

資料 2 - 4

文献調査・信頼性評価の結果について（案）

文献調査・信頼性評価の結果

平成 14 年度第 2 回内分泌攪乱化学物質問題検討会（平成 14 年度 10 月 7 日開催）において、10 物質* について、平成 15 年度第 2 回内分泌攪乱化学物質問題検討会（平成 15 年度 11 月 14 日開催）において、17 物質* について、物質ごとに文献検索データベースを利用して、文献検索を行い、人健康影響に関する文献、生態影響に関する文献及びレセプターバインディングアッセイや E-screen 法などの試験管内試験に関する文献について専門家による信頼性評価を実施することとなっている。

*2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸、エチルパラチオン、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン、メトキシクロル、ニトロフェン、トキサフェン、アルディカーブ、キーボン、メチラム及びピンクロゾリン

**2,4-ジクロロフェノキシ酢酸、アトラジン、アラクロール、CAT、NAC、エンドスルファン、メソミル、トリフルラリン、ベノミル、マンゼブ、マンネブ、メトリブジン、シペルメトリン、エスフェンパレレート、フェンパレレート、ジネブ及びジラム

平成 14 年度 10 物質、平成 15 年度 17 物質及びベンゾ(a)ピレンの文献調査の実施結果を表 1 にまとめて示した。

表 - 1 文献調査・信頼性評価の実施状況

物質名	2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸	2,4-ジクロロフェノキシ酢酸	アトラジン	アラクロール
検索条件	文献検索データベースとして情報源が比較的広いMEDLINE およびTOXLINE を利用して、各検討物質ごとに内分泌に関連した報告の検索を行い、専門家により文献要旨の作成及び信頼性評価を行った。 検索に用いたキーワードは、(物質名 OR CAS 番号) AND (Endocrine OR Reproduction) とした。			
検索件数	49	197	72	11
実施状況	作用に関する4文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた2件についてまとめた。	作用に関する28文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた3件についてまとめた。	作用に関する38文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた22件についてまとめた。	作用に関する11文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた4件についてまとめた。

物質名	CAT	エチルパラチオン	NAC	1,2-ジブromo-3-クロロプロパン
検索条件	文献検索データベースとして情報源が比較的広いMEDLINE およびTOXLINE を利用して、各検討物質ごとに内分泌に関連した報告の検索を行い、専門家により文献要旨の作成及び信頼性評価を行った。 検索に用いたキーワードは、(物質名 OR CAS 番号) AND (Endocrine OR Reproduction) とした。			
検索件数	19	94	66	86
実施状況	作用に関する19文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた9件についてまとめた。	作用に関する2文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた2件についてまとめた。	作用に関する21文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた8件についてまとめた。	作用に関する9文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた9件についてまとめた。

物質名	エンドスルファン	メソミル	メトキシクロル	ニトロフェン
検索条件	文献検索データベースとして情報源が比較的広いMEDLINEおよびTOXLINEを利用して、各検討物質ごとに内分泌に関連した報告の検索を行い、専門家により文献要旨の作成及び信頼性評価を行った。 検索に用いたキーワードは、(物質名 OR CAS番号) AND (Endocrine OR Reproduction) とした。			
検索件数	90	13	100	123
実施状況	作用に関する58文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた13件についてまとめた。	作用に関する3文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた3件についてまとめた。	作用に関する34文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた29件についてまとめた。	作用に関する1文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた1件についてまとめた。

物質名	トキサフェン	トリフルラリン	ベンゾ(a)ピレン	アルディカーブ
検索条件	文献検索データベースとして情報源が比較的広いMEDLINEおよびTOXLINEを利用して、各検討物質ごとに内分泌に関連した報告の検索を行い、専門家により文献要旨の作成及び信頼性評価を行った。 検索に用いたキーワードは、(物質名 OR CAS番号) AND (Endocrine OR Reproduction) とした。			
検索件数	52	11	297	14
実施状況	作用に関する10文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた9件についてまとめた。	作用に関する5文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた2件についてまとめた。	作用に関する10文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた5件についてまとめた。	作用に関する1文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた1件についてまとめた。

物質名	ベノミル	キーポン	マンゼブ	マンネブ
検索条件	文献検索データベースとして情報源が比較的広いMEDLINEおよびTOXLINEを利用して、各検討物質ごとに内分泌に関連した報告の検索を行い、専門家により文献要旨の作成及び信頼性評価を行った。 検索に用いたキーワードは、(物質名 OR CAS番号) AND (Endocrine OR Reproduction) とした。			
検索件数	45	84	17	42
実施状況	作用に関する25文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた13件についてまとめた。	作用に関する20文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた16件についてまとめた。	作用に関する14文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた5件についてまとめた。	作用に関する10文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた4件についてまとめた。

物質名	メチラム	メトリブジン	シペルメトリン	エスフェンバレレート
検索条件	文献検索データベースとして情報源が比較的広いMEDLINEおよびTOXLINEを利用して、各検討物質ごとに内分泌に関連した報告の検索を行い、専門家により文献要旨の作成及び信頼性評価を行った。 検索に用いたキーワードは、(物質名 OR CAS番号) AND (Endocrine OR Reproduction)とした。			
検索性数	1	4	311	19
実施状況	作用に関する1文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた1件についてまとめた。	作用に関する3文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた2件についてまとめた。	作用に関する20文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた4件についてまとめた。	作用に関する5文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた1件についてまとめた。

物質名	フェンバレレート	ビクロゾリン	ジネブ	ジラム
検索条件	文献検索データベースとして情報源が比較的広いMEDLINEおよびTOXLINEを利用して、各検討物質ごとに内分泌に関連した報告の検索を行い、専門家により文献要旨の作成及び信頼性評価を行った。 検索に用いたキーワードは、(物質名 OR CAS番号) AND (Endocrine OR Reproduction)とした。			
検索性数	25	43	35	6
実施状況	作用に関する18文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた8件についてまとめた。	作用に関する16文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた13件についてまとめた。	作用に関する6文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた5件についてまとめた。	作用に関する6文献の信頼性評価を実施し、信頼性が得られた3件についてまとめた。

文献調査・信頼性評価の結果と環境中での検出状況

1. 環境実態調査等において検出され、内分泌かく乱作用と関連する可能性がある動物実験または生態影響に関する信頼性のある報告が得られた物質
(14物質)

アトラジン(除草剤)、CAT(除草剤)、NAC(殺虫剤)、マンネブ(殺菌剤)、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(除草剤)、アラクロール(除草剤)、トリフルリン(除草剤)、メチル(殺虫剤)、ベンジル(殺菌剤)、マンネブ(殺菌剤)、ジネブ(殺菌剤)、ジラム(殺菌剤)、トキサエン(未登録、殺虫剤、POPS)、ベンゾ(a)ピレン(非意図的生成物)

2. 1. 環境実態調査等において未測定で、内分泌かく乱作用と関連する可能性がある動物実験または生態影響に関する信頼性のある報告が得られた物質
(2物質)

キーポン(未登録、殺虫剤)、メチラム(失効、殺菌剤)

キーポンについては、大気中濃度に関する分析法は確立されているが、水中及び底質中の濃度に関する分析法はない。メチラムについては、水試料を対象とした場合、自然由来等の夾雑物質との関係から定量性が得られる分析法が確立されていない。これら2物質については、分析法の確立に関する検討が必要である。

2. 2. 環境実態調査等において未測定で、内分泌かく乱作用と関連する可能性がある信頼性のある報告としては、試験管内試験に関する報告のみが得られた物質
(1物質)

アルディカーブ(未登録、殺虫剤)

アルディカーブについては、環境中濃度に関する分析法は確立されていない。アルディカーブについては、分析法の確立に関する検討が必要である。

3. 環境実態調査等において未検出で、内分泌かく乱作用と関連する可能性がある動物実験または生態影響に関する信頼性のある報告が得られた物質
(11物質)

2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸(失効、除草剤)、1,2-ジブプロメ-3-クロロピロン(失効、殺虫剤)、ピソクゾリン(失効、殺菌剤)、エチルラチオ(失効、殺虫剤)、メチル(失効、殺虫剤)、ニトロフェン(失効、除草剤)、インドスルファン(殺虫剤)、シアルマトリン(殺虫剤)、エスフェンバレート(殺虫剤)、フェンバレート(殺虫剤)、トリブジン(除草剤)

これら 11 物質の環境実態調査における検出限界値の妥当性について確認することを目的として、環境中での分配を予測するためのモデルであるフガシティーモデル(レベル1)*により算出された推定濃度と、現時点での検出限界値の比較を行った(平成15年度 第2回内分泌攪乱化学物質問題検討会 平成15年11月14日開催 資料2-3 参照)。

- (1)2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸、1,2-ジブフロ-3-クロロベンゼン、ピコゾリン、メチシロル、クロロエチンについては、現時点での検出限界値がフガシティーモデル(レベル1)により算出された推定濃度を10倍以上上回っており、現時点では未検出であるが、必要十分な検出限界値が確保されておらず、検出限界値の改良に関する検討が必要である。
- (2)イソプロパチオンについては、現時点での検出限界値がフガシティーモデル(レベル1)により算出された推定濃度とほぼ同程度(乖離が10倍未満)であり、必要十分な検出限界値が確保された測定において未検出であると考えられる。
- (3)エンドスルファン、シアルメリン、エフェンバレルト、フェンバレルト、メトリジンについては、現時点での検出限界値とフガシティーモデル(レベル1)により算出された推定濃度との比較について実施中であり、必要十分な検出限界値が確保されているか否かについて検討中。

*フガシティーモデル(レベル1)化学物質の物性情報を利用し、環境中の媒体(水質、底質、土壌、大気、水生生物など)への化学物質の分配比率を求めるモデル。ある媒体において測定された濃度を利用して、他の媒体の濃度を推定することができる。

環境実態調査における検出限界値とフガシティーモデル(レベル1)により算出された推定濃度

	水質		底質		土壌		大気		水生生物	
	検出限界値	推定濃度	検出限界値	推定濃度	検出限界値	推定濃度	検出限界値	推定濃度	検出限界値	推定濃度
2,4,5-トリクロロフェニク酢酸	0.05 μg/L	*	<u>10</u> μg/kg-dry	<u>0.14</u> μg/kg-dry	<u>5</u> μg/kg-dry	<u>0.071</u> μg/kg-dry		0.0036 ng/m ³	<u>10</u> μg/kg-wet	<u>0.75</u> μg/kg-wet
1,2-ジブチル-3-クロロプロパン	0.05 μg/L	*	<u>5</u> μg/kg-dry	<u>0.14</u> μg/kg-dry	<u>1</u> μg/kg-dry	<u>0.072</u> μg/kg-dry	0.07 ng/m ³	150 ng/m ³	<u>10</u> μg/kg-wet	<u>0.23</u> μg/kg-wet
ビソクゾリン	0.05 μg/L	*	<u>20</u> μg/kg-dry	<u>0.55</u> μg/kg-dry	1 μg/kg-dry	0.28 μg/kg-dry		0.00022 ng/m ³	10 μg/kg-wet	3.3 μg/kg-wet
エチルパラチオン	0.05 μg/L	*	20 μg/kg-dry	2.7 μg/kg-dry	1 μg/kg-dry	1.4 μg/kg-dry		0.81 ng/m ³	5 μg/kg-wet	4.9 μg/kg-wet
メキシクロル	0.05 μg/L	*	5 μg/kg-dry	63 μg/kg-dry	10 μg/kg-dry	32 μg/kg-dry	0.001 ng/m ³	6.3 ng/m ³	20 μg/kg-wet	30 μg/kg-wet
ニトロフェン	0.05 μg/L	*	20 μg/kg-dry	4.4 μg/kg-dry	1 μg/kg-dry	2.2 μg/kg-dry		11 ng/m ³	2 μg/kg-wet	43 μg/kg-wet

* 検出限界値の 1/2 の濃度であったと仮定して他の媒体の濃度を推定した。

未測定

下線を付した媒体において、現時点での検出限界値がフガシティーモデル(レベル1)により算出された推定濃度を 10 倍以上上回っている。

環境実態調査における水質の検出限界値とフガシティーモデル(レベル1)により算出された水質の推定濃度

	水質	底質の検出限界値 の 1/2 から求めた 水質の推定濃度	土壌の検出限界値 の 1/2 から求めた 水質の推定濃度	大気 of 検出限界値 の 1/2 から求めた 水質の推定濃度	水生生物 of 検出限 界値 of 1/2 から求め た水質 of 推定濃度	内分泌かく乱作用に関連した報告 の最低濃度	
	検出限界値					水生動物実験	試験管内試験
2,4,5-トリクロロ ェノキシ酢酸	0.05 μg/L	0.89 μg/L	0.88 μg/L		0.17 μg/L		0.26 μg/L [0.0087]
1,2-ジブチル -3-クロロベンゼン	0.05 μg/L	0.45 μg/L	0.17 μg/L	<u>0.0000058 μg/L</u>	0.54 μg/L		75,000 μg/L [8300 μg/L]
ビスノゾリン	0.05 μg/L	0.45 μg/L	0.045 μg/L		0.038 μg/L	0.03 μg/L	140 μg/L [1.1 μg/L]
エチルラチオン	0.05 μg/L	0.093 μg/L	0.0089 μg/L		0.013 μg/L		29 μg/L [0.15 μg/L]
メキソロール	0.05 μg/L	0.00099 μg/L	0.0039 μg/L	<u>0.0000019 μg/L</u>	0.0083 μg/L		0.69 μg/L [0.00057 μg/L]
ニトロフェン	0.05 μg/L	0.028 μg/L	0.0057 μg/L		<u>0.00058 μg/L</u>		

* 検出限界値の 1/2 の濃度であったと仮定して水質の濃度を推定した。

未測定

[]内は試験管内試験の結果 ÷ 生物濃縮係数

下線を付した推定値において、現時点での検出限界値がフガシティーモデル(レベル1)により算出された推定濃度を 10 倍以上上回っている。

文献調査・信頼性評価の結果と環境実態調査等での検出状況

	環境実態調査等において検出された物質	環境実態調査等において未測定物質	環境実態調査等において未検出の物質
内分泌かく乱作用と関連する可能性がある動物実験または生態影響に関する信頼性のある報告が得られた物質	アラジン(除草剤) CAT(除草剤) NAC(殺虫剤) マネブ(殺菌剤) 2,4-ジクロロフェニ酢酸(除草剤) アラクロール(除草剤) トリフルリン(除草剤) ミミル(殺虫剤) ベノミル(殺菌剤) マネブ(殺菌剤) ジネブ(殺菌剤) ジラム(殺菌剤) トキサフェン(未登録、殺虫剤、POPS) ヘンゾ(a)ヒレン(非意図的生成物)	キーポン(未登録、殺虫剤)* メチラム(失効、殺菌剤)*	2,4,5-トリクロロフェニ酢酸(失効、除草剤)** 1,2-ジブプロメ-3-クロロピロン(失効、殺虫剤)** ビンクゾリン(失効、殺菌剤)** メキシクロル(失効、殺虫剤)** ニトロフェン(失効、除草剤)** エチルラチオン(失効、殺虫剤)*** エントスルファン(殺虫剤)**** シェルメリン(殺虫剤)**** エスフェンバレート(殺虫剤)**** フェンバレート(殺虫剤)**** メトリブジン(除草剤)****
内分泌かく乱作用と関連する可能性がある信頼性のある報告としては、試験管内試験に関する報告のみが得られた物質		アルディカーブ(未登録、殺虫剤)*	

* キーポンについては、大気中濃度に関する分析法は確立されているが、水中及び底質中の濃度に関する分析法はない。メチラムについては、水試料を対象とした場合、自然由来等の夾雑物質との関係から定量性が得られる分析法が確立されていない。アルディカーブについては、環境中濃度に関する分析法は確立されていない。

** 現時点での検出限界値がフガシティーモデル(レベル1)により算出された推定濃度を10倍以上上回っている物質

*** 現時点での検出限界値がフガシティーモデル(レベル1)により算出された推定濃度とほぼ同程度(乖離が10倍未満)の物質

**** 現時点での検出限界値とフガシティーモデル(レベル1)により算出された推定濃度との比較について実施中の物質

1. 2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸の有害影響に関する文献の信頼性評価結果

2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸の有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用に関連した作用の有無及び生殖への市況に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Lees らによって、2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸について、ヒトエストロゲン受容体応答遺伝子をもつ形質転換酵母での β -ガラクトシダーゼ活性誘導について検討¹が行われている。2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸は、 $1.0 \times 10^{-9} \sim 1.0 \times 10^{-7} \text{M}$ の濃度において形質転換酵母での β -ガラクトシダーゼ活性を誘導した。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

(2) 生殖への影響

Smith らによって、2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸 3、10、30 ppm を 4～6 週齢 F_0 から 130 日齢 F_2 に渡って混餌投与された雌雄 SD ラットへの影響が検討²されている。その結果として各世代の 21 日齢において、3 ppm 投与群で F_1 雄性比・同腹 F_1 児数の低値、3、30 ppm 投与群で F_1 生存率の低値、10 ppm 投与群で F_2 二回目出産率の低値、10 ppm 以上の投与群で F_2 生存率の低値、30 ppm 投与群で F_{3a} (F_2 の初出産児) 及び F_{3b} (F_2 の二回目出産児) 生存率の低値、 F_2 雄及び F_{3b} 雌雄の体重の低値、 F_2 雌雄・ F_{3a} 雄・ F_{3b} 雄の肝臓相対重量の高値、 F_{3b} 雄の胸腺(絶対・相対)重量の低値、 F_{3b} 雌の胸腺相対重量の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸のエストロゲン様作用について、試験管内試験においてヒトエストロゲン受容体応答遺伝子をもつ形質転換酵母での β -ガラクトシダーゼ活性の誘導が認められたとするある程度の信頼性のある報告が得られた。

・動物実験において、2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸について F_1 雄性比・同腹 F_1 児数・ F_1 生存率・ F_2 二回目出産率・ F_2 生存率・ F_{3a} (F_2 の初出産児) 及び F_{3b} (F_2 の二回目出産児) 生存率・ F_2 雄及び F_{3b} 雌雄の体重・ F_{3b} 雄の胸腺(絶対・相対)

重量の低値、F₂ 雌雄・F_{3a} 雄・F_{3b} 雄の肝臓相対重量の高値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

-
- ¹ Lee HS, Miyauchi K, Nagata Y, Fukuda R, Sasagawa Si S, Endoh H, Kato S, Horiuchi H, Takagi M, and Ohta A (2002) Employment of the Human Estrogen Receptor beta Ligand-Binding Domain and Co-Activator SRC1 Nuclear Receptor-Binding Domain for the Construction of a Yeast Two-Hybrid Detection System for Endocrine Disrupters. *Journal of Biochemistry (Tokyo)*, 131, 399-405
 - ² Smith FA, Murray FJ, John JA, Nitschke KD, Kociba RJ, and Schwetz BA (1981) Three generation reproduction study of rats ingesting 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid in the diet. *Food and Cosmetics Toxicology*, 19, 41-45.

2. 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸の有害影響に関する文献の信頼性評価結果

2,4-ジクロロフェノキシ酢酸の有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用に関連した作用の有無、甲状腺ホルモン様作用に関連した作用の有無、甲状腺への影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Lee らによって、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸について、エストロゲン受容体 及び (リガンド結合ドメイン) 応答遺伝子発現系をもつ形質転換酵母での Two hybrid 試験の検討¹が行われている。2,4-ジクロロフェノキシ酢酸は、 $1.0 \times 10^{-5} \text{M} \sim 1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ の濃度において -ガラクトシダーゼ活性を誘導した。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

(2) 甲状腺ホルモン様作用

van den Berg らによって、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸について、トランスサイレチンへの T_4 の結合阻害についての検討²が行われている。2,4-ジクロロフェノキシ酢酸は、 $1.0 \times 10^{-4} \text{M}$ の濃度においてトランスサイレチンへの T_4 の結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) 甲状腺への影響

Charles らによって、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 1、15、100、300 mg/kg/day を 5 週齢から 13 週間混餌投与された雌雄 F344 ラットへの影響が検討³されている。その結果として、雄において、15 mg/kg/day 以上の投与群で腎臓相対重量の高値、100 mg/kg/day 以上の投与群で体重・血清中 T_4 濃度・血中血小板濃度の低値、甲状腺相対重量・肝臓相対重量の高値、300 mg/kg/day の投与群で精巣相対重量・血清中 T_3 濃度・血中赤血球濃度及び血中ヘモグロビン濃度の低値、副腎皮質肥大個体発生頻度・肝臓中葉細胞腫大個体発生頻度の高値が認められた。また、雌において、100 mg/kg/day 以上の投与群で血清中 T_3 及び T_4 濃度・血中血小板濃度の低値、腎臓相対重量・副腎皮質肥大個体発生頻度の高値、300 mg/kg/day の投与群で体重・血中赤血球濃度・血中ヘモグロビン濃度の低値、肝臓相対重量・甲状腺相対重量・肝臓中葉細胞腫大個体発生頻度・白内障個体発生頻度の高値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・2,4-ジクロロフェノキシ酢酸のエストロジェン様作用については、試験管内試験においてエストロジェン受容体 及び (リガンド結合ドメイン)応答遺伝子発現系をもつ形質転換酵母での β -ガラクトシダーゼ活性の誘導が認められたとするある程度の信頼性のある報告が得られた。

・2,4-ジクロロフェノキシ酢酸の甲状腺ホルモン様作用については、試験管内試験においてトランスサイレチンへの T_4 の結合阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・動物実験において、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸について腎臓相対重量・甲状腺相対重量・肝臓相対重量・副腎皮質肥大個体発生頻度・肝臓中葉細胞腫大個体発生頻度・白内障個体発生頻度の高値、体重・精巣相対重量・血清中 T_4 濃度・血清中 T_3 濃度・血中血小板濃度・血中赤血球濃度・血中ヘモグロビン濃度の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

-
- 1 Lee HS, Miyauchi K, Nagata Y, Fukuda R, Sasagawa Si S, Endoh H, Kato S, Horiuchi H, Takagi M, and Ohta A (2002) Employment of the Human Estrogen Receptor beta Ligand-Binding Domain and Co-Activator SRC1 Nuclear Receptor-Binding Domain for the Construction of a Yeast Two-Hybrid Detection System for Endocrine Disrupters. *Journal of Biochemistry (Tokyo)*, 131, 399-405.
 - 2 van den Berg KJ, van Raaij JAGM, Bragt PV, and Notten WRF (1991) Interactions of halogenated industrial chemicals with transthyretin and effects on thyroid hormone levels *in vivo*. *Archives of Toxicology*, 65, 15-19.
 - 3 Charles JM, Cunny HC, Wilson RD, and Bus JS (1996) Comparative subchronic studies on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, amine, and ester in rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 33, 161-165.

3. アトラジンの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

アトラジンの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用に関連した作用の有無、エストロゲン生合成酵素に対する作用に関連した作用の有無、ホルモン受容体等の濃度に関連した作用の有無、血清中ホルモン等の濃度に関連した作用の有無、生殖への影響に関連した作用の有無及び生態影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Tran らによって、アトラジンについて、エストロゲン応答遺伝子発現系をもつ形質転換酵母での 17-β-エストラジオールによる β-ガラクトシダーゼ活性誘導阻害について検討¹されている。アトラジンは $4.1 \times 10^{-7} \sim 2.1 \times 10^{-6} \text{M}$ の濃度において 17-β-エストラジオールによる β-ガラクトシダーゼ活性誘導を阻害した。また、アトラジンについて、エストロゲン受容体への 17-β-エストラジオールの結合阻害について検討¹が行われている。アトラジンは、 $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてエストロゲン受容体への 17-β-エストラジオールの結合を阻害した。これらの試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

Scippo らによって、アトラジンについて、エストロゲン受容体 α への 17-β-エストラジオールの結合阻害について検討²が行われている。アトラジンは、 IC_{50} 値 $3.58 \times 10^{-4} \text{M}$ でエストロゲン受容体 α への 17-β-エストラジオールの結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Tennant らによって、アトラジン 20、100、300 mg/kg/day を 3 日間経口投与された卵巢摘出成熟 SD ラット(アトラジン投与 2、3 日目に 17-β-エストラジオールを皮下投与)への影響が検討³されている。その結果として、100 mg/kg/day 以上の投与群で子宮絶対重量・体重の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

O'Conner らによって、アトラジン 50、150、200 mg/kg/day を 49 日齢から 4 日間腹腔投与された卵巢摘出 BR ラットへの影響が検討⁴されている。その結果として、150 mg/kg/day 以上の投与群で体重の低値、血清中プロラクチン濃度・子宮上皮細胞厚の高値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

(2) エストロゲン生合成酵素に対する作用

Sanderson らによって、アトラジンについて、ヒト副腎皮質がん細胞 H295R のアロマターゼ活性（アンドロステンジオンからエストロンへの変換）に対する影響について検討^{5、6}が行われている。アトラジンは、 $3.0 \times 10^{-7} \sim 3.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてヒト副腎皮質がん細胞 H295R のアロマターゼ活性を誘導した。また、アトラジンについて、ヒト胎盤がん細胞 JEG3 のアロマターゼ活性（アンドロステンジオンからエストロンへの変換）に対する影響について検討⁵されている。アトラジンは、 $1.0 \times 10^{-6} \sim 3.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてヒト胎盤がん細胞 JEG3 のアロマターゼ活性を誘導した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) ホルモン受容体等の濃度への影響

O'Conner らによって、アトラジン 50、150、300 mg/kg/day を 21 日齢から 3 日間経口投与された雌 SD ラットへの影響が検討⁷されている。その結果として、50 mg/kg/day 以上の投与群で子宮ペルオキシダーゼ活性の低値、150 mg/kg/day 以上の投与群で子宮プロジェステロン受容体濃度の低値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

Tennant らによって、アトラジン 1、10、50、100、300 mg/kg/day を 23 日齢から 2 日間経口投与された雌 SD ラット(アトラジン投与 2 日目に -エストラジオールを皮下投与)への影響が検討²されている。その結果として、50 mg/kg/day 以上の投与群で子宮での標識チミジン取り込み率の低値が認められた。また、アトラジン 300 mg/kg/day を 23 日齢から 2 日間経口投与された雌 SD ラット(無処置)への影響が検討²されている。その結果として、300 mg/kg/day 投与群で子宮での標識チミジン取り込み率の低値が認められた。また、アトラジン 50、300 mg/kg/day を 2 日間経口投与された卵巣摘出成熟 SD ラット(アトラジン投与 1、2 日目に -エストラジオールを皮下投与)への影響が検討²されている。その結果として、300 mg/kg/day 投与群で子宮プロジェステロン受容体濃度の低値が認められた。さらに、アトラジン 300 mg/kg/day を 2 日間経口投与された卵巣摘出成熟 SD ラットへの影響が検討²されている。その結果として、子宮プロジェステロン受容体濃度の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Tennant らによって、アトラジン 50、300 mg/kg/day を 2 日間経口投与された卵巣摘出成熟 SD ラットへの影響が検討⁸されている。その結果として、300 mg/kg/day 投与群で子宮エストロゲン受容体濃度の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Simic らによって、アトラジン 120 mg/kg/day を 28 及び 90 日齢から 7 日間経口投与された雄 Fischer ラットへの影響が検討⁹されている。その結果として、前立腺ジヒドロテストステロン受容体数の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(4) 血清中ホルモン等の濃度への影響

