mu\text{M}$  の濃度で桑実胚形成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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

- ②Betancourt ら (2006) によって、ダイアジノン 50、100、500 $\mu\text{M}$  に 1 時間ばく露したブタ精子への影響が検討されている。その結果として、50、500 $\mu\text{M}$  の濃度区で直進運動を示す精子率の低値、100 $\mu\text{M}$  以上の濃度区で精子生存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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

### (3) 発達影響

#### ○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

①Spyker と Avery (1977) によって、ダイアジノン 0.18、9.0mg/kg/day を受精日から出産日まで経口投与された Hybrid マウスへの影響が検討されている。その結果として、0.18mg/kg/day 以上のばく露群で妊娠期間中の母動物の体重増加量の低値、60 日齢仔動物の rod cling endurance 試験における行動時間の低値、70 日齢仔動物の inclined place 試験における落下耐久角度の低値、0.18mg/kg/day のばく露群で同腹産仔数の低値、よじ登り行動日の遅延、膣開口日及び包皮分離日の遅延、9.0mg/kg/day のばく露群で 1、2、3 週齢仔動物体重の低値、100 日齢仔動物の Lashley III 迷路試験における走行速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、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、同腹産仔数の低値、膣開口日及び包皮分離日の遅延などにより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

②Timofeeva ら (2008) によって、ダイアジノン 0.5、2mg/kg/day を 1 日齢から 4 日間皮下投与された雌雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、0.5mg/kg/day 以上のばく露群で 4~5 週齢雌雄の T字型迷路試験における自発的交替行動潜時の高値、11~12 週齢雄の先行刺激抑制 (PPI) 行動の低値、0.5mg/kg/day のばく露群で 13~18 週齢雌雄の放射状迷路試験におけるエラー回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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

③Roegge ら (2008) によって、ダイアジノン 0.5、2mg/kg/day を 1 日齢から 4 日間皮下投与された雌雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、0.5mg/kg/day 以上のばく露群で 64~67 日齢雄の NSF (Novelty Suppressed Feeding) 試験における摂餌開始潜時の低値、0.5mg/kg/day のばく露群で 73~74 日齢雄の快感消失試験における嗜好比の低値、15~21 週齢雌雄の高脂肪餌投与による体重増加量の高値、2mg/kg/day のばく露群で 52~56 日齢雄の高架十字

迷路試験におけるオープンアーム上滞在時間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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

#### (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ない報告

①Hanna ら (2003) によって、ダイアジノン 3.67mg/kg/day を 17 週間 (週 5 日) 経口投与された Swiss albino マウスへの影響が検討されている。その結果として、血清中トリヨードチロニン濃度の高値、肝臓中アラニンアミノトランスフェラーゼ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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

#### (5) エストロゲン様作用

##### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Manabe ら (2006) によって、ダイアジノンについて、ラット下垂体がん細胞 MtT/Se を用いた細胞増殖試験が検討されている。その結果として、ダイアジノンは、REC<sub>10</sub> 値 (17β-エストラジオール 1,000μM が示す活性の 10%に相当する活性を示す濃度) 97μM の濃度において細胞増殖を誘導した。

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、ラット下垂体がん細胞 MtT/Se の増殖が認められたことからエストロゲン様作用を持つことが示唆され、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。

②Kojima ら (2005) によって、ダイアジノンについて、ヒト卵巣がん細胞 BG1 を用いたレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有する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、ダイアジノンは、REC<sub>10</sub> 値 460μM の濃度においてルシフェラーゼの発現を誘導した。

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、被験物質の入手先及び希釈方法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、ヒト卵巣がん細胞 BG1 を用いたレポーターアッセイではルシフェラーゼの発現を誘導したことからエストロゲン様作用を持つことが示唆され、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

③Soto ら (1995) によって、ダイアジノンについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 を用いた細胞増殖試験 (E-Screen) が検討されている。その結果として、ダイアジノンは、0.001~10 $\mu$ M の濃度において細胞増殖を誘導しなかった。

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、用いた被験物質の入手先及び純度が記載されていないことから、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。

### (6) 疫学的調査

#### ○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価が出来ない報告

①Swan ら (2003) によって、ダイアジノンについて、米国 Missouri 州 Columbia 市にて 1999 から 2001 年に妊娠が診療確認された妊婦の配偶者 (202 名中、精子減少症例群 25 名、対照群 25 名) への影響が検討されている。その結果として、精子減少症例群では対照群との比較において尿中ダイアジノン代謝物濃度の高値が認められた。

また、ダイアジノンについて、米国 Minnesota 州 Minneapolis 市にて 1999 から 2001 年に妊娠が診療確認された妊婦の配偶者 (215 名中、精子減少症例群 9 名、対照群 27 名) への影響が検討されている。その結果として、精子減少症例群では対照群との比較において尿中ダイアジノン代謝物濃度との関連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、対象者の選抜方法について不備があり、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、精子減少症例群での尿中ダイアジノン代謝物濃度の高値について、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。

②Swan (2006) によって、ダイアジノンについて、米国 Missouri 州 Columbia 市にて 1999 から 2001 年に妊娠が診療確認された妊婦の配偶者 (21~24 歳、白人男性のうち精子減少症例群 25 名、対照群 25 名) への影響が検討されている。その結果として、精子減少症例群では対照群との比較において尿中ダイアジノン代謝物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、対象者の選抜方法について不備が

あり、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、精子減少症例群での尿中ダイアジノン代謝物濃度の高値について、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。

#### ○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

③Saldana ら (2007) によって、ダイアジノンについて、米国 Iowa 及び North Carolina 州にて 1993 年から 1997 年に農薬散布資格者及びその家族（過去 25 年以内に妊娠歴がある女性 11,273 名）への影響が検討されている。その結果として、妊娠糖尿病発症と農業用農薬ばく露歴（混合、散布、関連器具の修理）とに補正オッズ比 2.5（95%信頼区間 1.5～3.3）で正の相関、妊娠糖尿病発症とダイアジノンばく露歴に補正オッズ比約 2～3 で正の相関が認められた。

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、ダイアジノン以外の農薬もばく露しており、ダイアジノン単独の評価ができないことから、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。

④Whyatt ら (2004) によって、ダイアジノンについて、米国 New York 州 New York 市にて 1998 年から 2002 年にマイノリティー集団の出産 314 件（妊娠前に Northern Manhattan 又は South Bronx に一年以上の居住歴がある 18～35 歳のアフリカ系アメリカ人及びドミニカ人の母親及び新生児）への影響が検討されている。その結果として、臍帯血漿中（ダイアジノン+クロルピリフォス）濃度四分位群間比較において、最高四分位群の新生児体重、新生児体長は最低四分位群と比較して低値であった。また、2001 年 1 月 1 日以前の出産 137 件において、臍帯血漿中（ダイアジノン+クロルピリフォス）濃度と新生児体重、新生児体長とに負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、ダイアジノンとクロルピリフォスを合算して解析しており、ダイアジノン単独の評価ができないことから、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。

## 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、ほ乳類の発達への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、比較的高濃度においてエストロゲン様作用を持つことが示唆された。

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：ダイアジノン

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)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(1)生態影響	①Moore と Waring	×	—	×
(2)生殖影響	①Ducolomb ら	×	—	×
	②Betancourt ら	×	—	×
(3)発達影響	①Spyker と Avery	○	○P	○
	②Timofeeva ら	×	—	×
	③Roegge ら	×	—	×
(4)甲状腺影響	①Hanna ら	×	—	×
(5)エストロゲン様作用	①Manabe ら	○	○P	○
	②Kojima ら	△	○P	○
	③Soto ら	×	—	×
(6)疫学的調査	①Swan ら	△	?	—
	②Swan	△	?	—
	③Saldana ら	×	—	×
	④Whyatt ら	×	—	×
今後の対応案	動物試験の報告において、ほ乳類の発達への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、比較的高濃度においてエストロゲン様作用を持つ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

Betancourt M, Reséndiz A, and Fierro EC (2006) Effect of two insecticides and two herbicides on the porcine sperm motility patterns using computer-assisted semen analysis (CASA) *in vitro*. *Reproductive Toxicology*, 22 (3), 508-512. ((2) ②)

Ducolomb Y, Casas E, Valdez A, González G, Altamirano-Lozano M, and Betancourt M (2009) *In vitro* effect of malathion and diazinon on oocytes fertilization and embryo development in porcine. *Cell Biology and Toxicology*, 25 (6), 623-633. ((2) ①)

Hanna LS, Medhat AM, and Abdel-Menem HA (2003) Biochemical changes after subchronic and chronic interaction of *Schistosoma mansoni* infection in Swiss albino mice with two specific

- compounds. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 33 (1), 245-260. ((4) ①)
- Kojima M, Fukunaga K, Sasaki M, Nakamura M, Tsuji M, and Nishiyama T (2005) Evaluation of estrogenic activities of pesticides using an *in vitro* reporter gene assay. *International Journal of Environmental Health Research*, 15 (4), 271-280. ((5) ②)
- Manabe M, Kanda S, Fukunaga K, Tsubura A, and Nishiyama T (2006) Evaluation of the estrogenic activities of some pesticides and their combinations using MtT/Se cell proliferation assay. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 209 (5), 413-421. ((5) ①)
- Moore A and Waring CP (1996) Sublethal effects of the pesticide Diazinon on olfactory function in mature male Atlantic salmon parr. *Journal of Fish Biology*, 48 (4), 758-775. ((1) ①)
- Roegge CS, Timofeeva OA, Seidler FJ, Slotkin TA, and Levin ED (2008) Developmental diazinon neurotoxicity in rats: later effects on emotional response. *Brain Research Bulletin*, 75 (1), 166-172. ((3) ③)
- Saldana TM, Basso O, Hoppin JA, Baird DD, Knott C, Blair A, Alavanja MC, and Sandler DP (2007) Pesticide exposure and self-reported gestational diabetes mellitus in the Agricultural Health Study. *Diabetes Care*, 30 (3), 529-534. ((6) ③)
- Soto AM, Sonnenschein C, Chung KL, Fernandez MF, Olea N, and Serrano FO (1995) The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: An update on estrogenic environmental pollutants. *Environmental Health Perspectives*, 103 (SUPPL. 7), 113-122. ((5) ③)
- Spyker JM and Avery DL (1977) Neurobehavioral effects of prenatal exposure to the organophosphate Diazinon in mice. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 3 (5-6), 989-1002. ((3) ①)
- Swan SH (2006) Semen quality in fertile US men in relation to geographical area and pesticide exposure. *International Journal of Andrology*, 29 (1), 62-68. ((6) ②)
- Swan SH, Kruse RL, Liu F, Barr DB, Drobnis EZ, Redmon JB, Wang C, Brazil C, and Overstreet JW (2003) Semen quality in relation to biomarkers of pesticide exposure. Study for Future Families Research Group. *Environmental Health Perspectives*, 111 (12), 1478-1484. ((6) ①)
- Timofeeva OA, Roegge CS, Seidler FJ, Slotkin TA, and Levin ED (2008) Persistent cognitive alterations in rats after early postnatal exposure to low doses of the organophosphate pesticide, diazinon. *Neurotoxicology and Teratology*, 30 (1), 38-45. ((3) ②)
- Whyatt RM, Rauh V, Barr DB, Camann DE, Andrews HF, Garfinkel R, Hoepner LA, Diaz D, Dietrich J, Reyes A, Tang D, Kinney PL, and Perera FP (2004) Prenatal insecticide exposures and birth weight and length among an urban minority cohort. *Environmental Health Perspectives*, 112 (10), 1125-1132. ((6) ④)

## VIII. フェニトイン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

フェニトインの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響、甲状腺影響、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用及び抗甲状腺ホルモン様作用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。

#### (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

①Tamura ら (2000) によって、排卵誘導処置 (26 日齢にウマ絨毛性ゴナドトロピン皮下投与) 後 52 時間後にフェニトイン 70、140mg/kg/day を単回腹腔投与された雌 Wistar Imamichi ラットへの影響が検討されている。その結果として、70mg/kg/day のばく露群で血清中卵巣刺激ホルモン濃度の高値、140mg/kg/day のばく露群で血清中  $\beta$  エストラジオール及びインヒビン濃度の高値、子宮絶対重量の高値、卵巣絶対重量の低値、排卵率及び排卵数の低値、血清中黄体形成ホルモン及び卵巣刺激ホルモン濃度の低値が認められた。

また、排卵誘導処置 (26 日齢にウマ絨毛性ゴナドトロピン皮下投与) と同時にフェニトイン 140mg/kg/day を単回腹腔投与された雌 Wistar Imamichi ラットへの影響が検討されている。その結果として、子宮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、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、血清中卵巣刺激ホルモン濃度の高値、血清中  $\beta$  エストラジオール及びインヒビン濃度の高値、子宮絶対重量の高値、卵巣絶対重量の低値、排卵率及び排卵数の低値、血清中黄体形成ホルモン及び卵巣刺激ホルモン濃度の低値などにより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。

##### ○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価が出来ない報告

②Meyer ら (2009) によって、フェニトイン 20mg/kg/day を 2 週間混餌投与された成熟雄 C57B1/6 マウスへの影響が検討されている。その結果として、脳ミクロソーム中 2 $\alpha$ 、2 $\beta$ 、6 $\beta$ 、16 $\alpha$ 、16 $\beta$  ヒドロキシル化テストステロン代謝物生成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、用いた試験動物の入手先に関する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、脳ミクロソーム中 2 $\alpha$ 、2 $\beta$ 、6 $\beta$ 、16 $\alpha$ 、16 $\beta$  ヒドロキシル化テストステロン代謝物生成量の高値について、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。

#### ○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

③Cohnら（1978）によって、フェニトイン 20、40、80mg/kg/day を 10 週間皮下投与された albino ラットへの影響が検討されている。その結果として、80mg/kg/day のばく露群で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、結果の有意差検定の方法が記載されていないことから、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。

④Makatsonら（2005）によって、フェニトイン 150mg/kg/day を妊娠 7 日目から 11 日間経口投与された Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、同腹新生仔総重量 (litter weight) の低値、4 ヶ月齢雌仔動物体重の低値、4 ヶ月齢雌仔動物の刺激誘導性血漿中アドレナリン及びノルアドレナリ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、新生仔の生残率が有意に低値であり、同腹新生仔総重量 (litter weight) の低値、4 ヶ月齢雌仔動物体重の低値、4 ヶ月齢雌仔動物の刺激誘導性血漿中アドレナリン及びノルアドレナリン濃度の高値について、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。

## (2) 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

①de Sandroら（1991）によって、フェニトイン 25、100mg/kg/day を 7 日間経口投与された雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中チロキシン濃度の低値、肝臓中 5'-デオナーゼ活性の低値、腎臓中 5'-デオナーゼ活性の高値が認められた。

また、フェニトイン 100mg/kg/day を 14 日間経口投与された雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、肝臓中 EROD (エトキシレゾルフィン-O-デエチラーゼ)、PROD (ペントキシレゾルフィン-O-デエチラーゼ)、UDPGT (UDP グルクロノシルトランスフェラーゼ) 比活性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、血清中チロキシン濃度の低値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

- ②Schröder-van der Elst ら (1996) によって、フェニトイン 50mg/kg/day を 3 週間混餌投与された成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中総チロキシン濃度及び遊離チロキシン濃度の低値、血清中総トリヨードチロニン濃度の低値、脳中甲状腺ホルモン関連酵素 (ID-II、ME) 活性の低値、脳中甲状腺ホルモン関連酵素 ( $\alpha$ GPD) 活性の高値、肝臓中甲状腺ホルモン関連酵素 (T4-UGT、T3-UGT1、 $\alpha$ GPD、ME) 活性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、血清中総チロキシン濃度及び遊離チロキシン濃度の低値、血清中総トリヨードチロニン濃度の低値などにより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。

- ③Theodoropoulos ら (1980) によって、フェニトイン 50mg/kg/day を 7 日間腹腔投与された成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中総チロキシン濃度及び遊離チロキシン濃度の低値、血清中総トリヨードチロニン濃度及び遊離トリヨードチロニン濃度の低値、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導性血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値が認められた。

また、甲状腺摘出处置後にフェニトイン 50mg/kg/day を 7 日間腹腔投与された成熟雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中及び下垂体中甲状腺刺激ホルモ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、被験物質と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、血清中総チロキシン濃度及び遊離チロキシン濃度の低値、血清中総トリヨードチロニン濃度及び遊離トリヨードチロニン濃度の低値、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導性血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値などにより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

- ④Theodoropoulos ら (1990) によって、フェニトイン 50mg/kg/day を妊娠期間中腹腔投与された SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、10、20、30、60 日齢雄雌仔動物の血清中チロキシン及びトリヨードチロニン濃度の低値、60 日齢雄仔動物の甲状腺ホルモン放出ホルモン誘導性血清中甲状腺刺激ホルモ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、用いた被験物質の入手先及び試験動物の個体数が記載されていないことから、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。

