

ベンゾフェノン

プロトコル概要 (ベンゾフェノン)

被験物質	被験動物	使用動物数	投与方法 投与期間	用量設定	投与量	試験方法の形式	母動物の観察項目	児動物の観察項目	備考
ベンゾフェノン	Wistar Imamichi ラット	購入 雄 60 匹 雌 100 匹 各群 (雌) 12 匹×6 群	強制経口 コーン油 に溶解 妊娠 0 日 目から哺 育 21 日 目までの 期間投与 を継続。	0 2 10 50 μg/kg/day 環境中検出限 界値 1 μg/kg。 可能摂取量値 6.6 μg/kg/day を推定。 20 100 mg/kg/day 陽性対照。混餌 28 日間試験の LOAEL 100 mg/kg/day。	1 mL/kg/day	哺育 4 日目に各 腹雄雌各 6 匹と なるよう哺育児 を無作為選抜。	一般状態(臨床症状) 体重測定 摂餌量・摂水量の測定 分娩・哺育状態の観察 解剖 (着床痕数)	○哺育児 分娩日の新生児数、体重、AOD 体重 (哺育 4, 7, 14, 21 日) 発育分化の指標 (切歯萌出、眼瞼開裂、胸部残存 乳頭の有無、精巣下降) 間引き児の肉眼解剖 ○離乳児 一般状態 (臨床症状)、体重測定、性成熟 (陰開口、 包皮分離) ○3 腹/群について 3 週齢解剖 ○3 腹/群について 10 週齢解剖 ☆秤量および保存臓器は、脳、下垂体、甲状腺、 副腎、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、精巣、精巢上体、精 囊、凝固腺、前立腺、輸卵管、膨大部腺、肛門 拳筋、陰茎、球海綿体筋、卵巣、子宮。必要に 応じて病理組織検査。 ☆10 週齢解剖においては血中ホルモン濃度 (E2, testosterone, FSH, LH) も測定。 ○3 腹/群について 10 週齢において交尾行動検査 (対照群雌に対する乗駕、挿入、射精、着時。雌 は交尾後 7 日目に解剖し着床数、子宮重量の測定) ○3 腹/群について 10 週齢において生殖能検査 (同 群内交配、妊娠 21 日目に開腹。精巢上体中精子の 運動性、数、奇形率)	

(1) 生体内 (in vivo) 試験

実施機関	試験区分	μg/kg/day		mg/kg/day							備考		
		2	10	1	2	5	10	20	50	100		200	500
環境省	1 世代試験	C F0 母動物: 摂餌量の高値	C F0 母動物: 摂餌量の高値					A*1		A*2			強制経口 42 日間
		P F1 雄: 血中 LH 濃度の高値	P F1 雄: 血中 LH 濃度の高値										
経済産業省	子宮増殖アッセイ				-								+ 皮下 7 日間 卵巣摘出
	エストロゲン作用												+ 皮下 7 日間 卵巣摘出
	子宮増殖アッセイ												
	抗エストロゲン作用												
	子宮増殖アッセイ												
	抗エストロゲン作用												
	2 世代繁殖毒性試験												

注) A : 影響が既に認められている用量 (LOEL, LOAEL) 付近で有意な所見が認められた。

B : 影響が既に認められている用量 (LOEL, LOAEL) 未満で有意な反応が認められた。

C : 影響が既に認められている用量 (LOEL, LOAEL) 未満で有意な反応が認められたが、生理的変動の範囲内であると考えられた。

D : 有意な反応は認められなかった。

S : 影響が既に認められている用量 (LOEL, LOAEL) 未満で有意な反応が認められ、追加試験を実施中。

P : 影響が既に認められている用量 (LOEL, LOAEL) 未満で有意な反応が認められたが、その意義については今後の検討課題とする。

・ 経済産業省が行った試験結果 (- : 陰性, + : 陽性)

< *A で認められた所見 >

< *A' で認められた所見 >

*F0 母動物: 飲水量の高値

*F1 雄: 腎臓 (絶対、相対) 重量・血中 LH 濃度の高値、血中エストロゲン濃度・血中 FSH II 濃度の低値 (ただし、下線部は F0 での報告例)