Gojimerac らによって、アトラジン 1 mg/kg/day を発情開始日から 19 日間混餌投与された 6~7 月齢雌交配種ブタへの影響が検討¹⁰されている。その結果として、発情開始日後の血清中 エストラジオール濃度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Friedmann によって、アトラジン 50 mg/kg/day を 22 日齢から 3 日間経口投与された雄 SD ラットへの影響が検討¹¹されている。その結果として、体重・血清中テストステロン濃度・精巣中テストステロン濃度の低値が認められた。また、アトラジン 50 mg/kg/day を 46 日齢から 3 日間経口投与された雄 SD ラットへの影響が検討¹¹されている。その結果として、血清中テストステロン濃度・精巣中テストステロン濃度の低値が認められた。さらに、アトラジンについて、黄体形成ホルモン共存下 SD ラット由来ライディッヒ細胞でのテストステロン産生抑制について検討¹¹が行われている。アトラジンは、濃度 $2.3 \times 10^{-7} \text{M}$ で黄体形成ホルモン共存下 SD ラット由来ライディッヒ細胞でのテストステロン産生を抑制した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Cooper らによって、アトラジン 50、100、200、300 mg/kg/day を 3 日間経口投与された卵巣摘出成熟 LE ラット及び SD ラット(エストロジェン充填カプセル埋設)への影響が検討¹²されている。その結果として、LE ラットの 50 mg/kg/day 以上の投与群で血清中黄体形成ホルモン濃度・血清中プロラクチン濃度の低値、下垂体中プロラクチン濃度の高値、SD ラットの 300 mg/kg/day 投与群で血清中プロラクチン濃度の低値が認められた。また、アトラジン 75、150、300 mg/kg/day を 21 日間経口投与された卵巣摘出成熟 LE ラット及び SD ラット(エストロジェン充填カプセル埋設)への影響が検討¹²されている。その結果として、LE ラットの 75 mg/kg/day 以上の投与群で血清中黄体形成ホルモン濃度・血清中プロラクチン濃度の低値、下垂体中プロラクチン濃度の高値、SD ラットの 75 mg/kg/day 以上の投与群で血清中プロラクチン濃度の低値、下垂体中プロラクチン濃度の高値、150 mg/kg/day 以上の投与群で血清中黄体形成ホルモン濃度の低値が認められた。更に、アトラジン 50、100、200、300 mg/kg/day を 3 日間経口投与された卵巣摘出成熟 LE ラット及び SD ラット(エストロジェン充填カプ

セル埋設)への影響が検討^{1,2}されている。その結果として、LE ラットの 300 mg/kg/day 投与群で血清中黄体形成ホルモン濃度・血清中プロラクチン濃度の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(5)生殖への影響

Stocker らによって、アトラジン 12.5、25、50、100、150、200 mg/kg/day を 23 日齢から 30 日間経口投与された雄 Wistar ラットへの影響が検討¹³されている。その結果として、12.5、25、100、150、200 mg/kg/day の投与群で包皮分離日の遅延、50 mg/kg/day 以上の投与群で腹側前立腺(絶対・相対)重量の低値、200 mg/kg/day 投与群で体重・(凝固腺及び内部液体を含む)精嚢(絶対・相対)重量の低値、血清中 エストラジオール濃度・血清中エストロン濃度・血清中 T₃ 濃度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Eldridge らによって、アトラジン 100、300 mg/kg/day を 14~23 日間経口投与された成熟雌 SD ラットへの影響が検討¹⁴されている。その結果として、100 mg/kg/day 以上の投与群で体重・卵巣(絶対・相対)重量・子宮(絶対・相対)重量・血清中 エストラジオール濃度・発情間期発現個体発生頻度の低値、副腎(絶対・相対)重量・膈上皮細胞角質化係数・性周期所用日数・発情期発現個体発生頻度の高値、300 mg/kg/day 投与群で血清中プロジェステロン濃度・膈上皮細胞有核係数の高値が認められた。また、アトラジン 100、300 mg/kg/day を 14~23 日間経口投与された成熟雌 F344 ラットへの影響が検討²されている。その結果として、100 mg/kg/day 以上の投与群で体重・卵巣(絶対・相対)重量・子宮(絶対・相対)重量・膈上皮細胞角質化係数・発情期発現個体発生頻度の低値、副腎(絶対・相対)重量の高値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Cooper らによって、アトラジン 75、150、300 mg/kg/day を 21 日間経口投与された成熟雌 SD ラットへの影響が検討¹⁵されている。その結果として、150 mg/kg/day 以上の投与群で正常性周期発現個体発生頻度の低値、発情間期発現個体発生頻度の高値、300 mg/kg/day 投与群で発情期発現個体発生頻度の低値が認められた。また、アトラジン 75、150、300 mg/kg/day を 21 日間経口投与された成熟雌 LE ラットへの影響が検討¹⁵されている。その結果として、75 mg/kg/day 以上の投与群で正常性周期発現個体発生頻度の低値、150 mg/kg/day 以上の投与群で体重増加率・発情期発現個体発生頻度の低値、発情間期発現個体発生頻度の高値、300 mg/kg/day 投与群で体重の低値が認められた。これら試験結果については文献上からみて信

頼性が認められた。

Wetzel らによって、アトラジン 70、400 ppm(餌中濃度)を 6~8 週齢から 24 ヶ月間混餌投与された雌 SD ラットへの影響が検討¹⁶されている。その結果として、70 ppm 以上の投与群で発情前期発現個体発生頻度・発情期発現個体発生頻度・血清中 17 β -エストラジオール濃度の高値、70 ppm 投与群で血清中プロゲステロン濃度の低値、400 ppm 投与群で体重増加量の低値、血清中プロラクチン濃度・乳がん個体発生頻度・乳腺腫瘍個体発生頻度・下垂体腫瘍個体発生頻度の高値が認められた。また、アトラジン 10、70、200、400 ppm(餌中濃度)を 6~7 週齢から 24 ヶ月間混餌投与された雌 F344 ラットへの影響が検討¹⁶されている。その結果として、70 ppm 投与群で血清中プロゲステロン濃度の低値、200 ppm 以上の投与群で体重増加量の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(6)生態影響

Moore と Lower によって、アトラジン 0.5、1.0 μ g/L に 5 日間曝露された成熟雄タイセイヨウサケ(*Salmo salar*)への影響が検討¹⁷されている。その結果として、0.5 μ g/L 以上の曝露区で血漿中テストステロン濃度・血漿中 17,20 β -プロゲステロン濃度の高値、1.0 μ g/L 曝露区でプロスタグランジン F₂ によるプライミングフェロモン応答の低値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

Bejarano と Chandler によって、アトラジン 3.5、30.3、246.6 μ g/L に二世曝露された汽水性カイアシ類(*Amphiascus tenuiremis*)への影響が検討¹⁸されている。その結果として、3.5 μ g/L 以上の曝露区で F₁ が生んだ生存仔数・F₁ の繁殖率の低値、F₁ が生んだ仔の奇形率の高値、30.3 μ g/L 以上の曝露区で F₁ の生殖不成功率の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Bringolf らによって、アトラジン 4.32、43.63 μ g/L に 21 日間曝露された成熟雌雄ファットヘッドミノーへの影響が検討¹⁹されている。その結果として、4.32 μ g/L 以上の曝露区で雄血漿中ビテロジェニン濃度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Tavera-Mendoza らによって、アトラジン 18 μ g/L に Stage 56 から 2 日間曝露されたアフリカツメガエル幼生への影響が検討²⁰されている。その結果として、一次卵原細胞発生率の低値、二次卵原細胞発生率・閉塞性卵原細胞発生率の高値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

Tavera-Mendoza らによって、アトラジン 18 $\mu\text{g/L}$ に Stage 56 から 2 日間曝露されたアフリカツメガエル幼生への影響が検討²¹されている。その結果として、精巢体積・一次精子産生細胞数・栄養細胞(哺乳類のセルトリ細胞に相当)数の低値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

Carr らによって、アトラジン 1.07、10.31、19.53 $\mu\text{g/L}$ に 2 日齢から Stage 66 まで 80 日間曝露されたアフリカツメガエル幼生への影響が検討²²されている。その結果として、19.53 $\mu\text{g/L}$ 曝露区で遊泳異常個体発生頻度・間性個体発生頻度・不連続性腺個体発生頻度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・アトラジンのエストロゲン様作用については、試験管内試験において、エストロゲン応答遺伝子発現系をもつ形質転換酵母での 17β -エストラジオールによる 17β -ガラクトシダーゼ活性誘導の阻害・エストロゲン受容体への 17β -エストラジオールの結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告及びある程度の信頼性のある報告が得られた。動物実験において、子宮絶対重量・体重の低値、血清中プロラクチン濃度・子宮上皮細胞厚の高値が認められたとする信頼性のある報告及びある程度の信頼性のある報告が得られた。

- ・アトラジンのエストロゲン生合成酵素に対する作用については、試験管内試験において、ヒト副腎皮質がん細胞 H295R 及びヒト胎盤がん細胞 JEG3 でのアロマターゼ活性 (アンドロステンジオンからエストロンへの変換) の誘導が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

- ・アトラジンのホルモン受容体等の濃度への影響については、動物実験において、子宮プロゲステロン受容体濃度・子宮エストロゲン受容体濃度・子宮ペルオキシダーゼ活性・子宮での標識チミジン取り込み率・前立腺ジヒドロテストステロン受容体数の低値が認められたとする信頼性のある報告及びある程度の信頼性のある報告が得られた。

- ・アトラジンの血清中ホルモン等の濃度への影響については、試験管内試験において、黄体形成ホルモン共存下 SD ラット由来ライディッチ細胞でのテストステロン産生の抑制が認められたとする信頼性のある報告が得られた。動物実験において、発情開始日後の血清中 17β -エストラジオール濃度・下垂体中プロラクチン濃度の高値、体重・血清中テストステロン濃度・精巢中テストステロン濃度・血清中黄体形成ホルモン濃度・血清中プロラクチン濃度の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・動物実験において、アトラジンについて包皮分離日の遅延、体重・体重増加率・体重増加量・腹側前立腺(絶対・相対)重量・(凝固腺及び内部液体を含む)精嚢(絶対・相対)重量・卵巣(絶対・相対)重量・子宮(絶対・相対)重量・血清中プロジェステロン濃度・血清中プロラクチン濃度・膺上皮細胞角質化係数・正常性周期発現個体発生頻度の低値、副腎(絶対・相対)重量・血清中エストロン濃度・血清中 T_3 濃度・膺上皮細胞角質化係数・性周期所用日数・血清中プロジェステロン濃度・膺上皮細胞有核係数・発情前期発現個体発生頻度・乳がん個体発生頻度・乳腺腫瘍個体発生頻度・下垂体腫瘍個体発生頻度の高値、血清中 β -エストラジオール濃度・発情期発現個体発生頻度・発情間期発現個体発生頻度の高値または低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・生態影響において、アトラジンについて $1.0\mu\text{g/L}$ 曝露区でプロスタグランジン F_2 によるプライミングフェロモン応答・ F_1 が生んだ生存仔数・ F_1 の繁殖率・一次卵原細胞発生率・精巢体積・一次精子産生細胞数・栄養細胞(哺乳類のセルトリ細胞に相当)数の低値、血漿中テストステロン濃度・血漿中 $17,20\beta$ -プロジェステロン濃度・ F_1 が生んだ仔の奇形率・ F_1 の生殖不成功率・雄血漿中ビテロジェニン濃度・二次卵原細胞発生率・閉塞性卵原細胞発生率・遊泳異常個体発生頻度・間性個体発生頻度・不連続性腺個体発生頻度の高値が認められたとする信頼性のある報告及びある程度の信頼性のある報告が得られた。

参考文献

- 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, 140-146.
- 2 Scippo ML, Argiris C, Van De Weerd C, Muller M, Willemsen P, Martial J, and Maghuin-Rogister G (2003) Recombinant human estrogen, androgen and progesterone receptors for detection of potential endocrine disruptors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378, 664-669.
- 3 Tennant MK, Hill DS, Eldridge JC, Wetzel LT, Breckenridge CB, and Stevens JT (1994) Possible antiestrogenic properties of chloro-s-triazines in rat uterus. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 43, 183-196.
- 4 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, 575-601.
- 5 Sanderson JT, Seinen W, Giesy JP, and van den Berg M (2000) 2-Chloro-s-triazine herbicides induce aromatase (CYP19) activity in H295R human adrenocortical carcinoma cells: a novel mechanism for estrogenicity? *Toxicological Sciences*, 54, 121-127.
- 6 Sanderson JT, Letcher RJ, Heneweer M, Giesy JP, and van den Berg M (2001)

-
- Effects of chloro-s-triazine herbicides and metabolites on aromatase activity in various human cell lines and on vitellogenin production in male carp hepatocytes. *Environmental Health Perspectives*, 109, 1027-1031.
- 7 O'Connor K, Howell J, Chen I, Liu H, Berhane K, Sciarretta C, Safe S, and Zacharewski T (1996) Failure of chloro-S-triazine-derived compounds to induce estrogen receptor-mediated responses *in vivo* and *in vitro*. *Fundamental and Applied Toxicology*, 30, 93-101.
- 8 Tennant MK, Hill DS, Eldridge JC, Wetzel LT, Breckenridge CB, and Stevens JT (1994) Chloro-s-triazine antagonism of estrogen action: limited interaction with estrogen receptor binding. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 43, 197-211.
- 9 Simic B, Kniewald Z, Davies JE, and Kniewald J (1991) Reversibility of the inhibitory effect of atrazine and lindane on cytosol 5 α -dihydrotestosterone receptor complex formation in rat prostate. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 46, 92-99.
- 10 Gojmerac T, Uremovic M, Uremovic Z, Curic S, and Bilandzic N (1999) Reproductive disturbance caused by an S-triazine herbicide in pigs. *Acta Veterinaria Hungarica*, 47, 129-135.
- 11 Friedmann AS (2002) Atrazine inhibition of testosterone production in rat males following peripubertal exposure. *Reproductive Toxicology*, 16, 275-279.
- 12 Cooper RL, Stoker TE, Tyrey L, Goldman JM, and McElroy WK (2000) Atrazine disrupts the hypothalamic control of pituitary-ovarian function. *Toxicological Sciences*, 53, 297-307.
- 13 Stoker TE, Laws SC, Guidici DL, and Cooper RL (2000) The effect of atrazine on puberty in male wistar rats: an evaluation in the protocol for the assessment of pubertal development and thyroid function. *Toxicological Sciences*, 58, 50-59.
- 14 Eldridge JC, Fleenor-Heysler DG, Extrom PC, Wetzel LT, Breckenridge CB, Gillis JH, Luempert LG, and Stevens JT (1994) Short-term effects of chlorotriazines on estrus in female Sprague-Dawley and Fischer 344 rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 43, 155-167.
- 15 Cooper RL, Stoker TE, Goldman JM, Parrish MB, and Tyrey L (1996) Effect of atrazine on ovarian function in the rat. *Reproductive Toxicology*, 10, 257-264.
- 16 Wetzel LT, Luempert LG, Breckenridge CB, Tisdell MO, Stevens JT, Thakur AK, Extrom PJ, and Eldridge JC (1994) Chronic effects of atrazine on estrus and mammary tumor formation in female Sprague-Dawley and Fischer 344 rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 43, 169-182.
- 17 Moore A and Lower N (2001) The impact of two pesticides on olfactory-mediated endocrine function in mature male Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 129, 269-276.
- 18 Bejarano AC and Chandler GT (2004) Reproductive and developmental effects of atrazine on the estuarine meiobenthic copepod *Amphiascus tenuiremis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22, 3009-3016.
- 19 Bringolf RB, Belden JB, and Summerfelt RC (2004) Reproductive and developmental effects of atrazine on the estuarine meiobenthic copepod *Amphiascus tenuiremis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24, 1019-1025.
- 20 Tavera-Mendoza L, Ruby S, Brousseau P, Fournier M, Cyr D, and Marcogliese D (2002) Response of the amphibian tadpole *Xenopus laevis* to atrazine during sexual differentiation of the ovary. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21, 1264-1267.

-
- ^{2 1} Tavera-Mendoza L, Ruby S, Brousseau P, Fournier M, Cyr D, and Marcogliese D (2002) Response of the amphibian tadpole (*Xenopus laevis*) to atrazine during sexual differentiation of the testis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21, 527-531.
- ^{2 2} Carr JA, Gentles A, Smith EE, Goleman WL, Urquidi LJ, Thuett K, Kendall RJ, Giesy JP, Gross TS, Solomon KR, and Van Der Kraak G (2003) Response of larval *Xenopus laevis* to atrazine: assessment of growth, metamorphosis, and gonadal and laryngeal morphology. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22, 396-405.

4. アラクロールの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

アラクロールの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用に関連した作用の有無、プロジェステロン様作用に関連した作用の有無、甲状腺への影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Burrow らによって、アラクロールについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのエストロゲン応答遺伝子発現誘導及びエストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのルシフェラーゼ活性誘導について検討¹が行われている。アラクロールは、 1.0×10^{-6} M の濃度においてヒト乳がん細胞 MCF-7 のエストロゲン応答遺伝子 *Bcl-2* の蛋白質発現を誘導し、形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 のルシフェラーゼ活性を誘導した。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

Klotz らによって、アラクロールについて、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換酵母 BJ2407 及び形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 での β -ガラクトシダーゼ及びルシフェラーゼの活性誘導について検討²が行われている。アラクロールは、 1.0×10^{-6} ~ 1.0×10^{-5} M の濃度において形質転換酵母 BJ2407 の β -ガラクトシダーゼ活性及び形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 のルシフェラーゼ活性を誘導した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Scippo らによって、アラクロールについて、エストロゲン受容体 α への 17β -エストラジオールの結合阻害についての検討³が行われている。アラクロールは、 IC_{50} 値 2.40×10^{-4} M でエストロゲン受容体 α への 17β -エストラジオールの結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) プロジェステロン様作用

Scippo らによって、アラクロールについて、プロジェステロン受容体へのプロジェステロンの結合阻害についての検討¹が行われている。アラクロールは、 IC_{50} 値 2.98×10^{-4} M でプロジェステロン受容体へのプロジェステロンの結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) 甲状腺への影響

Wilson らによって、アラクロール 126 mg/kg/day を 12 週齢から 7~120 日間混餌投与された雄 LE ラットへの影響が検討⁴されている。その結果として、血清中 T₄ 濃度の低値、甲状腺絶対重量・肝臓絶対重量・血清中 T₃ 濃度・甲状腺刺激ホルモン濃度・甲状腺濾胞細胞の肥大が広範に認められる個体数・肝臓 UDP グルクロノシル活性・肝臓トランスフェラーゼ活性の高値が認められた。また、126 mg/kg/day を 12 週齢から 60 日間混餌投与された後に 60 日間(非投与回復期間)を経た雄 LE ラットへの影響が検討⁴されている。その結果として、甲状腺絶対重量の高値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・アラクロールのエストロゲン様作用については、試験管内試験において、ヒト乳がん細胞 MCF-7 のエストロゲン応答遺伝子 *Bcl-2* の蛋白質発現の誘導・形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 のルシフェラーゼ活性の誘導・形質転換酵母 BJ2407 の β -ガラクトシダーゼ活性の誘導・エストロゲン受容体 α への 17β -エストラジオールの結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告及びある程度の信頼性のある報告が得られた。
- ・アラクロールのプロジェステロン様作用については、試験管内試験において、プロジェステロン受容体へのプロジェステロンの結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。
- ・動物実験において、アラクロールについて、血清中 T₄ 濃度の低値、甲状腺絶対重量・肝臓絶対重量・血清中 T₃ 濃度・甲状腺刺激ホルモン濃度・甲状腺濾胞細胞の肥大が広範に認められる個体数・肝臓 UDP グルクロノシル活性・肝臓トランスフェラーゼ活性の高値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

-
- 1 Burow ME, Tang Y, Collins-Burow BM, Krajewski S, Reed JC, McLachlan JA, and Beckman BS (1999) Effects of environmental estrogens on tumor necrosis factor alpha-mediated apoptosis in MCF-7 cells. *Carcinogenesis*, 20, 2057-2061.
 - 2 Klotz DM, Beckmann BS, Hill SM, McLachlan JA, Walters MR, and Arnold SF (1996) Identification of environmental chemicals with estrogenic activity using a combination of *in vitro* assays. *Environmental Health Perspectives*, 104, 1084-1089.
 - 3 Scippo ML, Argiris C, Van De Weerd C, Muller M, Willemsen P, Martial J, and Maghuin-Rogister G (2003) Recombinant human estrogen, androgen and

progesterone receptors for detection of potential endocrine disruptors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378, 664-669.

- 4 Wilson AG, Thake DC, Heydens WE, Brewster DW, and Hotz KJ (1996) Mode of action of thyroid tumor formation in the male Long-Evans rat administered high doses of alachlor. *Fundamental and Applied Toxicology*, 33,16-23.

5. C A Tの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

C A T(シマジン)の有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用に関連した作用の有無、エストロゲン生合成酵素に対する作用に関連した作用の有無、ホルモン受容体等の濃度に関連した作用の有無、生殖への影響に関連した作用の有無及び生態影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1)エストロゲン様作用

Tran らによって、C A Tについて、ヒトエストロゲン応答遺伝子発現系をもつ形質転換酵母での 17β -エストラジオールによる 17β -ガラクトシダーゼ活性誘導阻害について検討¹されている。C A Tは $2.08 \times 10^{-6} \text{M}$ の濃度において形質転換酵母での 17β -エストラジオールによる 17β -ガラクトシダーゼ活性誘導を阻害した。また、C A Tについて、ヒトエストロゲン受容体への 17β -エストラジオールの結合阻害について検討¹が行われている。C A Tは、 $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてヒトエストロゲン受容体への 17β -エストラジオールの結合を阻害した。これらの試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

Tennant らによって、C A T 100、300 mg/kg/day を 3 日間経口投与された卵巣摘出成熟 SD ラット(C A T投与 2、3 日目に 17β -エストラジオールを皮下投与)への影響が検討²されている。その結果として、100 mg/kg/day 以上の投与群で体重の低値、300 mg/kg/day 投与群で子宮絶対重量の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

O'Conner らによって、C A T 100、200、300 mg/kg/day を 49 日齢から 4 日間腹腔投与された卵巣摘出 CD ラットへの影響が検討³されている。その結果として、200 mg/kg/day 以上の投与群で体重の低値、子宮上皮細胞厚の高値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

(2)エストロゲン生合成酵素に対する作用

Sanderson らによって、C A Tについて、ヒト副腎皮質がん細胞 H295R のアロマトラーゼ活性(アンドロステンジオンからエストロンへの変換)に対する影響について検討^{4、5}が行われている。C A Tは、 $1.0 \times 10^{-6} \sim 3.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてヒト副腎皮質がん細胞 H295R のアロマトラーゼ活性を誘導した。また、C A Tについて、ヒト胎盤がん細胞 JEG3 のアロマトラーゼ活性(アンドロステンジオンからエストロンへの変換)に対する影響について検討⁵さ

れている。CATは、 $1.0 \times 10^{-6} \sim 3.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてヒト胎盤がん細胞 JEG のアロマトラーゼ活性を誘導した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) ホルモン受容体等の濃度への影響

O'Conner らによって、CAT 50、150、300 mg/kg/day を 21 日齢から 3 日間経口投与された雌 SD ラットへの影響が検討⁶されている。その結果として、50 mg/kg/day 以上の投与群で子宮プロジェステロン受容体濃度・子宮ペルオキシダーゼ活性の低値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

Tennant らによって、CAT 1、10、50、100、300 mg/kg/day を 23 日齢から 2 日間経口投与された雌 SD ラット(CAT 投与 2 日目に 17β -エストラジオールを皮下投与)への影響が検討²されている。その結果として、50 mg/kg/day 以上の投与群で子宮での標識チミジン取り込み率の低値が認められた。また、CAT 300 mg/kg/day を 23 日齢から 2 日間経口投与された雌 SD ラット(無処置)への影響が検討²されている。その結果として、300 mg/kg/day 投与群で子宮での標識チミジン取り込み率の低値が認められた。また、CAT 50、300 mg/kg/day を 2 日間経口投与された卵巣摘出成熟 SD ラットへ(CAT 投与 1、2 日目に 17β -エストラジオールを皮下投与)の影響が検討²されている。その結果として、300 mg/kg/day 投与群で子宮プロジェステロン受容体濃度の低値が認められた。また、CAT 300 mg/kg/day を 2 日間経口投与された卵巣摘出成熟 SD ラットへの影響が検討²されている。その結果として、子宮プロジェステロン受容体濃度の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Tennant らによって、CAT 50、300 mg/kg/day を 2 日間経口投与された卵巣摘出成熟 SD ラットへの影響が検討⁷されている。その結果として、300 mg/kg/day 投与群で子宮エストロゲン受容体濃度の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(4) 生殖への影響

Eldridge らによって、CAT 100、300 mg/kg/day を 14~23 日間経口投与された成熟雌 SD ラットへの影響が検討⁸されている。その結果として、100 mg/kg/day 投与群で血清中コルチコステロン濃度の高値、300 mg/kg/day 投与群で体重の低値、副腎(絶対・相対)重量の高値が認められた。また、CAT 100、300 mg/kg/day を 14~23 日間経口投与された成熟雌 F344 ラットへの影響が検討²されている。その結果として、300 mg/kg/day 投与群で体重の低値、副腎(絶対・相対)重量の高値が認められた。これらの試験結果については

文献上からみて信頼性が認められた。

(5)生態影響

Moore と Lower によって、C A T 0.1、0.5、1.0、2.0 $\mu\text{g/L}$ に 5 日間曝露された成熟雄タイセイヨウサケ (*Salmo salar*) への影響が検討⁹されている。その結果として、0.1 $\mu\text{g/L}$ 以上の曝露区で血漿中テストステロン濃度の高値、0.1 及び 2.0 $\mu\text{g/L}$ 曝露区で血漿中 17,20 β -プロジェステロン濃度の高値、0.5 $\mu\text{g/L}$ 曝露区で血漿中 11-ケトテストステロン濃度の高値、1.0 $\mu\text{g/L}$ 以上の曝露区でプロスタグランジン F₂ によるプライミングフェロモン応答の低値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・C A T(シマジン)のエストロジェン様作用については、試験管内試験において、形質転換酵母での β -エストラジオールによる β -ガラクトシダーゼ活性誘導の阻害・ヒトエストロジェン受容体への β -エストラジオールの結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。動物実験において、子宮絶対重量・体重の低値、子宮上皮細胞厚の高値が認められたとする信頼性のある報告及びある程度の信頼性のある報告が得られた。
- ・C A Tのエストロジェン生合成酵素に対する作用については、試験管内試験において、ヒト副腎皮質がん細胞 H295R 及びヒト胎盤がん細胞 JEG でのアロマターゼ活性(アンドロステジオンからエストロンへの変換)の誘導が認められたとする信頼性のある報告が得られた。
- ・C A Tのホルモン受容体等の濃度への影響については、動物実験において、子宮プロジェステロン受容体濃度・子宮ペルオキシダーゼ活性・子宮での標識チミジン取り込み率・子宮エストロジェン受容体濃度の低値が認められたとする信頼性のある報告及びある程度の信頼性のある報告が得られた。
- ・動物実験において、C A Tについて副腎(絶対・相対)重量・血清中コルチコステロン濃度の高値、体重の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。
- ・生態影響において、C A Tについて血漿中テストステロン濃度・血漿中 17,20 β -プロジェステロン濃度・血漿中 11-ケトテストステロン濃度の高値、プロスタグランジン F₂ によるプライミングフェロモン応答の低値が認められたとするある程度の信頼性のある報告が得られた。

参考文献

- 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, 140-146.
- 2 Tennant MK, Hill DS, Eldridge JC, Wetzel LT, Breckenridge CB, and Stevens JT (1994) Possible antiestrogenic properties of chloro-s-triazines in rat uterus. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 43, 183-196.
- 3 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, 575-601.
- 4 Sanderson JT, Seinen W, Giesy JP, and van den Berg M (2000) 2-Chloro-s-triazine herbicides induce aromatase (CYP19) activity in H295R human adrenocortical carcinoma cells: a novel mechanism for estrogenicity? *Toxicological Sciences*, 54, 121-127.
- 5 Sanderson JT, Letcher RJ, Heneweer M, Giesy JP, and van den Berg M (2001) Effects of chloro-s-triazine herbicides and metabolites on aromatase activity in various human cell lines and on vitellogenin production in male carp hepatocytes. *Environmental Health Perspectives*, 109, 1027-1031.
- 6 O'Connor K, Howell J, Chen I, Liu H, Berhane K, Sciarretta C, Safe S, and Zacharewski T (1996) Failure of chloro-S-triazine-derived compounds to induce estrogen receptor-mediated responses *in vivo* and *in vitro*. *Fundamental and Applied Toxicology*, 30, 93-101.
- 7 Tennant MK, Hill DS, Eldridge JC, Wetzel LT, Breckenridge CB, and Stevens JT (1994) Chloro-s-triazine antagonism of estrogen action: limited interaction with estrogen receptor binding. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 43, 197-211.
- 8 Eldridge JC, Fleenor-Heyser DG, Extrom PC, Wetzel LT, Breckenridge CB, Gillis JH, Luempert LG, and Stevens JT (1994) Short-term effects of chlorotriazines on estrus in female Sprague-Dawley and Fischer 344 rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 43, 155-167.
- 9 Moore A and Lower N (2001) The impact of two pesticides on olfactory-mediated endocrine function in mature male Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) parr. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 129, 269-276.