### (3) 抗エストロゲン様作用

#### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Olsen ら (2004) によって、フェニトインについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 を用いた細胞増殖試験 (E-Screen) が検討されている。その結果として、ダイアジノンは、100 $\mu$ M の濃度において 17 $\beta$ -エストラジオール 30pM 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、ヒト乳がん細胞 MCF-7 を用いた細胞増殖試験では 17 $\beta$ -エストラジオールによる細胞増殖誘導を阻害したことから抗エストロゲン様作用を持つことが示唆され、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。

### (4) 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る報告

①Meyer ら (2009) によって、フェニトイン 50 $\mu$ M に 48 時間ばく露したラット褐色細胞腫細胞 PC-12 への影響が検討されている。その結果として、アンドロゲン受容体発現量の高値、チトクローム P450 (CYP3A2) 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、アンドロゲン受容体発現量の高値が認められたことからアンドロゲン様作用を持つことが示唆され、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。

②Gehlhaus ら (2007) によって、フェニトイン 10、100 $\mu$ M に 24~48 時間ばく露したマウス肝臓がん細胞 1c1c7 への影響が検討されている。その結果として、アンドロゲン受容体の mRNA 発現量の高値、チトクローム P450 (CYP3A11) の mRNA 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、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、アンドロゲン受容体の mRNA 発現量の高値が認められたことからアンドロゲン様作用を持つことが示唆され、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。

(5) 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る報告

①Fleckman ら (1981) によって、フェニトイン 20、80、200、400 $\mu$ M に 1 時間ばく露したラット下垂体前葉培養細胞への影響が検討されている。その結果として、IC<sub>50</sub> 値 10 $\mu$ M の濃度でカリウムイオン誘導性甲状腺刺激ホルモン分泌量の低値、IC<sub>50</sub> 値 200 $\mu$ M の濃度で甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導性甲状腺刺激ホルモン分泌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、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導性甲状腺刺激ホルモン分泌量の低値が認められたことから抗甲状腺ホルモン様作用を持つことが示唆され、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。

②Lim ら (1996) によって、フェニトイン 25、50、100、200 $\mu$ M に 1 時間ばく露したラット下垂体前葉培養細胞への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu$ M 以上のばく露区でトリヨードチロニン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、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、トリヨードチロニン取り込み率の低値が認められたことから抗甲状腺ホルモン様作用を持つことが示唆され、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。

③Davis ら (1986) によって、フェニトイン 50、100、150、200 $\mu$ M に 6 時間ばく露したラット下垂体前葉培養細胞への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu$ M 以上のばく露区で基底状態プロラクチン分泌量の低値、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導性プロラクチン分泌量の低値が認められた。

また、フェニトイン 50、150 $\mu$ M に 18 時間ばく露したラット下垂体前葉培養細胞への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu$ M 以上のばく露区で基底状態プロラクチン分泌量及び mRNA 発現量の低値、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導性成長ホルモン mRNA 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、試験動物の入手先及び週齢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、基底状態プロラクチン分泌量の低値、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導性プロラクチン分泌量の低値が認められたことから抗甲状腺ホルモン様作用を持つことが示唆され、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。

- ④Franklyn ら (1985) によって、フェニトイン 50、100、150、200 $\mu$ M に 6 時間ばく露したラット下垂体前葉培養細胞への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu$ M 以上のばく露区で甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導性甲状腺刺激ホルモン分泌量の低値が認められた。

また、フェニトイン 50、100、150、200 $\mu$ M に 1 時間ばく露したラット下垂体前葉培養細胞への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu$ M 以上のばく露区で核中へのトリヨードチロニン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、被験物質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、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導性甲状腺刺激ホルモン分泌量の低値、核中へのトリヨードチロニン取り込み率の低値が認められたことから抗甲状腺ホルモン様作用を持つことが示唆され、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。

## (6) 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

- ①Isojärvi ら (1990) によって、フェニトインについて、フィンランド Oslo 市にてフェニトイン投与男性てんかん患者 17 名 (平均年齢 34.7 $\pm$ 8.6 歳、平均投与期間 10.4 年) への影響が検討されている。その結果として、対照群 19 名 (健常男性、平均年齢 27.5 歳) との比較において、血清中総テストステロン濃度、性ホルモン結合グロブリン濃度、エストラジオール濃度の高値、血清中総チロキシン濃度、遊離チロキシン濃度、デヒドロエピアンドロステロン濃度、プロラクチン濃度及び黄体形成ホルモ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、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、フェニトイン投与と血清中総テストステロン濃度、性ホルモン結合グロブリン濃度、エストラジオール濃度の高値、血清中総チロキシン濃度、遊離チロキシン濃度、デヒドロエピアンドロステロン濃度、プロラクチン濃度及び黄体形成ホルモン濃度の低値とに相関が認められたなどの内分泌系への影響が示唆され、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。

- ②Hegedüs ら (1985) によって、フェニトインについて、デンマーク Copenhagen 市にてフェニトイン投与てんかん患者 23 名 (男性 13 名及び女性 10 名、年齢中央値 53 歳、体重中央値 67kg、投与量 200~500mg/day、投与期間 2~38 年) への影響が検討されている。その結果として、対照群

23名（健常男性及び女性、年齢中央値 50 歳、体重中央値 70kg）との比較において、甲状腺容積の高値、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、血清中総チロキシン濃度の低値、血清中遊離体チロキシン存在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、フェニトイン投与と甲状腺容積の高値、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、血清中総チロキシン濃度の低値、血清中遊離体チロキシン存在率の低値とに相関が認められたなどの内分泌系への影響が示唆され、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。

- ③Kruse ら（1987）によって、フェニトインについて、ドイツ Würzburg 市にて、フェニトイン投与男性てんかん患者 12 名（年齢中央値 14.2 歳、投与量 4.4mg/kg/day、血清中濃度中央値 9.2mg/L）への影響が検討されている。その結果として、対照群 29 名（健常男性 19 名及び女性 10 名、年齢中央値 12.4 歳）との比較において、血清中基底状態カルシトニン-1 及びカルシトニン-2 濃度の低値、カルシウムイオン誘導性血清中カルシトニン-1 及びカルシトニン-2 濃度の低値、カルシウムイオン誘導性血清中カルシトニン-1 及びカルシトニン-2 濃度増加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、フェニトイン投与とペプチドホルモンである血清中基底状態カルシトニン-1 及びカルシトニン-2 濃度の低値、カルシウムイオン誘導性血清中カルシトニン-1 及びカルシトニン-2 濃度の低値、カルシウムイオン誘導性血清中カルシトニン-1 及びカルシトニン-2 濃度増加率の低値とに相関が認められたなどの内分泌系への影響が示唆され、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。

- ④Murialdo ら（1994）によって、フェニトインについて、イタリアにて抗けいれん剤（フェニトイン、カルバマゼピン、フェニトインのいずれか）投与歴がある寛解性男性てんかん患者 35 名（5 年間以上発作なし、平均年齢 25 歳）への影響が検討されている。その結果として、フェニトイン単独投与群 7 名と対照群 17 名（健常男性、平均年齢 26 歳）との比較において、血清中  $\beta$ -エストラジオール濃度、プロラクチン濃度及び性ホルモン結合グロブリン濃度の高値、血清中ジヒドロテストステロン濃度及び遊離テストステロ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、対象者数が 7 名と少ないことから、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、フェニトイン投与と血清中  $\beta$ -エストラジオール濃度、プロラクチン濃度及び性ホルモン結合グロブリン濃度の高値、血清中ジヒドロテストステロン濃度及び遊離テストステロン濃度の低値とに相関が認められたなどの内分泌系への影響が示唆され、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。

- ⑤Levesque ら (1986) によって、フェニトインについて、米国 Massachusetts 州にて側頭葉てんかん男性患者 16 名 (平均年齢  $37.1 \pm 5.0$  歳) への影響が検討されている。その結果として、フェニトイン投与群男性 3 名と対照群 8 名 (健常男性、年齢適合) との比較において、血清中総デヒドロエピアンドロステロンスルファート濃度の低値が認められた。

また、側頭葉てんかん女性患者 55 名 (平均年齢  $31.3 \pm 8.2$  歳) への影響が検討されている。その結果として、フェニトイン投与群女性 4 名と対照群 13 名 (健常女性、年齢適合) との比較において、血清中デヒドロエピアンドロステロンスルファート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、対象者数が 3 または 4 名と少ないことから、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、フェニトイン投与と血清中総デヒドロエピアンドロステロンスルファート濃度の低値とに相関が認められたなどの内分泌系への影響が示唆され、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。

- ⑥Surks と DeFesi (1996) によって、フェニトインについて、米国 New York 州にてフェニトイン単独投与てんかん患者 9 名 (男性 5 名及び女性 4 名、血清中フェニトイン濃度  $76.3 \pm 17.9 \mu\text{mol/L}$ ) への影響が検討されている。その結果として、対照群 12 名 (健常男性 6 名及び女性 6 名、年齢 25 ~ 60 歳) との比較において、血清中遊離型チロキシン存在率及びトリヨードチロニン存在率の高値、血清中総チロキシ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、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、フェニトイン投与と血清中遊離型チロキシン存在率及びトリヨードチロニン存在率の高値、血清中総チロキシン濃度の低値とに相関が認められたなどの内分泌系への影響が示唆され、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。

#### ○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価が出来ない報告

- ⑦Ostrowska ら (1988) によって、フェニトインについて、ポーランド Zabrze 市にて、フェニトイン投与開始から 24 ヶ月後の男性てんかん患者 45 名 (平均年齢  $32.4 \pm 8.6$  歳、平均発症年齢  $27.4 \pm 11.3$  歳、投与量  $200 \sim 300 \text{mg/kg/day}$ 、血清中濃度  $22.43 \pm 9.96 \mu\text{mol/L}$ ) への影響が検討されている。その結果として、対照群 45 名 (健常男性、平均年齢  $39.1 \pm 9.1$  歳) との比較において、尿中 17-ヒドロキシコレステロール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、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、尿中 17-ヒドロキシコレステロール濃度の低値について、病態の程度によってもホルモン濃度が変動するため、病態の影響とフェニトイン投与の影響が判別できないため、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。

- ⑧Taneja ら (1994) によって、フェニトインについて、インドにて、フェニトイン投与歴 (3~144 ヶ月) がある男性てんかん患者 42 名 (平均年齢 28.62±6.49 歳、平均罹患年数 6.6±4.7 年) への影響が検討されている。その結果として、対照群 28 名 (健常男性、平均年齢 27.7±3.2 歳) との比較において、総精液量の低値、精子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、対象者数が少なく、投与群と対照群の年齢幅が異なることから、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、総精液量の低値、精子濃度の低値について、対照群においても精液質の低下が認められたことから、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。

## 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、ほ乳類の生殖及び甲状腺への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、アンドロゲン様作用及び抗甲状腺ホルモン様作用を持つことが示唆され、疫学的調査の報告において投与歴と血清中ホルモン濃度等の低値等との間に関連性が認められた。

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：フェニトイン

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)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(1)生殖影響	①Tamura ら	○	○P	○
	②Meyer ら	△	?	—
	③Cohn ら	×	—	×
	④Makatson ら	○	×	×
(2)甲状腺影響	①de Sandro ら	○	○P	○
	②Schröder-van der Elst ら	△	○P	○
	③Theodoropoulos ら	△	○P	○
	④Theodoropoulos ら	×	—	×
(3)抗エストロゲン様作用	①Olsen ら	○	○P	○
(4)アンドロゲン様作用	①Meyer ら	△	○P	○
	②Gehlhaus ら	○	○P	○
(5)抗甲状腺ホルモン様作用	①Fleckman ら	○	○P	○
	②Lim ら	△	○P	○
	③Davis ら	△	○P	○
	④Franklyn ら	△	○P	○
(6)疫学的調査	①Isojärvi ら	○	○P	○
	②Hegedüs ら	○	○P	○
	③Kruse ら	○	○P	○
	④Murialdo ら	△	○P	○
	⑤Levesque ら	△	○P	○
	⑥Surks と DeFesi	○	○P	○
	⑦Ostrowska ら	○	?	—
	⑧Taneja ら	△	?	—
今後の対応案	動物試験の報告において、高用量においてほ乳類の生殖及び甲状腺への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用及び抗甲状腺ホルモン様作用を持つことが示唆され、疫学的調査の報告において投与歴と血清中ホルモン濃度等の低値等との間に関連性が認めら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

- Cohn DF, Axelrod T, Homonnai ZT, Paz G, Streifler M, and Kraicer PF (1978) Effect of diphenylhydantoin on the reproductive function of the male rat. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 41 (9), 858-860. ((1) ③)
- Davis JR, Lynam TC, Franklyn JA, Docherty K, and Sheppard MC (1986) Tri-iodothyronine and phenytoin reduce prolactin messenger RNA levels in cultured rat pituitary cells. *Journal of Endocrinology*, 109 (3), 359-364. ((5) ③)
- De Sandro V, Chevrier M, Boddaert A, Melcion C, Cordier A, and Richert L (1991) Comparison of the effects of propylthiouracil, amiodarone, diphenylhydantoin, phenobarbital, and 3-methylcholanthrene on hepatic and renal T4 metabolism and thyroid gland function in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 111 (2), 263-278. ((2) ①)
- Fleckman A, Erlichman J, Schubart UK, and Fleischer N (1981) Effect of trifluoperazine, D600, and phenytoin on depolarization- and thyrotropin-releasing hormone-induced thyrotropin release from rat pituitary tissue. *Endocrinology*, 108 (6), 2072-2077. ((5) ①)
- Franklyn JA, Davis JR, Ramsden DB, and Sheppard MC (1985) Phenytoin and thyroid hormone action. *Journal of Endocrinology*, 104 (2), 201-204. ((5) ④)
- Gehlhaus M, Schmitt N, Volk B, and Meyer RP (2007) Antiepileptic drugs affect neuronal androgen signaling via a cytochrome P450-dependent pathway. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 322 (2), 550-559. ((4) ②)
- Hegedüs L, Hansen JM, Lühdorf K, Perrild H, Feldt-Rasmussen U, and Kampmann JP (1985) Increased frequency of goitre in epileptic patients on long-term phenytoin or carbamazepine treatment. *Clinical Endocrinology*, 23 (4), 423-429. ((6) ②)
- Isojärvi JI, Pakarinen AJ, Ylipalosaari PJ, and Myllylä VV (1990) Serum hormones in male epileptic patients receiving anticonvulsant medication. *Archives of Neurology*, 47 (6), 670-676. ((6) ①)
- Kruse K, Süß A, Büsse M, and Schneider P (1987) Monomeric serum calcitonin and bone turnover during anticonvulsant treatment and in congenital hypothyroidism. *Jornal de pediatri*, 111 (1), 57-63. ((6) ③)
- Levesque LA, Herzog AG, and Seibel MM (1986) The effect of phenytoin and carbamazepine on serum dehydroepiandrosterone sulfate in men and women who have partial seizures with temporal lobe involvement. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 63 (1), 243-245. ((6) ⑤)
- Lim CF, Loidl NM, Kennedy JA, Topliss DJ, and Stockigt JR (1996) Drug effects on triiodothyronine uptake by rat anterior pituitary cells *in vitro*. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 104 (2), 151-157. ((5) ②)
- Makatson A, Michal D, Eduard U, Bakos J, and Jezova D (2005) Neuroendocrine changes in adult female rats prenatally exposed to phenytoin. *Neurotoxicology and Teratology*, 27 (3), 509-514. ((1) ④)

Meyer RP, Gehlhaus M, Schwab R, Bürck C, Knoth R, and Hagemeyer CE (2009) Concordant up-regulation of cytochrome P450 Cyp3a11, testosterone oxidation and androgen receptor expression in mouse brain after xenobiotic treatment. *Journal of Neurochemistry*, 109 (2), 670-681. ((1) ②, (4) ①)

Murialdo G, Galimberti CA, Fonzi S, Manni R, Costelli P, Parodi C, Torre F, Solinas GP, Polleri A, and Tartara A (1994) Sex hormones, gonadotropins and prolactin in male epileptic subjects in remission: role of the epileptic syndrome and of antiepileptic drugs. *Neuropsychobiology*, 30 (1), 29-36. ((6) ④)

Olsen CM, Meussen-Elholm ET, Røste LS, and Taubøll E (2004) Antiepileptic drugs inhibit cell growth in the human breast cancer cell line MCF7. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 213 (2), 173-179. ((3) ①)

Ostrowska Z, Buntner B, Rościszewska D, and Guz I (1988) Adrenal cortex hormones in male epileptic patients before and during a 2-year phenytoin treatment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 51 (3), 374-378. ((6) ⑦)

Schröder-van der Elst JP, van der Heide D, van der Bent C, Kaptein E, Visser TJ, and DiStefano JJ 3rd (1996) Effects of 5, 5'-diphenylhydantoin on the thyroid status in rats. *European Journal of Endocrinology*, 134 (2), 221-224. ((2) ②)

Surks MI and DeFesi CR (1996) Normal serum free thyroid hormone concentrations in patients treated with phenytoin or carbamazepine. A paradox resolved. *Journal of American Medical Association*, 275 (19), 1495-1498. ((6) ⑥)