*F1 雌: 副腎 (絶対、相対) 重量・血中 LH 濃度の高値、血中エストロゲン濃度の低値

< *A' で認められた所見 >

*F0 母動物: 摂餌量・出産児数の低値、妊娠期間の延長

*F1 哺育児: 生存出生率・生存率の低値

*F1 雄: AGD (絶対、相対) 長・血中 LH 濃度の高値、胸部残存乳頭・血中 FSH 濃度の低値、精神管変性

*F1 雌: 腎臓 (絶対、相対) 重量・血中 LH 濃度の高値 (ただし、下線部は F0 での報告例)

(下線部は、報告例の得られた所見)

(2) 試験管内 (*in vitro*) 試験

実施機関	試験区分	試験結果	試験濃度範囲	
環境省	ER α 競合阻害	10 ⁻⁴ M において 5%	10 ⁻⁹ ~10 ⁻⁴ M	
	ER β 競合阻害	10 ⁻⁵ M において 5%	10 ⁻⁹ ~10 ⁻⁴ M	
	E-screen	PC ₅₀ =3.7 × 10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁹ ~10 ⁻⁴ M	
	AR β 親和性(アッセイ)	—	10 ⁻⁶ ~10 ⁻⁴ M	
	AR β 親和性(アッセイ)	IC ₅₀ =1.1 × 10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁶ ~10 ⁻⁴ M	
	AR 親和性	IC ₅₀ =4.9 × 10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁶ ~10 ⁻³ M	
	TR α	—	<10 ⁻⁴ M	
	TR β	—	<10 ⁻⁴ M	

注) IC₅₀ 値(標識されたホルモンと受容体との結合を 50%阻害する濃度)、PC₅₀ 値(E2 等が誘導する化学発光強度の 50%の活性を誘導する濃度)、EC₁₀ 値(バックグラウンド値の 10 倍の化学発光強度比を示す濃度)等が得られた場合はその値を記載し、得られなかった場合は最大反応値とその濃度を示した。ただし、有意差検定を行い、有意な反応が認められなかった場合は、一とした。