6. エチルパラチオンの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

エチルパラチオンの有害影響に関連するものとして、エストロゲン様作用に関連した作用の有無、プロゲステロン様作用に関連した作用の有無及び神経への影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Klotz らによって、エチルパラチオンについて、エストロゲン受容体応答遺伝子をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 及び Ishikawa 子宮内膜がん細胞におけるルシフェラーゼ活性誘導について検討¹が行われている。エチルパラチオンは、 $1.0 \times 10^{-7} \text{M}$ の濃度において 17β -エストラジオールによる形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのルシフェラーゼ活性誘導を抑制した。また、エチルパラチオンは、 $1.0 \times 10^{-7} \text{M}$ の濃度において 17β -エストラジオールによる Ishikawa 子宮内膜がん細胞でのルシフェラーゼ活性誘導を抑制した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) プロゲステロン様作用

Klotz らによって、エチルパラチオンについて、プロゲステロン受容体応答遺伝子をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 T47D におけるルシフェラーゼ活性誘導について検討¹が行われている。エチルパラチオンは、 $1.0 \times 10^{-7} \text{M}$ の濃度においてルシフェラーゼ活性を誘導した。また、エチルパラチオンは、 $1.0 \times 10^{-7} \text{M}$ の濃度においてプロゲステロンによる形質転換ヒト乳がん細胞 T47D でのルシフェラーゼ活性誘導を抑制した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Klotz らによって、エチルパラチオンについて、ヒト乳がん細胞 T47D プロゲステロン受容体へのプロゲステロン・アゴニスト R5020 の結合阻害についての検討¹が行われている。エチルパラチオンは、 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてヒト乳がん細胞 T47D プロゲステロン受容体への R5020 の結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) 神経への影響

Stamper らによってエチルパラチオン 1.3、1.9 mg/kg/day を 5 日齢から 16 日間皮下投与された LE ラットへの影響が検討²されている。その結果として、1.3 mg/kg/day 投与群で 21 及び 28 日齢大脳皮質中アセチルコリンエ

ステラーゼ活性・大脳皮質中ムスカリン受容体数の低値、1.9 mg/kg/day 投与群で体重増加量・24 日齢 T 字型迷路での空間記憶試験における Spontaneous alternation score・36 日齢ラジアルアーム迷路での空間記憶試験における誤試行回数の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・エチルパラチオンのエストロジェン様作用について、試験管内試験において、¹⁷β-エストラジオールによる形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのルシフェラーゼ活性の誘導の抑制・¹⁷β-エストラジオールによる Ishikawa 子宮内膜がん細胞でのルシフェラーゼ活性の誘導の抑制が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・エチルパラチオンのプロジェステロン様作用について、試験管内試験において、プロジェステロン受容体応答遺伝子をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 T47D でのルシフェラーゼ活性の誘導・ヒト乳がん細胞 T47D プロジェステロン受容体へのプロジェステロン・アゴニスト R5020 の結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・動物実験において、エチルパラチオンについて大脳皮質中アセチルコリンエステラーゼ活性・大脳皮質中ムスカリン受容体数・体重増加量・T 字型迷路での空間記憶試験における Spontaneous alternation score・ラジアルアーム迷路での空間記憶試験における誤試行回数の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

-
- 1 Klotz DM, Arnold, SF and McLachlan JA (1997) Inhibition of ¹⁷β-estradiol and progesterone activity in human breast and endometrial cancer cells by carbamate insecticides. *Life Sciences*, 60, 1467-1475
 - 2 Stamper CR, Balduini W, Murphy SD, and Costa LG (1988) Behavioral and biochemical effects of postnatal parathion exposure in the rat. *Neurotoxicology and Teratology*, 10, 261-266.

7. NACの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

NAC(カルバリル)の有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用に関連した作用の有無、プロジェステロン様作用に関連した作用の有無、生殖への影響に関連した作用の有無及び生態影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1)エストロゲン様作用

Klotzらによって、NACについて、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 での β -エストラジオール共存または非共存下におけるルシフェラーゼ活性誘導に対する影響について検討¹が行われている。NACは、 $1.0 \times 10^{-7}M$ の濃度において形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 のルシフェラーゼ活性誘導を β -エストラジオール共存下において抑制し、単独では促進した。また、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換 Ishikawa 子宮内膜がん細胞での β -エストラジオール共存または非共存下におけるルシフェラーゼ活性誘導に対する影響について検討¹が行われている。アラクロールは、 $1.0 \times 10^{-7}M$ の濃度において形質転換 Ishikawa 子宮内膜がん細胞のルシフェラーゼ活性誘導を β -エストラジオール共存下において抑制した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Klotzらによって、NACについて、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 由来エストロゲン受容体への β -エストラジオールの結合阻害について検討¹が行われている。NACは、 $1.0 \times 10^{-6}M$ の濃度において形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 由来エストロゲン受容体への β -エストラジオールの結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2)プロジェステロン様作用

Klotzらによって、NACについて、プロジェステロン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 T47D でのプロジェステロン共存または非共存下におけるルシフェラーゼ活性誘導に対する影響について検討¹が行われている。NACは、 $1.0 \times 10^{-7}M$ の濃度において形質転換ヒト乳がん細胞 T47D のルシフェラーゼ活性をプロジェステロン共存下において抑制し、単独では促進した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Klotzらによって、NACについて、プロジェステロン受容体応答遺伝子

発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 T47D 由来プロジェステロン受容体への R5020(強力なプロジェステロン受容体アゴニストの一種)の結合阻害について検討¹が行われている。NACは、 $1.0 \times 10^{-6} \text{M}$ の濃度において形質転換ヒト乳がん細胞 T47D 由来プロジェステロン受容体への R5020 の結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3)生殖への影響

Pantらによって、NAC 50、100 mg/kg/day を 90 日間(週 5 回)経口投与された成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討²されている。その結果として、50 mg/kg/day 以上の投与群で精巣上体中精子数・運動性精子率の低値、奇形精子率・精巣中ラクテートデヒドロゲナーゼ活性・精巣中 α -グルタミルトランスペプチダーゼ活性の高値、100 mg/kg/day 投与群で体重・精巣中グルコース 6-フォスフェートデヒドロゲナーゼ活性・精巣中ソルビトールデヒドロゲナーゼ活性の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Pantらによって、NAC 25、50、100 mg/kg/day を 90 日間(週 5 回)経口投与された幼若及び成熟雄 Drucker ラットへの影響が検討³されている。その結果として、50 mg/kg/day 以上の投与群で精巣上体中精子数・運動性精子率の低値、奇形精子率の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Mathur と Bhatanger によって、NAC 100、150、200 mg/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⁴されている。その結果として、妊娠 18 日目において、100 mg/kg 以上の投与群で胎児奇形(中指骨・前指骨・後指骨の部分的骨化)個体発生頻度の高値、100 mg/kg 投与群で胎盤重量・胎児奇形(腎盂肥大、頭蓋骨・胸骨・脊柱の部分的骨化、肋骨数減少)個体発生頻度の高値、150 mg/kg 以上の投与群で胎児奇形(開眼、小脳室肥大)個体発生頻度の高値、150 mg/kg 投与群で胎児体重の低値、200 mg/kg 投与群で着床数・同腹胎児数・母動物体重増加率の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。また、NAC 100、150、200 mg/kg を妊娠 12 日目に単回経口投与された Swiss マウスへの影響が検討⁴されている。その結果として、妊娠 18 日目において、100 mg/kg 以上の投与群で胎児奇形(開眼、中足骨・前指骨の部分的骨化)個体発生頻度の高値、100 mg/kg 投与群で胎児奇形(頭蓋骨・胸骨・脊柱の部分的骨化)個体発生頻度の高値、150 mg/kg 以上の投与群で胎児奇形(肋骨数の減少、後指骨の部分的骨化)個体発生頻度の高値、150 mg/kg 投与群で胎

児奇形(腎臓肥大)個体発生頻度の高値、200 mg/kg 投与群で同腹胎児数・胎児体重・母動物体重増加率の低値、胎児奇形(中指骨の部分的骨化)個体発生頻度の高値が認められた。さらにNAC 100、150、200 mg/kg/day を妊娠6日目から10日間経口投与された Swiss マウスへの影響が検討⁴されている。その結果として、妊娠18日目において、100 mg/kg/day 以上の投与群で胎児奇形(肋骨数の減少、頭蓋骨・胸骨・中手骨・中足骨の部分的骨化)個体発生頻度の高値、100 及び 150 mg/kg/day 投与群で胎児奇形(脊柱の部分的骨化)個体発生頻度の高値、100 及び 200 mg/kg/day 投与群で胎児奇形(後指骨の部分的骨化)個体発生頻度の高値、150 mg/kg/day 以上の投与群で胎児奇形(開眼、小脳・腎盂肥大)個体発生頻度の高値、150 mg/kg/day 投与群で胎児奇形(前指骨の部分的骨化)個体発生頻度の高値、200 mg/kg/day 投与群で胎児体重の低値、母動物死亡率の高値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(4)生態影響

Hernandez らによって、NAC 18、32、56、100、180 mg/L に授精卵の段階から曝露されたウニ類(*Pseudechinus magellanicus*)幼生への影響が検討⁵されている。その結果として、EC₅₀ 値 6.3 µg/L で Blastula 幼生(12時間曝露)、EC₅₀ 値 10.7 µg/L で Gastrula 幼生(36時間曝露)、EC₅₀ 値 92.5 µg/L で Pluteus 幼生(96時間曝露)、EC₅₀ 値 157.4 µg/L で Prism 幼生(48時間曝露)の奇形発生率の高値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

Beauvais によって、NAC 188、375、750 µg/L に産卵直後から4日間曝露されたニジマス幼生への影響が検討⁶されている。その結果として、188 µg/L 以上の曝露区で脳内コリンエステラーゼ活性の低値、375 µg/L 以上の曝露区で回復期間(2日間)後の脳内コリンエステラーゼ活性の高値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

Tripathi と Singh によって、NAC 1.0、3.0、6.0、9.0 mg/L に産卵期に96時間曝露された淡水産モノアラガイ類(*Lymnaea acuminata*)への影響が検討⁷されている。その結果として、1.0 mg/L 以上の曝露区で神経中アセチルコリンエステラーゼ活性・生殖腺中アセチルコリンエステラーゼ活性・肝臓中アセチルコリンエステラーゼ活性・産卵数・孵化数・孵化幼生の生存率の低値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

Virgintino らによって、NAC 0.5 mg/egg を産卵後5~6日に単回尿膜囊

内投与されたニワトリ胚への影響が検討⁸されている。その結果として、投与 10 及び 12 日後の発達胚において下顎奇形発生個体頻度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・ N A C (カルバリル) のエストロゲン様作用については、試験管内試験において、形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのルシフェラーゼ活性誘導の β -エストラジオール共存下での抑制・形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのルシフェラーゼ活性誘導の促進・形質転換 Ishikawa 子宮内膜がん細胞でのルシフェラーゼ活性誘導の β -エストラジオール共存下での抑制・形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 由来エストロゲン受容体への β -エストラジオールの結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

- ・ N A C のプロジェステロン様作用については、試験管内試験において、形質転換ヒト乳がん細胞 T47D でのルシフェラーゼ活性のプロジェステロン共存下での抑制・形質転換ヒト乳がん細胞 T47D でのルシフェラーゼ活性の促進・形質転換ヒト乳がん細胞 T47D 由来プロジェステロン受容体への R5020 (強力なプロジェステロン受容体アゴニストの一種) の結合を阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

- ・ 動物実験において、N A C について精巣上体中精子数・運動性精子率・体重・精巣中グルコース 6-フォスフェートデヒドロゲナーゼ活性・精巣中ソルビトールデヒドロゲナーゼ活性・胎児体重・着床数・同腹胎児数・母動物体重増加率の低値、母動物死亡率・奇形精子率・精巣中ラクテートデヒドロゲナーゼ活性・精巣中 γ -グルタミルトランスアミナーゼ活性・胎盤重量・胎児奇形(中指骨・前指骨・後指骨・中足骨・中手骨・頭蓋骨・胸骨・脊柱の部分的骨化、腎臓肥大、腎盂肥大、小脳肥大、肋骨数減少、開眼、小脳室肥大) 個体発生頻度の高値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

- ・ 生態影響において、N A C について Blastula 幼生・Gastrula 幼生・Pluteus 幼生・Prism 幼生の奇形発生率の高値、下顎奇形発生個体頻度の高値、脳内コリンエステラーゼ活性・神経中アセチルコリンエステラーゼ活性・生殖腺中アセチルコリンエステラーゼ活性・肝臓中アセチルコリンエステラーゼ活性・産卵数・孵化数・孵化幼生の生存率の低値が認められたとするある程度の信頼性のある報告が得られた。

参考文献

-
- 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, 1467-1475.
 - 2 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, 421-425.
 - 3 Pant N, Shankar R, and Srivastava SP (1996) Spermatotoxic effects of carbaryl in rats. *Human and Experimental Toxicology*, 15, 736-738.
 - 4 Mathur A and Hatnagar P (1991) A teratogenic study of carbaryl in Swiss albino mice. *Food and Chemical Toxicology*, 29, 629-632.
 - 5 Hernandez DA, Lombardo RJ, Ferrari L, and Tortorelli MC (1990) Toxicity of ethyl-parathion and carbaryl on early development of sea urchin. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 45, 734-741.
 - 6 Beauvais SL, Jones SB, Parris JT, Brewer SK, and Little EE (2001) Cholinergic and behavioral neurotoxicity of carbaryl and cadmium to larval rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 49, 84-90.
 - 7 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, 535-542.
 - 8 Virgintino D, L'Abbate N, Ribatti D, Bertossi M, Roncali L, and Ambrosi L (1989) Methylcarbamate effects on Meckel's cartilages in the chick embryo. *Biological Structures and Morphogenesis*, 2, 85-88.

8 . 1,2-ジブromo-3-クロロプロパンの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

1,2-ジブromo-3-クロロプロパンの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、グルコース代謝への影響に関連した作用の有無及び生殖への影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1)グルコース代謝への影響

Kluwe らによって、1,2-ジブromo-3-クロロプロパンについて、F344 ラット精巣上体精子のグルコース代謝能についての検討⁵が行われている。1,2-ジブromo-3-クロロプロパンは、 $3.16 \times 10^{-4} \sim 1.0 \times 10^{-2} \text{M}$ の濃度においてグルコース代謝を阻害した。これらの試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

(2)生殖への影響

Heindel らによって、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン 5、50、100、200 ppm(飲水中濃度。0.4、3.3、5.4、9.7 mg/kg/day に相当)を11~12週齢から64日間飲水投与されたSDラットへの影響が検討¹されている。その結果として、0.4 mg/kg/day 以上の投与群で摂水量の低値、3.3 及び 5.4 mg/kg/day 投与群で精囊絶対重量(液体部分を含む)の高値、3.3 及び 9.7 mg/kg/day 投与群で精囊絶対重量(液体部分を含まない)の高値、9.7 mg/kg/day 投与群で体重・精巣絶対重量の低値が認められた。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Lui と Wysocki によって、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン 1、5、10、20 mg/kg/day を2日齢から19日間皮下投与された雄SDラットへの影響が検討²されている。その結果として76~78日齢において、1 mg/kg/day 投与群で血清中アンドロジェン濃度の高値、1 mg/kg/day 以上の投与群で精巣(絶対・相対)重量の低値、組織病理学的検査での精巣細胞縮退、精囊(絶対・相対)重量・血清中アンドロジェン濃度・精巣組織重量換算アンドロジェン分泌能の高値、組織病理学的検査でのライディッヒ細胞の増加、5 mg/kg/day 以上の投与群で血清中アンドロジェン濃度・全精巣換算アンドロジェン分泌能・精巣上体(絶対・相対)重量の低値、10 mg/kg/day 以上の群において組織病理学的検査での精細管の消失、20 mg/kg/day 投与群で体重の低値が認められた。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Warren らによって、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン 1、5、25 mg/kg/day を 58～60 週齢から 6 月間皮下投与された雄 LE ラットへの影響が検討³されている。その結果として、1、25 mg/kg/day 投与群で前立腺絶対重量・血清中テストステロン濃度の低値、5 mg/kg/day 以上の投与群で体重・精巢絶対重量の低値、血清中黄体形成ホルモン濃度の高値、25 mg/kg/day 投与群で精囊絶対重量の低値、血清中卵胞刺激ホルモン濃度の高値が認められた。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Foote らによって、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン 0.94、1.88、3.75、7.5、15.0 mg/kg/day を 8 月齢から 10 週間(週 5 日)飲水投与された雄ダッチラビットへの影響が検討⁴されている。その結果として、7.5 mg/kg/day 以上の投与群で精子尾部異常発生率の高値、15 mg/kg/day 投与群で血清中卵胞刺激ホルモン濃度の高値が認められた。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Kluwe らによって、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン 10 mg/kg/day を 19～23 週齢から 7 日間皮下投与された雄 F344 ラットへの影響が検討⁵されている。その結果として、精巢上体中精子のグルコース代謝能の低値が認められた。また、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン 10、33、100 mg/kg を 21 週齢に単回皮下投与された雄 F344 ラットへの影響が検討⁵されている。その結果として、100 mg/kg 投与群で妊孕率の低値が認められた。これらの試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Warren らによって、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン 25 mg/kg/day を妊娠 18.5 日目から 2 日間皮下投与された SD ラットへの影響が検討⁶されている。その結果として 60～70 日齢雄児動物において、体重・精巢絶対重量・前立腺絶対重量・精囊絶対重量・精細管直径・精巢中テストステロン濃度・精巢中黄体形成ホルモン受容体濃度の低値が認められた。また、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン 25 mg/kg/day を妊娠 14.5 日目から 6 日間皮下投与された SD ラットへの影響が検討⁶されている。その結果として、雄胎児精巢中テストステロン濃度の低値、60～70 日齢雄児動物の体重・精巢絶対重量・精巢中テストステロン濃度・精巢中黄体形成ホルモン受容体濃度・視床下部 SDN-POA 体積の低値が認められた。これらの試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Shaked らによって、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン 40 mg/kg を妊娠 12～20 日目に単回皮下投与された Wistar ラットへの影響が検討⁷されている。その結果として、F₀ 動物について生存産児数・新生児体重・7 日齢児動物生存率・7～9 週齢児動物体重・F₁ 動物産児数・F₁ 動物黄体数・F₁ 動物子

宮筋層腺数の低値、着床前胚死亡率の高値が認められた。また、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン 10 mg/kg/day を妊娠 11 日目から 8 日間皮下投与された Wistar ラットへの影響が検討⁷されている。その結果として母動物の体重及び体重増加率の低値、新生児体重の低値が認められた。これらの試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Rao によって、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン 0.1、1.0、10 ppm を 6 月齢から 14 週間(週 5 日、日 6 時間)呼気曝露された雄 SD ラットへの影響が検討⁸されている。その結果として、1.0 ppm 曝露群において 4 週間目の精巣絶対重量・精巣上体絶対重量の一過的低値、10 ppm 曝露群において精巣(絶対・相対)重量の低値、精巣上体(絶対・相対)重量の低値、交配した雌の着床後胚死亡率の高値が認められた。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

Rao らによって、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン 0.1、1.0、10 ppm を 6 月齢から 14 週間(週 5 日、日 6 時間。高死亡率が認められた 10 ppm 群は 8 週間)呼気曝露されたニュージーランドホワイトラビットへの影響が検討⁹されている。その結果として、1.0 ppm 以上の曝露群において 11~14 週目での精子数・6、12 及び 13 週目での生存精子数の低値、10 ppm 曝露群において妊孕率の低値、血清中卵胞刺激ホルモン濃度の高値が認められた。この試験結果については、文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・1,2-ジブromo-3-クロロプロパンのグルコース代謝への影響について、試験管内試験において、F344 ラット精巣上体精子のグルコース代謝の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

- ・動物実験において、1,2-ジブromo-3-クロロプロパンについて摂水量・体重・精巣(絶対・相対)重量・精巣上体(絶対・相対)重量・前立腺絶対重量・血清中テストステロン濃度・精巣上体中精子のグルコース代謝能・妊孕率・精細管直径・精巣中テストステロン濃度・精巣中黄体形成ホルモン受容体濃度・視床下部 SDN-POA 体積・生存産児数・児動物生存率・F₁ 動物産児数・F₁ 動物黄体数・F₁ 動物子宮筋層腺数・体重増加率・精子数・生存精子数の低値、血清中黄体形成ホルモン濃度・血清中卵胞刺激ホルモン濃度・精子尾部異常発生率・着床前胚死亡率・着床後胚死亡率の高値、精囊(絶対・相対)重量・血清中アンドロジェン濃度・全精巣換算アンドロジェン分泌能の高値または低値、組織病理学的検査での精巣細胞縮退・ライディッヒ細胞の増加・精細管の消失が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

-
- 1 Heindel JJ, Berkowitz AS, Kyle G, Luthra R, and Bruckner JV. Assessment in rats of the gonadotoxic and hepatorenal toxic potential of dibromochloropropane (DBCP) in drinking water. *Fundamental and Applied Toxicology*, 13, 804-815.
 - 2 Lui EM and Wysocki GP (1987) Reproductive tract defects induced in adult male rats by postnatal 1,2-dibromo-3-chloropropane exposure. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 90, 299-314.
 - 3 Warren DW, Wisner JR, and Ahmad N (1984) Effects of 1,2-dibromo-3-chloropropane on male reproductive function in the rat. *Biology of Reproduction*, 31, 454-463.
 - 4 Foote RH, Schermerhorn EC, and Simkin ME (1986) Measurement of semen quality, fertility, and reproductive hormones to assess dibromochloropropane (DBCP) effects in live rabbits. *Fundamental and Applied Toxicology*, 6, 628-637.
 - 5 Kluwe WM, Lamb JC, Greenwell A, and Harrington FW (1983) 1,2-Dibromo-3-chloropropane (DBCP)-induced infertility in male rats mediated by a post-testicular effect. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 71, 294-298.
 - 6 Warren DW, Ahmad N, and Rudeen PK (1988) The effect of fetal exposure to 1,2-dibromo-3-chloropropane on adult male reproductive function. *Biology of Reproduction*, 39, 707-716.
 - 7 Shaked I, Sod-Moriah UA, Kaplanski J, Potashnik G, and Buchman O (1988) Reproductive performance of dibromochloropropane-treated female rats. *International Journal of Fertility*, 33, 129-133.
 - 8 Rao KS (1983) Toxicologic and reproductive effects of inhaled 1,2-dibromo-3-chloropropane in rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 3, 104-110.
 - 9 Rao KS, Burek JD, Murray FJ, John JA, Schwetz BA, Beyer JE, and Parker CM (1982) Toxicologic and reproductive effects of inhaled 1,2-dibromo-3-chloropropane in male rabbits. *Fundamental and Applied Toxicology*, 2, 241-251.