Tamura K, Abe Y, and Kogo H (2000) Phenytoin inhibits both the first ovulation and uterine development in gonadotropin-primed immature rats. *European Journal of Pharmacology*, 398 (2), 317-322. ((1) ①)

Taneja N, Kucheria K, Jain S, and Maheshwari MC (1994) Effect of phenytoin on semen. *Epilepsia*, 35 (1), 136-140. ((6) ⑧)

Theodoropoulos T, Fang SL, Azizi F, Ingbar SH, Vagenakis AG, and Braverman LE (1980) Effect of diphenylhydantoin on hypothalamic-pituitary-thyroid function in the rat. *American Journal of Physiology*, 239 (6), E468- E473. ((2) ③)

Theodoropoulos TJ, Pappolla MA, Goussis OS, Zolman JC, and Benson DM (1990) Permanent alterations in the hypothalamic-pituitary-thyroid axis in the rat following phenytoin exposure *in utero*. *Hormone and Metabolic Research*, 22 (10), 521-523. ((2) ④)

## IX. フェニトロチオン

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

フェニトロチオンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、生殖影響、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用及び抗アンドロゲン様作用の有無に関する報告がある。

#### (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

①Jollyら(2009)によって、フェニトロチオン 5、10、25、60、120、240 $\mu\text{g/L}$ に21日間ばく露(5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 5 $\mu\text{g/L}$ を同時ばく露)された成熟雌イトヨ *Gasterosteus aculeatus* への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区でスピギン濃度(体重当)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、誤記が多いことから、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などにより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。

②Ferrandoら(1996)によって、フェニトロチオン 9、11、13、16、22、33 $\text{ng/L}$ に21日間ばく露されたオオミジンコ *Daphnia magna* への影響が検討されている。その結果として、9 $\text{ng/L}$ 以上のばく露区で21日間生存率の低値、11 $\text{ng/L}$ 以上のばく露区で体長の低値、総産仔数の低値、同腹産仔数の低値、内的自然増加率の低値、16 $\text{ng/L}$ 以上のばく露区で7日間生存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、21日間生存率の低値、体長の低値、総産仔数の低値、同腹産仔数の低値、内的自然増加率の低値、7日間生存率の低値などにより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。

③Sakai(2001)によって、フェニトロチオン 150 $\text{ng/L}$ に24時間未満齢から21日間ばく露されたオオミジンコ *Daphnia magna* への影響が検討されている。その結果として、150 $\text{ng/L}$ のばく露区で試験期間中の生存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、結果の有意差検定の方法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、生存産仔数の低値などにより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。

○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価が出来ない報告

- ④Reddy ら（1983）によって、スミチオン(フェニトロチオン)100 $\mu\text{g/L}$ に 20 日間ばく露されたカニの一種 *Oziotelphusa senex senex* への影響が検討されている。その結果として、卵巣相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、用いた試験生物が野外から採集したものあることから、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、卵巣相対重量の低値について、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。

○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

- ⑤Lee ら（2006）によって、フェニトロチオン 7.5、75、750 $\mu\text{g/L}$ において 24 時間ばく露されたユスリカ科の一種 *Chironomus tentans* 四令幼虫への影響が検討されている。その結果として、7.5 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区でヘモグロビン A、ヘモグロビン B 及びヒートショックプロテイン 70（誘導発現性） mRNA 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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

- ⑥Katsiadaki ら（2006）によって、フェニトロチオン 15、150 $\mu\text{g/L}$ に 21 日間ばく露（17 $\alpha$ -メチルテストステロン 0.5 $\mu\text{g/L}$ を同時ばく露）された成熟雌イトヨ *Gasterosteus aculeatus* への影響が検討されている。その結果として、15 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露区で体重当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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

(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

- ①Turner ら（2002）によって、フェニトロチオン 5、10、15、20、25 $\text{mg/kg/day}$ を妊娠 12 日目から 10 日間経口投与された雌ラットへの影響が検討されている。その結果として、20 $\text{mg/kg/day}$ 以

上のばく露群で妊娠 12～21 日目母動物の増加体重の低値、20mg/kg/day のばく露群で 100 日齢雄仔動物の副腎相対重量の高値、25mg/kg/day のばく露群で同腹生存新生仔数の低値、新生仔生存率の低値、1 日齢雄仔動物の肛門生殖突起間距離（体重補正相対値）の低値、13 日齢雄仔の乳輪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、1 日齢雄仔動物の肛門生殖突起間距離（体重補正相対値）の低値、13 日齢雄仔の乳輪数の高値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

- ②Tamura ら（2001）によって、フェニトロチオン 15、30mg/kg/day を 7 週齢から 7 日間経口投与された処置雄 SD ラット（4 週齢で精巣摘出、フェニトロチオン経口投与と同時にテストステロン・プロピオネート 50µg/rat/day を皮下投与）への影響（Hershberger 試験）が検討されている。その結果として、15mg/kg/day 以上のばく露群で体重増加量の低値、精囊、肛門挙筋+球海綿体筋及び腹側前立腺絶対及び相対重量の低値、自発運動量の低値、線条体、海馬及び前頭葉中アセチルコリンエステラーゼ活性の低値、30mg/kg/day のばく露群で血液中アセチルコリンエステラーゼ活性の低値、体重の低値、肝臓絶対及び相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、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、肛門挙筋+球海綿体筋及び腹側前立腺絶対及び相対重量の低値などにより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。

- ③Struve ら（2007）によって、フェニトロチオン 20、25mg/kg/day を妊娠 12 日目から 10 日間経口投与された雌ラットへの影響が検討されている。その結果として、20mg/kg/day 以上のばく露群で 60～65 日齢雌仔動物の雌優位性的二形核 SDN-POA 体積の低値、25mg/kg/day のばく露群で 96～105 日齢雄仔動物の雌優位性的二形核 SDN-POA 体積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、60～65 日齢雌仔動物の雌優位性的二形核 SDN-POA 体積の低値、96～105 日齢雄仔動物の雌優位性的二形核 SDN-POA 体積の高値などの内分泌系への影響が示唆され、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

④Sohoni ら (2001) によって、フェニトロチオン 10、15mg/kg/day を 35～36 日齢から 20 日間経口投与された雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、10mg/kg/day 以上のばく露群で体重の低値、肝臓相対重量の低値、15mg/kg/day のばく露群で精嚢相対重量の低値、前立腺相対重量の低値が認められた。

また、フェニトロチオン 10、15mg/kg/day を 7 週齢から 10 日間経口投与された処置雄 SD ラット (6 週齢で精巣摘出、フェニトロチオン経口投与と同時にテストステロンプロピオネート 0.4mg/kg/day を皮下投与) への影響 (Hershberger 試験) が検討されている。その結果として、10mg/kg/day のばく露群でカウパー腺相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、用いた被験物質の入手先、純度が記載されていないことから、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。

(3) 抗エストロゲン様作用

○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

①Okubo ら (2004) によって、フェニトロチオンについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 を用いた細胞増殖試験 (E-Screen) が検討されている。その結果として、フェニトロチオンは、100、1,000 $\mu$ M の濃度において 17 $\beta$ -エストラジオール 30pM 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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

(4) アンドロゲン様作用及び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る報告

①Jolly ら (2009) によって、フェニトロチオンについて、雌イトヨ腎臓細胞におけるスピギン発現誘導が検討されている。その結果として、フェニトロチオンは、0.000001、0.0001、0.01、1 $\mu$ M の濃度において 5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン 10nM によるスピギンの発現を阻害した。

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、誤記が多いことから、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、5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロンによるスピギンの発現を阻害したことから抗アンドロゲン様作用を持つことが示唆され、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。

- ②Tamura ら (2001) によって、フェニトロチオンについて、ヒト肝がん細胞 HepG2 を用いたレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトアンドロゲン受容体応答性配列を有する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、フェニトロチオンは、 $0.1\mu\text{M}$  の濃度においてルシフェラーゼの発現を誘導し、 $K_B$  値  $0.0218\mu\text{M}$  の濃度において  $5\alpha$ -ジヒドロテストステロン  $100\text{nM}$  によるルシフェラーゼの発現を阻害した。

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、ヒト肝がん細胞 HepG2 を用いたレポーターアッセイではルシフェラーゼの発現を誘導し、 $5\alpha$ -ジヒドロテストステロン  $100\text{nM}$  によるルシフェラーゼの発現を阻害したことからアンドロゲン様作用及び抗アンドロゲン様作用を持つことが示唆され、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

- ③Sohoni ら (2001) によって、フェニトロチオンについて、酵母を用いたレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトアンドロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導) が検討されている。その結果として、フェニトロチオンは、 $EC_{50}$  値  $500\mu\text{M}$  の濃度において  $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現を誘導し、 $IC_{50}$  値  $10\mu\text{M}$  の濃度において  $5\alpha$ -ジヒドロテストステロン  $1.5\text{nM}$  による  $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現を阻害した。

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、用いた被験物質の入手先、純度が記載されていないことから、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。

## 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、ほ乳類及びミジンコ類の生殖への影響並びに魚類の内分泌系への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、アンドロゲン様作用及び抗アンドロゲン様作用を持つことが示唆された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 9 に示した。

表9 信頼性評価のまとめ

物質名：フェニトロチオン

区分	筆頭著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(1)生態影響	①Jolly ら	△	○P	○
	②Ferrando ら	○	○P	○
	③Sakai	△	○P	○
	④Reddy ら	△	?	—
	⑤Lee ら	×	—	×
	⑥Katsiadaki ら	×	—	×
(2)生殖影響	①Turner ら	○	○P	○
	②Tamura ら	○	○P	○
	③Struve ら	○	○P	○
	④Sohoni ら	×	—	×
(3)抗エストロゲン様作用	①Okubo ら	×	—	×
(4)(抗)アンドロゲン様作用	①Jolly ら	△	○P	○
	②Tamura ら	○	○P	○
	③Sohoni ら	×	—	×
今後の対応案	動物試験の報告において、ほ乳類及びミジンコ類の生殖への影響並びに魚類の内分泌系への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、アンドロゲン様作用及び抗アンドロゲン様作用を持つ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

Ferrando MD, Sancho E, and Andreu-Moliner E (1996) Chronic toxicity of fenitrothion to an algae (*Nannochloris oculata*), a rotifer (*Brachionus calyciflorus*), and the cladoceran (*Daphnia magna*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 35 (2), 112-120. ((1) ②)

Jolly C, Katsiadaki I, Morris S, Le Belle N, Dufour S, Mayer I, and 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. ((1) ①、(4) ①)

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. (( 1 ) ⑥)

Lee SM, Lee SB, Park CH, and Choi J (2006) Expression of heat shock protein and hemoglobin genes in *Chironomus tentans* (Diptera, chironomidae) larvae exposed to various environmental pollutants: a potential biomarker of freshwater monitoring. *Chemosphere*, 65 (6), 1074-1081. (( 1 ) ⑤)

Okubo T, Yokoyama Y, Kano K, Soya Y, and Kano I (2004) Estimation of estrogenic and antiestrogenic activities of selected pesticides by MCF-7 cell proliferation assay. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 46 (4), 445-453. (( 3 ) ①)

Reddy PS, Bhagyalakshmi A, and Ramamurthi R (1983) Effect of sumithion on ovarian growth of a fresh water rice field crab (*Oziotelphusa senex senex Fabricius*). *Toxicology Letters*, 18 (3), 273-276. (( 1 ) ④)

Sakai M (2001) Chronic toxicity tests with *Daphnia magna* for examination of river water quality. *Journal of Environmental Science and Health. Part B*, 36 (1), 67-74. (( 1 ) ③)

Sohoni P, Lefevre PA, Ashby J, and Sumpter JP (2001) Possible androgenic/anti-androgenic activity of the insecticide fenitrothion. *Journal of Applied Toxicology*, 21 (3), 173-178. (( 2 ) ④、( 4 ) ③)

Struve MF, Turner KJ, and Dorman DC (2007) Preliminary investigation of changes in the sexually dimorphic nucleus of the rat medial preoptic area following prenatal exposure to fenitrothion. *Journal of Applied Toxicology*, 27 (6), 631-636. (( 2 ) ③)

Tamura H, Maness SC, Reischmann K, Dorman DC, Gray LE, and Gaido KW (2001) Androgen receptor antagonism by the organophosphate insecticide fenitrothion. *Toxicological Sciences*, 60 (1), 56-62. (( 2 ) ②、( 4 ) ②)

Turner KJ, Barlow NJ, Struve MF, Wallace DG, Gaido KW, Dorman DC, and Foster PM (2002) Effects of *in utero* exposure to the organophosphate insecticide fenitrothion on androgen-dependent reproductive development in the CrI:CD(SD)BR rat. *Toxicological Sciences*, 68 (1), 174-183. (( 2 ) ①)

## X. フェノバルビタール

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

フェノバルビタールの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響、甲状腺影響、副腎影響、抗エストロゲン様作用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。

#### (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

①O'Connorら(2002)によって、フェノバルビタール 5、25、50、100mg/kg/day を15日間経口投与された雄SDラットへの影響が検討されている。その結果として、5mg/kg/day以上のばく露群で甲状腺絶対重量の高値、血清中5 $\alpha$ -ジヒドロステロントリヨードチロニン濃度の低値、25mg/kg/day以上のばく露群で肝臓絶対重量の高値、血清中甲状腺刺激ホルモンの高値、血清中チロキシン濃度の低値、50mg/kg/day以上のばく露群で血清中プロラクチン及び黄体形成ホルモン濃度の低値、100mg/kg/dayのばく露群で脾臓相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、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、甲状腺絶対重量の高値、血清中5 $\alpha$ -ジヒドロステロントリヨードチロニン濃度の低値、血清中甲状腺刺激ホルモンの高値、血清中チロキシン濃度の低値、血清中プロラクチン及び黄体形成ホルモン濃度の低値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

②Bonner(1994)によって、フェノバルビタール 20、40、60mg/kg/day を妊娠9日目から6日間皮下投与されたハムスターへの影響が検討されている。その結果として、20mg/kg/day以上のばく露群で発情開始日の雄仔動物の副腎相対重量の低値、雌仔動物の発情開始日の遅延、雌仔動物の正常発情周期(4日)発現率の低値、40mg/kg/day以上のばく露群で発情開始日の雌仔動物の副腎相対重量の低値、雄仔動物の発情開始日の遅延、40mg/kg/dayのばく露群で4日齢雄仔動物の旋回運動及び超音波発声行動回数の低値、60mg/kg/dayのばく露群で発情開始日の雌仔動物の卵巣相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、用いた被験物質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、雌仔動物の発情開始日の遅延、雌仔動物の正常発情周期発現率の低値、雄仔動物の発情開始日の遅延、発情開始日の雌仔動物の卵巣相対重量の低値などにより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。

③Wani ら (1996) によって、フェノバルビタール 40mg/kg/day を 1 日齢から 7 日間皮下投与された雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、65 及び 165 日齢での血清中テストステロン濃度 (平均値及び極大値) 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、血清中テストステロン濃度の高値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

④Agrawal ら (1995) によって、フェノバルビタール 40mg/kg/day を 1 日齢から 7 日間皮下投与された SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、65、150 日齢雄の血清中テストステロン濃度 (極大値) の低値、65 日齢雌の血清中成長ホルモン濃度 (平均値及び極大値) の低値、4、8、65、135 及び 150 日齢雄の肝ミクロソーム中のヘキサバービタルヒドロシキラーゼの高値、5～175 日齢雄の体重の低値、30～180 日齢雄及び雌の睡眠時間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、65、150 日齢雄の血清中テストステロン濃度の低値、65 日齢雌の血清中成長ホルモン濃度の低値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

⑤Gupta ら (1982) によって、フェノバルビタール 40mg/kg/day を妊娠 17 日目から 4 日間投与 (投与方法不明) された SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、1、3、21、120 日齢雄仔動物の精巢中、脳中、血清中テストステロン濃度の低値が認められた。

また、フェノバルビタール 40mg/kg/day を妊娠 17 日目から 3 日間投与 (投与方法不明) された SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、出産 2 日前雄胎仔の脳及び血清中テストステロン濃度の低値が認められた。

また、フェノバルビタール 40mg/kg を妊娠 17 日目に単回投与 (投与方法不明) された SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、出産 4 日前雄胎仔の脳中テストステロ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、用いた被験物質及び試験動物の入手先、飼育条件、投与方法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、雄仔動物の精巢中、脳中、血清中テストステロン濃度の低値などにより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。

⑥Chakraborty と Karanth (1993) によって、フェノバルビタール 50mg/kg/day を 72 日齢から 14 日間腹腔投与された雄 Swiss マウスへの影響が検討されている。その結果として、下垂体の卵胞刺激ホルモン分泌細胞数及び体積の低値、下垂体の黄体形成ホルモン分泌細胞体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、用いた被験物質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、下垂体の卵胞刺激ホルモン分泌細胞数及び体積の低値、下垂体の黄体形成ホルモン分泌細胞体積の低値などにより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。