表-1 F0動物の症状、体重、摂餌量および飲水量

投与量			0 μ g/kg	2 μ g/kg	10 μ g/kg	50 μ g/kg	20mg/kg	100mg/kg	
母動物数			12	12	12	12	12	12	
F0 母動物	一般状態 NAD		12/12	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12	
	死亡数		0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	
	体重 (g)	妊娠 21日	388 ± 18.2	407 ± 17.9	411 ± 22.9	411 ± 20.0	412 ± 25.2	408 ± 23.9	
		哺育 21日	306 ± 13.0	309 ± 12.1	308 ± 10.8	316 ± 17.0	305 ± 21.2	289 ± 25.3	
	摂餌量 (g)	妊娠 0-4日	17.9 ± 1.33	18.5 ± 2.35	19.5 ± 1.56	19.7 ± 19.4	17.5 ± 2.16	14.6▼ ± 1.92	
		4-7日	21.0 ± 2.19	21.5 ± 1.65	22.0 ± 1.95	23.1 ± 2.56	21.9 ± 2.23	21.6 ± 1.85	
		7-10日	22.8 ± 1.37	22.6 ± 1.60	22.9 ± 1.94	23.8 ± 2.59	23.1 ± 1.65	23.9 2.48	
		10-14日	23.5 ± 1.95	23.1 ± 2.60	24.7 ± 1.79	24.3 ± 1.52	26.1▲ ± 1.65	25.3 ± 2.10	
		14-17日	25.7 ± 2.21	27.0 ± 3.08	26.0 ± 6.36	27.7 ± 2.52	28.4 ± 2.80	28.0 ± 1.61	
		17-21日	21.2 ± 3.06	23.4 ± 1.74	23.5 ± 2.82	22.9 ± 2.85	25.7▲ ± 3.53	25.8▲ ± 2.33	
		哺育 0-4日	30.8 ± 4.62	36.4 ± 2.56	35.0 ± 3.15	31.6 ± 5.87	33.8 ± 6.20	30.4 ± 4.18	
		4-7日	45.1 ± 3.29	51.0▲ ± 2.50	50.2△ ± 3.50	48.4 ± 4.43	51.7▲ ± 3.04	42.8 ± 3.90	
		7-10日	49.7 ± 3.50	56.1 ± 10.2	53.8 ± 7.34	54.8 ± 3.27	53.9 ± 4.09	46.6 ± 5.41	
		10-14日	55.7 ± 4.14	57.9 ± 5.69	56.9 ± 4.17	56.9 ± 2.33	61.0 ± 6.74	51.7 ± 6.43	
		14-17日	60.1 ± 6.76	58.7 ± 3.34	58.4 ± 4.28	57.8 ± 4.89	57.6 ± 4.37	54.6 ± 7.44	
		17-21日	69.1 ± 4.26	74.8 ± 6.15	74.4 ± 3.95	72.6 ± 4.55	73.8 ± 3.44	63.7 ± 7.81	
		飲水量 (g)	妊娠 0-4日	33.1 ± 4.4	32.7 ± 4.8	32.1 ± 3.0	32.8 ± 4.7	32.2 ± 3.3	30.6 ± 8.2
			4-7日	36.5 ± 4.7	36.4 ± 4.5	37.3 ± 3.5	38.6 ± 5.1	40.8 ± 3.7	41.2 ± 7.6
	7-10日		42.5 ± 5.7	40.5 ± 4.6	40.9 ± 5.3	40.8 ± 5.6	44.6 ± 4.2	45.4 ± 7.5	
	10-14日		48.6 ± 5.6	45.6 ± 6.8	47.8 ± 5.1	46.4 ± 5.3	53.1 ± 5.3	53.0 ± 8.2	
	14-17日		48.9 ± 7.1	50.1 ± 7.4	49.1 ± 4.4	47.0 ± 4.3	51.8 ± 4.9	55.3 ± 10.7	
	17-21日		50.6 ± 9.1	53.9 ± 9.4	50.9 ± 7.0	50.4 ± 7.5	56.5 ± 7.7	55.1 ± 6.5	
	哺育 0-4日		49.3 ± 8.0	56.8 ± 5.2	54.6 ± 4.3	50.3 ± 8.3	53.0△ ± 10.0	50.5 ± 9.3	
	4-7日		70.6 ± 9.0	79.9 ± 8.1	76.8 ± 10.9	72.8 ± 5.2	82.8 ± 10.9	66.4 ± 7.4	
	7-10日		84.2 ± 15.8	95.9 ± 22.1	89.0 ± 16.8	88.6 ± 14.9	89.6 ± 15.5	84.9 ± 24.8	
	10-14日		95.1 ± 10.4	102.9 ± 16.3	103.9 ± 12.4	103.6 ± 12.5	101.8 ± 12.4	92.3 ± 19.0	
	14-17日		108.4 ± 23.6	123.3 ± 21.4	116.6 ± 18.8	120.2 ± 17.4	113.2 ± 15.4	105.8 ± 21.5	
17-21日	138.8 ± 20.0		163.4 ± 28.2	154.9 ± 12.1	156.0 ± 23.8	146.1 ± 15.2	121.6 ± 17.5		

△および▲:統計学的に有意な高値(それぞれ $p \leq 0.05$ および $p \leq 0.01$)▽および▼:統計学的に有意な低値(それぞれ $p \leq 0.05$ および $p \leq 0.01$)