9. エンドスルファンの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

エンドスルファンには、 β -エンドスルファン(CAS No. 959-98-8)、 α -エンドスルファン(CAS No. 33213-65-9)などの異性体の他、それらの総称であるエンドスルファン(CAS No. 115-29-7)が知られているが、内分泌攪乱化学物質に係わる実態調査においては、 β -エンドスルファン(CAS No. 959-98-8)、 α -エンドスルファン(CAS No. 33213-65-9)及びそれらのサルフェート抱合体について、測定が行われている。

エンドスルファンの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用に関連した作用の有無、プロジェステロン様作用に関連した作用の有無、細胞中ホルモン等の濃度に関連した作用の有無及び生態影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Cossette らによって、エンドスルファンについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 増殖試験(E-Screen Assay)及びラット下垂体細胞 GH3 増殖試験の検討¹が行われている。エンドスルファンは、 $1.0 \times 10^{-8} \text{M}$ の濃度においてヒト乳がん細胞 MCF-7 の増殖を誘導し、 $1.0 \times 10^{-9} \text{M}$ の濃度においてラット下垂体細胞 GH3 の増殖を誘導した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Hodges らによって、 β -エンドスルファンについて、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのルシフェラーゼ活性誘導についての検討²が行われている。 β -エンドスルファンは、 EC_{25} 値 $5.0 \times 10^{-6} \text{M}$ でルシフェラーゼ活性を誘導した。また、 α -エンドスルファンについて、ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 増殖試験の検討¹が行われている。 α -エンドスルファンは、 EC_{25} 値 $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ でラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 の増殖を誘導した。さらに、 β -エンドスルファンについて、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのルシフェラーゼ活性誘導についての検討¹が行われている。 β -エンドスルファンは、 EC_{25} 値 $5.0 \times 10^{-6} \text{M}$ でルシフェラーゼ活性を誘導した。また、これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Legler らによって、エンドスルファンについて、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 T47D でのルシフェラ

ーゼ活性誘導についての検討³が行われている。エンドスルファンは、EC₅₀ 値 $5.92 \times 10^{-6} \text{M}$ でルシフェラーゼ活性を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Hunter らによって、 β -エンドスルファンについて、エストロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのルシフェラーゼ活性誘導についての検討⁴が行われている。 β -エンドスルファンは、EC₅₀ 値 $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ でルシフェラーゼ活性を誘導した。また、 β -エンドスルファンについて、ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 増殖試験の検討⁴が行われている。 β -エンドスルファンは、EC₂₅ 値 $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ でラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 の増殖を誘導した。さらに、 β -エンドスルファンについて、エストロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのルシフェラーゼ活性誘導についての検討⁴が行われている。 β -エンドスルファンは、EC₅₀ 値 $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ でルシフェラーゼ活性を誘導した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Soto らによって、 β -エンドスルファンについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 増殖試験(E-Screen Assay)の検討⁵が行われている。 β -エンドスルファンは、 $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてヒト乳がん細胞 MCF7 の増殖を誘導した。また、 β -エンドスルファンについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 増殖試験(E-Screen Assay)の検討⁵が行われている。 β -エンドスルファンは、 $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてヒト乳がん細胞 MCF-7 の増殖を誘導した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Graumann らによって、エンドスルファン(、異性体混合物)について、エストロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換酵母 188R1 での β -ガラクトシダーゼ活性誘導についての検討⁶が行われている。エンドスルファン(、異性体混合物)は、 $1.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{M}$ の濃度において β -ガラクトシダーゼ活性を誘導した。また、エンドスルファン(、異性体混合物)について、エストロジェン受容体への β -エストラジオールの結合阻害についての検討⁶が行われている。エンドスルファン(、異性体混合物)は、 $1.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{M}$ の濃度においてエストロジェン受容体への β -エストラジオールの結合を阻害した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Wade らによって、エンドスルファンについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 増殖試験(E-Screen Assay)の検討⁷が行われている。エンドスルファンは、 $1.0 \times 10^{-5} \sim 5.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてヒト乳がん細胞 MCF-7 の増殖を

誘導したが、この増殖誘導は ICI 164,834 の共存によって阻害された。また、SD ラット子宮エストロゲン受容体への β -エストラジオールの結合阻害について検討⁷が行われている。エンドスルファンは、 $2.0 \times 10^{-6} \sim 5.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度において SD ラット子宮エストロゲン受容体への β -エストラジオールの結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Jørgensen らによって、エンドスルファンについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 での遺伝子発現についての検討⁸が行われている。エンドスルファンは、 $1.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{M}$ の濃度においてエストロゲンによって正の調節を受けることが知られているモノアミノオキシダーゼ A 及び pS2 の mRNA 発現を誘導し、 $1.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{M}$ の濃度においてエストロゲンによって負の調節を受けることが知られている β -1-アンチキモトリプシン及び FGF-3 の mRNA 発現を抑制した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Scippo らによって、 β -エンドスルファンについて、エストロゲン受容体 β への β -エストラジオールの結合阻害について検討⁹が行われている。 β -エンドスルファンは、 IC_{50} 値 $1.70 \times 10^{-4} \text{M}$ でエストロゲン受容体 β への β -エストラジオールの結合を阻害した。また、 β -エンドスルファンについて、エストロゲン受容体 α への β -エストラジオールの結合阻害について検討¹が行われている。 β -エンドスルファンは、 IC_{50} 値 $1.56 \times 10^{-4} \text{M}$ でエストロゲン受容体 α への β -エストラジオールの結合を阻害した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) プロジェステロン様作用

Scippo らによって、 β -エンドスルファンについて、プロジェステロン受容体へのプロジェステロンの結合阻害について検討¹が行われている。 β -エンドスルファンは、 IC_{50} 値 $2.0 \times 10^{-5} \text{M}$ でプロジェステロン受容体へのプロジェステロンの結合を阻害した。また、 β -エンドスルファンについて、プロジェステロン受容体へのプロジェステロンの結合阻害について検討¹が行われている。 β -エンドスルファンは、 IC_{50} 値 $8.8 \times 10^{-5} \text{M}$ でプロジェステロン受容体へのプロジェステロンの結合を阻害した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) 細胞中ホルモン等の濃度への影響

Rousseau らによって、エンドスルファンについてラット下垂体細胞 GH3 でのプロラクチン産生について検討¹⁰が行われている。エンドスルファンは、 $1.0 \times 10^{-11} \text{M}$ の濃度においてプロラクチン mRNA 発現を誘導し、 1.0

$\times 10^{-9}\text{M}$ の濃度においてプロラクチン分泌を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Leblond らによって、エンドスルファンについて、ニジマス前腎細胞でのコルチゾール分泌への影響が検討¹¹されている。エンドスルファンは、 EC_{50} 値 $1.73 \times 10^{-5}\text{M}$ で、副腎皮質刺激ホルモン及びジブチルシリル cAMP 刺激性コルチゾール分泌を抑制した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Bisson と Hontela によって、エンドスルファン(: =2 : 1 の異性体混合物)について、ニジマス副腎皮質細胞でのコルチゾール分泌への影響が検討¹²されている。エンドスルファン(: =2 : 1 の異性体混合物)は $5.0 \times 10^{-5} \sim 5.0 \times 10^{-4}\text{M}$ の濃度においてジブチルシリル cAMP 刺激性コルチゾール分泌を抑制した。またエンドスルファン(: =2 : 1 の異性体混合物)は、 EC_{50} 値 $3.8 \times 10^{-5}\text{M}$ で、副腎皮質刺激ホルモン刺激性コルチゾール分泌を抑制した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(4)生態影響

Barry によって、エンドスルファン(: =7 : 3 の異性体混合物)20、40、80、160、320 $\mu\text{g/L}$ に二世代に渡り曝露されたミジンコ(*Daphnia carinata*)への影響が検討¹³されている。その結果として、320 $\mu\text{g/L}$ 曝露区で体長・産仔数の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・エンドスルフানেরエストロジェン様作用について、試験管内試験において、ヒト乳がん細胞 MCF-7 の増殖の誘導・ラット下垂体細胞 GH3 の増殖の誘導・エストロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳腺がん細胞 T47D でのルシフェラーゼ活性の誘導・エストロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換酵母 188R1 での β -ガラクトシダーゼ活性の誘導・エストロジェン受容体への β -エストラジオールの結合の阻害・SD ラット子宮エストロジェン受容体への β -エストラジオールの結合の阻害・ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのエストロジェンによって正の調節を受けることが知られているモノアミンオキシダーゼ A 及び pS2 の mRNA 発現の誘導とエストロジェンによって負の調節を受けることが知られている 1-アンチキモトリプシン及び FGF 3 の mRNA 発現の抑制が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

- ・エンドスルフানের細胞中ホルモン等の濃度への影響について、試験管内試

験において、ラット下垂体細胞 GH3 でのプロラクチン mRNA 発現の誘導・ラット下垂体細胞 GH3 でのプロラクチン分泌の誘導・ニジマス前腎細胞での副腎皮質刺激ホルモン及びジブチルシリル cAMP 刺激性コルチゾール分泌の抑制・ニジマス副腎皮質細胞でのジブチルシリル cAMP 刺激性コルチゾール分泌の抑制・ニジマス副腎皮質細胞での副腎皮質刺激ホルモン刺激性コルチゾール分泌の抑制が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・生態影響において、エンドスルファンについて体長・産仔数の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・ -エンドスルフアンのエストロゲン様作用について、試験管内試験において、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのルシフェラーゼ活性の誘導・ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 の増殖の誘導・ヒト乳がん細胞 MCF7 の増殖の誘導・エストロゲン受容体への -エストラジオールの結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・ -エンドスルフアンのプロジェステロン様作用について、試験管内試験において、プロジェステロン受容体へのプロジェステロンの結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・ -エンドスルフアンのエストロゲン様作用について、試験管内試験において、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのルシフェラーゼ活性の誘導・ヒト乳がん細胞 MCF-7 の増殖の誘導・エストロゲン受容体への -エストラジオールの結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・ -エンドスルフアンのプロジェステロン様作用について、試験管内試験において、プロジェステロン受容体へのプロジェステロンの結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

-
- 1 Cossette LJ, Gaumond I, and Martinoli MG (2002) Combined effect of xenoestrogens and growth factors in two estrogen-responsive cell lines. *Endocrine*, 18, 303-308.
 - 2 Hodges LC, Bergerson JS, Hunter DS and Walker CL (2000) Estrogenic effects of organochlorine pesticides on uterine leiomyoma cells *in vitro*. *Toxicological Sciences*, 54, 355-364.
 - 3 Legler J, van den Brink CE, Brouwer A, Murk AJ, van der Saag PT, Vethaak AD and van der Burg B (1999) Development of a Stably Transfected Estrogen Receptor-Mediated Luciferase Reporter Gene Assay in the Human T47D Breast

-
- Cancer Cell Line. *Toxicological Sciences*, 48, 55-66.
- ⁴ Hunter DS, Hodges LC, Vonier PM, Fuchs-Young R, Gottardis MM, and Walker CL (1999) Estrogen receptor activation via activation function 2 predicts agonism of xenoestrogens in normal and neoplastic cells of the uterine myometrium. *Cancer Research*, 59, 3090-3099.
 - ⁵ Soto AM, Chung KL, and Sonnenschein C (1994) The Pesticides Endosulfan, Toxaphene, and Dieldrin Have Estrogenic Effects on Human Estrogen-Sensitive Cells. *Environmental Health Perspectives*, 102, 80-83.
 - ⁶ Graumann K, Breithofer A, and Jungbauer A (1999) Monitoring of estrogen mimics by a recombinant yeast assay: synergy between natural and synthetic compounds? *Science of the Total Environment*, 225, 69-79.
 - ⁷ Wade MG, Desaulniers D, Leingartner K, and Foster WG (1997) Interactions between Endosulfan and dieldrin on estrogen mediated processes *in vitro* and *in vivo*. *Reproductive Toxicology*, 11, 791-798.
 - ⁸ Jørgensen M, Vendelbo B, Skakkebaek NE and Leffers H (2000) Assaying Estrogenicity by Quantitating the Expression Levels of Endogenous Estrogen-Regulated Genes. *Environmental Health Perspectives*. 108, 403-412.
 - ⁹ Scippo ML, Argiris C, Van De Weerd C, Muller M, Willemsen P, Martial J, and Maghuin-Rogister G (2003) Recombinant human estrogen, androgen and progesterone receptors for detection of potential endocrine disruptors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378, 664-669.
 - ¹⁰ Rousseau J, Cossette L, Grenier S, and Martinoli MG (2002) Modulation of prolactin expression by xenoestrogens. *General and Comparative Endocrinology*, 126, 175-182.
 - ¹¹ Leblond VS, Bisson M, and Hontela A (2001) Inhibition of cortisol secretion in dispersed head kidney cells of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by endosulfan, an organochlorine pesticide. *General and Comparative Endocrinology*, 121, 48-56.
 - ¹² Bisson M and Hontela A (2002) Cytotoxic and endocrine-disrupting potential of atrazine, diazinon, endosulfan, and mancozeb in adrenocortical steroidogenic cells of rainbow trout exposed *in vitro*. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 180, 110-117.
 - ¹³ Barry MJ, Logan DC, Ahokas JT, and Holdway DA (1995) Effect of algal food concentration on toxicity of two agricultural pesticides to *Daphnia carinata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 32, 273-279.

10. メソミルの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

メソミルの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用に関連した作用の有無、エストロゲン生合成酵素に関連した作用の有無、プロジェステロン様作用に関連した作用の有無及び血清中ホルモン等の濃度に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Klotz らによって、メソミルについて、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 での 17β -エストラジオール共存または非共存下におけるルシフェラーゼ活性誘導に対する影響について検討¹が行われている。メソミルは、 $1.0 \times 10^{-7} \text{M}$ の濃度において形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 のルシフェラーゼ活性誘導を 17β -エストラジオール共存下で抑制し、単独では促進した。また、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換 Ishikawa 子宮内膜がん細胞での 17β -エストラジオール共存または非共存下におけるルシフェラーゼ活性誘導に対する影響について検討¹が行われている。メソミルは、 $1.0 \times 10^{-7} \text{M}$ の濃度において形質転換 Ishikawa 子宮内膜がん細胞のルシフェラーゼ活性を 17β -エストラジオール共存下において抑制した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Klotz らによって、メソミルについて、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 由来エストロゲン受容体への 17β -エストラジオールの結合阻害について検討¹が行われている。メソミルは、 $1.0 \times 10^{-6} \text{M}$ の濃度において形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 由来エストロゲン受容体への 17β -エストラジオールの結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) エストロゲン生合成酵素に対する作用

Andersen らによって、メソミルについて、ヒト胎盤ミクロソームのアロマターゼ活性(アンドロステンジオンからエストロンへの変換)に対する影響について検討²が行われている。メソミルは、 $5.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてヒト胎盤ミクロソームのアロマターゼ活性を促進した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) プロジェステロン様作用

Klotz らによって、メソミルについて、プロジェステロン受容体応答遺伝

子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 T47D でのプロジェステロン共存または非共存下におけるルシフェラーゼ活性誘導に対する影響について検討¹が行われている。アラクロールは、 $1.0 \times 10^{-7} \text{M}$ の濃度において形質転換ヒト乳がん細胞 T47D のルシフェラーゼ活性をプロジェステロン共存下において抑制し、単独では促進した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Klotz らによって、メソミルについて、プロジェステロン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 T47D 由来プロジェステロン受容体への R5020(強力なプロジェステロン受容体アゴニストの一種)の結合阻害について検討¹が行われている。メソミルは、 $1.0 \times 10^{-6} \text{M}$ の濃度において形質転換ヒト乳がん細胞 T47D 由来プロジェステロン受容体への R5020 の結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(4) 血清中ホルモン等の濃度への影響

Mahgoub と El-Medany によって、メソミル 17 mg/kg/day を 60 日間経口投与された成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討³されている。その結果として、血清中テストステロン濃度の低値、血清中卵胞刺激ホルモン濃度・血清中黄体形成ホルモン濃度・血清中プロラクチン濃度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・メソミルのエストロゲン様作用については、試験管内試験において、形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのルシフェラーゼ活性誘導の - エストラジオール共存下での抑制・形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのルシフェラーゼ活性誘導の促進・形質転換 Ishikawa 子宮内膜がん細胞でのルシフェラーゼ活性の - エストラジオール共存下での抑制・形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 由来エストロゲン受容体への - エストラジオールの結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

- ・メソミルのエストロゲン様作用については、試験管内試験において、ヒト胎盤ミクロソームのアロマターゼ活性(アンドロステンジオンからエストロンへの変換)の促進が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

- ・メソミルのプロジェステロン様作用については、試験管内試験において、形質転換ヒト乳がん細胞 T47D でのルシフェラーゼ活性のプロジェステロン共存下での抑制・形質転換ヒト乳がん細胞 T47D でのルシフェラーゼ活性の促進・形質転換ヒト乳がん細胞 T47D 由来プロジェステロン受容体への R5020(強力な

プロジェステロン受容体アゴニストの一種)の結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・動物実験において、メソミルについて血清中テストステロン濃度の低値、血清中卵胞刺激ホルモン濃度・血清中黄体形成ホルモン濃度・血清中プロラクチン濃度の高値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

-
- 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, 1467-1475.
 - 2 Andersen HR, Vinggaard AM, Rasmussen TH, Gjermandsen IM, and Bonefeld-Jorgensen EC (2002) Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity *in vitro*. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 179, 1-12.
 - 3 Mahgoub AA and El-Medany AH (2001) Evaluation of chronic exposure of the male rat reproductive system to the insecticide methomyl. *Pharmacological Research*, 44, 73-80

11. メトキシクロルの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

メトキシクロルの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用に関連した作用の有無、プロジェステロン様作用に関連した作用の有無、アンドロゲン様作用に関連した作用の有無、魚類卵巣ステロイド受容体への作用に関連した作用の有無、生殖への影響に関連した作用の有無、神経への影響に関連した作用の有無及び生態影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Hodges らによって、メトキシクロルについて、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのルシフェラーゼ活性誘導についての検討¹が行われている。メトキシクロルは、EC₂₅ 値 $1.0 \times 10^{-6} \text{M}$ でルシフェラーゼ活性を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Legler らによって、メトキシクロルについて、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 T47D でのルシフェラーゼ活性誘導についての検討²が行われている。メトキシクロルは、EC₅₀ 値 $5.72 \times 10^{-6} \text{M}$ でルシフェラーゼ活性を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Charles らによって、メトキシクロルについて、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 での β -ガラクトシダーゼ活性誘導についての検討³が行われている。メトキシクロルは、 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度において β -ガラクトシダーゼ活性を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Jørgensen らによって、メトキシクロルについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 での遺伝子発現についての検討⁴が行われている。メトキシクロルは、 $1.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{M}$ の濃度においてエストロゲンによって正の調節を受けることが知られているモノアミノキシダーゼ A 及び pS2 の mRNA 発現を誘導し、 $1.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{M}$ の濃度においてエストロゲンによって負の調節を受けることが知られている α -1-アンチキモトリプシン及び FGF-3 の mRNA 発現を抑制した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Gaido らによって、メトキシクロルについて、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換酵母での β -ガラクトシダーゼ活性誘導につ

いての検討⁵が行われている。メトキシクロルは、 EC_{50} 値 $3.32 \times 10^{-3} M$ で β -ガラクトシダーゼ活性を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Laws らによって、メトキシクロルについて、ラット子宮エストロジェン受容体への β -エストラジオールの結合阻害についての検討⁶が行われている。メトキシクロルは、 K_i 値 $6.5 \times 10^{-5} M$ でラット子宮エストロジェン受容体への β -エストラジオールの結合を阻害した。また、メトキシクロル 25、50、100 mg/kg/day を 60 日齢から 3 日間経口投与された卵巣摘除 LE ラットへの影響⁶が検討されている。その結果として、50 mg/kg/day 投与群で子宮絶対重量の高値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Blair らによって、メトキシクロルについて、SD ラット子宮エストロジェン受容体への β -エストラジオールの結合阻害についての検討⁷が行われている。メトキシクロルは、 IC_{50} 値 $1.44 \times 10^{-4} M$ でラット子宮エストロジェン受容体への β -エストラジオールの結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Gaido らによって、メトキシクロルについて、エストロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト肝臓がん細胞 HepG2 での β -エストラジオール共存下及び非共存下におけるルシフェラーゼ活性誘導についての検討^{1,2}が行われている。メトキシクロルは、 $1.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5} M$ において β -エストラジオールによるルシフェラーゼ活性誘導を阻害し、単独では $1.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-5} M$ の濃度においてルシフェラーゼ活性を誘導した。エストロジェン受容体 応答性遺伝子を形質導入されたヒト肝臓がん細胞 HepG2 において、メトキシクロルは、 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-5} M$ の濃度において β -エストラジオールによるルシフェラーゼ活性誘導を阻害し、単独では $1.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-5} M$ においてルシフェラーゼ活性を誘導した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Smeets らによって、メトキシクロルについて、雄コイ肝臓細胞でのピテロジェニン誘導についての検討⁸が行われている。メトキシクロルは、 $2.0 \times 10^{-5} M$ の濃度において雄コイ肝臓細胞のピテロジェニンを誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) プロジェステロン様作用

Hodges らによって、メトキシクロルについて、ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのプロジェステロン受容体 mRNA 誘導について検討¹が行われている。メトキシクロルは、 1.0×10^{-6} の濃度においてプロジェステロン受容

体 mRNA を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Chedrese らによって、メトキシクロルについて、ブタ顆粒膜細胞でのプロジェステロン濃度への影響⁹について検討が行われている。メトキシクロルは、卵胞刺激ホルモン共存下において $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ の濃度においてプロジェステロン濃度を低下させ、 1- エストラジオール共存下で $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてプロジェステロン濃度を上昇させた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Laws らによって、メトキシクロルについて、ラット子宮プロジェステロン受容体へのプロメストンの結合阻害についての検討⁶が行われている。メトキシクロルは、 K_i 値 $1.37 \times 10^{-4} \text{M}$ でラット子宮プロジェステロン受容体へのプロメストンの結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Pickford らによって、メトキシクロルについて、Stage IV のアフリカツメガエル卵子のプロジェステロン誘導性 GVBD (germinal vesicle breakdown) 阻害及びアフリカツメガエル卵子細胞膜プロジェステロン受容体へのプロジェステロンの結合阻害についての検討¹⁰が行われている。メトキシクロルは、 IC_{50} 値 $7.2 \times 10^{-8} \text{M}$ でプロジェステロン誘導性 GVBD を阻害したが、 $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度において細胞膜プロジェステロン受容体へのプロジェステロン結合を阻害しなかった。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) アンドロジェン様作用

Maness らによって、メトキシクロルについて、アンドロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト肝臓がん細胞 HepG2 での 5- ジヒドロテストステロン共存下及び非共存下におけるルシフェラーゼ活性誘導についての検討¹¹が行われている。メトキシクロルは、 $1.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度において 5- ジヒドロテストステロンによるルシフェラーゼ活性誘導を阻害したが、単独では $1.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてルシフェラーゼ活性を誘導しなかった。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Gaido らによって、メトキシクロルについて、アンドロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト肝臓がん細胞 HepG2 での 5- ジヒドロテストステロン共存下及び非共存下におけるルシフェラーゼ活性誘導についての検討¹²が行われている。メトキシクロルは、 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度において 5- ジヒドロテストステロンによるルシフェラーゼ活

性誘導を阻害したが、単独では $1.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてルシフェラーゼ活性を誘導しなかった。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Cuppらによって、メトキシクロルについて、新生児 SD ラット精巣培養細胞増殖についての検討¹³が行われている。メトキシクロルは、 $2.0 \times 10^{-9} \sim 2.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度において細胞増殖を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Blizardらによって、メトキシクロルについて、恒常発現アンドロスタン受容体遺伝子を形質導入された g2car3 細胞での 3β -アンドロステノールによるルシフェラーゼ活性誘導に対する影響についての検討¹⁴が行われている。メトキシクロルは、 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてルシフェラーゼ活性を誘導した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(4) 魚類卵巣ステロイド受容体への作用

Das と Thomas によって、メトキシクロルについて、スポットシートラウト卵巣ステロイド受容体への 17,20 β ,21-トリヒドロキシ-4-プレグネン-3-オンの結合阻害についての検討¹⁵が行われている。メトキシクロルは、 IC_{25} 値 10^{-4}M でスポットシートラウト卵巣ステロイド受容体への 17,20 β ,21-トリヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(5) 生殖への影響

Mehmoodらによって、メトキシクロル 0.5、100、500 mg/kg/day を 21 週齢から 3 日間皮下投与された雌 CD-1 マウスへの影響が検討¹⁶されている。その結果として、0.5 mg/kg/day 以上の投与群で子宮相対重量の高値、100 mg/kg/day 以上の投与群で子宮ペルオキシダーゼ活性値の高値、500 mg/kg/day の投与群で子宮内腔上皮細胞増殖が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Okazakiらによって、メトキシクロル 20、100、500 mg/kg/day を 7 週齢から 28 日間経口投与された雄 SD ラットへの影響が検討¹⁷されている。その結果として、20、100 mg/kg/day の投与群で血清中 T_4 濃度の高値、血中総コレステロール濃度の低値が認められた。また、100 mg/kg/day の投与群で腎臓相対重量・精巣相対重量・血中 ALP 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。100 mg/kg/day 以上の投与群で体重・精囊相対重量・前立腺相対重量・血中グルコース濃度の低値、下垂体相対重量・甲状腺相対重量・血清中プロラクチン濃度の高値、肝臓・甲状腺・

精囊・凝固腺・前立腺・乳腺が肥大した個体頻度の高値が認められた。500 mg/kg/day の投与群で、肝臓相対重量・血清中 T_3 濃度・甲状腺刺激ホルモン濃度・卵胞刺激ホルモン濃度・血中 GPT 濃度・血中 γ -GTP 濃度・血中りん脂質濃度・下垂体前葉の好酸性細胞数が減少した個体頻度・腎不全個体頻度の高値、胸腺・精巣・精巣上体・前立腺が肥大した個体頻度の高値、胸腺相対重量・精巣上体尾精子数・血清中テストステロン濃度・血中アルブミン濃度・A/G 値の低値が認められた。一方、メトキシクロル 20、100、500 mg/kg/day を 7 週齢から 28～31 日間経口投与された雌 SD ラットへの影響が検討¹⁷されている。20 mg/kg/day 以上の投与群で、血中アルブミン濃度・血中 A/G 比の低値が認められた。また、100 mg/kg/day の投与群で体重の低値、子宮相対重量の高値が認められた。100 mg/kg/day 以上の投与群で血清中 T_3 濃度の高値、肝臓・副腎が肥大した個体頻度の高値、子宮・膣の粘膜上皮細胞が厚膜化した個体頻度の高値、血清中黄体形成ホルモン濃度・血中総コレステロール濃度・血中塩素濃度の低値が認められた。500 mg/kg/day の投与群で血清中 T_4 濃度・血中 GPT 濃度・血中 ALP 濃度・血中 γ -GTP 濃度・血中トリグリセリン濃度・血中総ビリルビン濃度・肝臓相対重量・腎臓相対重量・副腎相対重量・子宮頸部粘膜上皮細胞が厚膜化した個体頻度の高値、卵巣・子宮管が肥大した個体頻度・乳腺小核が増加した個体頻度の高値、血中グルコース濃度・発情期回数・卵巣相対重量の低値、性周期の遅延が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Ashby と Lefevre によって、メトキシクロル 50、100 mg/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¹⁸されている。その結果として、50 mg/kg/day の投与群で前立腺絶対重量の低値、50 mg/kg/day 以上の投与群で体重の低値、100 mg/kg/day の投与群で肝臓絶対重量・精囊絶対重量の低値が認められた。しかし、メトキシクロル 50、100 mg/kg/day を 22～23 日齢から 14 日間経口投与された雄 SD ラットには影響が認められなかった。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Laws らによって、メトキシクロルを経口投与された雌 LE ラットへの影響が検討⁶されている。その結果として、メトキシクロル 50 mg/kg/day を 21 日齢から 3 日間経口投与された雌 LE ラットの子宮絶対重量の高値、膣開口日の早期化が認められた。また、メトキシクロル 50 mg/kg/day を 25 日間経口投与された 60 日齢雌 LE ラットの正常性周期個体頻度の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められ

た。

Gray らによって、メトキシクロルを経口投与された雌雄 LE ラットへの影響が検討¹⁹されている。その結果として、メトキシクロル 25、50 mg/kg/day を 21 日齢から 97～100 日齢まで経口投与された雌 LE ラットでは、25 mg/kg/day 投与群で初性周期到来日の早期化、25 mg/kg/day 以上の投与群で膣開口日・初発情到来日の早期化、膣開口日体重の低値、50 mg/kg/day 投与群で下垂体プロラクチン濃度・性周期前角質化スメア数・1 日齢児動物体重の高値、白血球付着スメア数の低値が認められた。メトキシクロル 25、50 mg/kg/day を 21 日齢から 80～85 日齢まで経口投与された雄 LE ラットでは、25 mg/kg/day 以上の投与群で体重の低値、50 mg/kg/day 投与群で精囊絶対重量・精巢上体尾精子数の低値が認められた。メトキシクロル 50 mg/kg/day を 21 日齢から初出産 15 日目まで経口投与された雌 LE ラットの雌児動物において膣開口日の早期化、性周期が正常な個体頻度・出産回数・総産児数の低値、11 月齢時の肝臓絶対重量・両副腎絶対重量・右腎臓絶対重量・11 月齢時の下垂体異常発生率の高値が認められた。メトキシクロル 100、200 mg/kg/day を 21 日齢から 77～80 日齢まで経口投与された雌雄 LE ラットでは、100 mg/kg/day 以上の雌投与群で体重・1 日齢児動物生存率・膣開口日体重・白血球付着スメア数・妊娠率・着床数の低値、膣開口日・初発情到来日の早期化、性周期前角質化スメア数の高値、200 mg/kg/day 雌投与群で初性周期到来日の遅延、100 mg/kg/day 以上の雄投与群で体重・肝臓絶対重量・腎臓絶対重量・精巢上体尾絶対重量・精巢上体尾精子数の低値、包皮分離日の遅延、副腎絶対重量・精囊絶対重量の高値、200 mg/kg/day 雄投与群で精巢絶対重量・下垂体絶対重量の低値が認められた。メトキシクロル 100、200 mg/kg/day を 21 日齢から 97～100 日齢まで経口投与された雌雄 LE ラットでは、100 mg/kg/day 以上の雌投与群で膣開口日・初発情到来日の早期化、膣開口日体重・卵巢絶対重量・下垂体絶対重量・血清中甲状腺刺激ホルモン濃度・白血球付着スメア数・妊娠率・1 日齢児動物生存率の低値、副腎絶対重量・下垂体甲状腺刺激ホルモン濃度・卵胞刺激ホルモン濃度・プロラクチン濃度・性周期前角質スメア数・1 日齢児動物体重の高値、200 mg/kg/day 以上の雌投与群で体重・肝臓絶対重量・腎臓絶対重量の低値、初性周期到来日の遅延、100 mg/kg/day 雄投与群で精巢間質細胞液体テストステロン濃度・血清中テストステロン濃度の低値、100 mg/kg/day 以上の雄投与群で包皮分離日の遅延、精巢テストステロン濃度・精巢上体テストステロン濃度・体重・精巢絶対重量・肝臓絶対重量・腎臓絶対重量・下垂体絶対重量・精巢上体尾絶対重量・精