#### ○内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価が出来ない報告

⑦Thyagaraju ら (2003) によって、フェノバルビタール 80mg/kg/day を 3 週間 (週 3 日) 腹腔投与された成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、精巣中グルタチオン S-トランスフェラーゼ活性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、用いた被験物質の入手先及び調整方法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、精巣中グルタチオン S-トランスフェラーゼ活性の高値について、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。

#### ○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

⑧Katz ら (1994) によって、フェノバルビタール 50mg/kg/day を 2 日齢から 20 日間皮下投与された雄マウスへの影響が検討されている。その結果として、22 及び 50 日齢での精巣絶対重量の低値が認められた。

また、フェノバルビタール 50、100mg/kg/day を 3 週間皮下投与された成熟雄マウスへの影響が検討されている。その結果として、精巣ミトコンドリア中ベンゾジアゼピン受容体濃度 (受容体結合部位の Bmax 値) 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、用いた被験物質の入手先及び調整方法、試験動物の入手先、結果の解析方法が記載されていないことから、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。

## (2) 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

①Theodoropoulos と Zolman (1989) によって、フェノバルビタール 100mg/kg/day を 10 日間腹腔投与された成熟 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中チロキシン及びトリヨードチロニン濃度の低値（雌雄混合）、低温ストレスによる甲状腺刺激ホルモン誘導濃度の低値（雌雄混合）が認められた。

また、フェノバルビタール 100mg/kg/day を 10 日間腹腔投与された成熟処置（甲状腺摘出）SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、雄及び雌の血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモンによる甲状腺刺激ホルモン誘導濃度の低値（雌雄混合）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、用いた被験物質及び試験動物の入手先が記載されていないこと及び雌雄混合で結果を解析していることから、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、血清中チロキシン及びトリヨードチロニン濃度の低値などにより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。

②Hood ら (1999) によって、フェノバルビタール 300、600、1,200、2,400ppm（餌中濃度）を 7 日間混餌投与された成熟雄 SD ラットの影響が検討されている。その結果として、300、1,200、2,400ppm のばく露群で血清中総トリヨードチロニン濃度の低値、300、600、2,400ppm のばく露群で甲状腺濾胞細胞の細胞分裂率の高値、600ppm 以上のばく露群で血清中遊離チロキシン濃度の低値、600ppm のばく露群で血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、1,200ppm 以上のばく露群で血清中総チロキシ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、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、血清中総トリヨードチロニン濃度の低値、甲状腺濾胞細胞の細胞分裂率の高値、血清中遊離チ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、血清中総チロキシン濃度の低値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

## (3) 副腎影響

### ○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

①Torrellas ら (1981) によって、フェノバルビタール 50mg/kg/day を 8 日間皮下投与された成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清及び副腎中コルチコステロン濃度（午前及び午後の絶対値、午後/午前濃度比）に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、用いた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、血清及び副腎中コルチコステロン濃度に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。

#### (4) 抗エストロゲン様作用

##### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Olsen ら (2004) によって、フェノバルビタールについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 を用いた細胞増殖試験 (E-Screen) が検討されている。その結果として、フェノバルビタールは、10、100 $\mu$ M の濃度において 17 $\beta$ -エストラジオール 30pM 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、誤記が多いことから、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、ヒト乳がん細胞 MCF-7 を用いた細胞増殖試験では 17 $\beta$ -エストラジオールによる細胞増殖誘導を阻害したことから抗エストロゲン様作用を持つことが示唆され、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。

#### (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

①Tanaka ら (1987) によって、フェノバルビタールについて、兵庫県神戸市にて抗けいれん剤 (フェノバルビタール他 6 種類) 投与中のてんかん患者 287 名 (男児 143 名、女児 144 名、平均年齢 11.1 $\pm$ 5.4 歳) への影響が検討されている。その結果として、フェノバルビタール単独投与集団 63 名 (A 群として投与継続期間 1~2 年 26 名、B 群として投与継続期間 3~5 年 14 名、C 群として投与継続期間 6~9 年 15 名、D 群として投与継続期間 10~年 8 名) と対照集団 26 名 (抗けいれん剤投与を受けておらず甲状腺が健常なてんかん患者として男児 15 名、女児 11 名、平均年齢 9.1 $\pm$ 4.0 歳) との比較において、C、D 群において血清中トリヨードチロニン濃度の低値、B、C、D 群において血清中チロキシン濃度の低値、A、B、C、D 群においてトリヨードチロニン摂取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、フェノバルビタール投与と血清中トリヨードチロニン濃度の低値、血清中チロキシン濃度の低値、トリヨードチロニン摂取率の高値とに相関が認められたなどの内分泌系への影響が示唆され、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。

- ②Murialdo ら (1994) によって、フェノバルビタールについて、抗けいれん剤 (フェノバルビタール、カルバマゼピン、フェニトインのいずれか) 投与歴があり、5年間以上発作のない男性てんかん患者 35 名 (年齢 19~47 歳、平均年齢 25 歳) への影響が検討されている。その結果として、フェノバルビタール単独投与集団 18 名 (PB-IGE 群として特発性全般てんかん患者 12 名、PB-PE 群として部分てんかん患者 6 名) と対照集団 37 名 (健常男性、年齢 19~48 歳、平均年齢 26 歳) との比較において、PB-IGE 群及び PB-PE 群で血清中  $\Delta$ 4 アンドステンジオン濃度の高値、血清中テストステロン (遊離) 濃度の低値、PB-PE 群で血清中性ホルモン結合グロブリン濃度の高値、血清中黄体形成ホルモ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、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、フェニトイン投与と血清中  $\Delta$ 4 アンドステンジオン濃度の高値、血清中テストステロン (遊離) 濃度の低値、血清中性ホルモン結合グロブリン濃度の高値、血清中黄体形成ホルモン濃度の低値とに相関が認められたなどの内分泌系への影響が示唆され、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

- ③Rozza ら (1987) によって、フェノバルビタールについて、抗けいれん剤 (フェノバルビタール及びカルバマゼピン) 複合投与により治療中 (1~5 年間) の部分てんかん患者男性 15 名 (年齢 20~35 歳) への影響が検討されている。その結果として、対照集団 37 名 (志願者男性、平均年齢 24 歳) との比較において、血清中トリヨードチロニン、甲状腺刺激ホルモン、コルチゾール及び副腎皮質刺激ホルモン濃度の高値、血清中チロキシン、チロキシン (遊離) 及びデヒドロエピアンドロステロン-スルフェート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、フェノバルビタール及びカルバマゼピンの複合投与であり、フェノバルビタール単独の評価ができないことから、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。

- ④Specchio ら (1985) によって、フェノバルビタールについて、抗けいれん剤投与によって 2 年以上治療中の患者 7 名 (年齢 5~10 歳、フェノバルビタール単独投与 4 名、カルバマゼピン単独投与 2 名、バルプロ酸ナトリウム 1 名) への影響が検討されている。その結果として、対照集団 20 名 (先天的低身長のため検診に訪れた思春期前健常者、年齢 3~8 歳) との比較において、フェノバルビタール又はカルバマゼピン単独投与群において、血清中チロキシン (基礎) 濃度の低値、血清中黄体形成ホルモン (基礎) 濃度の高値、血清中甲状腺刺激ホルモン (甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導性) 及び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、フェノバルビタール又はカルバマゼピン単独投与群を合わせて解析しており、フェノバルビタール単独の評価ができないこと、投与群数が4名と少ないことから、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。

## 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、ほ乳類の生殖及び甲状腺への影響を示すことが示唆され、試験管内試験の報告において、抗エストロゲン様作用を持つことが示唆され、疫学的調査の報告において投与歴と血清中ホルモン濃度との間に関連性が認められた。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表10に示した。

表10 信頼性評価のまとめと今後の対応案

物質名：フェノバルビタール

区分	筆頭著者	作業班会議における信頼性評価結果		
		報告結果(Results)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(1)生殖影響	①O'Connor ら	○	○P	○
	②Bonner	△	○P	○
	③Wani ら	○	○P	○
	④Agrawal ら	○	○P	○
	⑤Gupta ら	△	○P	○
	⑥Chakraborty と Karanth	△	○P	○
	⑦Thyagaraju ら	△	?	—
	⑧Katz ら	×	—	×
(2)甲状腺影響	①Theodoropoulos と Zolman	△	○P	○
	②Hood ら	○	○P	○
(3)副腎影響	①Torrellas ら	△	○N	×
(4)抗エストロゲン様作用	①Olsen ら	△	○P	○
(5)疫学的調査	①Tanaka ら	○	○P	○
	②Murialdo ら	○	○P	○
	③Rozza ら	×	—	×
	④Specchio ら	×	—	×
今後の対応案	動物試験において、ほ乳類の生殖及び甲状腺への影響を示すことが示唆され、試験管内試験において、抗エストロゲン様作用を持つことが示唆され、疫学的調査において投与歴と血清中ホルモン濃度との間に関連性が認めら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

\*試験方法に問題があるため、×と評価した

#### 参考文献

Agrawal AK, Pampori NA, Shapiro BH (1995) Neonatal phenobarbital-induced defects in age- and sex-specific growth hormone profiles regulating monooxygenases. American Journal of Physiology,

268 (3 part1), E439-E445. ((1) ④)

Bonner MJ (1994) Prenatal and neonatal pharmacologic stress on early behavior and sexual maturation in the hamster. *Journal of Clinical Pharmacology*, 6(6), 713-718. ((1) ②)

Chakraborty D and Karanth S (1993) Effect of phenobarbitone on pituitary gland of male albino mice. *The Indian Journal of Medical Research*, 98, 83-86. ((1) ⑥)

Gupta C, Yaffe SJ, and Shapiro BH (1982) Prenatal exposure to phenobarbital permanently decreases testosterone and causes reproductive dysfunction. *Science*, 216 (4546), 640-642. ((1) ⑤)

Hood A, Hashmi R, and Klaassen CD (1999) Effects of microsomal enzyme inducers on thyroid-follicular cell proliferation, hyperplasia, and hypertrophy. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 160 (2), 163-170. ((2) ②)

Katz Y, Amiri Z, Pick CG, Weizman R, Yanai J, and Gavish M (1994) Effects of chronic prenatal, neonatal and adult exposure to barbiturates on mitochondrial benzodiazepine receptors in mouse testis. *Biochemical Pharmacology*, 47 (5), 910-913. ((1) ⑧)

Murialdo G, Galimberti CA, Fonzi S, Manni R, Costelli P, Parodi C, Torre F, Solinas GP, Polleri A, and Tartara A (1994) Sex hormones, gonadotropins and prolactin in male epileptic subjects in remission: role of the epileptic syndrome and of antiepileptic drugs. *Neuropsychobiology*, 30 (1), 29-36. ((6) ②)

O'Connor JC, Frame SR, and Ladics GS (2002) Evaluation of a 15-day screening assay using intact male rats for identifying steroid biosynthesis inhibitors and thyroid modulators. *Toxicological Sciences*, 69 (1), 79-91. ((1) ①)

Olsen CM, Meussen-Elholm ET, Røste LS, and Taubøll E (2004) Antiepileptic drugs inhibit cell growth in the human breast cancer cell line MCF7. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 213 (2), 173-179. ((4) ①)

Rozza L, Marcolla A, and Ferrari G (1987) Endocrine function changes in young males during long-term antiepileptic therapy with phenobarbitone and carbamazepine. *Italian Journal of Neurological Sciences*, 8 (4), 331-336. ((6) ③)

Specchio LM, Cavallo L, La Neve A, Licci D, Sisto L, Olivieri G, and Bratta P (1985) Effects of chronic anticonvulsant monotherapy on endocrine system in prepubertal children with convulsive disorders. Preliminary data. *Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale*, 61 (2), 189-194. ((6) ④)

Tanaka K, Kodama S, Yokoyama S, Komatsu M, Konishi H, Momota K, and Matsuo T (1987) Thyroid function in children with long-term anticonvulsant treatment. *Pediatric Neuroscience*, 13 (2), 90-94. ((6) ①)

Theodoropoulos TJ and Zolman JC (1989) Effects of phenobarbital on hypothalamic-pituitary-thyroid axis in the rat. *American Journal of the Medical Sciences*, 297 (4), 224-227. ((2) ①)

Thyagaraju K, Vasundhara K, Hemavathi B, and Devi KN (2004) Effect of phenobarbital on the induction of glutathione S-transferases in rat testis. *Reproductive BioMedicine Online*, 8 (1), 68-74. ((1) ⑦)

Torrellas A, Guaza C, Borrell J, and Borrell S (1981) Pituitary-adrenal responses to sub-chronic treatment with phenobarbital and/or phenytoin (diphenylhydantoin) in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 15 (2), 235-241. (( 3 ) ①)

Wani JH, Agrawal AK, and Shapiro BH (1996) Neonatal phenobarbital-induced persistent alterations in plasma testosterone profiles and testicular function. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 137 (2), 295-300. (( 1 ) ③)

## X I. ペルフルオロオクタン酸

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ペルフルオロオクタン酸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、雄性生殖影響、発達影響、甲状腺影響、エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用及び抗甲状腺ホルモン様作用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。

#### (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

①Oakes ら(2004)によって、ペルフルオロオクタン酸 0.3、1、30、100mg/L に 39 日間ばく露され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、1mg/L 以上のばく露区で雌雄の血漿中テストステロン濃度の低値、雄血漿中 11-ケトテストステロン濃度の低値、1mg/L のばく露区で雄肝臓相対重量の高値、1、30mg/L のばく露区で雌肝臓中脂肪酸アシル-CoA オキシダーゼ比活性の低値、30mg/L 以上のばく露区で雌血漿 17β-エストラジオール濃度の低値、初排卵に至るまでの所要日数の遅延、100mg/L のばく露区で雄肝臓中 TBARS (2-チオバルビタル酸反応物質) 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、雌雄の血漿中テストステロン濃度の低値、雄血漿中 11-ケトテストステロン濃度の低値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

②Wei ら(2007)によって、ペルフルオロオクタン酸 3、10、30mg/L に 9 ヶ月齢から 28 日間ばく露された雌雄レアミノー *Gobiocypris rarus* への影響が検討されている。その結果として、3mg/L 以上のばく露区で雌雄の肝臓ビテロゲニン遺伝子発現量の高値、雌肝臓ビテロゲニン濃度の高値、14 日後の雌肝臓エストロゲン受容体 β 遺伝子発現量の高値、3、10mg/L のばく露区で雄肝臓ビテロゲニン濃度の高値、10mg/L 以上のばく露区で 14 日後の雄肝臓エストロゲン受容体 β 遺伝子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、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、雄肝臓ビテロゲニン遺伝子発現量の高値、雄肝臓ビテロゲニン濃度の高値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

③Tilton ら(2008)によって、ペルフルオロオクタン酸 5、50mg/kg/day を 6 ヶ月間 (週 5 日) 混餌投与された処置 (10 週齢時にアフラトキシン B<sub>1</sub> 0.01ppm への 30 分間ばく露による発がんイニシエ

ーション) ニジマス *Oncorhynchus mykiss* 稚魚への影響が検討されている。その結果として、5mg/kg/day 以上のばく露群で投与 10 週間後の肝臓絶対重量の高値、50mg/kg/day のばく露群で投与 5 日後の血漿中ビテロゲニン濃度の高値、投与 6 ヶ月後の腫瘍発生率高値が認められた。

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、用いた被験物質の実測値、換水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、血漿中ビテロゲニン濃度の高値などにより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

④Ji ら(2008)によって、ペルフルオロオクタン酸 3.125、6.25、12.5、25mg/L に 24 時間未満令から 7 日間ばく露されたタマミジンコ *Moina macrocopa* への影響が検討されている。その結果として、6.25mg/L 以上のばく露区で総産仔数の低値、出産毎産仔数の低値、12.5mg/L 以上のばく露区で出産回数の低値、25mg/L のばく露区で生存率の低値が認められた。

また、ペルフルオロオクタン酸 3.125、6.25、12.5、25、50mg/L に 24 時間未満令から 21 日間ばく露されたオオミジンコ *Daphnia magna* への影響が検討されている。その結果として、12.5mg/L 以上のばく露区で初回出産日の遅延、25mg/L 以上のばく露区で総産仔数の低値、50mg/L 以上のばく露区で体長の低値が認められた。

また、ペルフルオロオクタン酸 0.1、1、10mg/L に 100 日齢から 14 日間ばく露された雌雄メダカ *Oryzias latipes* への影響が検討されている。その結果として、雌雄の生存率、雌雄の生殖腺相対重量、雌雄の肝臓相対重量、雌雄の肥満度(=体重/体長<sup>3</sup>)に影響は認められなかった。12 時間齢から 14 日間ばく露を継続された F<sub>1</sub> 仔魚においても、体重、体長、雌雄の生殖腺相対重量、雌雄の肝臓相対重量に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、用いた被験物質の純度の記載がないことから、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。