表-2 F0動物の帝王切開成績およびF1胎仔観察

投与量		0 μ g/kg	2 μ g/kg	10 μ g/kg	50 μ g/kg	20mg/kg	100mg/kg			
F0 母動物	帝王切開成績	妊娠動物数	3	3	3	3	3	3		
		妊娠黄体数(平均)	18.0 ± 1.7	18.3 ± 3.2	18.0 ± 2.0	20.7 ± 0.6	18.7 ± 2.1	17.3 ± 1.5		
		着床数(平均)	16.0 ± 0.0	16.0 ± 2.0	17.3 ± 1.2	17.0 ± 0.0	16.3 ± 0.6	16.0 ± 1.0		
		着床率(%)	89.5	88.1	96.7	82.3	88.0	92.4		
		死亡胚数	2	1	3	2	6	0		
		胎児死亡率(%)	4.2	2.4	5.8	3.9	12.1	0		
		生存胎児数(平均)	15.3 ± 0.6	15.7 ± 2.5	16.3 ± 1.2	16.3 ± 1.2	14.3 ± 1.5	16.0 ± 1.0		
		性比	1.00	1.04	0.88	0.81	1.26	0.71		
		胎児体重♀	4.9 ± 0.1	5.0 ± 0.2	5.1 ± 0.2	5.0 ± 0.2	5.1 ± 0.2	5.3 ± 0.3		
		♂	5.3 ± 0.1	5.3 ± 0.3	5.5 ± 0.2	5.4 ± 0.1	5.2 ± 0.4	5.6 ± 0.3		
F1 胎児	内臓異常	胎仔数	46	47	49	49	43	48		
		胸腔	胸腺	0	0	0	0	0	0	
			肺	0	0	0	0	0	0	
			血管	0	0	0	0	0	0	
			心臓	0	0	0	0	0	0	
			横隔膜	0	0	0	0	0	0	
		腹腔	肝臓	0	0	0	0	0	0	
			副腎	0	0	0	0	0	0	
			腎臓	0	0	0	0	0	0	
			脾臓	0	0	0	0	0	0	
	尿管		0	0	0	0	0	0		
	卵巣		0	0	0	0	0	0		
	骨格観察	異常数	頭蓋	0	0	0	0	0	0	
			胸骨	0	0	0	0	0	0	
			椎骨	0	0	0	0	0	0	
			肋骨	0	0	0	0	0	0	
			寛骨	0	0	0	0	0	0	
			前肢	0	0	0	0	0	0	
			後肢	0	0	0	0	0	0	
		変異数	椎骨数 25	0	0	0	0	0	0	
			26(標準)	46(100%)	47(100%)	49(100%)	49(100%)	43(100%)	48(100%)	
			27	0	0	0	0	0	0	
	肋骨数 12	0	0	0	0	0	0			
	13(標準)	46(100%)	47(100%)	49(100%)	49(100%)	43(100%)	48(100%)			
	14	0	0	0	0	0	0			
	胸骨の非対称	0	0	2(4.1%)	0	6(14.0%)	1(2.1%)			
	胸骨の分離	0	0	1(2.0%)	0	0	0			
	化骨数	頭蓋	46(100%)	47(100%)	49(100%)	49(100%)	43(100%)	48(100%)		
		胸骨	5.00 ± 0.10	5.30 ± 0.44	4.83 ± 0.55	6.00 ± 0.06	6.0 ± 0.00	5.90 ± 0.10		
		中手骨	7.77 ± 0.25	7.77 ± 0.32	7.70 ± 0.52	8.00 ± 0.00	7.97 ± 0.06	8.00 ± 0.00		
中足骨		8.17 ± 0.42	8.13 ± 1.17	6.37 ± 1.69	9.30 ± 0.61	9.07 ± 0.95	9.33 ± 0.99			
尾骨		9.9 ± 0.52	10.1 ± 0.45	10.3 ± 0.60	11.9 ± 0.61	11.8 ± 0.78	11.7 ± 0.56			
<p>△および▲:統計学的に有意な高値(それぞれ$p \leq 0.05$および$p \leq 0.01$) ▽および▼:統計学的に有意な低値(それぞれ$p \leq 0.05$および$p \leq 0.01$)</p>										