巢上体尾中精子数の低値、精囊絶対重量の高値、200 mg/kg/day 雄投与群で副腎絶対重量・血清中アンドロジェン結合蛋白質濃度の高値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Gray らによって、メトキシクロル 200、300、400 mg/kg/day を 21 日齢から 11 月齢まで経口投与された雄 LE ラットへの影響が検討²⁰されている。その結果として、200 mg/kg/day 以上の投与群で包皮分離日の遅延、100 日齢生殖試験での交尾回数・妊孕率の低値、連続繁殖試験での第一週妊孕率の低値、連続繁殖試験での初妊孕に至るまでの所用日数の遅延、11 月齢交尾行動試験での射精前潜時・挿入間隔時間の低値(交尾行動亢進)、体重・腎臓絶対重量・下垂体絶対重量・精巣絶対重量・精巣上体絶対重量・精巣上体尾絶対重量・精巣上体尾中精子数・精巣上体尾精子輸送時間の低値、精囊絶対重量の高値、300 mg/kg/day 以上の投与群で包皮分離日体重の高値、100 日齢生殖試験での同腹児数の低値、400 mg/kg/day 投与群で連続繁殖試験での出産数・産児数・精巣精子数の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Linder らによって、メトキシクロル 2000 mg/kg/day を 102~103 日齢から 5 日間経口投与された雄 SD ラットへの影響が検討²¹されている。その結果として、体重・精巣上体絶対重量・前立腺絶対重量・精巣上体前後葉中精子数・後葉中精子数・精液中精子濃度の低値が認められた。また、メトキシクロル 4000 mg/kg/day を単日(分割して 2 回)経口投与された 102~103 日齢に雄 SD ラットへの影響が検討²¹されている。その結果として、体重・精巣中精子ヘッド数・精巣中精子濃度の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Cummings と Gray によって、メトキシクロル 100、200、300、400、500 mg/kg/day を偽妊娠 1 日目から 8 日間経口投与された Holtzman ラットへの影響²²が検討されている。その結果として、200 mg/kg/day 以上の投与群で子宮副角絶対重量の低値(脱落膜反応の障害)が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Walters らによって、メトキシクロル 0.05、0.5、1.0 mg/mouse/day を 1 日齢から 14 日間腹腔注射された SD マウスへの影響が検討²³されている。その結果として、0.05 mg/mouse/day 以上の投与群で膺粘液分泌が観察される個体の出現、膺角質化日の早期化、0.5 mg/mouse/day 以上の投与群で生殖腺重量・子宮上皮厚・膺上皮厚の高値、1.0 mg/mouse/day 投与群で膺開口日の早期化、全個体での膺角質化が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Youらによって、メトキシクロル 800 ppm を含む餌を母動物妊娠 0 日目から児動物 120 日齢まで投与された二世 SD ラットへの影響²⁴が検討されている(摂餌量から計算される投与量は、母動物 44~64 mg/kg/day、児動物雄 46~126 mg/kg/day、児動物雌 56~116 mg/kg/day)。その結果として、母動物の体重・摂餌量の低値、児動物雌 0、21 及び 100 日齢の体重の低値、児動物雄 21 及び 100 日齢の体重の低値、児動物雌膈開口日の早期化、児動物雄包皮分離日の遅延、児動物雌 21 日齢の子宮絶対重量の高値、児動物雄 100 日齢の精巣重量の低値、児動物雌の発情前期・発情期の延長及び発情間期の短縮が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(6) 神経への影響

Palanzaらによって、メトキシクロル 0.02、0.2、2.0 mg/kg/day を妊娠 11 日目から 7 日間経口投与された CD-1 マウスへの影響²⁵が検討されている。その結果として、0.02 mg/kg/day 投与群で出産 2~15 日後の母動物の巢内滞在時間・哺乳時間の低値、出産 2~15 日後の母動物の巢外休息時間・自己グルーミング時間の高値、2 日齢児動物の正向反射潜時の低値、5 日齢児動物の断崖回避反射潜時の低値、39 及び 54 日齢雄児の初回攻撃行動開始潜時の高値、39 日齢雄児の初回攻撃行動開始潜時の低値、80 日齢雄児の幼个体攻撃行動開始潜時の高値が認められた。また、0.02 及び 0.2 mg/kg/day 投与群で出産 2~15 日後の母動物の摂食時間・摂水時間の高値、雄児 EPM (elevated plus-maze) paradigm での central platform 滞在時間の低値が認められた。更に、2 mg/kg/day 投与群で 5 日齢児動物の断崖回避反射潜時の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

vom Saalらによって、メトキシクロル 0.001、0.1、5 mg/mouse/day を妊娠 11 日目から 7 日間経口投与された CF-1 マウスへの影響²⁶が検討されている。その結果として、0.001 mg/mouse/day(摂餌量から 0.02 mg/kg/day に換算される)投与群で 88 日齢雄児動物の尿マーキング数の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Golubによって、メトキシクロル 25、50 mg/kg/day を 24 月齢から 12 月間経口投与された雌アカゲザルへの影響²⁷が検討されている。その結果として、50 mg/kg/day 投与群で Delayed Non-Match to Sample Test における正解率の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(7)生態影響

Panter らによって、メトキシクロル 0.16、0.43、1.8 $\mu\text{g/L}$ に 7 日間曝露された幼若雌雄ファットヘッドミノーへの影響²⁸が検討されている。その結果として、0.16 $\mu\text{g/L}$ の曝露区において全身ビテロジェニン濃度の低値、1.8 $\mu\text{g/L}$ の曝露区において体重・体長の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Ankley らによって、メトキシクロル 0.55、3.56 $\mu\text{g/L}$ に 4 月齢から 21 日間曝露された雌雄ファットヘッドミノーへの影響²⁹が検討されている。その結果として、0.55 $\mu\text{g/L}$ の曝露区において雌 GSI 値の低値、3.56 $\mu\text{g/L}$ の曝露区において累積産卵数の低値、雄血漿中テストステロン・11-ケトテストステロン濃度の低値、雄血漿中ビテロジェニン濃度の高値、雌血漿中 17 β -エストラジオール濃度の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・メトキシクロルのエストロゲン様作用については、試験管内試験においてエストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのルシフェラーゼ活性の誘導・エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 T47D でのルシフェラーゼ活性の誘導・エストロゲン受容体 応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 での 17 β -ガラクトシダーゼ活性の誘導・ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのモノアミンオキシダーゼ A 及び pS2 の mRNA 発現誘導と 1-アンチキモトリプシン及び FGF 3 の mRNA 発現抑制・ヒトエストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換酵母での 17 β -ガラクトシダーゼ活性の誘導・ラット子宮エストロゲン受容体への 17 β -エストラジオールの結合の阻害・エストロゲン受容体 及び 応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト肝臓がん細胞 HepG2 での 17 β -エストラジオール共存下及び非共存下におけるルシフェラーゼ活性の誘導・雄コイ肝臓細胞のビテロジェニンの誘導が認められたとする信頼性のある報告が得られた。また、動物実験において子宮絶対重量の高値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

- ・プロゲステロン様作用については、試験管内試験においてラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのプロゲステロン受容体 mRNA の誘導・卵胞刺激ホルモン共存下におけるプロゲステロン濃度の低下と 17 β -エストラジオール共存下におけるプロゲステロン濃度の上昇・ラット子宮プロゲステロン受容体へのプロメストンの結合の阻害・Stage IV のアフリカツメガエル卵子のプロゲステ

ロン誘導性 GVBD (germinal vesicle breakdown)の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・アンドロジェン様作用については、試験管内試験においてアンドロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト肝臓がん細胞 HepG2 での 5 β -ジヒドロテストステロン共存下におけるルシフェラーゼ活性の誘導・新生児 SD ラット精巣培養細胞の増殖・恒常発現アンドロスタン受容体遺伝子を形質導入された g2car3 細胞での 3 α -アンドロステノールによるルシフェラーゼ活性の誘導が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・魚類卵巣ステロイド受容体への作用については、試験管内試験においてスポットシートラウト卵巣ステロイド受容体への 17,20 β ,21-トリヒドロキシ-4-プレグネン-3-オンの結合阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・動物実験において 1 日齢児動物体重・包皮分離日体重・生殖腺重量・腎臓相対重量・副腎(絶対・相対)重量・精巣相対重量・精囊絶対重量・下垂体相対重量・甲状腺相対重量・子宮(絶対・相対)重量・肝臓相対重量・血清中 T₄ 濃度・血中 ALP 濃度・血清中プロラクチン濃度・血清中 T₃ 濃度・甲状腺刺激ホルモン濃度・卵巣刺激ホルモン濃度・血中 GPT 濃度・血中 γ -GTP 濃度・血中りん脂質濃度・血中トリグリセリン濃度・血中総ビリルビン濃度・下垂体前葉の好酸性細胞数が減少した個体頻度・腎不全個体頻度・子宮及び膣の粘膜上皮細胞が厚膜化した個体頻度・乳腺小核が増加した個体頻度・子宮ペルオキシダーゼ活性値・下垂体プロラクチン濃度・性周期前角質化スメア数・初回攻撃行動開始潜時・幼個体攻撃行動開始潜時・断崖回避反射潜時・尿マーキング数・血清中アンドロジェン結合蛋白質濃度・子宮上皮厚・膣上皮厚・出産 2~15 日後の母動物の巣外休息時間と自己グルーミング時間と摂食時間と摂水時間の高値、胸腺・肝臓・甲状腺・精巣・精巣上体・精囊・凝固腺・前立腺・乳腺・卵巣・子宮管・副腎が肥大した個体頻度の高値、体重・膣開口日体重・摂餌量・精囊(絶対・相対)重量・前立腺(絶対・相対)重量・胸腺相対重量・子宮副角絶対重量・卵巣(絶対・相対)重量・肝臓絶対重量・精巣絶対重量・下垂体絶対重量・腎臓絶対重量・精巣上体尾絶対重量・精巣上体絶対重量・血中総コレステロール濃度・血清中黄体形成ホルモン濃度・血中塩素濃度・血中グルコース濃度・血清中テストステロン濃度・血中アルブミン濃度・A/G 値・血清中甲状腺刺激ホルモン濃度・精巣間質細胞液体テストステロン濃度・精巣テストステロン濃度・精巣上体テストステロン濃度・精巣上体尾中精子数・精巣中精子ヘッド数・精巣中精子濃度・精巣上体前後葉中精子数・後葉中精子数・精液中精子濃度・精巣上体尾精子輸送時間・発情期回数・正常性周期個体頻度・白血球付着スメア数・精巣上体尾中精子数・出産回数・総産児数・1 日齢児動物生存率・妊娠率・着床

数・正向反射潜時・断崖回避反射潜時・初回攻撃行動開始潜時・EPM (elevated plus-maze) paradigm での central platform 滞在時間・Delayed Non-Match to Sample Test における正解率・出産 2～15 日後の母動物の巣内滞在時間と哺乳時間・100 日齢生殖試験での交尾回数と妊孕率と同腹児数・連続繁殖試験での第一週妊孕率と出産数と産児数と精巣精子数・11 月齢交尾行動試験での射精前潜時と挿入間隔時間の低値、性周期の遅延、膻開口日の早期化、初性周期到来日の早期化または遅延、包皮分離日の遅延、連続繁殖試験での初妊孕に至るまでの所用日数の遅延、膻粘液分泌が観察される個体の出現、膻角質化日の早期化、発情前期・発情期の延長及び発情間期の短縮・子宮内腔上皮層の細胞増殖が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・生態影響において全身ビテロジェニン濃度・体重・体長・GSI 値・累積産卵数・血漿中テストステロン濃度・血漿中 11-ケトテストステロン濃度・血漿中-エストラジオール濃度の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

- 1 Hodges LC, Bergerson JS, Hunter DS and Walker CL (2000) Estrogenic effects of organochlorine pesticides on uterine leiomyoma cells *in vitro*. *Toxicological Sciences*, 54, 355-364.
- 2 Legler J, van den Brink CE, Brouwer A, Murk AJ, van der Saag PT, Vethaak AD and van der Burg B (1999) Development of a Stably Transfected Estrogen Receptor-Mediated Luciferase Reporter Gene Assay in the Human T47D Breast Cancer Cell Line. *Toxicological Sciences*, 48, 55-66.
- 3 Charles GD, Gennings C, Zacharewski TR, Gollapudi BB and Carney EW(2002) Assessment of Interactions of Diverse Ternary Mixtures in an Estrogen Receptor-alpha Reporter Assay. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 180, 11-21.
- 4 Jørgensen M, Vendelbo B, Skakkebaek NE and Leffers H (2000) Assaying Estrogenicity by Quantitating the Expression Levels of Endogenous Estrogen-Regulated Genes. *Environmental Health Perspectives*. 108, 403-412.
- 5 Gaido KW, Leonard LS, Lovell S, Gould JC, Babai D, Portier CJ and McDonnell DP (1997) Evaluation of Chemicals with Endocrine Modulating Activity in a Yeast-Based Steroid Hormone Receptor Gene Transcription Assay. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 413, 205-212.
- 6 Laws SC, Carey SA, Ferrell JM, Bodman GJ and Cooper RL (2000) Estrogenic Activity of Octylphenol, Nonylphenol, Bisphenol A and Methoxychlor in Rats. *Toxicological Sciences*, 54, 154-167
- 7 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, 138-153.
- 8 Smeets JMW, van Holsteijn I, Giesy JP, Seinen W, and van den Berg M (1999) Estrogenic Potencies of Several Environmental Pollutants, as Determined by

-
- Vitellogenin Induction in a Carp Hepatocyte Assay. *Toxicological Sciences*, 50, 206-213.
- 9 Chedrese JP and Feyles F (2001) The diverse mechanism of action of dichlorodiphenyldichloroethylene (DDE) and methoxychlor in ovarian cells *in vitro*. *Reproductive Toxicology*, 15, 693-698.
 - 10 Pickford DB, Morris ID (1999) Effects of endocrine-disrupting contaminants on amphibian oogenesis: Methoxychlor inhibits progesterone-induced maturation of *Xenopus laevis* oocytes *in vitro*. *Environmental Health Perspectives*, 107, 285-292.
 - 11 Maness SC, McDonnell DP, and Gaido KW (1998) Inhibition of androgen receptor-dependent transcriptional activity by DDT isomers and methoxychlor in HepG2 human hepatoma cells. *Toxicology and Applied Toxicology*, 151, 135-142.
 - 12 Gaido KW, Maness SC, McDonnell DP, Dehal SS, Kupfer D, and Safe S.(2000) Interaction of methoxychlor and related compounds with estrogen receptor alpha and beta, and androgen receptor: structure-activity studies. *Molecular Pharmacology*, 58, 852-858.
 - 13 Cupp AS and Skinner MK (2001) Actions of the endocrine disruptor methoxychlor and its estrogenic metabolite on *in vitro* embryonic rat seminiferous cord formation and perinatal testis growth. *Reproductive Toxicology*, 15, 317-326.
 - 14 Blizzard D, Sueyoshi T, Negishi M, Dehal SS, and Kupfer D (2001) Mechanism of induction of cytochrome p450 enzymes by the proestrogenic endocrine disruptor pesticide-methoxychlor: interactions of methoxychlor metabolites with the constitutive androstane receptor system. *Drug Metabolism and Disposition*, 29, 781-785.
 - 15 Das S and Thomas P (1999) Pesticides interfere with the nongenomic action of a progestogen on meiotic maturation by binding to its plasma membrane receptor on fish oocytes. *Endocrinology*, 4, 1953-1956.
 - 16 Mehmood Z, Smith AG, Tucker MJ, Chuzel F, and Carmichael NG (2000) The development of methods for assessing the *in vivo* oestrogen-like effects of xenobiotics in CD-1 mice. *Food and Chemical Toxicology*, 38, 493-501.
 - 17 Okazaki K, Okazaki S, Nishimura S, Nakamura H, Kitamura Y, Hatayama K, Nakamura A, Tsuda T, Katsumata T, Nishikawa A and Hirose M (2001) A repeated 28-day oral dose toxicity study of methoxychlor in rats, based on the enhanced OECD test guideline 407' for screening endocrine-disrupting chemicals. *Archives of Toxicology*, 75, 513-521.
 - 18 Ashby J and Lefevre PA (2000) The Peripubertal Male Rat Assay as an Alternative to the Hershberger Castrated Male Rat Assay for the Detection of Anti-androgens, Oestrogens and Metabolic Modulators. *Journal of Applied Toxicology*, 20, 35-47.
 - 19 Gray LE Jr, Ostby J, Ferrell J, Rehnberg G, Linder R, Cooper R, Goldman J, Slott V, and Laskey J (1989) A dose-response analysis of methoxychlor-induced alterations of reproductive development and function in the rat. *Fundamental and Applied Toxicology*, 12, 92-108.
 - 20 Gray LE Jr, Ostby J, Cooper RL, and Kelce WR (1999) The estrogenic and antiandrogenic pesticide methoxychlor alters the reproductive tract and behavior without affecting pituitary size or LH and prolactin secretion in male rats. *Toxicology and Industrial Health*, 15, 37-47.
 - 21 Linder RE, Strader LF, Slott VL. and Suarez JD (1992) Endpoint of spermatotoxicity in the rat after short duration exposures to fourteen reproductive toxicants. *Reproductive Toxicology*, 6, 491-505.
 - 22 Cummings AM and Gray LE Jr (1987) Methoxychlor affects the decidual cell

-
- response of the uterus but not other progestational parameters in female rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 90, 330-336.
- ^{2 3} Walters LM, Rourke AW and Eroschenko VP (1993) Purified methoxychlor stimulates the reproductive tract in immature female mice. *Reproductive Toxicology* 7, 599-606.
- ^{2 4} You L, Casanova M, Bartolucci EJ, Fryczynski MW, Dorman DC, Everitt JI, Gaido KW, Ross SM, and Heck H. (2002) Combined effects of dietary phytoestrogen and synthetic endocrine-active compound on reproductive development in Sprague-Dawley rats: genistein and methoxychlor. *Toxicological Sciences*, 66, 91-104.
- ^{2 5} Palanza P, Morellini F, Parmigiani S and vom Saal FS (2002) Ethological methods to study the effects of maternal exposure to estrogenic endocrine disrupters: a study with methoxychlor. *Neurotoxicology and Teratology*, 24, 55-69
- ^{2 6} vom Saal FS, Nagel SC, Palanza P, Boehler M, Parmigiani S and Welshons WV (1995) Estrogenic pesticides: binding relative to E2 in MCF-7 cells and effects of exposure during fetal life on subsequent territorial behaviour in male mice. *Toxicology Letters*, 77, 343-350
- ^{2 7} Golub MS (2002) Cognitive testing (delayed non-match to sample) during oral treatment of female adolescent monkeys with the estrogenic pesticide methoxychlor. *Neurotoxicology and Teratology*, 24, 87-92.
- ^{2 8} Panter GH, Hutchinson TH, Lange R, Lye CM, Sumpter JP, Zerulla M, and Tyler CR (2002) Utility of a juvenile fathead minnow screening assay for detecting (anti-)estrogenic substances. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21, 319-326.
- ^{2 9} Ankley GT, Jensen KM, Kahl MD, Korte JJ, and Makynen EA (2001) Description and evaluation of a short-term reproduction test with the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 10, 1276-1290.

12. ニトロフェンの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

ニトロフェンの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、甲状腺への影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) 甲状腺への影響

Manson らによって、ニトロフェン 250 mg/kg を妊娠 11 日目に単回経口投与された LE ラットへの影響が検討¹されている。その結果として、4～48 時間後の胎児血清中 T₄ 濃度・母動物血清中 T₄ 濃度の低値、24 時間後の母動物血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

Manson らによって、ニトロフェン 15、30 mg/kg/day を 2 週間経口投与された甲状腺及び副甲状腺摘除ラット雌への影響が検討¹されている。その結果として、15 mg/kg/day 以上の投与群において、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・動物実験において、ニトロフェンについて血清中 T₄ 濃度・血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値が認められたとするある程度の信頼性が認められた報告が得られた。

参考文献

-
- ¹ Manson JM, Brown T, and Baldwin DM (1984) Teratogenicity of Nitrofen (2,4-Dichloro-4'-nitrodiphenyl Ether) and Its Effects on Thyroid Function in the Rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 73, 323-335.

13. トキサフェンの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

トキサフェンの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用に関連した作用の有無、プロジェステロン様作用に関連した作用の有無、甲状腺への影響に関連した作用の有無、神経への影響に関連した作用の有無及び薬物代謝酵素チトクローム P450 に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Soto らによって、トキサフェンについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 増殖試験(E-Screen Assay)の検討¹が行われている。トキサフェンは、 1.0×10^{-5} M の濃度においてヒト乳がん細胞 MCF7 の増殖を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Stelzer と Chan によって、 17β -エストラジオール共存下及び非共存下でのヒト乳がん細胞 MCF-7-E3 増殖試験(E-Screen Assay)の検討²が行われている。トキサフェンは、 1.0×10^{-5} M の濃度において 17β -エストラジオールによるヒト乳がん細胞 MCF-7 の増殖を阻害し、単独では 1.0×10^{-5} M の濃度でヒト乳がん細胞 MCF-7 の増殖を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Jørgensen らによって、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 及び MIDA-MB-231 での、 17β -エストラジオール共存下または非共存下でのクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ活性誘導について検討³が行われている。トキサフェンは、 1.0×10^{-5} M の濃度において 17β -エストラジオールによる MCF-7 及び MIDA-MB-231 でのクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ活性誘導を阻害したが、単独では活性を誘導しなかった。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Hodges らによって、トキサフェンについて、エストロゲン受容体応答性遺伝子発現系をもつ形質転換ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのルシフェラーゼ活性誘導について検討⁴が行われている。トキサフェンは、 EC_{25} 値 1.0×10^{-5} M でルシフェラーゼ活性を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Gaido らによって、トキサフェンについて、ヒトエストロゲン受容体、ラットエストロゲン受容体 あるいはラットエストロゲン受容体 応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト肝臓がん細胞 HepG2 において、ルシフ

エラーゼ活性誘導について検討⁵が行われている。トキサフェンは、 2.4×10^{-6} ~ 2.4×10^{-5} M の濃度においてこれら 3 種類の HepG2 でのルシフェラーゼ活性を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Crain らによって、トキサフェンについて、ミシシッピーワニ及びミシシッピーアカミミガメ卵管エストロジェン受容体への 17β-エストラジオールの結合阻害について検討⁶が行われている。トキサフェンは、 1.87×10^{-5} M 付近(ほぼ IC₅₀ 値に相当)の濃度において各エストロジェン受容体への 17β-エストラジオールの結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) プロジェステロン様作用

Hodges らによって、トキサフェンについて、ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのプロジェステロン受容体 mRNA 誘導について検討¹が行われている。トキサフェンは、 1.0×10^{-7} M の濃度においてプロジェステロン受容体 mRNA を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) 甲状腺への影響

Waritz らによって、トキサフェン 75 mg/kg/day を 10 週齢から 28 日間経口投与された SD ラットへの影響が⁷検討されている。その結果として、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(4) 神経への影響

Olson らによって、トキサフェン 0.05 mg/kg./day を妊娠 5 日目から試験開始まで混餌投与されたホルツマンラット児動物への影響⁸が検討されている。その結果として、70~90 日齢での対称迷路学習試験における試行回数の高値、70~90 日齢での対称迷路記憶試験における誤回数・走行時間の高値、10~12 日齢での水泳試験スコアの低値、7~17 日齢での立ち直り反射試験スコアの低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(5) 薬物代謝酵素チトクローム P450 関連作用

Campbell らによって、トキサフェン 83 mg/kg/day を隔日 2 回腹腔内投与された未成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討⁹されている。その結果として、肝臓チトクローム P450 誘導が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・トキサフェンのエストロゲン様作用については、試験管内試験において、ヒト乳がん細胞 MCF7 の増殖の誘導・ 17β -エストラジオールによるヒト乳がん細胞 MCF-7 の増殖の阻害・ 17β -エストラジオールによるエストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 MCF-7 及び MIDA-MB-231 でのクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ活性誘導の阻害・エストロゲン受容体応答性遺伝子発現系をもつ形質転換ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのルシフェラーゼ活性の誘導・ヒトエストロゲン受容体、ラットエストロゲン受容体 あるいはラットエストロゲン受容体 応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト肝臓がん細胞 HepG2 でのルシフェラーゼ活性の誘導・ミシシッピーワニ及びミシシッピーアカミミガメ卵管エストロゲン受容体への 17β -エストラジオールの結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・トキサフェンのプロジェステロン様作用については、試験管内試験において、ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのプロジェステロン受容体 mRNA の誘導が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・動物実験において、トキサフェンについて血清中甲状腺刺激ホルモン濃度・対称迷路学習試験における試行回数・対称迷路記憶試験における誤回数・対称迷路記憶試験における走行時間の高値、水泳試験スコア・立ち直り反射試験スコアの低値、肝臓チトクローム P450 の誘導が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

- 1 Soto AM, Chung KL, and Sonnenschein C (1994) The Pesticides Endosulfan, Toxaphene, and Dieldrin Have Estrogenic Effects on Human Estrogen-Sensitive Cells. *Environmental Health Perspectives*, 102, 80-383.
- 2 Stelzer A and Chan HM (1999) The relative estrogenic activity of technical toxaphene mixture and two individual congeners. *Toxicology*, 138, 69-80.
- 3 Jørgensen ECB, Autrup H, and Hansen JC (1997) Effect of toxaphene on estrogen receptor functions in human breast cancer cells. *Carcinogenesis*, 18,1651-1654
- 4 Hodges LC, Bergerson JS, Hunter DS, and Walker CL (2000) Estrogenic effects of organochlorine pesticides on uterine leiomyoma cells *in vitro*. *Toxicological Sciences*, 54, 355-364.
- 5 Gaido K, Dohme L, Wang F, Chen I Blankvoort B, Ramamoorthy K, and Safe S. (1998) Comparative estrogenic activity of wine extracts and organochlorine pesticide residues in food. *Environmental Health Perspectives* 106, 1347-1351.
- 6 Crain DA, Noriega N, Vonier PM, Arnold SF, McLachlan JA, and Guillette LJ Jr (1998) Cellular bioavailability of natural hormones and environmental

-
- contaminants as a function of serum and cytosolic binding factors. *Toxicology and Industrial Health*, 14, 261-273.
- 7 Waritz RS, Steinberg M, Kinoshita FK, Kelly CM, and Richter WR (1996) Thyroid function and thyroid tumors in toxaphene-treated rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 24, 184-192.
 - 8 Olson KL, Matsumura F, and Boush GM (1980) Behavioral effects on juvenile rats from perinatal exposure to low levels of toxaphene, and its toxic components, toxicant A, and toxicant B. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 9,247-257.
 - 9 Campbell, MA., Gyorkos, J, Leece, B, Homonko, K, and Safe, S (1983) The effect of twenty-two organochlorine pesticides as inducers of the hepatic drug-metabolizing enzymes. *General Pharmacology*, 14, 445-454.