⑤Yanai ら(2008)によって、ペルフルオロオクタン酸 5、20、40mg/kg を保温 0 日目に単回卵内投与されたニワトリ受精胚への影響が検討されている。その結果として、5mg/kg 以上のばく露群で孵化率の低値、5mg/kg のばく露群で胚生存率の低値、20mg/kg 以上のばく露群で孵化個体の部分的又は完全な黄体色欠損発生率の高値、孵化個体の外反足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、用いた被験物質の純度の記載がないことから、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。

## (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

①Butenhoffら(2004)によって、ペルフルオロオクタン酸 1、3、10、30mg/kg/day を交配 70 日前から二世代にわたって経口投与された雌雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、3mg/kg/day 以上のばく露群で 109~120 日齢雌 F<sub>1</sub> 下垂体絶対重量の低値、30mg/kg/day のばく露群で 21 日齢から交配までの雌 F<sub>1</sub> 発情周期回数の高値、雌 F<sub>1</sub> の膣開口日の遅延、雄 F<sub>1</sub> の包皮分離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、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、雌の発情周期回数の高値、雌の膣開口日の遅延、雄の包皮分離日の遅延などの内分泌系への影響が示唆され、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。

### ○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

②Abbottら(2007)によって、ペルフルオロオクタン酸 0.1、0.3、0.6、1、3、5、10、20mg/kg/day に妊娠 1 日目から 17 日間経口投与された 129S1/SvImJ WT マウスへの影響が検討されている。その結果として、0.1mg/kg/day 以上のばく露群で 22 日齢新生仔肝臓相対重量の高値、0.6mg/kg/day 以上のばく露群で 22 日齢新生仔生存率の低値、出産時同腹胚吸収率の高値、1mg/kg/day 以上のばく露群で出産 22 日後の母動物肝臓相対重量の高値、新生仔の両眼瞼開口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、用いた試験動物の週齢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、22 日齢新生仔肝臓相対重量の高値、22 日齢新生仔生存率の低値、出産時同腹胚吸収率の高値、出産 22 日後の母動物肝臓相対重量の高値、新生仔の両眼瞼開口日の遅延について、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。

### ○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

③Staplesら(1986)によって、ペルフルオロオクタン酸 0.1、1、25mg/m<sup>3</sup> に妊娠 6 日目から 10 日間吸入ばく露された SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、1mg/m<sup>3</sup> のばく露区で同腹胚吸収率の低値、25mg/m<sup>3</sup> のばく露区で母動物増加体重の低値、母動物肝臓絶対重量の高値、同腹胎仔体重の低値が認められたが、黄体数、着床数、同腹生存胎仔数、発育不全胎仔数、同腹胎仔の変異（奇形を除く外観、内蔵、眼及び頭部、骨格の変化）発生率、同腹胎仔の奇形発生率には

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、同腹胚吸収率の低値、母動物増加体重の低値、母動物肝臓絶対重量の高値、同腹胎仔体重の低値が認められたが、黄体数、着床数、同腹生存胎仔数、発育不全胎仔数、同腹胎仔の変異(奇形を除く外観、内蔵、眼及び頭部、骨格の変化)発生率、同腹胎仔の奇形発生率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。

### (3) 雄性生殖影響

#### ○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

①Liuら(1996b)によって、ペルフルオロオクタン酸 0.2、2、20、40mg/kg/day を 12 週齢から 14 日間経口投与された雄 CD ラットへの影響が検討されている。その結果として、2mg/kg/day 以上のばく露群で血清中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度の高値、肝臓ミクロソーム中アロマターゼ活性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、雄の血清中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度の高値、肝臓ミクロソーム中アロマターゼ活性の高値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

②Cookら(1992)によって、ペルフルオロオクタン酸 1、10、25、50mg/kg/day を 13 週齢から 14 日間経口投与された雄 CD ラットへの影響が検討されている。その結果として、10mg/kg/day 以上のばく露群で血清中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度の高値、50mg/kg/day のばく露群で付随性腺絶対重量の低値、腹側精囊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、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、雄の血清中 17 $\beta$ -エストラジオール濃度の高値、付随性腺絶対重量の低値、腹側精囊絶対重量の低値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

③Biegelら(2001)によって、ペルフルオロオクタン酸 13.6mg/kg/day を 49 日齢から 21 ヶ月間(一部の試験において 24 ヶ月間)混餌投与された雄 CD ラットへの影響が検討されている。その結果として、肝臓相対重量の高値、肝臓 $\beta$ 酸化酵素活性の高値、肝臓腺腫発生率の高値、ライディッヒ

細胞過形成発生率の高値、ライディッチ細胞腺腫発生率の高値、すい臓腺房細胞過形成発生率の高値、すい臓腺房細胞腺腫発生率の高値、すい臓細胞増殖係数の高値、24ヶ月精巣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、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、ライディッチ細胞過形成発生率の高値、ライディッチ細胞腺腫発生率の高値、精巣絶対重量の高値などにより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。

- ④Biegelら(1995)によって、ペルフルオロオクタン酸 25mg/kg/day を12~13週齢から15日間経口投与された雄CDラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中17β-エストラジオール濃度の高値、精巣間質内液中17β-エストラジオール濃度の高値、精巣間質内液中形質転換増殖因子α濃度の高値、ライディッチ細胞のヒト繊毛絨毛性性腺刺激ホルモン誘導性テストステロン産生能の高値、肝臓アロマターゼ活性の高値、精巣間質内液中テストステロ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、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17β-エストラジオール濃度の高値、精巣間質内液中17β-エストラジオール濃度の高値、ライディッチ細胞のヒト繊毛絨毛性性腺刺激ホルモン誘導性テストステロン産生能の高値、肝臓アロマターゼ活性の高値、精巣間質内液中テストステロン濃度の低値などにより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。

#### ○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

- ⑤Mehrotraら(1997)によって、ペルフルオロオクタン酸 500ppm (餌中濃度) を10日間混餌投与された成熟雄SDラットへの影響が検討されている。その結果として、体重の低値、精巣サイトゾル中グルタチオントランスフェラーゼ比活性の低値、精巣ミクロソーム中グルタチオントランスフェラーゼ比活性の低値、精巣中グルタチオンペルオキシダーゼ比活性の低値、精巣中フェノールスルホトランスフェラーゼ比活性の低値、精巣中フェノールUDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ比活性の低値、精巣サイトゾル中カタラーゼ比活性の低値、精巣ミトコンドリア中カタラーゼ比活性の低値、精巣サイトゾル中NAD(P)Hキノンオキシドレダクターゼ比活性の低値、精巣ミトコンドリア中NAD(P)Hキノンオキシドレダクターゼ比活性の低値、精巣ミトコンドリア中エポキシドヒドラターゼ比活性が認められた。

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、体重の低値、精巣サイトゾル中グルタチオントランスフェラーゼ比活性の低値、精巣ミクロソーム中グルタチオントランスフェラーゼ比活性

の低値、精巢中グルタチオンペルオキシダーゼ比活性の低値、精巢中フェノールスルホトランスフェラーゼ比活性の低値、精巢中フェノール UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ比活性の低値、精巢サイトゾル中カタラーゼ比活性の低値、精巢ミトコンドリア中カタラーゼ比活性の低値、精巢サイトゾル中 NAD(P)H キノンオキシドレダクターゼ比活性の低値、精巢ミトコンドリア中 NAD(P)H キノンオキシドレダクターゼ比活性の低値、精巢ミトコンドリア中エポキシドヒドラーゼ比活性について、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。

#### ○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

⑥Perkins ら(2004)によって、ペルフルオロオクタン酸 0.06、0.64、1.94、6.50mg/kg/day を 41 日齢から 13 週間混餌投与された雄 CD ラットへの影響が検討されている。その結果として、1.94mg/kg/day 以上のばく露群で肝臓相対重量の高値、肝臓中パルミトイル CoA オキシダーゼ比活性の高値、6.50mg/kg/day のばく露群で体重の低値、体重増加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、肝臓相対重量の高値、肝臓中パルミトイル CoA オキシダーゼ比活性の高値、体重の低値、体重増加量の低値について、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。

#### (4) 発達影響

##### ○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

①White ら(2009)によって、ペルフルオロオクタン酸 5mg/kg/day を妊娠 15 日目から 2 日間経口投与された CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、29、32 日齢雌新生仔の乳腺スコアの低値が認められた。

また、ペルフルオロオクタン酸 3、5mg/kg/day を妊娠 1 日目から 17 日間経口投与された CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、3mg/kg/day 以上のばく露群で 22、42、63 日齢雌新生仔の乳腺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、雌新生仔の乳腺スコアの低値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

②White ら(2007)によって、ペルフルオロオクタン酸 5mg/kg/day を妊娠 12 日目から 6 日間経口投

与された CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、20 日齢新生仔体重の低値、20 日齢雌新生仔の乳腺発達スコアの低値、出産 20 日後の母動物乳腺組織中のラクトトランスフェリン遺伝子発現量の低値、出産 10 日後の母動物乳腺組織中の  $\alpha$ -ラクトアルブミン遺伝子発現量の低値が認められた。

また、ペルフルオロオクタン酸 5mg/kg/day を妊娠 8 日目から 10 日間経口投与された CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、出産 20 日目の新生仔体重の低値、出産 20 日目の雌新生仔の乳腺発達スコアの低値、出産 10 日目の母動物の乳腺発達スコアの低値、出産 10 日目の母動物乳腺組織中の  $\beta$ -カゼイン上皮細胞増殖因子 (EGF) 遺伝子発現量の高値、出産 20 日目の母動物乳腺組織中のラクトトランスフェリン遺伝子発現量の低値が認められた。

また、ペルフルオロオクタン酸 5mg/kg/day を妊娠 1 日目から 17 日間経口投与された CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、出産 20 日目の新生仔体重の低値、出産 20 日目の雌新生仔の乳腺発達スコアの低値、出産 10 日目の母動物の乳腺発達スコアの低値、出産 10 日目の母動物乳腺組織中の上皮細胞増殖因子 (EGF) 遺伝子発現量の高値、出産 20 日目の母動物乳腺組織中のラクトトランスフェリン遺伝子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、母動物の乳腺発達スコアの低値、雌新生仔の乳腺発達スコアの低値などにより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。

#### ○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

③Johansson ら(2008)によって、ペルフルオロオクタン酸 0.58、8.70mg/kg を 10 日齢に単回経口投与された雄新生仔 NMRI マウスへの影響が検討されている。その結果として、0.58mg/kg 以上のばく露群で 2 ヶ月齢での総行動回数(行動試験開始から 0~20 秒における行動回数)の低値、4 ヶ月齢での移動行動及び総行動回数(行動試験開始から 0~20 秒における行動回数)の低値、4 ヶ月齢での移動行動回数及び総行動回数(行動試験開始から 40~60 秒における行動回数)の高値、4 ヶ月齢での立上り行動回数(行動試験開始から 40~60 秒における行動回数)の高値、8.70mg/kg のばく露群で 2 ヶ月齢での移動行動回数(行動試験開始から 0~20 秒における行動回数)の低値、2 及び 4 ヶ月齢での立上り行動回数(行動試験開始から 0~20 秒における行動回数)の低値、2 ヶ月齢での移動行動回数、立上り行動回数及び総行動回数(行動試験開始から 40~60 秒における行動回数)の高値、4 ヶ月齢での移動行動及び立上り行動での馴化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、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、移動行動及び総行動回数の低値または高値、立上り行動回数の高値または低値、移動行動及び立上り行動での馴化比の高値について、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。

- ④Lau ら(2006)によって、ペルフルオロオクタン酸 1、3、5、10、20、40mg/kg/day を妊娠 1 日目  
から 17 日間経口投与された CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、1mg/kg/day  
以上のばく露群で肝臓絶対重量の高値、胎仔頭蓋冠骨の骨化度低下発生率の高値、胎仔の前頭骨  
拡張発生率の高値、胎仔の前肢基節骨の骨化部位数の低値、胎仔の後肢基節骨の骨化部位数の低  
値、雄新生仔の包皮分離日の遅延、3mg/kg/day 以上のばく露群で出産日の遅延、25 日齢新生仔  
の体重の低値、5mg/kg/day 以上のばく露群で全胚吸収発生率の高値、胎仔の尾部欠損発生率の  
高値、胎仔の肢部欠損発生率の高値、9 日齢新生仔の生存率の低値、新生仔の眼瞼開口日の遅延、  
雌新生仔の性周期開始日の遅延、10mg/kg/day 以上のばく露群で胎仔上後頭骨の骨化度低下発生  
率の高値、胎仔の小心症発生率の高値、20mg/kg/day 以上のばく露群で胎仔体重の低値、同腹  
生存胎仔数の低値、胸骨分節（胎仔の尾椎、中手骨、中足骨）の骨化部位数の低値、同腹生存  
胎仔の出産前死亡率の高値、舌骨非骨化発生率の高値、雌新生仔の膈開口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、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、肝臓絶対重量の高値、胎仔頭蓋冠骨の骨化  
度低下発生率の高値、胎仔の前頭骨拡張発生率の高値、胎仔の前肢基節骨の骨化部位数の低値、胎  
仔の後肢基節骨の骨化部位数の低値、雄新生仔の包皮分離日の遅延、出産日の遅延、新生仔の体重  
の低値、全胚吸収発生率の高値、胎仔の尾部欠損発生率の高値、胎仔の肢部欠損発生率の高値、新  
生仔の生存率の低値、新生仔の眼瞼開口日の遅延、雌新生仔の性周期開始日の遅延、胎仔上後頭骨  
の骨化度低下発生率の高値、胎仔の小心症発生率の高値、胎仔体重の低値、同腹生存胎仔数の低  
値、胸骨分節の骨化部位数の低値、同腹生存胎仔の出産前死亡率の高値、舌骨非骨化発生率の高  
値、雌新生仔の膈開口日の遅延について、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。

- ⑤Wolf ら(2007)によって、ペルフルオロオクタン酸 3、5 mg/kg/day を妊娠 1 日目から 17 日間経口  
投与された CD-1 マウスへの影響が検討されている。その結果として、3 mg/kg/day 以上のばく露  
群で妊娠 17 日目の母動物増加体重の高値、妊娠 17 日目の母動物体重の高値、出産 22 日後の母動  
物の肝臓絶対及び相対重量の高値、22 日齢雌雄の新生仔体重の低値、22 日齢雄新生仔の肝臓絶対  
及び相対重量の高値、22 日齢雌新生仔の肝臓相対重量の高値、新生仔の眼瞼開口日の遅延、  
5mg/kg/day のばく露群で出産（予定）1 日後の全胚吸収発生率の高値、22 日齢雌新生仔の肝臓絶  
対重量の高値、1 日齢雌雄の新生仔体重の低値、4 日齢新生仔生存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、母動物増加体重の高値、母動物体重の高  
値、母動物の肝臓絶対及び相対重量の高値、雌雄の新生仔体重の低値、雄新生仔の肝臓絶対及  
び相対重量の高値、雌新生仔の肝臓相対重量の高値、新生仔の眼瞼開口日の遅延、全胚吸収発  
生率の高値、

雌新生仔の肝臓絶対重量の高値、新生仔生存率の低値について、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。

#### ○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

⑥Boberg ら(2008)によって、ペルフルオロオクタン酸 5mg/kg/day を妊娠 15 日目から 21 日目まで投与された Wistar 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 日目の胎仔（雌雄混合）血清中インシュリン濃度、妊娠 21 日目の胎仔（雌雄混合）血清中レプチン濃度、妊娠 21 日目の胎仔（雌雄混合）の血清蛋白質（MCP1、IL-1B、PAI-1 active、IL6、TNF- $\alpha$ ）濃度、妊娠 21 日目の雌胎仔卵巣での mRNA（ER $\alpha$ 、ER $\beta$ 、IGF-1、CompC3、PPAR $\alpha$ 、PPAR $\gamma$ ）発現量に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、結果の有意差検定結果に関して記載されていないことから、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。

### (5) 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

①Butenhoff ら(2002)によって、ペルフルオロオクタン酸 3、10、20~30mg/kg/day を 3~9 年齢から 182 日間経口投与された雄カニクイザルへの影響が検討されている。その結果として、3mg/kg/day 以上のばく露群で血清中総チロキシン濃度の低値、肝臓絶対重量の高値、3mg/kg/day のばく露群で肝臓中グルコース-6-ホスファターゼ比活性の低値、10mg/kg/day 以上のばく露群で血清中遊離チロキシン濃度の低値、20~30mg/kg/day のばく露群で血清中総トリヨードチロニン濃度の低値、血清中遊離トリヨードチロニン濃度の低値、肝臓中 DNA 濃度の低値、肝臓相対重量の高値、血液中トリグリセリド濃度の高値、肝臓中コハク酸デヒドロゲナーゼシアン非感受性パルミトイル CoA 酸化酵素比活性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、血清中総チロキシン濃度の低値、血清中遊離チロキシン濃度の低値、血清中総トリヨードチロニン濃度の低値、血清中遊離トリヨードチロニン濃度の低値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