表-3 F0動物の繁殖成績およびF1哺育児検査

投与量		0 μ g/kg	2 μ g/kg	10 μ g/kg	50 μ g/kg	20mg/kg	100mg/kg	
F0 母動物	繁殖成績	妊娠動物数	9	9	9	9	9	
	出生率(%)	100	100	100	100	100	100	
	妊娠期間(平均:日)	21.9	22.0	22.1	22.1	22.2	23.0▲	
	着床数	15.8 ±2.22	15.7 ±2.00	16.2 ±1.72	17.1 ±1.69	15.6 ±1.33	15.3 ±1.12	
	出生生児数	14.3 ±3.04	14.6 ±1.67	14.6 ±1.67	14.9 ±2.03	14.2 ±1.39	10.8▼ ±3.03	
	剖検所見	NAD	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12	12/12
F1 哺育児	性比	0.87	0.96	0.85	0.96	1.00	1.26	
	生存出生率	99.0	100	99.3	99.4	100	89.9▽	
	哺育 4日生存率	100	100	100	98.6	97.0	88.0▼	
	離乳率	99.1	98.2	100	100	97.2	99.0	
	雌 体重 (g)	哺育 0日	5.6 ±0.56	5.9 ±0.32	5.8 ±0.27	5.9 ±0.28	6.0 ±0.36	6.1 ±0.52
		7日	9.1 ±1.36	9.7 ±0.69	9.5 ±0.69	9.3 ±0.74	9.9 ±0.82	10.8▲ ±1.24
		7日	13.8 ±1.88	14.7 ±0.91	14.4 ±0.99	14.1 ±0.87	14.6 ±1.35	15.5 ±1.82
		14日	25.8 ±2.90	26.3 ±1.54	26.4 ±2.10	26.1 ±1.86	26.5 ±1.47	28.4 ±3.36
		21日	41.4 ±5.15	42.8 ±2.49	42.9 ±3.20	42.0 ±3.02	43.2 ±2.53	46.3 ±7.44
	雄 体重 (g)	哺育 0日	5.9 ±0.47	6.3 ±0.24	6.2 ±0.31	6.3 ±0.41	6.4△ ±0.27	6.5▲ ±0.49
		7日	9.4 ±1.22	10.3 ±0.49	10.3 ±0.89	9.8 ±0.72	10.5 ±0.69	11.2▲ ±1.24
		7日	14.2 ±16.3	15.6 ±0.73	15.3 ±1.18	14.8 ±0.47	15.2 ±1.16	15.6 ±2.22
		14日	26.3 ±2.89	28.3 ±1.90	27.9 ±2.15	27.5 ±1.13	27.3 ±1.62	28.2 ±4.39
		21日	42.6 ±4.92	45.7 ±3.09	44.8 ±3.60	43.7 ±2.05	44.2 ±2.72	46.6 ±7.64
	A G D	雄 AGD(mm)	4.10 ±0.23	4.14 ±0.16	4.18 ±0.26	4.33 ±0.39	4.28△ ±0.29	4.61▲ ±0.43
		体重比	2.27 ±0.1	2.25 ±0.09	2.28 ±0.13	2.35 ±0.18	2.30 ±0.15	2.47△ ±0.20
		雌 AGD(mm)	2.06 ±0.12	2.08 ±0.16	2.16 ±0.10	2.17 ±0.24	2.18 ±0.25	2.33 ±0.22
体重比		1.16 ±0.07	1.15 ±0.08	1.20 ±0.06	1.20 ±0.12	1.20 ±0.13	1.28 ±0.10	
雄哺育児胸部残存乳頭(%)	55.6	55.6	33.3	33.3	55.6	0.0▽		
発 育 分 化	切歯萌出(day)	10.7 ±0.71	11.1 ±0.93	11.3 ±0.87	11.4 ±0.73	11.0 ±1.00	10.5 ±0.76	
	眼瞼開裂(day)	16.4 ±0.88	16.0 ±0.71	16.0 ±0.71	15.9 ±0.60	15.8 ±0.97	15.6 ±1.41	
	精巣下降(day)	19.4 ±0.88	19.2 ±0.44	19.4 ±0.73	19.0 ±0.87	19.2 ±0.44	19.3 ±1.04	

△および▲:統計学的に有意な高値(それぞれ $p \leq 0.05$ および $p \leq 0.01$)▽および▼:統計学的に有意な低値(それぞれ $p \leq 0.05$ および $p \leq 0.01$)