14. トリフルラリンの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

トリフルラリンの有害影響に関連するものとして、生殖への影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) 生殖への影響

Beck によって、トリフルラリン 1000 mg/kg/day を妊娠 6 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^{1, 2}されている。その結果として、60~65 日齢新生児の骨格異常発生個体頻度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・動物実験において、トリフルラリンについて新生児の骨格異常発生個体頻度の高値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

-
- 1 Beck SL (1981) Assessment of adult skeletons to detect prenatal exposure to 2,4,5-T or Trifluralin in mice. *Teratology*, 23, 33-55.
 - 2 Beck SL (1993) Additional endpoints and overview of a mouse skeletal variant assay for detecting exposure to teratogens. *Teratology*, 47, 147-157.

15. ベンゾ(a)ピレンの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

ベンゾ(a)ピレンの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、生殖への影響に関連した作用の有無及び免疫への影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1)生殖への影響

Swartz と Mattison によって、ベンゾ(a)ピレン 1、5、10、50、100、500 mg/kg を単回腹腔内投与された成熟雌 C57BL/6 マウスへの影響が検討¹されている。その結果として、5 mg/kg 以上の投与群で 1 週間後の黄体数の低値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

Kristensen らによって、ベンゾ(a)ピレン 10 mg/kg/day を妊娠 7 日目から 10 日間経口投与された NMRI マウスへの影響が検討²されている。その結果として雌児動物の 6 ヶ月間生殖行動において出産児数・出産回数・平均同腹児数の低値、出産間隔日数の高値、雌児動物の 6 ヶ月間生殖行動後において卵巣重量・卵胞数・黄体数の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Bui らによって、ベンゾ(a)ピレン 50 mg/kg/day を妊娠 6 日目から 3 及び 6 日間皮下投与された SD ラットへの影響が検討³されている。その結果として、子宮絶対重量・胎児体重・生存胎児数の低値、吸収胚数の高値が認められた。また、ベンゾ(a)ピレン 50 mg/kg/day を疑妊娠 6 日目から 3 及び 6 日間皮下投与された雌 SD ラットへの影響が検討³されている。その結果として 3 及び 6 日間投与群の子宮内 cAMP 濃度・子宮内 cGMP 濃度の低値、6 日間投与群の子宮絶対湿重量(子宮脱落膜を含む)の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2)免疫への影響

Munson と White によって、ベンゾ(a)ピレン 2.5、10、20 mg/kg/day を 14 日間皮下投与された成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討⁴されている。その結果として、2.5 mg/kg/day 以上の投与群で脾臓(絶対・相対)重量・肺(絶対・相対)重量の高値、2.5、10 mg/kg/day 投与群で白血球に占める単球百分率の低値、2.5 mg/kg/day 投与群で脾臓細胞の対ヒツジ赤血球抗体産生率の高値、10 mg/kg/day 以上の投与群で肝臓(絶対・相対)重量の高値、10 mg/kg/day 投与群で胸腺相対重量・脾臓相対重量の低値、20 mg/kg/day 投与群で白血球濃度・脾臓細胞の対ヒツジ赤血球抗体産生率の低値が認めら

れた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Holladay らによって、ベンゾ(a)ピレン 50、100、150 mg/kg/day を妊娠 13 日目から 5 日間腹腔内投与された B6C3F1 ラットへの影響が検討⁵されている。その結果として妊娠 18 日目の胎児において、50 mg/kg/day 以上の投与群で胸腺細胞密度・肝臓細胞密度・胸腺細胞の免疫反応(CD4 + CD8 +、CD8 + HAS +)率の低値、胸腺細胞の免疫反応(CD4 - CD8 -、CD4 - CD8 +、CD8 - HSA +)率の高値、100 mg/kg/day 以上の投与群で肝臓細胞の免疫反応(CD44 +)率の低値、胸腺細胞の免疫反応(CD8 + HSA -、CD8 - HSA -)率の高値、150 mg/kg/day 投与群で肝臓細胞の免疫反応(CD45R + TdT +)率の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・動物実験において、ベンゾ(a)ピレンについて黄体数・出産児数・出産回数・平均同腹児数・卵巣重量・卵胞数・子宮絶対重量・胎児体重・生存胎児数・子宮内 cAMP 濃度・子宮内 cGMP 濃度・白血球に占める単球百分率・胸腺相対重量・白血球濃度・胸腺細胞密度・肝臓細胞密度・胸腺細胞の免疫反応(CD4 + CD8 +、CD8 + HAS +)率・肝臓細胞の免疫反応(CD44 +)率・肝臓細胞の免疫反応(CD45R + TdT +)率の低値、出産間隔日数・吸収胚数・肺(絶対・相対)重量・肝臓(絶対・相対)重量・胸腺細胞の免疫反応(CD4 - CD8 -、CD4 - CD8 +、CD8 - HSA +)率・胸腺細胞の免疫反応(CD8 + HSA -、CD8 - HSA -)率の高値、脾臓重量・脾臓細胞の対ヒツジ赤血球抗体産生率の高値または低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

- 1 Swartz WJ & Mattison DR (1985) Benzo(a)pyrene Inhibits Ovulation in C57BL/6N Mice. *The Anatomical Record*, 212, 268-276.
- 2 Kristensen P, Eilertsen E, Einarsdottir E, Haugen A, Skaug V & Ovrebo S (1995) Fertility in Mice after Prenatal Exposure to Benzo[a]pyrene and Inorganic Lead. *Environmental Health Perspectives*, 103, 588-590.
- 3 Bui QQ, Tran MB & West WL (1986) A comparative study of the reproductive effects of methadone and benzo[a]pyrene in the pregnant and pseudopregnant rat. *Toxicology*, 42, 195-204.
- 4 Munson AE and White KL (1985) Immunotoxicity of Benzopyrenes in Fischer 344 Rats (Final Report). EPA Document No. FY1-AX-0686-0309, 1-15
- 5 Holladay SD & Smith BJ (1994) Fetal hematopoietic alterations after maternal exposure to benzo[a]pyrene: a cytometric evaluation. *Journal of Toxicology and*

Environmental Health, 42, 259-273.

16. アルディカーブの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

アルディカーブの有害影響に関連するものとして、プロジェステロン様作用に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) プロジェステロン様作用

Klotz らによって、アルディカーブについて、プロジェステロン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 T47D におけるルシフェラーゼ活性誘導についての検討¹が行われている。アルディカーブは、 $1.0 \times 10^{-7} \text{M}$ の濃度において形質転換ヒト乳がん細胞 T47D でのルシフェラーゼ活性を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Klotz らによって、アルディカーブについて、ヒト乳がん細胞 T47D プロジェステロン受容体への R5020(強力なプロジェステロン受容体アゴニストの一種)の結合阻害についての検討¹が行われている。アルディカーブは、 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてヒト乳がん細胞 T47D プロジェステロン受容体への R5020 の結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・アルディカーブのプロジェステロン様作用について、試験管内試験において、プロジェステロン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 T47D でのルシフェラーゼ活性の誘導・ヒト乳がん細胞 T47D プロジェステロン受容体への R5020(強力なプロジェステロン受容体アゴニストの一種)の結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

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, 1467-1475

17. ベノミルの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

ベノミルの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロジェン様作用に関連した作用の有無及び生殖への影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロジェン様作用

Scippo らによって、ベノミルについて、エストロジェン受容体 への - エストラジオールの結合阻害についての検討¹が行われている。アラクロールは、IC₅₀ 値 2.05×10^{-4} M でエストロジェン受容体 への - エストラジオールの結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) 生殖への影響

Linder らによって、ベノミル 1、5、15、45 mg/kg/day を 76~79 日間(この間に未投与雌と交配)経口投与された成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討²されている。その結果として、15 mg/kg/day 投与群で精細管萎縮発生個体頻度の高値、45 mg/kg/day 以上の投与群で精巣絶対重量・精巣上体絶対重量・精巣上体尾精子数の低値、精子形態異常発生個体頻度・精細管多核巨大細胞発生個体頻度・精巣上体多核巨大細胞発生個体頻度・精細管総異常発生個体頻度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Ellis らによって、ベノミル 31.2、62.4、125.0 mg/kg/day を妊娠 7 日目から 15 日間経口投与された SD ラットへの影響が検討³されている。その結果として、31.2 mg/kg/day 以上の投与群で胚吸収率・妊娠後期における胎児死亡率・胎児頭部異常発生個体頻度・身体異常発生個体頻度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Kavlock らによって、ベノミル 15.6、31.2 mg/kg/day を妊娠 7 日目から哺乳 15 日目まで 31 日間経口投与された Wistar ラットへの影響が検討⁴されている。その結果として、31.2 mg/kg/day 投与群で 100 日齢雄児動物の精巣絶対重量・前立腺(精嚢を含む)絶対重量の低値が認められた。また、ベノミル 15.6、31.2、62.5、125 mg/kg/day を妊娠 7 日目から 10 日間経口投与された Wistar ラットへの影響が検討⁴されている。その結果として妊娠 21 日目の胎児において、62.5 mg/kg/day 以上の投与群で体重・胸骨分節骨度数の低値、異常胎児数・上後頭骨度数の高値、62.5 mg/kg/day 投与群で脊椎不均衡発生個体頻度の高値、125 mg/kg/day 投与群で死亡率・異常胎児妊

娠発生個体頻度・片側心室肥大発生個体頻度の高値が認められた。また、ベノミル 169、298、505 mg/kg/day を妊娠 7 日目から 10 日間混餌投与された Wistar ラットへの影響が検討⁴されている。その結果として妊娠 21 日目の胎児において、298 mg/kg/day 以上の投与群で体重の低値、298 mg/kg/day 投与群で腎盂肥大発生個体頻度の高値、505 mg/kg/day 投与群で上後頭骨度数の高値が認められた。更に、ベノミル 50、100、200、mg/kg/day を妊娠 7 日目から 11 日間経口投与された CD-1 マウスへの影響が検討⁴されている。その結果として妊娠 18 日目の胎児において、100 mg/kg/day 以上の投与群で胎児体重の低値、過剰肋骨発生個体頻度・脊体不均衡発生個体頻度・上後頭骨度数の高値、200 mg/kg/day 投与群で胸骨分節数・尾部脊椎数の低値、死亡率・腎盂肥大発生個体頻度・片側心室肥大発生個体頻度の高値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Hess らによって、ベノミル 25、50、100、200、400、800 mg/kg を単回経口投与されてから 2 日後の成熟雄 CD ラットへの影響が検討⁵されている。その結果として、50 mg/kg 以上の投与群で輸出小管閉塞発生個体頻度の高値、100 mg/kg 以上の投与群で精細管上皮厚の低値、精細管直径・精細管上皮崩壊発生個体頻度の高値、200 mg/kg 以上の投与群で精巣絶対重量の高値が認められた。また、ベノミル 25、50、100、200、400 mg/kg を単回経口投与されてから 70 日後の成熟雄 CD ラットへの影響が検討⁵されている。その結果として、100 mg/kg 以上の投与群で輸出小管閉塞発生個体頻度・精巣萎縮発生個体頻度の高値、400 mg/kg 投与群で精巣重量・精細管直径の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Hoogenboom らによって、ベノミル 62.4 mg/kg/day を妊娠 7 日目から 15 日間経口投与された SD ラットへの影響が検討⁶されている。その結果として、着床数・胎児体重・胎児眼球の球面周距離の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Piersma らによって、ベノミル 10、30、90 mg/kg/day を交配 14 日前から出産後 6 日まで 28 日間経口投与された雌雄 Wistar ラットへの影響が検討⁷されている(OECD 421 準拠)。その結果として、90 mg/kg/day の投与群で父動物の性腺重量の低値、母動物の体重増加量・摂餌量の低値、1 及び 2 日齢児動物の体重の低値が認められた。また、ベノミル 90、270 mg/kg/day を妊娠 6 日目から 10 日間経口投与された Wistar ラットへの影響が検討⁷されている。その結果として、90 mg/kg/day 以上の投与群で母動物の体重

増加量・生存胎児数・胎児体重の低値、着床後胚消失率の高値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Carter らによって、ベノミル 200、400 mg/kg/day を 65 日齢から 10 日間経口投与され、更に 14 日後にヒト絨毛性性腺刺激ホルモンを単回皮下投与された齢雄 SD ラットへの影響が検討⁸されている。その結果として、200 mg/kg/day 以上の投与群で、精巣絶対重量・精巣上体尾絶対重量・精細管精子数・精巣上体頭精子数の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Carter らによって、ベノミル 125、250、500、1000 mg/kg/day を 75 日齢から 5 日間経口投与され、更に回復期間として 29～31 日後の雄 SD ラットへの影響が検討⁹されている。その結果として、250 mg/kg/day 以上の投与群で精巣上体頭精子数の低値、血清中卵胞刺激ホルモン濃度の高値が認められた。また、ベノミル 125、250、500、1000 mg/kg/day を 54 日齢から 5 日間経口投与され、更に回復期間として 29～31 日後の雄 SD ラットへの影響が検討⁹されている。その結果として、500 mg/kg/day 以上の投与群で精巣絶対重量・精巣上体尾絶対重量・精巣上体尾精子数の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Linder らによって、ベノミル 400 mg/kg を 102～103 日齢に単回経口投与された雄 SD ラットへの影響が検討¹⁰されている。その結果として、2 日後の精巣絶対重量の低値、2 日後の精巣上体絶対重量の高値、14 日後の精巣上体絶対重量の低値、14 日後の精巣中精子頭部数の低値、14 日後の精巣上体頭精子数・精巣上体尾精子数の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Spencer らによって、ベノミル 500、1000 mg/kg/day を偽妊娠 5 日目から 5 日間経口投与された SD ラットへの影響が検討^{11、12}されている。その結果として、子宮内膜絶対湿重量・子宮内膜蛋白質含量の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Barnes らによって、ベノミル 1.0、6.3、203 ppm(餌中濃度)を 70 日間(この間に未投与雌と交配)混餌投与された成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討¹³されている。その結果として、1.0 ppm 以上の投与群で妊孕率・右精巣(絶対・相対)重量・左精巣(絶対・相対)重量、203 ppm 投与群で射精精子数の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・ベノミルのエストロゲン様作用について、試験管内試験において、エストロゲン受容体 への エストラジオールの結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・動物実験において、ベノミルについて精細管萎縮発生個体頻度・精子形態異常発生個体頻度・精細管多核巨大細胞発生個体頻度・精巣上体多核巨大細胞発生個体頻度・精細管総異常発生個体頻度・胚吸収率・妊娠後期における胎児死亡率・胎児頭部異常発生個体頻度・身体異常発生個体頻度・異常胎児数・上後頭骨度数・脊体不均衡発生個体頻度・異常胎児妊娠発生個体頻度・片側心室肥大発生個体頻度・腎盂肥大発生個体頻度・過剰肋骨発生個体頻度・輸出小管閉塞発生個体頻度・精細管上皮崩壊発生個体頻度・着床後胚消失率・血清中卵胞刺激ホルモン濃度の高値、精巣上体絶対重量・精巣上体尾絶対重量・精巣上体尾精子数・精細管精子数・精巣上体頭精子数・精巣中精子頭部数・射精精子数・妊孕率・前立腺(精嚢を含む)絶対重量・胎児体重・胸骨分節骨度数・胸骨分節数・尾部脊椎数・精細管上皮厚・着床数・胎児眼球の球面周距離・父動物の性腺重量・体重増加量・摂餌量・生存胎児数・子宮内膜絶対湿重量・子宮内膜蛋白質含量の低値、精巣重量・精細管直径の高値または低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

- 1 Scippo ML, Argiris C, Van De Weerd C, Muller M, Willemsen P, Martial J, and Maghuin-Rogister G (2003) Recombinant human estrogen, androgen and progesterone receptors for detection of potential endocrine disruptors. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 378, 664-669.
- 2 Linder RE, Rehnberg GL, Strader LF, and Diggs JP (1983) Evaluation of reproductive parameters in adult male Wistar rats after subchronic exposure (gavage) to benomyl. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 25, 285-298.
- 3 Ellis WG, Semple JL, Hoogenboom ER, Kavlock RJ, and Zeman FJ (1987) Benomyl-induced cranio-cerebral anomalies in fetuses of adequately nourished and protein-deprived rats. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 7, 357-375.
- 4 Kavlock RJ, Chernoff N, Gray LE Jr, Gray JA, and Whitehouse D (1982) Teratogenic effects of benomyl in the Wistar rat and CD-1 mouse, with emphasis on the route of administration. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 62, 44-54.
- 5 Hess RA, Moore BJ, Forrer J, Linder RE, and Abuel-Atta AA (1991) The fungicide benomyl (methyl 1-(butylcarbamoyl)-2-benzimidazolecarbamate) causes testicular dysfunction by inducing the sloughing of germ cells and occlusion of efferent ductules. *Fundamental and Applied Toxicology*, 17, 733-745.
- 6 Hoogenboom ER, Ransdell JF, Ellis WG, Kavlock RJ, and Zeman FJ (1991) Effects on the fetal rat eye of maternal benomyl exposure and protein malnutrition. *Current Eye Research*, 10, 601-612.
- 7 Piersma AH, Verhoef A, and Dortant PM (1995) Evaluation of the OECD 421

-
- reproductive toxicity screening test protocol using 1-(butylcarbamoyl)-2-benzimidazolecarbamate (benomyl). *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 15, 93-100.
- ⁸ Carter SD and Laskey JW (1982) Effect of benomyl on reproduction in the male rat. *Toxicology Letters*, 11, 87-94.
- ⁹ Carter SD, Hein JF, Rehnberg GL, and Laskey JW (1984) Effect of benomyl on the reproductive development of male rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 13, 53-68.
- ¹⁰ Linder RE, Strader LF, Slott VL, and Suarez JD (1992) Endpoint of spermatotoxicity in the rat after short duration exposures to fourteen reproductive toxicants. *Reproductive Toxicology*, 6, 491-505.
- ¹¹ Spencer F, Chi L, and Zhu MX (1996) Effect of benomyl and carbendazim on steroid and molecular mechanisms in uterine decidual growth in rats. *Journal of Applied Toxicology*, 16, 211-214.
- ¹² Spencer F, Chi L, and Zhu MX (1998) Biochemical characterization of benomyl inhibition on endometrial growth during decidualization in rats. *Reproductive Toxicology*, Edited by del Mazo, Plenum Press, New York, 163-169.
- ¹³ Barnes TB, Verlangieri AJ, and Wilson MC (1983) Reproductive toxicity of methyl-1-(butylcarbamoyl)-2-benzimidazole carbamate (benomyl) in male Wistar rats. *Toxicology*, 28, 103-115.

18. キーボンの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

キーボンの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用に関連した作用の有無、プロゲステロン様作用に関連した作用の有無、アンドロゲン様作用に関連した作用の有無、魚類卵巣ステロイド受容体への作用に関連した作用の有無、生殖への影響に関連した作用の有無、神経への影響に関連した作用の有無及び薬物代謝酵素チトクローム P450 関連作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Hodges らによって、キーボンについて、ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 細胞増殖についての検討¹が行われている。キーボンは、 $1.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度において細胞増殖を誘導した。また、キーボンについて、エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのルシフェラーゼ活性誘導についての検討¹が行われている。キーボンは、 EC_{25} 値 $5.0 \times 10^{-6} \text{M}$ でルシフェラーゼ活性を誘導した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Flouriot らによって、キーボンについて、ニジマスエストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換雄ニジマス肝臓細胞でのクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ活性誘導についての検討²が行われている。キーボンは、 $1.0 \times 10^{-6} \text{M}$ の濃度においてクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ活性を誘導した。また、キーボンについて、ニジマスエストロゲン受容体への β -エストラジオールの結合阻害についての検討²が行われている。キーボンは、 $1.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ の濃度においてニジマスエストロゲン受容体への β -エストラジオールの結合を阻害した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Laws らによって、キーボンについて、ラット子宮エストロゲン受容体への β -エストラジオールの結合阻害についての検討³が行われている。キーボンは、 Ki 値 $1.5 \times 10^{-6} \text{M}$ でラット子宮エストロゲン受容体への β -エストラジオールの結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Kelce らによって、キーボンについて、ラット子宮エストロゲン受容体への β -エストラジオールの結合阻害についての検討⁴が行われている。キーボンは、 IC_{50} 値 $3.0 \times 10^{-6} \text{M}$ でラット子宮エストロゲン受容体への β -エストラジオールの結合を阻害した。この試験結果については文献上からみ

て信頼性が認められた。

Blair らによって、キーポンについて、ラット子宮エストロジェン受容体への17β-エストラジオールの結合阻害についての検討⁵が行われている。キーポンは、IC₅₀ 値 $7.0 \times 10^{-6} \text{M}$ でラット子宮エストロジェン受容体への17β-エストラジオールの結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Loomis と Thomas によって、キーポンについてアトランティッククローカー(ニベ科魚類)の精巣及び肝臓エストロジェン受容体への17β-エストラジオールの結合阻害についての検討⁶が行われている。キーポンは、IC₅₀ 値 $4.5 \times 10^{-5} \text{M}$ で精巣エストロジェン受容体への、 $1.0 \times 10^{-4} \text{M}$ で肝臓エストロジェン受容体への17β-エストラジオールの結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Bradlow らによって、キーポンについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 での17β-エストラジオール代謝への影響の検討⁷が行われている。キーポンは、 $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度において17β-エストラジオール2位炭素への水酸基導入反応を抑制し、16β位への水酸基導入反応を促進した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Smeets らによって、キーポンについて、雄コイ肝臓細胞でのビテロジェニン誘導についての検討⁸が行われている。キーポンは、 $2.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度において雄コイ肝臓細胞のビテロジェニンを誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Flouriot らによって、キーポンについて、雄ニジマス肝臓細胞でのビテロジェニン誘導についての検討²が行われている。キーポンは、 $1.0 \times 10^{-7} \text{M}$ の濃度において雄コイ肝臓細胞のビテロジェニンを誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Gray らによって、キーポン 1 mg/pup を1日齢に単回皮下投与され、69日齢に卵巣摘出テストステロンプロピオネート埋設処理された雌 Golden Syrian ハムスターへの影響⁹が検討されている。その結果として、8日齢の膣開口率の高値、99日齢の性行動試験(対未投与雌)での総マウント回数の高値が認められた。

Johnson らによって、キーポン 1.3、3.8、7.5、15、30 mg/kg/day を29~30日齢から3日間皮下投与された卵巣摘出 Holtzman ラットへの影響¹⁰が検討されている。その結果として、15 mg/kg/day 以上の投与群で子宮相対重量の高値、子宮 cAMP 含量の低値が認められた。また、これらの影響はエストロゲン受容体アンタゴニスト ICI-182,780 の同時投与によって消

失した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。
これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) プロジェステロン様作用

Hodges らによって、キーポンについて、ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのプロジェステロン受容体 mRNA 誘導について検討¹が行われている。キーポンは、 $1.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてプロジェステロン受容体 mRNA を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Laws らによって、キーポンについて、ラット子宮プロジェステロン受容体へのプロメストンの結合阻害についての検討³が行われている。キーポンは、 K_i 値 $2.3 \times 10^{-6} \text{M}$ でラット子宮プロジェステロン受容体へのプロメストンの結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Eckols らによって、キーポン 75 mg/kg を 21 日齢に単回皮下投与された雌 F344 ラットへの影響¹¹が検討されている。その結果として、子宮プロジェステロン受容体発現量の高値が認められた。また、キーポン 75 mg/kg を 28 日齢に単回皮下投与された卵巣摘出 F344 ラットへの影響が検討されている。その結果として、子宮プロジェステロン受容体発現量の高値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) アンドロジェン様作用

Kelce らによって、キーポンについて、ラット前立腺アンドロジェン受容体への R1881 の結合阻害について検討⁴が行われている。キーポンは、 IC_{50} 値 $1.25 \times 10^{-4} \text{M}$ (K_i 値 $4.1 \times 10^{-5} \text{M}$) でラット前立腺アンドロジェン受容体への R1881 の結合を阻害した。また、キーポンについて、ラット精巣上体ミクロソームでのテストステロン代謝への影響の検討⁴が行われている。キーポンは、 IC_{50} 値 $2.0 \times 10^{-4} \text{M}$ で、テストステロン 5 位の脱水素化反応を阻害した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(4) 魚類卵巣ステロイド受容体への作用

Das と Thomas によって、キーポンについて、スポットテッドシートラウト卵巣ステロイド受容体への 17,20 β ,21-トリヒドロキシ-4-プレグネン-3-オンの結合阻害についての検討¹²が行われている。キーポンは、 IC_{50} 値 $2 \times 10^{-6} \text{M}$ でスポットテッドシートラウト卵巣ステロイド受容体への 17,20 β ,21-トリヒドロキシ-4-プレグネン-3-オン結合を阻害した。また、キーポンは、 $1.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{M}$ の濃度においてスポットテッドシートラウト

卵子での 17,20 ,21-トリヒドロキシ-4-プレグネン-3-オンによる卵胞誘導を阻害した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(5)生殖への影響

Eroschenko によって、キーポン 0.015、0.03、0.06、0.125 mg/pup/day を 1 日齢から 10 日間連続皮下投与された雌 Swiss-Webster マウスへの影響¹³が検討されている。その結果として、0.015 mg/pup/day 以上の投与群で全生殖腺絶対重量の高値、0.125 mg/pup/day 投与群で子宮上皮細胞厚の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Gray らによって、キーポン 0.25、0.5、1 mg/pup を 3 日齢に単回皮下投与された雄 Golden Syrian ハムスターへの影響⁹が検討されている。その結果として、1 mg/pup 投与群で 189 日齢の両精巣絶対重量・精巣上体絶対重量の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Linder らによって、キーポン 5、15、30 ppm を 100 日齢から 90 日間混餌投与された雄 SD ラットへの影響¹⁴が検討されている。その結果として、15 ppm 以上の投与群で右精巣上体尾中精子数・生存精子率・運動性精子率の低値、30 ppm 投与群で体重・精囊絶対重量・前立腺絶対重量の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(6)神経への影響

Gray らによって、キーポン 0.25、0.5、1 mg/pup を 1 日齢に単回皮下投与され、179 日齢に卵巣摘出テストステロンプロピオネート注射された雌 Golden Syrian ハムスターへの 189 日齢のオープンフィールド試験における影響⁹が検討されている。その結果として、0.25、1 mg/pup 投与群でオープンフィールド試験における潜時の高値、0.5 mg/pup 以上の投与群で立ち上がり行動・識別機能の低値、1 mg/pup 投与群で移動行動の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Rosecrans らによって、キーポン 6 ppm を交配前 60 日間から哺育 12 日目まで混餌投与された F344 ラットへの影響¹⁵が検討されている。その結果として 70 日齢児動物において、熱ストレス継続に伴う tail flick 潜時・前頭葉中 5-ヒドロキシトリプタミン(5-HT)濃度の低値、海馬中 5-ヒドロキシインドール酢酸(5-HIAA)濃度・尾状核 5-HIAA/5-HT 比の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(7)薬物代謝酵素チトクローム P450 関連作用