②Martin ら(2007)によって、ペルフルオロオクタン酸 20mg/kg/day を 11 週齢から 5 日間経口投与された雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中コレステロール、テストステロン、総チロキシン及び総トリヨードチロニ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、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、総チロキシン及び総トリヨードチロニン濃度の低値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

## (6) エストロゲン様作用

### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Liuら(1996a)によって、ペルフルオロオクタン酸 10、50 $\mu$ M に 3 日間ばく露された CD ラット精巣ライディッヒ細胞への影響が検討されている。その結果として、10 $\mu$ M 以上の濃度において 17 $\beta$ -エストラジオール分泌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、17 $\beta$ -エストラジオール分泌量の高値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

### ○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

②Marasら(2006)によって、ペルフルオロオクタン酸 50 $\mu$ M に 24 時間ばく露されたヒト乳がん細胞 MCF-7 への影響が検討されている。その結果として、エストロゲン受容体 $\alpha$ 遺伝子 (*ESR1*) プロゲステロン受容体遺伝子 (*PGR*) トレフォイル因子遺伝子 (*TFF1*) mRNA 発現量の高値、芽球性白血病ウイルス性がん遺伝子 (*ERBB2*) mRNA 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、試験結果に関する有意差検定について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、エストロゲン受容体 $\alpha$ 遺伝子 (*ESR1*) プロゲステロン受容体遺伝子 (*PGR*) トレフォイル因子遺伝子 (*TFF1*) mRNA 発現量の高値、芽球性白血病ウイルス性がん遺伝子 (*ERBB2*) mRNA 発現量の低値について、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。

### ○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

②Liuら(2007)によって、ペルフルオロオクタン酸 0.24、0.72、2.4、4.8、12、24 $\mu$ M に 48~96 時間ばく露されたティラピア (*Oreochromis niloticus*) 肝細胞への影響が検討されている。その結果として、0.24 $\mu$ M 以上の濃度 (EC<sub>50</sub> 値 0.51 $\mu$ M) において 17 $\beta$ -エストラジオール 0.74 $\mu$ M によるピ

テロゲニン産生誘導を阻害した。

また、ペルフルオロオクタン酸 2.4、4.8、12、24、29、34、48 $\mu$ M に 48~96 時間ばく露されたティラピア (*Oreochromis niloticus*) 肝細胞への影響が検討されている。その結果として、1.2 $\mu$ M 以上の濃度 (EC<sub>50</sub> 値 29 $\mu$ M) においてピテロゲニ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、用いた被験物質の純度の記載がないことから、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。

#### (7) 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る報告

①Liu ら(1996a)によって、ペルフルオロオクタン酸 10~10,000 $\mu$ M に 24 時間ばく露された CD ラット精巣ライディッヒ細胞への影響が検討されている。その結果として、50 $\mu$ M 以上の濃度 (IC<sub>50</sub> 値 18 $\mu$ M) においてヒト絨毛性性腺刺激ホルモン誘導性 (21 時間後に添加) テストステロン分泌量の低値、100 $\mu$ M 以上の濃度においてテストステロン分泌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、ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン誘導性テストステロン分泌量の低値、テストステロン分泌量の低値などの内分泌系への影響が示唆され、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。

#### (8) 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る報告

①Weiss ら(2009)によって、ペルフルオロオクタン酸について、ヒトトランスサイレチンへの結合阻害試験が検討されている。その結果として、ペルフルオロオクタン酸は、IC<sub>50</sub> 値 949nM の濃度においてチロキシン 55nM のトランスサイレチン結合を阻害した。

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、チロキシンのトランスサイレチン結合の阻害などの内分泌系への影響が示唆され、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。

## (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

①Feiら(2009)によって、ペルフルオロオクタン酸について、デンマーク Danish National Birth Cohort にて 1996年3月～2002年11月にかけて全国の妊娠初期女性(1,400名)への影響が検討されている。その結果として、母親血清中ペルフルオロオクタン酸濃度と妊娠までの所要期間とに有意な正の相関( $p<0.01$ )、不妊とに有意な正の相関( $p<0.001$ 、最低濃度四分位と高濃度四分位との比較において不妊の補正オッズ比 60～154%)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、母親血清中ペルフルオロオクタン酸濃度と妊娠までの所要期間との正の相関、不妊との正の相関が認められたなどの内分泌系への影響が示唆され、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。

### ○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

②Feiら(2007)によって、ペルフルオロオクタン酸について、デンマーク Danish National Birth Cohort にて 1996年3月～2002年11月にかけて全国の妊娠初期女性(1,400名)への影響が検討されている。その結果として、妊娠第一期の血清中ペルフルオロオクタン酸濃度と新生児体重とに負の相関が検出された(補正回帰係数-10.63、95%信頼区間-20.79～-0.47)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、血清中ペルフルオロオクタン酸濃度と新生児体重との負の相関について、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。

③Joensenら(2009)によって、ペルフルオロオクタン酸について、デンマークにて 2003年にかけて一般集団から徴兵登録された男性(平均年齢 19歳、105名)への影響が検討されている。その結果として、血清中ペルフルオロアルキル化合物(ペルフルオロオクタン酸+ペルフルオロオクタンスルホン酸)濃度の高四分位群には低四分位群との比較において正常形態精子率の有意な低値( $p<0.037$ )、総正常形態精子数の有意な低値( $p<0.030$ )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、血清中ペルフルオロアルキル化合物(ペルフルオロオクタン酸+ペルフルオロオクタンスルホン酸)濃度と正常形態精子率及び総正常形態精子数との負の相関性について、血清中ペルフルオロオクタン酸濃度が確定できないため、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。

- ④Washino ら(2009)によって、ペルフルオロオクタン酸について、札幌市 Hokkaido Study on Environment and Children's Health において 2002 年 7 月から 2005 年 10 月にかけて妊娠 23～35 週女性 (428 名) への影響が検討されている。その結果として、血清中ペルフルオロオクタン酸濃度と新生児体重、体長、胸囲、頭囲とに有意な関連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、血清中ペルフルオロオクタン酸濃度と新生児体重、体長、胸囲、頭囲とに有意な関連性は認められなかったことについて、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。

#### ○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

- ⑤Gilliland と Mandel(1993)によって、ペルフルオロオクタン酸について、米国にて 1947 年 1 月 1 日から 1983 年 12 月 31 日にかけて 6 ヶ月以上勤務した製造工場作業従事者 (男性 2,788 名、女性 749 名。内訳として、ばく露集団として化学部門に 1 ヶ月以上勤務した男性 1,339 名、女性 245 名。非ばく露集団として非化学部門に勤務した男性 1,449 名、女性 504 名) への影響が検討されている。その結果として、雇用期間 10 年以上の集団における前立腺がん死亡率 (死亡数は 6 名) が非ばく露集団の 3.3 倍 (95%信頼区間 1.02～10.6) であった以外、ペルフルオロオクタン酸ばく露状況と死亡率、がん死亡率 (胃腸、呼吸器、乳、生殖器、リンパ球新生)、心肺系疾患死亡率、脳血管系疾患死亡率、胃腸系疾患死亡率、傷害死亡率、自殺率とに関連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、ばく露量について記載されていないことから、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。

- ⑥Olsen ら(1998)によって、ペルフルオロオクタン酸について、米国ミネソタ州 St. Paul の 3M Company にて 1993 年及び 1995 年にかけて男性製造作業従事者 (1993 年 111 名、1995 年 80 名、このうち 68 名は両年とも調査対象) への影響が検討されている。その結果として、1995 年の血清中ペルフルオロオクタン酸濃度と血清中 17 $\alpha$ -ヒドロキシプロゲステロン濃度とに有意な正の相関が認められた以外、血清中 17 $\beta$ -エストラジオール、遊離テストステロン、総テストステロン、17 $\alpha$ -ヒドロキシプロゲステロン、デヒドロエピアンドロステロンサルフェート、黄体形成ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、プロラクチン、性ホルモン結合グロブリン濃度とに関連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、血清中ペルフルオロオクタン酸濃度と血清中 17 $\alpha$ -ヒドロキシプロゲステロン濃度とに有意な正の相関が認められた以外、血清中 17 $\beta$ -エストラジオール、遊離テストステロン、総テストステロン、17 $\alpha$ -ヒドロキシプロゲステロン、デヒドロエピアンドロステロンサルフェート、黄体形成ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、プロラクチン、性ホルモン結合グロブリン濃度とに関連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。

- ⑦Olsen ら(2003)によって、ペルフルオロオクタン酸について、ベルギーAntwerp 市及び米国アラバマ州 Decatur 市の 3M Company にて 2000 年にかけて作業従事者 (Antwerp 男性 206 名、Decatur 男性 215 名、Antwerp 女性 49 名、Decatur 女性 48 名) への影響が検討されている。血清中ペルフルオロオクタン酸濃度と血液パラメータ (ヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球、白血球、血小板)、臨床的パラメータ (アルカリホスファターゼ、GGT、AST、ALT、ビリルビン、コレステロール、HDL、トリグリセリド、BUN、血清クレアチン)、甲状腺パラメータ (甲状腺刺激ホルモン、血清中チロキシン、遊離チロキシン、血清中トリヨードチロニン、甲状腺ホルモン結合比、遊離チロキシン指数)、尿パラメータ (尿中グルコース、アルブミン、赤血球) とに関連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、血清中ペルフルオロオクタン酸濃度と血液パラメータ、臨床的パラメータ、甲状腺パラメータ、尿パラメータとに関連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。

- ⑧Fei ら(2008a)によって、ペルフルオロオクタン酸について、デンマーク Danish National Birth Cohort にて 1996 年 3 月から 2002 年 11 月にかけて全国の妊娠初期女性 (1,400 名) への影響が検討されている。その結果として、母親血清中ペルフルオロオクタン酸濃度 (妊娠期間中母親から二回、臍帯血から一回採取) と Apgar スコア (心拍数、呼吸作用、反射興奮性、筋緊張、皮膚色から判定される新生児の状態)、発達指標 (粗大運動能力、微細運動能力、注意力、認知力、言語力に関する 18 ヶ月齢時の問診による) とに関連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、母親血清中ペルフルオロオクタン酸濃度と Apgar スコア、発達指標とに関連性は認められなかったことについて、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。

- ⑨Fei ら(2008b)によって、ペルフルオロオクタン酸について、デンマーク Danish National Birth Cohort にて 1996 年 3 月～2002 年 11 月にかけて全国の妊娠初期女性 (1,400 名) への影響が検討

されている。その結果として、母親血清中ペルフルオロオクタン酸濃度と新生児体長とに負の関連性、新生児腹囲とに負の関連性、胎盤重量とに負の関連性、新生児頭囲とに負の相関、新生児ポンドラル指数とに正の相関が示唆されたが、いずれも有意差には至らなかった。

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、母親血清中ペルフルオロオクタン酸濃度と新生児体長とに負の関連性、新生児腹囲とに負の関連性、胎盤重量とに負の関連性、新生児頭囲とに負の相関、新生児ポンドラル指数とに正の相関が示唆されたが、いずれも有意差には至らなかったことについて、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。

- ⑩Bloom ら(2009)によって、ペルフルオロオクタン酸について、米国ニューヨーク州にて 1995 年から 1997 年にかけて New York State Angler Cohort Study (NYSACS)におけるスポーツフィッシュ釣り免許取得者及び配偶者のサブサンプル 31 名（男性 27 名、女性 4 名。平均年齢 39.0 歳）への影響が検討されている。その結果として、血清中ペルフルオロアルキル化合物（アルキル炭素鎖数 6～11 の 8 種）濃度と血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中遊離体チロキシン濃度とに関連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、サンプルサイズが小さい（31 名）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、血清中ペルフルオロアルキル化合物濃度と血清中甲状腺刺激ホルモン濃度、血清中遊離体チロキシン濃度とに関連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。

- ⑪Nolan ら(2009)によって、ペルフルオロオクタン酸について、米国オハイオ州 Washington county にて 2003 年 1 月 1 日から 2005 年 9 月 1 日にかけて Little Hocking Water Association 社によるペルフルオロオクタン酸に汚染した水道水を摂取した住民が出産した新生児（1,619 名。ただしこの中から双生児 56 名を除外）への影響が検討されている。その結果として、水道供給分類（ペルフルオロオクタン酸ばく露の程度）と平均新生児体重、平均妊娠期間、低体重（2,500g 未満）発生率、早産（37 週未満）発生率とに有意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、ばく露量について記載されていないことから、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。

## 2. 総合的判断（案）

ペルフルオロオクタン酸に関する報告について信頼性評価を実施した結果、動物試験において、魚類の内分泌系への影響及びほ乳類の生殖への影響、発達への影響及び甲状腺への影響を示すことが示唆され、試験管内試験において、エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用及び抗甲状腺ホルモン様作用及びを持つことが示唆され、また、疫学的調査において母親血清中ペルフルオロオクタン酸濃度と妊娠までの所要期間との正の相関及び不妊との正の相関が認められた。

以上に基づき、本物質は内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得ると判断された。

なお、信頼性評価のまとめを表 1 1 に示した。

表 1 1 信頼性評価のまとめ(1)

物質名：ペルフルオロオクタン酸

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 検証するために必要である『材料と 方法(Materials and Methods)』 に関する記載の有無及びその 評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連 の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験 対象物質として選定する根拠と しての評価 <sup>3)</sup>
(1)生態影響	①Oakes ら	○	○P	○
	②Wei ら	○	○P	○
	③Tilton ら	△	○P	○
	④Ji ら	×	—	×
	⑤Yanai ら	×	—	×
(2)生殖影響	①Butenhoff ら	○	○P	○
	②Abbott ら	△	?	—
	③Staples ら	○	○N	×
(3)雄性生殖影響	①Liu ら	○	○P	○
	②Cook ら	○	○P	○
	③Biegel ら	○	○P	○
	④Biegel ら	○	○P	○
	⑤Mehrotra ら	○	?	—
	⑥Perkins ら	○	×	×
(4)発達影響	①White ら	○	○P	○
	②White ら	○	○P	○
	③Johansson ら	○	?	—
	④Lau ら	○	?	—
	⑤Wolf ら	○	?	—
	⑥Boberg ら	×	—	×
(5)甲状腺影響	①Butenhoff ら	○	○P	○
	②Martin ら	○	○P	○
(6)エストロゲン様作用	①Liu ら	○	○P	○
	②Maras ら	△	?	—
	③Liu ら	×	—	×
(7)抗アンドロゲン様作用	①Liu ら	○	○P	○
(8)抗甲状腺ホルモン様作用	①Weiss ら	○	○P	○

表 2 信頼性評価のまとめ(2)

物質名：ペルフルオロオクタン酸

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)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(9)疫学的調査	①Fei ら	○	○P	○
	②Fei ら	○	?	—
	③Joensen ら	○	?	—
	④Washino ら	○	?	—
	⑤Gilliland と Mandel	×	—	×
	⑥Olsen ら	○	○N	×
	⑦Olsen ら	○	○N	×
	⑧Fei ら	○	×	×
	⑨Fei ら	○	×	×
	⑩Bloom ら	△	○N	×
	⑪Nolan ら	×	—	×
今後の対応案	動物試験において、比較的高濃度で魚類の内分泌系への影響及びほ乳類の生殖への影響、発達への影響及び甲状腺への影響を示すことが示唆され、試験管内試験において、エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用及び抗甲状腺ホルモン様作用を持つことが示唆され、また、疫学的調査において母親血清中ペルフルオロオクタン酸濃度と妊娠までの所要期間との正の相関及び不妊との正の相関が認められた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

Abbott BD, Wolf CJ, Schmid JE, Das KP, Zehr RD, Helfant L, Nakayama S, Lindstrom AB, Strynar MJ and Lau C (2007) Perfluorooctanoic acid induced developmental toxicity in the mouse is dependent on expression of peroxisome proliferator activated receptor-alpha. *Toxicological Sciences*, 98 (2), 571-581. ((2) ②)

Biegel LB, Liu RC, Hurtt ME and Cook JC (1995) Effects of ammonium perfluorooctanoate on Leydig cell function: *in vitro*, *in vivo*, and *ex vivo* studies. *Toxicology and Applied Pharmacology*,

134 (1), 18-25. ((3) ④)

Biegel LB, Hurtt ME, Frame SR, O'Connor JC and Cook JC (2001) Mechanisms of extrahepatic tumor induction by peroxisome proliferators in male CD rats. *Toxicological Sciences*, 60 (1), 44-55. ((3) ③)

Bloom MS, Kannan K, Spliethoff HM, Tao L, Aldous KM and Vena JE (2009) Exploratory assessment of perfluorinated compounds and human thyroid function. *Physiology and Behavior*, 2009 Feb 9. [Epub ahead of print] ((9) ⑩)

Boberg J, Metzdorff S, Wortziger R, Axelstad M, Brokken L, Vinggaard AM, Dalgaard M and Nellemann C (2008) Impact of diisobutyl phthalate and other PPAR agonists on steroidogenesis and plasma insulin and leptin levels in fetal rats. *Toxicology*, 250 (2-3), 75-81. ((4) ⑥)