表-4 F1動物の症状、性成熟および体重

投与量		0 μ g/kg	2 μ g/kg	10 μ g/kg	50 μ g/kg	20mg/kg	100mg/kg	
F1動物	一般状態	10週解剖検査 雄 NAD	19/19	15/15	18/18	18/18	19/19	13/13
		雌 NAD	17/17	20/20	18/18	18/18	17/17	10/10
		生殖検査動物 雄 NAD	13/13	18/18	15/15	16/16	18/18	18/18
		雌 NAD	17/17	18/18	19/19	20/20	17/17	13/13
性成熟	雄	包皮反転(day)	36.0 \pm 0.88	36.7 \pm 10.3	36.6 \pm 1.15	37.9 \pm 1.64	36.7 \pm 1.57	36.2 \pm 0.69
		雌	膈開口(day)	31.3 \pm 2.17	31.3 \pm 2.12	30.3 \pm 1.24	30.6 \pm 2.03	30.2 \pm 1.71
		正常性周期(%)	100	95.0	100	100	100	100
哺育児体重	雄 体重(g)	3週齢	41.8 \pm 3.8	46.8▲ \pm 4.0	43.8 \pm 1.9	41.4 \pm 2.5	45.6△ \pm 3.0	48.6▲ \pm 8.8
		4週齢	79.3 \pm 5.7	84.2 \pm 4.5	80.3 \pm 3.3	80.5 \pm 3.1	83.0 \pm 5.7	87.5▲ \pm 10.9
		5週齢	129 \pm 8.5	133 \pm 6.7	127 \pm 6.8	128 \pm 6.2	131 \pm 8.1	136 \pm 12.0
		6週齢	181 \pm 11.4	187 \pm 10.9	178 \pm 12.3	183 \pm 9.2	184 \pm 12.1	190 \pm 14.7
		7週齢	239 \pm 13.0	242 \pm 14.8	232 \pm 14.1	240 \pm 15.0	240 \pm 13.9	245 \pm 16.2
		8週齢	291 \pm 15.5	306 \pm 14.9	286 \pm 17.8	297 \pm 19.2	294 \pm 18.8	304 \pm 19.4
		9週齢	336 \pm 14.9	357▲ \pm 16.9	338 \pm 20.8	336 \pm 20.7	339 \pm 14.9	345 \pm 21.8
		10週齢	369 \pm 16.3	393▲ \pm 17.9	369 \pm 26.3	371 \pm 21.7	372 \pm 16.6	382 \pm 22.8
	雌 体重(g)	3週齢	41.1 \pm 2.4	42.7 \pm 3.4	42.1 \pm 2.2	41.5 \pm 2.7	44.8△ \pm 3.4	50.0▲ \pm 7.2
		4週齢	72.7 \pm 4.5	75.3 \pm 3.5	75.0 \pm 3.2	75.2 \pm 3.8	77.4△ \pm 5.9	81.2▲ \pm 6.4
		5週齢	113 \pm 4.5	116 \pm 4.5	112 \pm 4.7	115 \pm 6.3	119△ \pm 6.3	118 \pm 6.3
		6週齢	148 \pm 10.0	150 \pm 5.5	143 \pm 7.3	149 \pm 6.7	155 \pm 6.5	152 \pm 14.9
		7週齢	171 \pm 10.6	179△ \pm 7.9	168 \pm 8.0	175 \pm 8.3	180△ \pm 7.6	174 \pm 15.2
		8週齢	191 \pm 10.6	202▲ \pm 7.7	191 \pm 8.0	196 \pm 13.5	202△ \pm 11.0	194 \pm 17.4
		9週齢	209 \pm 13.3	220▲ \pm 7.7	210 \pm 10.4	216 \pm 14.9	222△ \pm 10.0	217 \pm 18.0
		10週齢	226 \pm 12.6	234 \pm 8.1	226 \pm 10.9	233 \pm 14.7	238△ \pm 12.2	235 \pm 18.0

△および▲:統計学的に有意な高値(それぞれ $p \leq 0.05$ および $p \leq 0.01$)▽および▼:統計学的に有意な低値(それぞれ $p \leq 0.05$ および $p \leq 0.01$)