Campbellらによって、キーボン 9.8 mg/kg/day を隔日 2 回腹腔内投与された未成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討¹⁶されている。その結果として、肝臓チトクローム P450 の誘導が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・キーボンのエストロゲン様作用について、試験管内試験において、ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 細胞増殖の誘導・エストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのルシフェラーゼ活性の誘導・ニジマスエストロゲン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換雄ニジマス肝臓細胞でのクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ活性の誘導・ニジマスエストロゲン受容体への 17β-エストラジオールの結合の阻害・ラット子宮エストロゲン受容体への 17β-エストラジオールの結合の阻害・アトランティッククローカー(ニベ科魚類)の精巣及び肝臓エストロゲン受容体への 17β-エストラジオールの結合の阻害・ヒト乳がん細胞 MCF-7 での 17β-エストラジオール 2 位炭素への水酸基導入反応の抑制と 16 位への水酸基導入反応の促進・雄コイ肝臓細胞でのビテロジェニンの誘導・雄ニジマス肝臓細胞でのビテロジェニンの誘導が認められたとする信頼性のある報告が得られた。動物実験において、膣開口率・性行動試験(対未投与雌)での総マウント回数・子宮相対重量の高値、子宮 cAMP 含量の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・キーボンのプロジェステロン様作用について、試験管内試験において、ラット子宮平滑筋腫細胞 ELT3 でのプロジェステロン受容体 mRNA の誘導・ラット子宮プロジェステロン受容体へのプロメストンの結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。動物実験において、子宮プロジェステロン受容体発現量の高値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・キーボンのアンドロゲン様作用について、試験管内試験において、ラット前立腺アンドロゲン受容体への R1881 の結合の阻害・ラット精巣上体ミクロソームでのテストステロン 5 位の脱水素化反応の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・キーボンの魚類卵巣ステロイド受容体への作用について、試験管内試験において、スポットテッドシートラウト卵巣ステロイド受容体への 17,20,21-トリヒドロキシ-4-プレグネン-3-オンの結合の阻害・スポットテッドシートラウト卵子での 17,20,21-トリヒドロキシ-4-プレグネン-3-オンによる卵巣誘導の阻害が認

められたとする信頼性のある報告が得られた。

・動物実験において、キーポンについて、全生殖腺絶対重量・子宮上皮細胞厚・オープンフィールド試験における潜時・海馬中 5-ヒドロキシインドール酢酸 (5-HIAA)濃度・尾状核 5-HIAA/5-HT 比の高値、両精巣絶対重量・精巣上体絶対重量・右精巣上体尾中精子数・生存精子率・運動性精子率・体重・精嚢絶対重量・前立腺絶対重量・立ち上がり行動・識別機能・移動行動・熱ストレス継続に伴う tail flick 潜時・前頭葉中 5-ヒドロキシトリプタミン(5-HT)濃度の低値、肝臓チトクローム P450 の誘導が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

- 1 Hodges LC, Bergerson JS, Hunter DS and Walker CL (2000) Estrogenic effects of organochlorine pesticides on uterine leiomyoma cells *in vitro*. *Toxicological Sciences*, 54, 355-364.
- 2 Flouriot G, Pakdel F, Ducouret B, and Valotrire Y (1995) Influence of xenobiotics on rainbow trout liver estrogen receptor and vitellogenin gene expression. *Journal of Molecular Endocrinology*, 15, 143-151.
- 3 Laws SC, Carey SA, Ferrell JM, Bodman GJ, and Cooper RL (2000) Estrogenic Activity of Octylphenol, Nonylphenol, Bisphenol A and Methoxychlor in Rats. *Toxicological Sciences*, 54, 154-167
- 4 Kelce WR, Stone CR, Laws SC, Gray LE, Kemppainen JA, and Wilson EM (1995) Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature*, 375, 581-585.
- 5 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, 138-153.
- 6 Loomis AK and Thomas P (1999) Binding Characteristics of Estrogen Receptor (ER) in Atlantic Croaker (*Micropogonias undulatus*) Testis: Different Affinity for Estrogens and Xenobiotics from that of Hepatic ER. *Biology of Reproduction*, 61, 51-60.
- 7 Bradlow HL, Davis DL, Lin G, Sepkovic D, and Tiwari R (1995) Effects of Pesticides on the Ratio of 16 α /2-Hydroxyestrone: A Biologic Marker of Breast Cancer. *Risk. Environmental Health Perspectives*, 103, 147-150.
- 8 Smeets JMW, van Holsteijn I, Giesy JP, Seinen W, and van den Berg M (1999) Estrogenic Potencies of Several Environmental Pollutants, as Determined by Vitellogenin Induction in a Carp Hepatocyte Assay. *Toxicological Sciences*, 50, 206-213.
- 9 Gray LE (1982) Neonatal chlordecone exposure alters behavioral sex differentiation in female hamsters. *Neurotoxicology*, 3, 67-69.
- 10 Johnson DC, Banerjee S and Chatterjee S (1995) Estradiol and Chlordecone (Kepone) Decrease Adenosine 3'5'-Cyclic Monophosphate Concentrations in the Ovariectomized Immature rat Uterus. *The Society for Experimental Biology and Medicine*, 210, 33-38.

-
- ^{1 1} Eckols K, Williams J, and Uphouse L (1989) Effects of Chlordecone on Progesterone Receptors in Immature and Adult Rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 100, 506-516.
 - ^{1 2} Das S and Thomas P (1999) Pesticides interfere with the nongenomic action of a progestogen on meiotic maturation by binding to its plasma membrane receptor on fish oocytes. *Endocrinology*, 4, 1953-1956.
 - ^{1 3} Eroschenko VP (1982) Surface Changes in Oviduct, Uterus and Vaginal Cells of Neonatal Mice After Estradiol-17 β and the Insecticide Chlordecone (Kepone) Treatment: A Scanning Electron Microscopic Study. *Biology of Reproduction*, 26, 707-720.
 - ^{1 4} Linder RE, Scotti TM, McElroy WK, Laskey JW, Strader LF, and Powell K (1983) Spermotoxicity and tissue accumulation of chlordecone (kepone) in male rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 12, 183-192.
 - ^{1 5} Rosecrans JA, Hong JS, Squibb RE, Johnson JH, Wilson WE, and Tilson HA (1982) Effects of perinatal exposure to chlordecone (Kepone) on neuroendocrine and neurochemical responsiveness of rats to environmental challenges., 3, 131-142.
 - ^{1 6} Campbell, MA., Gyorkos, J, Leece, B, Homonko, K, and Safe, S (1983) The effect of twenty-two organochlorine pesticides as inducers of the hepatic drug-metabolizing enzymes. *General Pharmacology*, 14, 445-454.

19. マンゼブの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

マンゼブの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、コルチゾール分泌への影響に関連した作用の有無、生殖への影響に関連した作用の有無及び甲状腺への影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) コルチゾール分泌への影響

Bisson と Hontela によって、マンゼブについて、ニジマス副腎皮質細胞でのコルチゾール分泌への影響が検討¹されている。マンゼブは 5.0×10^{-5} ~ 5.0×10^{-3} M の濃度においてジブチルシリル cAMP 刺激性コルチゾール分泌を抑制した。また、マンゼブは、EC₅₀ 値 3.12×10^{-4} M で、副腎皮質刺激ホルモン刺激性コルチゾール分泌を抑制した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) 生殖への影響

Bindali と Kaliwal によって、マンゼブ 18、24、30、36 mg/kg/day を妊娠 1 日目から 8 日間経口投与された Swiss マウスへの影響が検討²されている。その結果として、24 mg/kg/day 以上の投与群で子宮相対重量・着床数の低値、発情間期の短縮が認められた。また、マンゼブ 36 mg/kg/day を妊娠 1 日目から 8 日間経口投与された Swiss マウスへの影響が検討²されている。その結果として、子宮相対重量・着床数の低値、発情間期の短縮が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Baligar と Kaliwal によって、マンゼブ 500、600、700、800 mg/kg/day を 30 日間経口投与された成熟雌 Wistar ラットへの影響が検討³されている。その結果として、500 mg/kg/day 以上の投与群で発情周期数・正常卵胞数・肝臓中総脂質濃度の低値、発情間期の延長、600 mg/kg/day 以上の投与群で子宮中グリコーゲン濃度・子宮中総脂質濃度の低値、閉鎖性卵胞数・甲状腺相対重量の高値、700 mg/kg/day 以上の投与群で子宮中リン脂質濃度・子宮中中性脂質濃度・卵巣中蛋白質濃度の低値、卵巣及び肝臓中リン脂質濃度・卵巣及び肝臓中中性脂質濃度の高値、800 mg/kg/day 投与群で卵巣中グリコーゲン濃度・子宮中総蛋白質濃度の低値、卵巣中総脂質濃度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Lu と Kennedy によって、マンゼブ 110、890 µg/L を妊娠 6 日目から 10

日間(6時間/日)呼気曝露された CD ラットへの影響が検討⁴されている。その結果として、110 µg/L 以上の曝露区で体重・体重増加量の低値、890 µg/L 曝露区で生存率・妊娠継続率の低値、胎児の出血・肋骨湾曲発生個体頻度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) 甲状腺への影響

Trivedi らによって、マンゼブ 500、1000、1500 mg/kg/day を 90 日間経口投与された成熟雄 ITRC ラットへの影響が検討⁵されている。その結果として、500 mg/kg/day 以上の投与群で血清 T₄ 濃度・甲状腺相対重量の高値が認められた。1500 mg/kg/day 投与群で甲状腺ペルオキシダーゼ活性の低値、病理組織学的検査における甲状腺濾胞細胞の肥大・甲状腺濾胞細胞の過形成・甲状腺濾胞細胞のコロイド消失が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・マンゼブのコルチゾール分泌への影響について、試験管内試験において、ニジマス副腎皮質細胞でのジブチルシリル cAMP 刺激性コルチゾール分泌及び副腎皮質刺激ホルモン刺激性コルチゾール分泌の抑制が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

- ・動物実験において、マンゼブについて子宮相対重量・着床数・発情周期数・正常卵胞数・肝臓中総脂質濃度・子宮中グリコーゲン濃度・子宮中総脂質濃度・子宮中リン脂質濃度・子宮中中性脂質濃度・卵巣中蛋白質濃度・卵巣中グリコーゲン濃度・子宮中総蛋白質濃度・体重・体重増加量・生存率・妊娠継続率・甲状腺ペルオキシダーゼ活性の低値、閉鎖性卵胞数・甲状腺相対重量・卵巣及び肝臓中リン脂質濃度・卵巣及び肝臓中中性脂質濃度・卵巣中総脂質濃度・肋骨湾曲発生個体頻度・血清 T₄ 濃度の高値、発情間期の短縮または延長、胎児の出血、病理組織学的検査における甲状腺濾胞細胞の肥大・甲状腺濾胞細胞の過形成・甲状腺濾胞細胞のコロイド消失が認められたとする信頼性のある報告及びある程度の信頼性がある報告が得られた。

参考文献

¹ Bisson M and Hontela A (2002) Cytotoxic and endocrine-disrupting potential of atrazine, diazinon, endosulfan, and mancozeb in adrenocortical steroidogenic cells of rainbow trout exposed *in vitro*. Toxicology and Applied Pharmacology, 180,

110-117.

- 2 Bindali BB and Kaliwal BB (2002) Anti-implantation effect of a carbamate fungicide mancozeb in albino mice. *Industrial Health*, 40, 191-197.
- 3 Baligar PN and Kaliwal BB (2001) Induction of gonadal toxicity to female rats after chronic exposure to mancozeb. *Industrial Health*, 39, 235-243.
- 4 Lu MH and Kennedy GL Jr (1986) Teratogenic evaluation of mancozeb in the rat following inhalation exposure. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 84, 355-368.
- 5 Trivedi N, Kakkar R, Srivastava MK, Mithal A, and Raizada RB (1993) Effect of oral administration of fungicide-mancozeb on thyroid gland of rat. *Indian Journal of Experimental Biology*, 31, 564-566.

20. マンネブの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

マンネブの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、血清中甲状腺ホルモン濃度への影響に関連した作用の有無、生殖への影響に関連した作用の有無及び生態影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) 血清中甲状腺ホルモン濃度への影響

Laisi らによって、マンネブ 5、20、50 mg/kg を単回腹腔内投与後、低温処理(甲状腺刺激ホルモン分泌促進刺激として 4、30 分)された成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討¹されている。その結果として、5 mg/kg 投与群で血清中 T₃ 濃度の高値が認められた。また、マンネブ 5、20、50、100、200 mg/kg を単回腹腔内投与後、低温処理(甲状腺刺激ホルモン分泌促進刺激として 4、30 分)された成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討¹されている。その結果として、20 mg/kg 以上の投与群で血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) 生殖への影響

Beck によって、マンネブ 1200 mg/kg/day を 6 日目から 10 日間経口投与された雌 CD-1 マウスへの影響が検討²されている。その結果として、60～65 日齢新生児の骨格異常発生個体頻度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) 生態影響

Serio らによって、マンネブ 20、40 mg/kg を単回経口投与された成熟雌ニワトリへの影響が検討³されている。その結果として、40 mg/kg 投与群でドーパからノルエピネフリンへの代謝量の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Maci らによって、マンネブ 0.5、1.5、4.5、13.5 g/L に 30 秒間浸漬曝露されたニワトリ胚への 19 日後の影響が検討⁴されている。その結果として、0.5 g/L 以上の曝露区で胚奇形発生率の高値、0.5 及び 13.5 g/L 曝露区で胚生存率の低値が認められた。この試験結果については文献上からみての信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・動物実験において、マンネブについて新生児の骨格異常発生個体頻度・血清

中T₃濃度の高値、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・生態影響において、マンネブについてドーパからノルエピネフリンへの代謝量・胚生存率の低値、胚奇形発生率の高値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

-
- 1 Laisi A, Tuominen R, Mannisto P, Savolainen K, and Mattila J (1985) The effect of maneb, zineb, and ethylenethiourea on the humoral activity of the pituitary-thyroid axis in rat. *Archives of Toxicology, Suppl.* 8, 253-258.
 - 2 Beck SL (1993) Additional endpoints and overview of a mouse skeletal variant assay for detecting exposure to teratogens.. *Teratology*, 47, 147-157.
 - 3 Serio R, Long RA, Taylor JE, Tolman RL, Weppelman RM, and Olson G (1987) The antifertility and antiadrenergic actions of thiocarbamate fungicides in laying hens. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 72, 333-342.
 - 4 Maci R and Arias E (1987) Teratogenic effects of the fungicide maneb on chick embryos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 13, 169-173.

21. メチラムの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

メチラムの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、甲状腺への影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) 甲状腺への影響

Charles らによって、メチラム 5、80、320、960 ppm を 28 日齢から 91 日間混餌投与された雌(摂餌量から 0.4、6.7、27.3、88.8 mg/kg/day に換算される)及び雄(摂餌量から 0.4、5.8、23.5、73.9 mg/kg/day に換算される)Wistar ラットへの影響が検討¹されている。その結果として、0.4 mg/kg/day 以上の雌投与群で血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、0.4、6.7、27.3 mg/kg/day 雌投与群で血清中マグネシウム濃度の低値、6.7、88.8 mg/kg/day 雌投与群で血清中クレアチニン濃度・血清中アラニンアミノトランスフェラーゼ活性の低値、27.3 mg/kg/day 以上の雌投与群で 85 日目の赤血球数・血液ヘモグロビン濃度・ヘマトクリット値の低値、88.8 mg/kg/day 雌投与群で血清中 T₄ 濃度・血清中カルシウム濃度・血清中ナトリウム濃度・体重増加率・血清中アルカリフォスファターゼ活性の低値、甲状腺相対重量・肝臓相対重量の高値が認められた。一方、0.4 mg/kg/day 以上の雄投与群で血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の高値、0.4、5.8、23.5 mg/kg/day 雄投与群で血清中マグネシウム濃度の低値、23.5 mg/kg/day 以上の雄投与群で血清中 T₃ 濃度の高値、血清中無機りん酸濃度の低値、84 日目の赤血球数の低値、73.9 mg/kg/day 雄投与群で血清中 T₄ 濃度・血清中カルシウム濃度・血清中尿素濃度・体重増加率の低値、甲状腺(絶対・相対)重量・肝臓相対重量の高値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Charles らによって、メチラム 5、20、80、320 ppm を 28 日齢から 112 週間混餌投与された雌(摂餌量から 0.2、1.0、3.8、15.5 mg/kg/day に換算される)及び 119 週間混餌投与された雄(摂餌量から 0.2、0.8、3.1、12.3 mg/kg/day に換算される)CD ラットへの影響が検討¹されている。その結果として、15.5 mg/kg/day 雌投与群で 51 週目の血清中 T₄ 濃度の低値、104 週目の甲状腺への ¹³¹I 取り込み率の高値、50 週目の血液ヘモグロビン濃度の低値、50 週目の血清中尿素濃度の低値、50 週目の血清中ナトリウム濃度の高値が認められた。一方、12.3 mg/kg/day 雄投与群で 103 週目の血清中 T₃ 濃度の高値、52 週目の甲状腺への ¹³¹I 取り込み率の低値、50 週目の赤

血球数の低値、50週目の赤血球沈層容積の低値、50週目の血清中ナトリウム濃度の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Charlesらによって、メチラム 300、1000、3000、7500 ppm を28日齢から91日間混餌投与された雌(摂餌量から133、465、1448、3565 mg/kg/dayに換算される)及び雄(摂餌量から84、302、853、2367 mg/kg/dayに換算される)B6C3F1マウスへの影響が検討¹されている。その結果として、465 mg/kg/day以上の雌投与群で血清中T₄濃度・体重増加量の低値、1448 mg/kg/day以上の群で副腎(絶対・相対)重量の高値、3565 mg/kg/day雌投与群で肝臓相対重量の高値が認められた。一方、302 mg/kg/day以上の雄投与群で血清中T₄濃度の低値、853 mg/kg/day以上の雄投与群で肝臓相対重量の高値、2367 mg/kg/day雄投与群で血清中T₃濃度・肝臓絶対重量の高値、28日目体重増加量の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・動物実験において、メチラムについて血清中甲状腺刺激ホルモン濃度・甲状腺(絶対・相対)重量・肝臓重量・血清中T₃濃度・副腎(絶対・相対)重量の高値、血清中マグネシウム濃度・血清中クレアチニン濃度・血清中アラニンアミノトランスフェラーゼ活性・赤血球数・血液ヘモグロビン濃度・ヘマトクリット値・血清中T₄濃度・血清中カルシウム濃度・体重増加量・体重増加率・血清中アルカリフォスファターゼ活性・血清中無機りん酸濃度・血清中尿素濃度・赤血球沈層容積の低値、血清中ナトリウム濃度・甲状腺への¹³¹I取り込み率の高値または低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

-
- ¹ Charles JM, Tobia A, and van Ravenzwaay B (2000) Subchronic and chronic toxicological investigations on metiram: the lack of a carcinogenic response in rodents. *Toxicological Sciences* 54,481-492.

22. メトリブジンの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

メトリブジンの有害影響に関連するものとして、甲状腺への影響に関連した作用の有無及び神経への影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) 甲状腺への影響

Porter らによって、メトリブジン 10 ppm(飲水中濃度)を 6 及び 16 週間飲水投与された成熟雄 SD ラットへの影響が検討¹されている。その結果として血清中遊離 T₄ 濃度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) 神経への影響

Boyd らによって、メトリブジン 10 ppm(飲水中濃度)を 21 日齢から 90 日間飲水投与された雄 SD ラットへの影響が検討²されている。その結果として、海馬中アセチルコリン/コリン比の低値、T 字型迷路試験での習得所用日数の高値(遅延)が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・動物実験において、メトリブジンについて血清中遊離 T₄ 濃度の高値、T 字型迷路試験での習得所用日数の高値(遅延)、海馬中アセチルコリン/コリン比の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

-
- 1 Porter WP, Green SM, Debbink NL, and Carlson I (1993) Groundwater pesticides: interactive effects of low concentrations of carbamates aldicarb and methomyl and the triazine metribuzin on thyroxine and somatotropin levels in white rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 40, 15-34.
 - 2 Boyd CA, Weiler MH, and Porter WP (1990) Behavioral and neurochemical changes associated with chronic exposure to low-level concentration of pesticide mixtures. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 30, 209-221.

23. シペルメトリンの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

シペルメトリンには α -シペルメトリン(CAS No. 52315-07-8)、 β -シペルメトリン(CAS No. 65731-84-2)などの異性体が知られているが、内分泌攪乱化学物質に係わる実態調査においてはそれらの総量であるシペルメトリン(CAS No. 66841-24-5)について、測定が行われている。

シペルメトリンの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用に関連した作用の有無、血清中ホルモン等の濃度に関連した作用の有無、生殖への影響に関連した作用の有無及び生態影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Chen らによって、シペルメトリンについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 増殖試験(E-Screen Assay)の検討¹が行われている。シペルメトリンは、 1.0×10^{-8} M の濃度においてヒト乳がん細胞 MCF-7 増殖を誘導した。また、シペルメトリンについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのエストロゲン応答遺伝子発現の検討¹が行われている。シペルメトリンは、 1.0×10^{-6} M の濃度において、エストロゲン応答遺伝子 *pS2* の mRNA を誘導した。さらに、シペルメトリンについて、SD ラット子宮エストロゲン受容体への α -エストラジオールの結合阻害について検討¹が行われている。シペルメトリンは、 IC_{50} 値 5.62×10^{-5} M で SD ラット子宮エストロゲン受容体への α -エストラジオールの結合を阻害した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) 血清中ホルモン等の濃度への影響

Santoni らによって、シペルメトリン(trans : cis 異性体比 62.8 : 32.2)50 mg/kg/day を妊娠 7 日目から 10 日間経口投与された Wistar ラットへの影響が検討²されている。その結果として、50 ~ 60 日齢児動物の血清中アドレナリン濃度の低値、60 ~ 90 日齢児動物の血清中ノルアドレナリン濃度の低値、30 ~ 90 日齢児動物のレクチン刺激応答性脾臓細胞増殖の低値、30 ~ 90 日齢児動物のレクチン刺激応答性末梢血中リンパ増殖(リンパ球幼弱化現象)の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) 生殖への影響

Elbetieha らによって、シペルメトリン 8571、17143、34286 ppm(飲水中濃度。飲水量から 13.15、18.93、39.66 mg/rat/day と換算)を 80 ~ 90 日

齢から 12 週間飲水投与され、投与期間後 10 日間の妊孕能試験(対未投与雌)された雄 Wistar ラットへの影響が検討³されている。その結果として、13.15 mg/rat/day 以上の投与群で体重増加量・精巢中精子数・精巢の日毎精子産生数・精巢上体中精子数・精細管細胞総数・妊孕能試験での生存胎児数の低値、妊孕能試験での吸収胚発生率の高値、18.93 mg/rat/day 以上の投与群で面積当精細管数・精細管周長・妊孕能試験での妊娠率の低値、精巢絶対重量・精囊絶対重量・包皮腺絶対重量の高値、18.93 mg/rat/day 投与群で摂水量の低値、39.66 mg/rat/day 投与群で血清中テストステロン濃度・血清中卵胞刺激ホルモン濃度・血清中黄体形成ホルモン濃度・妊孕能試験での着床数の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(4)生態影響

Moore らによって、シペルメトリン 0.0001、0.001、0.01、0.05、0.1、0.5 µg/L に 5 日間曝露された成熟雄アトランティックサーモンへの影響が検討⁴されている。その結果として、0.0001、0.001、0.01 µg/L 曝露区で血漿中 17,18 -ジヒドロキシ-4-プロゲネン-3-オン濃度及びテストステロン濃度の高値、0.0001、0.001 µg/L 曝露区で血漿中ケトテストステロン濃度の高値、0.001 µg/L 曝露区で精巢絶対重量・胆汁中抱合型テストステロン濃度の高値、0.001 µg/L 曝露区で胆汁中遊離型テストステロン濃度の高値、0.01 µg/L 曝露区で胆汁中遊離型 17,18 -ジヒドロキシ-4-プロゲネン-3-オンの高値が認められた。また、シペルメトリン 0.001 µg/L に 5 日間曝露された成熟雄アトランティックサーモンへの影響が検討⁴されている。その結果としてプロスタグランジン F₂ 及び L-セリンによるプライミングフェロモン応答の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

- ・シペルメトリンのエストロジェン様作用について、試験管内試験において、ヒト乳がん細胞 MCF-7 の増殖の誘導・ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのエストロジェン応答遺伝子 *pS2* の mRNA の誘導・SD ラット子宮エストロジェン受容体への -エストラジオールの結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

- ・シペルメトリンの血清中ホルモン等の濃度への影響について、動物実験において、血清中アドレナリン濃度・血清中ノルアドレナリン濃度・レクチン刺激応答性脾臓細胞増殖の低値、レクチン刺激応答性末梢血中リンパ増殖(リンパ球

幼弱化現象)の高値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・動物実験において、シベルメトリンについて体重増加量・精巢中精子数・精巢の日毎精子産生数・精巢上体中精子数・精細管細胞総数・妊孕能試験での生存胎児数・面積当精細管数・精細管周長・妊孕能試験での妊娠率・摂水量・血清中テストステロン濃度・血清中卵胞刺激ホルモン濃度・血清中黄体形成ホルモン濃度・妊孕能試験での着床数の低値、妊孕能試験での吸収胚発生率・精巢絶対重量・精囊絶対重量・包皮腺絶対重量の高値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・生態影響において、シベルメトリンについて血漿中 17,18 -ジヒドロキシ-4-プログネン-3-オン濃度・血漿中テストステロン濃度・血漿中ケトテストステロン濃度・精巢絶対重量・胆汁中抱合型テストステロン濃度・胆汁中遊離型テストステロン濃度・胆汁中遊離型 17,18 -ジヒドロキシ-4-プログネン-3-オンの高値、プロスタグランジン F₂ 及び L-セリンによるプライミングフェロモン応答の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

-
- 1 Chen H, Xiao J, Hu G, Zhou J, Xiao H, and Wang X (2002) Estrogenicity of organophosphorus and pyrethroid pesticides. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 65, 1419-1435.
 - 2 Santoni G, Cantalamessa F, Spreghini E, Sagretti O, Staffolani M, and Piccoli M (1999) Alterations of T cell distribution and functions in prenatally cypermethrin-exposed rats: possible involvement of catecholamines. *Toxicology*, 138, 175-187.
 - 3 Elbetieha A, Da'as SI, Khamas W, and Darmani H (2001) Evaluation of the toxic potentials of cypermethrin pesticide on some reproductive and fertility parameters in the male rats. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 41, 522-528.
 - 4 Moore A and Waring CP (2001) The effects of a synthetic pyrethroid pesticide on some aspects of reproduction in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquatic Toxicology*, 52, 1-12.

24. エスフェンバレートの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

エスフェンバレートの有害影響に関連するものとして、生態影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) 生態影響

Barry によって、エスフェンバレート 0.005、0.01、0.05、0.1、0.5 μ g/L に二世代に渡り曝露されたミジンコ(*Daphnia carinata*)への影響が検討¹されている。その結果として、0.05 μ g/L 以上の曝露区で体長・産仔数の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・生態影響において、エスフェンバレートについて体長・産仔数の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

-
- ¹ Barry MJ, Logan DC, Ahokas JT, and Holdway DA (1995) Effect of algal food concentration on toxicity of two agricultural pesticides to *Daphnia carinata*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 32, 273-279.