Butenhoff J, Costa G, Elcombe C, Farrar D, Hansen K, Iwai H, Jung R, Kennedy G Jr, Lieder P, Olsen G and Thomford P (2002) Toxicity of ammonium perfluorooctanoate in male cynomolgus monkeys after oral dosing for 6 months. *Toxicological Sciences*, 69 (1), 244-257. ((5) ①)

Butenhoff JL, Kennedy GL Jr, Frame SR, O'Connor JC and York RG (2004) The reproductive toxicology of ammonium perfluorooctanoate (APFO) in the rat. *Toxicology*, 196 (1-2), 95-116. ((2) ①)

Cook JC, Murray SM, Frame SR and Hurtt ME (1992) Induction of Leydig cell adenomas by ammonium perfluorooctanoate: a possible endocrine-related mechanism. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 113 (2), 209-17. ((3) ②)

Fei C, McLaughlin JK, Tarone RE and Olsen J (2007) Perfluorinated chemicals and fetal growth: a study within the Danish National Birth Cohort. *Environmental Health Perspectives*, 115 (11), 1677-1682. ((9) ②)

Fei C, McLaughlin JK, Lipworth L and Olsen J (2008a) Prenatal exposure to perfluorooctanoate (PFOA) and perfluorooctanesulfonate (PFOS) and maternally reported developmental milestones in infancy. *Environmental Health Perspectives*, 116 (10), 1391-1395. ((9) ⑧)

Fei C, McLaughlin JK, Tarone RE and Olsen J (2008b) Fetal growth indicators and perfluorinated chemicals: a study in the Danish National Birth Cohort. *American Journal of Epidemiology*, 168 (1), 66-72. ((9) ⑨)

Fei C, McLaughlin JK, Lipworth L and Olsen J (2009) Maternal levels of perfluorinated chemicals and subfecundity. *Human Reproduction*, 24 (5), 1200-1205. ((9) ①)

Gilliland FD and Mandel JS (1993) Mortality among employees of a perfluorooctanoic acid production plant. *Journal of Occupational Medicine*, 35 (9), 950-954. ((9) ⑤)

Ji K, Kim Y, Oh S, Ahn B, Jo H and Choi K (2008) Toxicity of perfluorooctane sulfonic acid and perfluorooctanoic acid on freshwater macroinvertebrates (*Daphnia magna* and *Moina macrocopa*) and fish (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27 (10), 2159-2168. ((1) ③)

Joensen UN, Bossi R, Leffers H, Jensen AA, Skakkebaek NE and Jørgensen N (2009) Do perfluoroalkyl compounds impair human semen quality? *Environmental Health Perspectives*, 117 (6), 923-927. ((9) ③)

- Johansson N, Fredriksson A and Eriksson P (2008) Neonatal exposure to perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) causes neurobehavioural defects in adult mice. *Neurotoxicology*, 29 (1), 160-169. ((4) ③)
- Lau C, Thibodeaux JR, Hanson RG, Narotsky MG, Rogers JM, Lindstrom AB and Strynar MJ (2006) Effects of perfluorooctanoic acid exposure during pregnancy in the mouse. *Toxicological Sciences*, 90 (2), 510-518. ((4) ④)
- Liu RC, Hahn C and Hurtt ME (1996a) The direct effect of hepatic peroxisome proliferators on rat Leydig cell function *in vitro*. *Fundamental and Applied Toxicology*, 30 (1), 102-108. ((6) ①、(7) ①)
- Liu RC, Hurtt ME, Cook JC and Biegel LB (1996b) Effect of the peroxisome proliferator, ammonium perfluorooctanoate (C8), on hepatic aromatase activity in adult male CrI:CD BR (CD) rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 30 (2), 220-228. ((3) ①)
- Liu C, Du Y and Zhou B (2007) Evaluation of estrogenic activities and mechanism of action of perfluorinated chemicals determined by vitellogenin induction in primary cultured tilapia hepatocytes. *Aquatic toxicology*, 85 (4), 267-277. ((6) ③)
- Maras M, Vanparys C, Muylle F, Robbens J, Berger U, Barber JL, Blust R and De Coen W (2006) Estrogen-like properties of fluorotelomer alcohols as revealed by MCF-7 breast cancer cell proliferation. *Environmental Health Perspectives*, 114 (1), 100-105. ((6) ②)
- Martin MT, Brennan RJ, Hu W, Ayanoglu E, Lau C, Ren H, Wood CR, Corton JC, Kavlock RJ and Dix DJ (2007) Toxicogenomic study of triazole fungicides and perfluoroalkyl acids in rat livers predicts toxicity and categorizes chemicals based on mechanisms of toxicity. *Toxicological Sciences*, 97 (2), 595-613. ((5) ②)
- Mehrotra K, Morgenstern R, Lundqvist G, Becedas L, Bengtsson Ahlberg M and Georgellis A (1997) Effects of peroxisome proliferators and/or hypothyroidism on xenobiotic-metabolizing enzymes in rat testis. *Chemico-Biological Interactions*, 104 (2-3), 131-145. ((3) ⑤)
- Nolan LA, Nolan JM, Shofer FS, Rodway NV and Emmett EA (2009) The relationship between birth weight, gestational age and perfluorooctanoic acid (PFOA)-contaminated public drinking water. *Reproductive Toxicology*, 27 (3-4), 231-238. ((9) ⑩)
- Oakes KD, Sibley PK, Solomon KR, Mabury SA and Van der Kraak GJ (2004) Impact of perfluorooctanoic acid on fathead minnow (*Pimephales promelas*) fatty acyl-CoA oxidase activity, circulating steroids, and reproduction in outdoor microcosms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23 (8), 1912-1919. ((1) ①)
- Olsen GW, Gilliland FD, Burlew MM, Burris JM, Mandel JS and Mandel JH (1998) An epidemiologic investigation of reproductive hormones in men with occupational exposure to perfluorooctanoic acid. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 40 (7), 614-622. ((9) ⑥)
- Olsen GW, Burris JM, Burlew MM and Mandel JH (2003) Epidemiologic assessment of worker serum perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) concentrations and medical surveillance examinations. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 45 (3), 260-270. ((9) ⑦)

Perkins RG, Butenhoff JL, Kennedy GL Jr and Palazzolo MJ (2004) 13-week dietary toxicity study of ammonium perfluorooctanoate (APFO) in male rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 27 (4), 361-378. ((3) ⑥)

Staples RE, Burgess BA and Kerns WD (1984) The embryo-fetal toxicity and teratogenic potential of ammonium perfluorooctanoate (APFO) in the rat. *Fundamental and Applied Toxicology*, 4 (3 Part 1), 429-440. ((2) ③)

Tilton SC, Orner GA, Benninghoff AD, Carpenter HM, Hendricks JD, Pereira CB and Williams DE (2008) Genomic profiling reveals an alternate mechanism for hepatic tumor promotion by perfluorooctanoic acid in rainbow trout. *Environmental Health Perspectives*, 116 (8), 1047-1055. ((1) ④)

Washino N, Saijo Y, Sasaki S, Kato S, Ban S, Konishi K, Ito R, Nakata A, Iwasaki Y, Saito K, Nakazawa H and Kishi R (2009) Correlations between prenatal exposure to perfluorinated chemicals and reduced fetal growth. *Environmental Health Perspectives*, 117 (4), 660-667. ((9) ④)

Wei Y, Dai J, Liu M, Wang J, Xu M, Zha J and Wang Z (2007) Estrogen-like properties of perfluorooctanoic acid as revealed by expressing hepatic estrogen-responsive genes in rare minnows (*Gobiocypris rarus*). *Environmental and Toxicological Chemistry*, 26 (11), 2440-2447. ((1) ②)

Weiss JM, Andersson PL, Lamoree MH, Leonards PE, van Leeuwen SP and Hamers T (2009) Competitive binding of poly- and perfluorinated compounds to the thyroid hormone transport protein transthyretin. *Toxicological Sciences*, 109 (2), 206-216. ((8) ①)

White SS, Calafat AM, Kuklennyik Z, Villanueva L, Zehr RD, Helfant L, Strynar MJ, Lindstrom AB, Thibodeaux JR, Wood C and Fenton SE (2007) Gestational PFOA exposure of mice is associated with altered mammary gland development in dams and female offspring. *Toxicological Sciences*, 96 (1), 133-144. ((4) ②)

White SS, Kato K, Jia LT, Basden BJ, Calafat AM, Hines EP, Stanko JP, Wolf CJ, Abbott BD and Fenton SE (2009) Effects of perfluorooctanoic acid on mouse mammary gland development and differentiation resulting from cross-foster and restricted gestational exposures. *Reproductive Toxicology*, 27 (3-4), 289-298. ((4) ①)

Wolf CJ, Fenton SE, Schmid JE, Calafat AM, Kuklennyik Z, Bryant XA, Thibodeaux J, Das KP, White SS, Lau CS and Abbott BD (2007) Developmental toxicity of perfluorooctanoic acid in the CD-1 mouse after cross-foster and restricted gestational exposures. *Toxicological Sciences*, 95 (2), 462-473. ((4) ⑤)

Yanai J, Dotan S, Goz R, Pinkas A, Seidler FJ, Slotkin TA and Zimmerman F (2008) Exposure of developing chicks to perfluorooctanoic acid induces defects in prehatch and early posthatch development. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 71 (2), 131-133. ((1) ⑤)

## XII. アジピン酸

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

アジピン酸の内分泌かく乱作用に関連する報告として、子宮筋への作用の有無に関する報告がある。

#### (1) 子宮筋への作用

##### ○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

①Mingrone ら (1988) によって、アジピン酸 8、16、24、32、40、48、56、64、80、96、112、128、144、 $160 \times 10^{-3} \text{M}$  に 30 分間ばく露した正常性周期雌 Wistar ラット子宮筋への影響が検討されている。その結果として、完全阻害濃度  $64 \times 10^{-3} \text{M}$  の濃度で自然収縮反応強度及び頻度の低値、完全阻害濃度  $112 \times 10^{-3} \text{M}$  の濃度でオキシトシン誘導性最大収縮反応強度の低値、完全阻害濃度  $144 \times 10^{-3} \text{M}$  の濃度でアセチルコリン誘導性最大収縮反応強度の低値、完全阻害濃度  $160 \times 10^{-3} \text{M}$  の濃度でプロスタグランジン  $\text{PGF}_2\alpha$  誘導性最大収縮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、用いた被験物質の入手先、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、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なかった。

以上に基づき、本物質は現時点では試験対象物質にしないと判断された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 1 2 に示した。

表 1 2 信頼性評価のまとめ

物質名：アジピン酸

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) を検証するために必要である『材料と方法 (Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(1)子宮筋への作用	①Mingrone ら	×	—	×
今後の対応案	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は得られなかったため、現時点では試験対象物質にしない。			

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

Mingrone G, Mancinelli R, and Metro D (1988) Influence of sodium salts of saturated medium chain length (C6, C9, C10 and C12) dicarboxylic acids on the uterine horn of rat *in vitro*. Quarterly Journal of Experimental Physiology, 73 (2), 153-162. ((1) ①)

### XIII. フェナントレン

#### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

フェナントレンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用及び抗プロゲステロン様作用の有無に関する報告がある。

##### (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ない報告

①Horng ら (2009) によって、フェナントレン 320、640、960、1,280 $\mu\text{g/L}$  (設定値) にばく露したヒメダカ *Oryzias latipes* 受精卵への影響が検討されている。その結果として、1,280 $\mu\text{g/L}$  のばく露区で孵化までの所要日数の遅延が認められたが、総産卵数、日毎産卵の孵化率、雌雄肝臓ビテロゲンニン発現量、雌雄脳相対重量、雌雄性腺相対重量、雌肝臓相対重量には変化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、用いた試験動物の飼育条件に関する記載が不備であることから、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、総産卵数、日毎産卵の孵化率、雌雄肝臓ビテロゲンニン発現量、雌雄脳相対重量、雌雄性腺相対重量、雌肝臓相対重量には変化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。

②Monteiro ら (2000) によって、フェナントレン餌中濃度 0.089、0.445ppm (設定値) に 12 週間ばく露した前卵黄形成期雌ヨーロッパヌマガレイ *Platichthys flesus* への影響が検討されている。その結果として血漿中  $\beta$ -エストラジオール濃度の低値、血漿中  $17\alpha$ -ヒドロキシプロゲステロン濃度の高値、血漿中コルチゾール濃度の高値、血漿中アンドロステンジオン濃度の高値が認められた。

また、フェナントレン餌中濃度 2.25ppm (設定値) に 12 週間ばく露した卵黄形成期雌ヨーロッパヌマガレイ *Platichthys flesus* への影響が検討されている。その結果として血漿中  $\beta$ -エストラジオール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、用いた試験生物が野外から採集したもので、対照群の変動幅が大きいことから、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。

##### (2) エストロゲン様作用

###### ○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

①Vondráček ら (2002) によって、フェナントレン 0.01~20 $\mu\text{M}$  に 6 時間ばく露したヒト乳がん細胞 MVLN によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にエストロゲン受容体応答性配列を有する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、

フェナントレンは、20 $\mu$ M の濃度においてルシフェラーゼの発現を誘導したが、EC<sub>25</sub> 値 (17 $\beta$ -エストラジオール 1 ~ 1,000pM での誘導活性との比較において) は得られなかった。

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、ルシフェラーゼの発現を誘導したが、EC<sub>25</sub> 値は得られなかった。「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。

- ②Tran ら (1996) によって、フェナントレン 1 $\mu$ M に 12 時間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導) が検討されている。その結果として、フェナントレンは、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現を誘導しなかった。

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、酵母によるレポーターアッセイでは  $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現を誘導しなかった。「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。

- ③Rehmann ら (1999) によって、フェナントレン 0.01、10、1,100 $\mu$ M に 2 時間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導) が検討されている。その結果として、フェナントレンは、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現を誘導しなかった。

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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

### (3) 抗エストロゲン様作用

#### ○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

- ①Tran ら (1996) によって、フェナントレン 1 $\mu$ M (17 $\beta$ -エストラジオール 0.5nM 共存下) に 12 時間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導) が検討されている。その結果として、フェナントレンは、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現を誘導しなかった。

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、酵母によるレポーターアッセイでは  $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現を誘導しなかった。「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。

- ②Chang と Liao (1987) によって、フェナントレンについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 由来ヒトエストロゲン受容体を用いた結合阻害試験(17β-エストラジオール 10nM 共存下)が検討されている。その結果として、フェナントレンは、～20,000μM の濃度においても結合を阻害しなかった。

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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

#### (4) 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

- ①Chang と Liao (1987) によって、フェナントレン 60mg/rat/day を 8 日間連続皮下投与した精巣摘出雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、腹側前立腺相対重量の低値、精嚢相対重量の低値が認められた。

また、フェナントレン 60mg/rat/day (テストステロンプロピオネート 1.0mg/rat/day を同時投与)を 8 日間連続皮下投与した精巣摘出雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、腹側前立腺相対重量の低値、精嚢相対重量の低値、凝固腺相対重量の低値が読みとれた。

また、フェナントレンについて、ラット前立腺由来アンドロゲン受容体を用いた結合阻害試験(合成アンドロゲン R1881 10nM 共存下)が検討されている。その結果として、フェナントレンは、IC<sub>50</sub> 値 800μM の濃度において結合を阻害した。

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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

- ②Vinggaard ら (2000) によって、フェナントレン 0.05、0.1、1、5、10μM (合成アンドロゲン R1881 0.1nM 共存下) に 24 時間ばく露したチャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトアンドロゲン受容体応答性配列を有する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、フェナントレンは、ルシフェラーゼの発現を誘導しなかった。

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、ばく露開始の後に遺伝子を導入してることから、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、チャイニーズハムスター卵巣細胞 CHO によるレポーターアッセイではルシフェラーゼの発現を誘導しなかった。「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) 抗プロゲステロン様作用

##### ○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

①Jinら(1997)によって、フェナントレン 1 $\mu$ M (プロゲステロン 10nM 共存下)に12時間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ(プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導)が検討されている。その結果として、フェナントレンは、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現誘導を阻害しなかった。

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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

## 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なかった。

以上に基づき、本物質は現時点では試験対象物質にしないと判断された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表13に示した。

表 1 3 信頼性評価のまとめ

物質名：フェナントレン

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) を検証するために必要である『材料と方法 (Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(1)生態影響	①Horng ら	△	○N	×
	②Monteiro ら	×	—	×
(2)エストロゲン様作用	①Vondráček ら	○	○N	×
	②Tran ら	△	○N	×
	③Rehmann ら	×	—	×
(3)抗エストロゲン様作用	①Tran ら	△	○N	×
	②Chang と Liao	×	—	×
(4)抗アンドロゲン様作用	①Chang と Liao	×	—	×
	②Vinggaard ら	△	○N	×
(5)抗プロゲステロン様作用	①Jin ら	×	—	×
今後の対応案	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は得られなかったため、現時点では試験対象物質にしない。			