25. フェンバレートの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

フェンバレートの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、エストロゲン様作用に関連した作用の有無、アンドロゲン様作用に関連した作用の有無、プロゲステロン様作用に関連した作用の有無、血清中ホルモン等の濃度に関連した作用の有無、生殖への影響に関連した作用の有無及び生態影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) エストロゲン様作用

Chen らによって、フェンバレートについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 増殖試験(E-Screen Assay)の検討¹が行われている。フェンバレートは、 1.0×10^{-11} M の濃度においてヒト乳がん細胞 MCF-7 増殖を誘導した。また、フェンバレートについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのエストロゲン応答遺伝子発現の検討¹が行われている。フェンバレートは、 1.0×10^{-6} M の濃度においてエストロゲン応答遺伝子 *pS2* の mRNA を誘導した。更に、フェンバレートについて、SD ラット子宮エストロゲン受容体への β -エストラジオールの結合阻害について検討¹が行われている。フェンバレートは、 IC_{50} 値 4.79×10^{-4} M で SD ラット子宮エストロゲン受容体への β -エストラジオールの結合を阻害した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Go らによってフェンバレートについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 増殖試験(E-Screen Assay)の検討²が行われている。フェンバレートは、 $1.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ M の濃度においてヒト乳がん細胞 MCF-7 増殖を誘導した。また、また、フェンバレートについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのエストロゲン応答遺伝子発現の検討²が行われている。フェンバレートは、 3.0×10^{-5} M の濃度においてエストロゲン応答遺伝子 *pS2* の mRNA 発現を誘導した(ただし、ICI 164,384 による阻害を受けないことからエストロゲン受容体非介在であることが示唆される)。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Kasat らによって、フェンバレートについて、ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのエストロゲン応答遺伝子発現の検討³が行われている。フェンバレートは、 $1.0 \sim 3.0 \times 10^{-5}$ M の濃度において *Wnt 10B*(エストロゲン応答遺伝子である可能性が示唆されている)の mRNA 発現を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Garey と Wolff によって、フェンバレレートについて、Ishikawa Var-I ヒト子宮内膜腺がん細胞のエストロジェン応答遺伝子発現の検討⁴が行われている。フェンバレレートは、EC₅₀ 値 $3.0 \times 10^{-5} \text{M}$ で、エストロジェン応答性アルカリ性フォスファターゼ活性を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) プロジェステロン様作用

Garey と Wolff によって、フェンバレレートについて、ヒト乳がん細胞 T47D でのプロジェステロン共存下におけるプロジェステロン応答遺伝子発現に対する検討⁴が行われている。フェンバレレートは、 $3.0 \times 10^{-5} \text{M}$ の濃度においてヒト乳がん細胞 T47D のプロジェステロン応答性アルカリ性フォスファターゼ活性誘導をプロジェステロン共存下において抑制した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) アンドロジェン様作用

Eli と Nisula によって、フェンバレレートについて、ヒト雄性腺皮膚繊維芽細胞アンドロジェン受容体への R1881 の結合阻害について検討⁵が行われている。フェンバレレートは、 $1.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ の濃度においてヒト雄性腺皮膚繊維芽細胞アンドロジェン受容体への R1881 の結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(4) 血清中ホルモン等の濃度への影響

Maiti と Kar によって、フェンバレレート 120 mg/kg/day を 15 日間腹腔内投与された成熟雄 Swiss マウスへの影響が検討⁶されている。その結果として、血清中 T₃ 濃度・血清中 T₄ 濃度・肝臓中 I 型ヨードチロニン 5'-モノデオディナーゼ活性の低値、肝臓中脂質過酸化酵素活性の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(5) 生殖への影響

Moniz らによって、フェンバレレート 10.0 mg/kg/day を妊娠 18 日目から哺育 5 日まで腹腔内投与された Wistar ラットへの影響が検討⁷されている。その結果として 21 及び 60 日齢児動物において、体重の低値が認められた。また、120 日齢雄児動物において、前立腺絶対重量・精囊絶対重量・血漿中 T₄ 濃度・生殖試験での時間内射精回数・オープンフィールド試験での duration of immobility の低値、生殖試験での射精までのマウント回数の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(6) 生態影響

McKee らによって、フェンバレレート 0.03、0.06、0.13、0.25、0.50 μ

g/L に 21 日間曝露されたオオミジンコへの影響が検討⁸されている。その結果として、累積幼成体数の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・フェンバレレートのエストロジェン様作用について、試験管内試験において、ヒト乳がん細胞 MCF-7 の増殖の誘導・ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのエストロジェン応答遺伝子 *pS2*mRNA の発現の誘導・SD ラット子宮エストロジェン受容体への 17β -エストラジオールの結合の阻害・ヒト乳がん細胞 MCF-7 でのエストロジェン応答遺伝子 *Wnt 10B*mRNA の発現の誘導・Ishikawa Var-I ヒト子宮内膜腺がん細胞でのエストロジェン応答性アルカリ性フォスファターゼ活性の誘導が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・フェンバレレートのプロゲステロン様作用について、試験管内試験において、ヒト乳がん細胞 T47D でのプロゲステロン応答性アルカリ性フォスファターゼ活性誘導のプロゲステロン共存下における抑制が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・フェンバレレートのアンドロジェン様作用について、試験管内試験において、ヒト雄性腺皮膚繊維芽細胞アンドロジェン受容体への R1881 の結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・フェンバレレートの血清中ホルモン等の濃度への影響について、動物実験において、血清中 T_3 濃度・血清中 T_4 濃度・肝臓中 I 型ヨードチロニン 5'-モノデオディナーゼ活性の低値、肝臓中脂質過酸化酵素活性の高値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・動物実験において、フェンバレレートについて体重・前立腺絶対重量・精嚢絶対重量・血漿中 T_4 濃度・生殖試験での時間内射精回数・オープンフィールド試験での duration of immobility の低値、生殖試験での射精までのマウント回数の高値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・生態影響において、フェンバレレートについて累積幼成体数の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

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

-
- 2 Go V, Garey J, Wolff MS, and Pogo BG (1998) Estrogenic potential of certain pyrethroid compounds in the MCF-7 human breast carcinoma cell line. *Environmental Health Perspectives*, 107, 173-177.
 - 3 Kasat K, Go V, and Pogo BG (2002) Effects of pyrethroid insecticides and estrogen on WNT10B proto-oncogene expression. *Environment International*, 28, 429-432.
 - 4 Garey J & Wolff MS (1998) Estrogenic and Antiprogestagenic Activities of Pyrethroid Insecticides. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 251, 855-859.
 - 5 Eil C and Nisula BC (1990) The binding properties of pyrethroids to human skin fibroblast androgen receptors and to sex hormone binding globulin. *Journal of Steroid Biochemistry*, 35, 409-414.
 - 6 Maiti PK and Kar A (1997) Dual role of testosterone in fenvalerate-treated mice with respect to thyroid function and lipid peroxidation. *Journal of Applied Toxicology*, 17, 127-131.
 - 7 Moniz AC, Cruz-Casallas PE, Oliveira CA, Lucisano A, Florio JC, Nicolau AA, Spinosa HS, and Bernardi MM (1999) Perinatal fenvalerate exposure: behavioral and endocrinology changes in male rats. *Neurotoxicology and Teratology*, 21, 611-618.
 - 8 McKee MJ and Knowles CO (1986) Effects of fenvalerate on biochemical parameters, survival, and reproduction of *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 12, 70-84.

26. ビンクロゾリンの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

ビンクロゾリンの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、アンドロジェン様作用に関連した作用の有無、生殖への影響に関連した作用の有無及び生態影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) アンドロジェン様作用

Sohoni と Sumpter によって、ビンクロゾリンについて、アンドロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換酵母での 5 α -ジヒドロテストステロン共存下及び非共存下における 5 α -ガラクトシダーゼ活性誘導について検討¹が行われている。ビンクロゾリンは、IC₅₀ 値 5.0 \times 10⁻⁷M で 5 α -ジヒドロテストステロンによるルシフェラーゼ活性誘導を抑制し、単独では IC₅₀ 値 2.0 \times 10⁻⁶M でルシフェラーゼ活性を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Wong らによって、ビンクロゾリンについて、アンドロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換サル腎臓細胞 CV1 での 5 α -ジヒドロテストステロン共存下及び非共存下におけるルシフェラーゼ活性誘導について検討²が行われている。ビンクロゾリンは、1.0 \times 10⁻⁶~5.0 \times 10⁻⁵M の濃度において 5 α -ジヒドロテストステロンによるルシフェラーゼ活性誘導を抑制したが、単独では 1.0 \times 10⁻⁵~5.0 \times 10⁻⁵M の濃度においてルシフェラーゼ活性を誘導した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Wong らによって、ビンクロゾリンについて、アンドロジェン受容体への R1881 の結合阻害について検討²が行われている。ビンクロゾリンは、IC₅₀ 値 1.0 \times 10⁻⁶~2.0 \times 10⁻⁶M でアンドロジェン受容体への R1881 の結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Wilson らによって、ビンクロゾリンについて、アンドロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 MDA-kb2 での 5 α -ジヒドロテストステロン共存下におけるルシフェラーゼ活性誘導について検討³が行われている。ビンクロゾリンは、1.0 \times 10⁻⁵M の濃度において 5 α -ジヒドロテストステロンによるルシフェラーゼ活性誘導を抑制した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Kelce らによって、ビンクロゾリンについて、SD ラット精巣アンドロジェン受容体への R1881 の結合阻害について検討⁴が行われている。ビンク

ロゾリンは、 $5.0 \times 10^{-5} \sim 2.0 \times 10^{-4} \text{M}$ (K_i 値 $7 \times 10^{-4} \text{M}$) の濃度において SD ラット精巣アンドロジェン受容体への R1881 の結合を阻害した。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Kelce らによって、ピンクロゾリン 200 mg/kg/day を 120 日齢から 5 日間経口投与された精巣摘除(テストステロン入カプセル装着)SD ラットへの影響が検討⁵されている。その結果として、腹側前立腺絶対重量・精囊絶対重量の低値、テストステロンによって負の調節を受けることが知られている *TRPM* mRNA の発現誘導、テストステロンによって正の調節を受けることが知られている *C3* mRNA の発現抑制、血清中黄体形成ホルモン濃度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) 生殖への影響

Ashby と Lefevre によって、ピンクロゾリン 100 mg/kg/day を 35~36 日齢から 14 日間経口投与された雄 SD ラットへの影響が検討⁶されている。その結果として、精巣上体絶対重量・精囊絶対重量の低値が認められた。また、ピンクロゾリン 100 mg/kg/day を 22~23 日齢から 14 日間経口投与された雄 SD ラットへの影響が検討⁶されている。その結果として、精巣上体絶対重量の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Ashby と Lefevre によって、ピンクロゾリン 100 mg/kg/day を 21~22 日齢から 7 日間経口投与された雄 SD ラットへの影響が検討⁷されている。その結果として、精巣上体絶対重量・精囊絶対重量の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Gray らによって、ピンクロゾリン 100、200 mg/kg/day を妊娠 14 日目から出産 3 日目まで経口投与された LE ラットへの影響が検討⁸されている。その結果として雄児動物において、100 mg/kg/day 以上の投与群で泌尿生殖器官での奇形発生率(11 月齢)の高値、AGD(1~111 日齢)・体重(11 月齢)・生存率(12 月齢)・精囊絶対重量(11 月齢)・腹側前立腺絶対重量(11 月齢)・血清テストステロン濃度(11 月齢)・精巣上体尾中精子数(11 月齢)の低値が認められた。200 mg/kg/day 投与群で包皮分離日の遅延が認められた。雌児動物では、200 mg/kg/day 投与群で AGD(1~9 日齢)の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Moorman らによって、ピンクロゾリン 100 mg/kg/day を 2 ヶ月間(週 5 日)経皮投与された幼若雄 Dutch belted rabbit(ウサギ)への影響が検討⁹されている。その結果として、付属性腺(両精巣を除く)(絶対・相対)重量の低

値、貯蔵精子数の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Thomas らによってピンクロゾリン 6.1、610 mg/kg/day を 15 日齢から 75～85 日間混餌投与された雌雄コットンラットへの影響が検討¹⁰されている。その結果として、血清中 T₃ 濃度・血清中 T₄ 濃度の低値、T₄ 代謝速度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3)生態影響

Tillmann らによって、ピンクロゾリン 0.03、0.1、0.3、1.0 µg/L に 1～2 ヶ月間曝露された幼若雄淡水産巻貝類 Ramshorn snail (*Marisa cornuarietis*) への影響が検討¹¹されている。その結果として、0.03、0.1 µg/L 曝露区において陰莖鞘長の低値、0.03、0.1、0.3 µg/L 曝露区において陰莖長の低値が認められた。また、ピンクロゾリン 0.03、0.1、0.3、1.0 µg/L に 3 ヶ月間曝露された成熟雄ヨーロッパチヂミボラ (*Nucella lapillus*) への影響が検討¹¹されている。その結果として、0.03 µg/L 以上の曝露区において陰莖長・陰莖鞘長・精嚢中に精子を有する個体出現頻度の低値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

Makynen らによって、ピンクロゾリン 176、706 µg/L に 21 日間曝露された成熟雌雄ファットヘッドミノーへの影響が検討¹²されている。その結果として、706 µg/L 曝露区において雌 GSI の低値、雄血漿 17β-エストラジオール濃度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみてある程度の信頼性が認められた。

Mcgary らによって、ピンクロゾリン 0.175、0.25、0.5 µg/egg を産卵 4 日後に単回注射されたニホンウズラ受精卵への影響が検討¹³されている。その結果として 6 週齢雄鳥において、0.175 µg/egg 投与群で視床下部視索前部の性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH-1) 濃度の高値、0.175、0.25 µg/egg 投与群で排泄腔接触 (性行動の一種) 頻度の低値、0.5 µg/egg 投与群で視床下部視索前部 GnRH-1 濃度の高値、視床下部視索正中隆起 GnRH-1 濃度の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・ピンクロゾリンのアンドロジェン様作用について、試験管内試験において、アンドロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換酵母での 5 α -ジヒドロ

テストステロン共存下で 5 α -ジヒドロテストステロンによるルシフェラーゼ活性誘導の抑制・アンドロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換酵母でのルシフェラーゼ活性の誘導・アンドロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換サル腎臓細胞 CV1 での 5 α -ジヒドロテストステロン共存下で 5 α -ジヒドロテストステロンによるルシフェラーゼ活性誘導の抑制・アンドロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換サル腎臓細胞 CV1 でのルシフェラーゼ活性の誘導・アンドロジェン受容体への R1881 の結合の阻害・アンドロジェン受容体応答遺伝子発現系をもつ形質転換ヒト乳がん細胞 MDA-kb2 での 5 α -ジヒドロテストステロン共存下でのルシフェラーゼ活性誘導の抑制・SD ラット精巣アンドロジェン受容体への R1881 の結合の阻害が認められたとする信頼性のある報告が得られた。動物実験において、腹側前立腺絶対重量・精囊絶対重量の低値、テストステロンによって負の調節を受けることが知られている *TRPM* mRNA の発現誘導、テストステロンによって正の調節を受けることが知られている *C3* mRNA の発現抑制、血清中黄体形成ホルモン濃度の高値が認められたが認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・動物実験において、ピンクロゾリンについて精巣上体絶対重量・精囊絶対重量・AGD・体重・生存率・腹側前立腺絶対重量・血清テストステロン濃度・精巣上体尾中精子数・付属性腺(両精巣を除く)(絶対・相対)重量・血清中 T₃ 濃度・血清中 T₄ 濃度の低値、泌尿生殖器官での奇形発生率・貯蔵精子数・T₄ 代謝速度の高値、包皮分離日の遅延が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・生態影響において、ピンクロゾリンについて陰茎鞘長・陰茎長・精囊中に精子を有する個体出現頻度・雌 GSI・排泄腔接触(性行動の一種)頻度・視床下部視索正中隆起 GnR-1 濃度の低値、雄血漿 17 β -エストラジオール濃度・視床下部視索前部の性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnR-1)濃度・視床下部視索前部 GnR-1 濃度の高値が認められたとする信頼性のある報告及びある程度の信頼性のある報告が得られた。

参考文献

- 1 Sohoni P and Sumpter JP (1998) Several environmental oestrogens are also anti-androgens. *Journal of Endocrinology*, 158, 327-339.
- 2 Wong C-I, Kelce WR, Sar M, and Wilson EM (1995) Androgen receptor antagonist versus agonist activities of the fungicide vinclozolin relative to hydroxyflutamide. *Journal of Biological Chemistry*, 270, 19998-20003
- 3 Wilson VS, Bobseine K, Lambright CR and Gray LE Jr (2002) A Novel Cell Line, MDA-kb2, That stably expresses an androgen and glucocorticoid-responsive reporter for the detection of hormone receptor agonists and Antagonists.

Toxicological Sciences, 66, 69-81

- 4 Kelce WR, Monosson E, Gamcsik MP, Laws SC, and Gray LE Jr (1994) Toxicology and Applied Pharmacology, 126, 276-285. Environmental hormone disruptors: evidence that vinclozolin developmental toxicity is mediated by antiandrogenic metabolites.
- 5 Kelce WR, Lambringt CR, Gray LE, and Roberts KP (1997) Vinclozolin and p,p'-DDE alter androgen-dependent gene expression: *in vivo* confirmation of an androgen receptor mediated mechanism. Toxicology and Applied Pharmacology, 142, 192-200.
- 6 Ashby J and Lefevre PA (2000) The Peripubertal Male Rat Assay as an Alternative to the Hershberger Castrated Male Rat Assay for the Detection of Anti-androgens, Oestrogens and Metabolic Modulators.. Journal of Applied Toxicology, 20, 35-47.
- 7 Ashby J and Lefevre PA (1997) The weanling male rat as an assay for endocrine disruption: preliminary observations. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 26, 330-337.
- 8 Gray LE Jr, Ostby, JS and Kelce WR (1994) Developmental Effects of an Environmental Antiandrogen: The Fungicide Vinclozolin Alters Sex Differentiation of the Male Rat. Toxicology and Applied Pharmacology, 129, 46-52.
- 9 Moorman WJ, Cheever KL, Skaggs SR, Clark JC, Turner TW, Marlow KL, and Schrader SM (2000) Male adolescent exposure to endocrine-disrupting pesticides: vinclozolin exposure in peripubertal rabbits. Andrologia, 32, 285-793.
- 10 Thomas TE, Ashcraft J, and Britzke E (2001) Effects of fungicides on thyroid function, metabolism, and thermoregulation in cotton rats. Environmental Toxicology and Chemistry, 20, 1709-1715.
- 11 Tillmann M, Schulte-Oehlmann U, Duft M, Markert B, and Oehlmann J (2001) Effects of endocrine disruptors on prosobranch snails (Mollusca: Gastropoda) in the laboratory. Part III: Cyproterone acetate and vinclozolin as antiandrogens. Ecotoxicology, 10, 373-388.
- 12 Makynen EA, Kahl MD, Jensen KM, Tietge JE, Wells KL, Van Der Kraak G, and Ankley GT (2000) Effects of the mammalian antiandrogen vinclozolin on development and reproduction of the fathead minnow (*Pimephales promelas*). Aquatic Toxicology, 48, 461-475.
- 13 McGary S, Henry PF, and Ottinger MA (2001) Impact of vinclozolin on reproductive behavior and endocrinology in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). Environmental Toxicology and Chemistry, 20, 2487-2493.

27. ジネブの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

ジネブの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、血清中ホルモン等の濃度に関連した作用の有無、生殖への影響に関連した作用の有無及び酵母の生殖への影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) 血清中ホルモン等の濃度への影響

Laisi らによって、ジネブ 40、70、100、200、500、1000、2000 mg/kg を単回腹腔内投与後、低温処理(甲状腺刺激ホルモン分泌促進刺激として 4、30 分)された成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討¹されている。その結果として、70 mg/kg 投与群で血清中 T₄ 濃度の高値が認められた。また、ジネブ 5、20、40、70、100、200、500、1000、2000 mg/kg を単回腹腔内投与後、低温処理(甲状腺刺激ホルモン分泌促進刺激として 4、30 分)された成熟雄 Wistar ラットへの影響が検討¹されている。その結果として、70 mg/kg 以上の投与群で血清中甲状腺刺激ホルモン濃度の低値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Nebbia と Fink-Gremmels によって、ジネブ 5、50、500 ppb(餌中濃度)を 5 日間混餌投与された雄 Wistar ラットへの影響が検討²されている。その結果として、5 ppm 以上の投与群で血清中グルコース濃度の低値、50 ppm 投与群で血清中 T₄ 濃度・血清中コレステロール濃度の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) 生殖への影響

Sing と Spencer によって、ジネブ 500、1000、1500、2000、2500 ppm(餌中濃度)を妊娠 6 日目から 10 日間混餌投与された SD ラットへの影響が検討³されている。その結果として、500 ppm 以上の投与群で母動物体重増加量の低値、胎盤中グリコーゲン重量の高値、1500 ppm 投与群で胎児体重の低値、2500 ppm 投与群で卵巣中蛋白質重量の高値が認められた。また、ジネブ 500、1000、1500、2000、2500 ppm(餌中濃度)を偽妊娠 6 日目から 3 日間混餌投与された SD ラットへの影響が検討³されている。その結果として、500 ppm 以上の投与群で卵巣絶対重量の高値が認められた。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

Nebbia によって、ジネブ 3000、6000 ppm(餌中濃度)を 90 日間混餌投与された雌ニュージーランドホワイトラビットへの影響が検討⁴されている。その結果として、3000 ppm 以上の投与群で血清中 T₃ 濃度・肝臓中トリグリ

セリド濃度の低値、精巢中グルタチオン-S-トランスフェラーゼ活性・甲状腺(絶対・相対)重量の高値、6000 ppm 以上の投与群で体重・精巢絶対重量・肝臓相対重量・血清中 T_4 濃度・肝臓中総脂質濃度・ヘマトクリット値・血液ヘモグロビン濃度・赤血球濃度の低値、血清中総脂質濃度・血清中総コレステロール濃度の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3)酵母の生殖への影響

Fujita らによって、ジネブについて、エレメント(酵母の性フェロモン的一种で哺乳類の黄体形成ホルモン放出ホルモンと相同性がある)応答エレメント発現系をもつ形質転換酵母 W303A(a 細胞)でのエレメント共存下における β -ガラクトシダーゼ活性誘導への影響について検討⁵が行われている。ジネブは濃度 $3.62 \times 10^{-6} \sim 3.62 \times 10^{-4}M$ で形質転換酵母 W303A でのエレメント共存下における β -ガラクトシダーゼ活性誘導を抑制した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・動物実験において、ジネブについて胎盤中グリコーゲン重量・卵巢中蛋白質重量・卵巢絶対重量・精巢中グルタチオン-S-トランスフェラーゼ活性・甲状腺(絶対・相対)重量・血清中総脂質濃度・血清中総コレステロール濃度の高値、血清中甲状腺刺激ホルモン濃度・血清中グルコース濃度・血清中コレステロール濃度・母動物体重増加量・胎児体重・血清中 T_3 濃度・肝臓中トリグリセリド濃度・体重・精巢絶対重量・肝臓相対重量・肝臓中総脂質濃度・ヘマトクリット値・血液ヘモグロビン濃度・赤血球濃度の低値、血清中 T_4 濃度の高値または低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・ジネブの酵母の生殖への影響について、エレメント(酵母の性フェロモン的一种で哺乳類の黄体形成ホルモン放出ホルモンと相同性がある)応答エレメント発現系をもつ形質転換酵母 W303A でのエレメント共存下における β -ガラクトシダーゼ活性誘導の抑制が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

- 1 Laisi A, Tuominen R, Mannisto P, Savolainen K, and Mattila J (1985) The effect of maneb, zineb, and ethylenethiourea on the humoral activity of the pituitary-thyroid axis in rat. Archives of Toxicology, Suppl. 8, 253-258.
- 2 Nebbia C and Fink-Gremmels J (1996) Acute effects of low doses of zineb and ethylenethiourea on thyroid function in the male rat. Bulletin of Environmental

-
- Contamination and Toxicology, 56, 847-852.
- ³ Sing LT and Spencer F (1981) A post-implantational study on the effects of zineb on reproduction using the decidualized pseudopregnant rat as a model. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 27, 418-425.
 - ⁴ Nebbia C, Dacasto M, Valenza F, Burdino E, Ugazio G, and Fink-Gremmels J (1995) Effects of the subchronic administration of zinc ethylene-bis-dithiocarbamate (zineb) to rabbits. *Veterinary and Human Toxicology*, 37,137-142.
 - ⁵ Fujita K, Nagaoka M, Komatsu Y, and Iwahashi H (2003) Yeast pheromone signaling pathway as a bioassay to assess the effect of chemicals on mammalian peptide hormones. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56, 358-366.

28. ジラムの有害影響に関する文献の信頼性評価結果

ジラムの有害影響に関連するものとして、既存の文献において、生殖への影響に関連した作用の有無、生態影響に関連した作用の有無及び酵母の生殖への影響に関連した作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、リスク評価の対象物質に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) 生殖への影響

Giavini らによって、ジラム 12.5、25、50、100 mg/kg/day を妊娠 6 日目から 10 日間経口投与された CD ラットへの影響が検討¹されている。その結果として妊娠 21 日目において、12.5 mg/kg/day 以上の投与群で母動物体重増加量の高値、25 mg/kg/day 以上の投与群で胎児体重の低値、50 mg/kg/day 以上の投与群で着床後胚吸収数・胎児硬直化胸骨分節数の高値、100 mg/kg/day 投与群で母動物死亡数・外観異常胎児数・重篤内臓奇形胎児数の高値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(2) 生態影響

Serio らによって、ジラム 0.5、1.0、2.5、5.0、10、20 mg/kg を単回経口投与された成熟ニワトリへの影響が検討²されている。その結果として、2.5 mg/kg 以上の投与群でドーパからノルエピネフリンへの代謝量の低値が認められた。この試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

(3) 酵母の生殖への影響

Fujita らによって、ジラムについて、エレメント(酵母の性フェロモン的一种で哺乳類の黄体形成ホルモン放出ホルモンと相同性がある)応答エレメント発現系をもつ形質転換酵母 W303A(a 細胞)でのエレメント共存下における β -ガラクトシダーゼ活性誘導への影響について検討³が行われている。ジラムは $3.62 \times 10^{-6} \sim 3.62 \times 10^{-4} \text{M}$ の濃度において形質転換酵母 W303A でのエレメント共存下における β -ガラクトシダーゼ活性誘導を抑制した。これらの試験結果については文献上からみて信頼性が認められた。

以上のように現在入手した文献の評価からは、

・動物実験において、ジラムについて母動物体重増加量・着床後胚吸収数・胎児硬直化胸骨分節数・母動物死亡数・外観異常胎児数・重篤内臓奇形胎児数の

高値の、胎児体重の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・生態影響において、ジラムについてドーパからノルエピネフリンへの代謝量の低値が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

・ジラムの酵母の生殖への影響について、 エLEMENT(酵母の性フェロモンの一種で哺乳類の黄体形成ホルモン放出ホルモンと相同性がある)応答ELEMENT発現系をもつ形質転換酵母 W303A(a 細胞)での エLEMENT共存下における - ガラクトシダーゼ活性誘導の抑制が認められたとする信頼性のある報告が得られた。

参考文献

-
- 1 Giavini E, Vismara C, and Broccia ML (1983) Pre- and postimplantation embryotoxic effects of zinc dimethyldithiocarbamate (Ziram) in the rat. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 7, 531-537.
 - 2 Serio R, Long RA, Taylor JE, Tolman RL, Weppelman RM, and Olson G (1987) The antifertility and antiadrenergic actions of thiocarbamate fungicides in laying hens. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 72, 333-342.
 - 3 Fujita K, Nagaoka M, Komatsu Y, and Iwahashi H (2003) Yeast pheromone signaling pathway as a bioassay to assess the effect of chemicals on mammalian peptide hormones. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56, 358-366.