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

Chang CS and Liao SS (1987) Topographic recognition of cyclic hydrocarbons and related compounds by receptors for androgens, estrogens, and glucocorticoids. *Journal of Steroid Biochemistry*, 27 (1-3), 123-131. ((3) ②、(4) ①)

Horng CY, Lin HC, and Lee W (2009) A Reproductive Toxicology Study of Phenanthrene in Medaka (*Oryzias latipes*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2009 Jun 5. [Epub ahead of print] ((1) ①)

Jin L, Tran DQ, Ide CF, McLachlan JA, and Arnold SF (1997) Several synthetic chemicals inhibit

progesterone receptor-mediated transactivation in yeast. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 233 (1), 139-146. ((5) ①)

Monteiro PR, Reis-Henriques MA, and Coimbra J (2000) Plasma steroid levels in female flounder (*Platichthys flesus*) after chronic dietary exposure to single polycyclic aromatic hydrocarbons. *Marine Environmental Research*, 49 (5), 453-467. ((1) ②)

Rehmann K, Schramm KW, and Kettrup AA (1999) Applicability of a yeast oestrogen screen for the detection of oestrogen-like activities in environmental samples. *Chemosphere*, 38 (14), 3303-3312. ((2) ③)

Tran DQ, Ide CF, McLachlan JA, and Arnold SF (1996) The anti-estrogenic activity of selected polynuclear aromatic hydrocarbons in yeast expressing human estrogen receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 229 (1), 102-108. ((2) ②, (3) ①)

Vinggaard AM, Hnida C, and Larsen JC (2000) Environmental polycyclic aromatic hydrocarbons affect androgen receptor activation *in vitro*. *Toxicology*, 145 (2-3), 173-183. ((4) ②)

Vondráček J, Kozubík A, and Machala M (2002) Modulation of estrogen receptor-dependent reporter construct activation and G0/G1-S-phase transition by polycyclic aromatic hydrocarbons in human breast carcinoma MCF-7 cells. *Toxicological Sciences*, 70 (2), 193-201. ((2) ①)

## XIV. 1-ブタノール

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

1-ブタノールの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響、神経発達影響及びエストロゲン様作用の有無に関する報告がある。

#### (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ない報告

①Emaら(2005)によって、1-ブタノール 316、1,454、5,654mg/kg/day を妊娠0日目から21日間連続飲水投与したSDラットへの影響が検討されている。その結果として、1,454mg/kg/day 以上のばく露群で母動物摂餌量の低値、5,654mg/kg/day のばく露群で母動物体重増加量の低値、母動物摂水量の低値、雌胎仔体重の低値、雄胎仔体重の低値、胎仔の短過剰肋骨発生率の高値、胎仔の前肢基底骨骨化度の低値が認められたが、同腹黄体数、同腹着床数、着床前同腹胚消失数、着床後同腹胚消失数、同腹生存胎仔数、生存胎仔性比、雄雌胎仔体重、雄雌胎仔頭臀長、雄雌胎仔胎盤重量、胎仔の外観異常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、同腹黄体数、同腹着床数、着床前同腹胚消失数、着床後同腹胚消失数、同腹生存胎仔数、生存胎仔性比、雄雌胎仔体重、雄雌胎仔頭臀長、雄雌胎仔胎盤重量、胎仔の外観異常発生率には影響は認められなかったため、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。

②Nelsonら(1989)によって、1-ブタノール 3,510、6,000、8,000ppm を妊娠1日目から毎日7時間19日間連続吸入ばく露したWistarラットへの影響が検討されている。その結果として、6,000ppm以上の暴露区で母動物摂餌量及び体重増加量の低値、雄及び雌胎仔体重の低値、8,000ppmのばく露区で正常骨格胎仔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、母動物摂餌量及び体重増加量の低値、雌雄胎仔体重の低値、正常骨格胎仔率の低値について、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。

③Cameronら(1985)によって、1-ブタノール 50ppm を毎日6時間7日間連続吸入ばく露した雄SDラットへの影響が検討されている。その結果として、血清中テストステロン濃度、血清中コルチコステロン濃度、血清中黄体形成ホルモン濃度に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、用いた被験物質の純度が記載され

ていないことから、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。

## (2) 神経発達影響

### ○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

①Nelson ら (1989) によって、1-ブタノール 3,010、6,000ppm を毎日 7 時間 6 週間連続吸入ばく露した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、非ばく露雌との交配による妊孕性試験において、3,010ppm の暴露区で 10 日齢雄仔動物の電光モニター試験での行動回数の低値、60 日齢仔動物の回避行動条件付け試験での試行回数の低値、6,000ppm の暴露区で 60 日齢仔動物の回避行動条件付け試験でのショック受容時間及びケージ間移動回数の高値、21 日齢仔動物の脳（脳幹、中脳）中セロトニン濃度の高値、21 日齢仔動物の脳（大脳、小脳、脳幹、中脳）中ドーパミ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、試験結果が図表として示されていないことから、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。

## (3) エストロゲン様作用

### ○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

①Etique ら (2004) によって、1-ブタノール 0.1%に 6 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験 (E-Screen アッセイ) が検討されている。その結果として、1-ブタノールは、細胞増殖を抑制したが、エストロゲン受容体  $\alpha$  mRNA 発現量、エストロゲン受容体  $\alpha$  発現量、P-450 アロマターゼ mRNA 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、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なかった。

以上に基づき、本物質は現時点では試験対象物質にしないと判断された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 1 4 に示した。

表 1 4 信頼性評価のまとめ

物質名：1-ブタノール

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) を検証するために必要である『材料と方法 (Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(1)生殖影響	①Ema ら	○	×	×
	②Nelson ら	○	×	×
	③Cameron ら	×	—	×
(2)神経発達影響	①Nelson ら	×	—	×
(3)エストロゲン様作用	①Etique ら	×	—	×
今後の対応案	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は得られなかったため、現時点では試験対象物質にしない。			

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

Cameron AM, Zahlson K, Haug E, Nilsen OG, and Eik-Nes KB (1985) Circulating steroids in male rats following inhalation of *n*-alcohols. Archives of Toxicology. Supplement, 8, 422-424. ((1) ③)

Ema M, Hara H, Matsumoto M, Hirose A, and Kamata E (2005) Evaluation of developmental toxicity of 1-butanol given to rats in drinking water throughout pregnancy. Food and Chemical Toxicology, 43 (2), 325-331. ((1) ①)

Etique N, Chardard D, Chesnel A, Flament S, and Grillier-Vuissoz I (2004) Analysis of the effects of different alcohols on MCF-7 human breast cancer cells. Annals of the New York Academy of Sciences, 30, 78-85. ((3) ①)

Nelson BK, Brightwell WS, Khan A, Burg JR, and Goad PT (1989) Lack of selective developmental toxicity of three butanol isomers administered by inhalation to rats. Fundamental and Applied Toxicology, 12 (3): 469-479. ((1) ②)

Nelson BK, Brightwell WS, Robertson SK, Khan A, Krieg EF Jr, and Massari VJ (1989) Behavioral teratology investigation of 1-butanol in rats. *Neurotoxicology and Teratology*, 11 (3), 313-315. ((2)

①)

## XV. ベンジルアルコール

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

ベンジルアルコールの内分泌かく乱作用に関連する報告として、疫学的調査に関する報告がある。

#### (1) 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ない報告

①Hillerら(1986)によって、ベンジルアルコールについて、米国Portland州Oregon Health Sciences Universityの新生児集中治療室における1982年2月(以降、ベンジルアルコール含有血管内カテーテル洗浄液の使用が中止された)の前後13ヶ月間に収容された未熟児(新生児体重1,250g未満)への影響が検討されている。その結果として、ばく露群(1981年1月1日から1982年1月31日までの期間に収容歴がある新生児103名)では対照群(1982年2月1日から1983年2月28日までの期間に収容歴がある新生児95名)との比較において、新生児死亡率の高値、新生児の脳室内出血(IVH)発生率及び重篤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、新生児死亡率の高値、新生児の脳室内出血(IVH)発生率及び重篤度の高値について、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。

### 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なかった。

以上に基づき、本物質は現時点では試験対象物質にしないと判断された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表15に示した。

表 1 5 信頼性評価のまとめ

物質名：ベンジルアルコール

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)を検証するために必要である『材料と方法 (Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(1)疫学的調査	①Hiller ら	○	×	×
今後の対応案	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は得られなかったため、現時点では試験対象物質にしない。			

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

Hiller JL, Benda GI, Rahatzad M, Allen JR, Culver DH, Carlson CV, and Reynolds JW (1986) Benzyl alcohol toxicity: impact on mortality and intraventricular hemorrhage among very low birth weight infants. *Pediatrics*, 77 (4), 500-506. ((1) ①)

## XVI. メタクリル酸メチル

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

メタクリル酸メチルの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生殖影響、神経発達影響及び抗プロゲステロン様作用の有無に関する報告がある。

#### (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ない報告

①Salomon ら (1993) によって、メタクリル酸メチル 99、304、1,178、2,028ppm (実測値) を妊娠 6 日目から 10 日間連続 (毎日 6 時間) 吸入ばく露した CD ラットへの影響が検討されている。その結果として、99ppm 以上のばく露区で妊娠 6~8 日目の母動物増加体重の低値、妊娠 6~10 日目の母動物摂餌量の低値、1,178ppm 以上のばく露区で妊娠 6~16 日目の母動物摂餌量の低値、2,028ppm のばく露区で妊娠 6~20 日目の母動物摂餌量の低値が認められた。しかし、生存胎仔妊娠率、黄体数、着床部位数、着床前胚消失率、死亡胎仔数、初期胚吸収数、後期胚吸収数、雌生存胎仔数、雄生存胎仔数、雄胎仔性比、雌生存胎仔体重、雄生存胎仔体重、胎仔奇形総発生率、胎仔発達異常発生率、胎仔発達遅延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、生存胎仔妊娠率、黄体数、着床部位数、着床前胚消失率、死亡胎仔数、初期胚吸収数、後期胚吸収数、雌生存胎仔数、雄生存胎仔数、雄胎仔性比、雌生存胎仔体重、雄生存胎仔体重、胎仔奇形総発生率、胎仔発達異常発生率、胎仔発達遅延発生率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。

②Nicholas ら (1979) によって、メタクリル酸メチル 109mg/L (実測値) を妊娠 6 日目から 10 日間連続 (毎日 17.2 分間) 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、胎仔体重の低値、胎仔頭臀長の低値、胎仔の胸骨骨化遅延発生率の高値、母動物体重の低値が認められた。しかし、同腹黄体数、同腹着床数、同腹生存胎仔数、胚吸収率 (着床数換算)、早期胚死亡率 (着床数換算)、胎仔性比、母動物摂餌量、胎仔の肉眼的異常総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、同腹黄体数、同腹着床数、同腹生存胎仔数、胚吸収率 (着床数換算)、早期胚死亡率 (着床数換算)、胎仔性比には影響は認められなかったため、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。

③Tansy ら (1980) によって、メタクリル酸メチル 116ppm (実測値) を 3 ヶ月間連続 (毎日 7 時

間、毎週 5 日) 吸入ばく露した雄 SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、血清コレステロール値の高値、血清総ビリルビン値の低値が認められた。しかし、体重、副腎絶対重量、左精巣上体脂肪体絶対重量、左膝窩脂肪体絶対重量、摂餌量、水分摂取量、排泄量、排泄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、用いた被験物質の入手先、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、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) 神経発達影響

### ○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

①Husain ら (1985) によって、メタクリル酸メチル 500mg/kg/day を 21 日間連続経口投与した雄 Wistar ラットへの影響が検討されている。その結果として、オープンフィールド自発運動活性の低値、条件回避反応 (CAR) 率の低値、攻撃行動スコアの高値、脳 (脳橋 - 延髄、海馬、線条体、大脳皮質) 中ノルアドレナリン濃度の高値、脳 (脳橋 - 延髄、海馬) 中ドーパミン濃度の高値、脳 (線条体) 中ドーパミン濃度の低値、脳 (脳橋 - 延髄、視床下部、中脳、海馬) 中セロト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、投与群で死亡が認められ、用量の妥当性がないことから、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、オープンフィールド自発運動活性の低値、条件回避反応 (CAR) 率の低値、攻撃行動スコアの高値、脳 (脳橋 - 延髄、海馬、線条体、大脳皮質) 中ノルアドレナリン濃度の高値、脳 (脳橋 - 延髄、海馬) 中ドーパミン濃度の高値、脳 (線条体) 中ドーパミン濃度の低値、脳 (脳橋 - 延髄、視床下部、中脳、海馬) 中セロトニン濃度の高値について、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。

## (3) 抗エストロゲン様作用

### ○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

①Hashimoto ら (2000) によって、メタクリル酸メチル 0.5、5、50、500、5,000 $\mu$ M に 4 時間ばく露した酵母によるレポーターアッセイ (プロモータ領域にヒトエストロゲン受容体応答性配列を有するレポーター遺伝子導入細胞を用いた  $\beta$ -ガラクトシダーゼ発現誘導) が検討されている。その結果として、メタクリル酸メチルは、 $\beta$ -ガラクトシダーゼの発現を誘導しなかった。

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、酵母によるレポーターアッセイでは  $\beta$ -ガラ

クトシダーゼの発現を誘導しなかった。「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なかった。

以上に基づき、本物質は現時点では試験対象物質にしないと判断された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表16に示した。

表16 信頼性評価のまとめ

物質名：メタクリル酸メチル

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)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(1)生殖影響	①Salomon ら	○	○N	×
	②Nicholas ら	○	×	×
	③Tansy ら	×	—	×
(2)神経発達影響	①Husain ら	△	×	×
(3)抗エストロゲン様作用	①Hashimoto ら	○	○N	×
今後の対応案	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は得られなかったため、現時点では試験対象物質にしない。			

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

Hashimoto Y, Moriguchi Y, Oshima H, Nishikawa J, Nishihara T, Nakamura M (2000) Estrogenic activity of chemicals for dental and similar use *in vitro*. *Journal of Materials Science. Materials in Medicine*, 11 (8), 465-468. ((3) ①)

Husain R, Srivastava SP, and Seth PK (1985) Methyl methacrylate induced behavioral and neurochemical changes in rats. *Archives of toxicology*, 58 (1), 33-36. (( 2 ) ①)

Nicholas CA, Lawrence WH, and Autian J (1979) Embryotoxicity and fetotoxicity from maternal inhalation of methyl methacrylate monomer in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 50 (3), 451-458. (( 1 ) ②)

Solomon HM, McLaughlin JE, Swenson RE, Hagan JV, Wanner FJ, O'Hara GP, and Krivanek ND (1993) Methyl methacrylate: inhalation developmental toxicity study in rats. *Teratology*, 48 (2), 115-125. (( 1 ) ①)

Tansy MF, Hohenleitner FJ, Landin WE, and Kendall FM (1980) Chronic biological effects of methyl methacrylate vapor. II. Body and tissue weights, blood chemistries, and gross metabolic performance in the rat. *Environmental Research*, 21 (1), 108-116. (( 1 ) ③)

## XVII. EPN

### 1. 内分泌かく乱作用に関連する報告

EPN の内分泌かく乱作用に関連する報告として、エストロゲン様作用及びアンドロゲン様作用の有無に関する報告がある。

#### (1) エストロゲン様作用

##### ○試験対象物質として選定する根拠として認められる報告

①Okubo ら (2004) によって、EPN 1、10、50、100、200 $\mu$ M に 6 日間ばく露したヒト乳がん細胞 MCF-7 による細胞増殖試験 (E-Screen アッセイ) が検討されている。その結果として、EPN は、 $C_{max}$  値 (最大増殖を達成する濃度) 50 $\mu$ M の濃度で細胞増殖を誘導した。

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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

#### (2) 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る報告

①Okubo ら (2004) によって、EPN について、アンドロゲン受容体 (東洋紡製) を用いた結合阻害試験 (ミボレロン共存下、濃度記載なし) が検討されている。その結果として、EPN は、 $IC_{50}$  値 63 $\mu$ M の濃度において結合を阻害した。

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、用いた被験物質の純度が記載されていないことから、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。

### 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なかった。

以上に基づき、本物質は現時点では試験対象物質にしないと判断された。

なお、信頼性評価のまとめと今後の対応案について表 17 に示した。

表 1 7 信頼性評価のまとめ

物質名：EPN

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)を検証するために必要である『材料と方法(Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価 <sup>1)</sup>	内分泌かく乱作用との関連の有無 <sup>2)</sup>	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価 <sup>3)</sup>
(1)エストロゲン様作用	①Okuboら	×	—	×
(2)アンドロゲン様作用	①Okuboら	×	—	×
今後の対応案	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は得られなかったため、現時点では試験対象物質にしない。			

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

Okubo T, Yokoyama Y, Kano K, Soya Y, and Kano I (2004) Estimation of estrogenic and antiestrogenic activities of selected pesticides by MCF-7 cell proliferation assay. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 46 (4), 445-453. ((1) ①、(2) ①)