

# 國內農藥內分泌干擾物質系統性評估

李悅怡<sup>1</sup> 蔡建任<sup>1</sup>

<sup>1</sup>行政院農藥委員會農業藥物毒物試驗所應用毒理組

## 中文摘要

內分泌干擾物質為存在於環境中，可改變內分泌系統之功能，造成完整生物體或其子代之不良健康影響。內分泌干擾物質包括了自然存在、合成形成、工業產生等等之化學物質，可造成精子數下降、生殖器官異常及癌症，更甚者影響神經發育；為呼應國際上針對內分泌干擾物質之法規制定潮流，本文不僅回顧歐盟及美國之內分泌干擾物質之評估及檢測，另舉出內分泌干擾作用系統性評估之評估案例，並以此針對我國內分泌干擾物質管理策略提出建議。而物質是否確為內分泌干擾物質之判定評估方法，直至近年（約 2011 年）國際上才有較具體的結論，主要其是以「證據權重 (weight of evidence; WoE)」為基礎依據之系統性評估方法，評估方法主要以經濟合作暨發展組織 (Organisation for Economic Co-operation and Development, OECD) 及美國環保署 (US Environmental Protection Agency, USEPA) 所公告之規範為準，以此系統性評估方法評估各項農藥對 3 種內分泌路徑之干擾作用，包括雄性素、雌性素及甲狀腺系統路徑，其評估結果可作為風險評估或政策擬定之基礎資訊。

**關鍵字：**內分泌干擾作用、證據權重

## 前言

內分泌干擾物質為存在於環境中，可改變內分泌系統之功能，影響生物體及其子代和整體族群之健康，依據 Weybridge 定義<sup>(3)</sup>，內分泌干擾物質「為外源性物質，且經由改變內分泌功能而造成完整生物體或其子代之不良健康影響」，此定義已被世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 所接受及引用。內分泌干擾物質包括了自然存在、合成形成、工業產生等等之化學物質，然而物質是否確為內分泌干擾物質之判定評估，國際趨勢一直以來並非相當明朗，直至今年 (2015) 美國才公告內分泌物質之評估結果，而歐盟雖於近年多次公告化學物質之內分泌干擾作用之可能性等級，但也須待明年方將公告完整報告及評估方法，由於各國國情不同，因此我國與歐盟或美國的農藥禁限用、製造量、進口量、使用量及暴露量情形皆有所差異，為貼近我國國人之農藥使用狀況及內分泌干擾情形，我國應針對國內高使用量之具內分泌干擾作用疑慮及未經試驗測試農藥進行評估，而評估方法乃依據文獻提出將證據權重整合之系統性評估方法<sup>(3)</sup>並利用近年 (約 2011 年) 才較具體成形的內分泌干擾物質之判定評估模式，其是以「證據權重 (weight of evidence; WoE)」為基礎依據<sup>(1, 5, 6)</sup>，以系統性評估方法，評估上述條件篩選出的農藥，將較直接應用國外所公告之內分泌干擾農藥名單更具法規制定代表性及參考性。

### 歐盟與美國對疑似內分泌干擾作用農藥評估概況

美國環保署所啟動之「內分泌干擾物質篩選計畫 (Endocrine Disruptor Screening Program, EDSP)」經多年各界努力，於 2009 年公布了 67 種疑似內分泌干擾之化學物質的初步篩選名單，之後另將多種未繼續登記使用之農藥或化學物質排除，時至今年 (2015) 7 月 30 日公布關注的 52 種化學物質 (48 種為農藥之主要作用成分，4 種為其他成分) 之試驗篩選結果 (表 1<sup>(9)</sup>)，其中 20 種為非內分泌干擾物質，18 種可能具內分泌干擾作用，需補充階層 2 試驗結果，另外 14 種則經階層 1 試驗後，評估認為試驗證據顯示具內分泌干擾作用，但基於其保護基準劑量 (point of departure) 大於內分泌干擾作用劑量，或是該農藥已未再登記使用等原因，使該農藥毋須進一步補充階層 2 試驗。而針對本份篩選結果報告，美國環保署之後便針對此 18 項化學物質及其登記廠商要求後續補充試驗資料。

而在歐盟之評估概況方面<sup>(10)</sup>，歐盟公告之先導篩選名單共約 565 種化學物質，為在第 1 類於體內試驗 (in vivo) 中，至少對 1 種生物體具內分泌干擾活性，且具內分泌干擾作用之高可能性之農藥共 19 種 (表 2)，之後歐盟會將於今年公布 400 種農藥及 100 種生物農藥之最終評估結果及評估方法，並於 2016 年 4 月前公布所有篩選之化學物質評估結果、方法及衝擊評估，而整體內分泌干擾物質之結論亦將於 2016 年底前公布。

表 1. 美國環保署出具內分泌干擾作用化學物質篩選評估結果<sup>(9)</sup>

化學物質名稱	可能影響之內分泌路徑			需進行階層 2 試驗
	雌性素路徑	雄性素路徑	甲狀腺路徑	
•二、四-地 (2,4-D)				
•阿巴汀 (Abamectin)				
•毆殺松 (Acephate)				
•丙酮 (Acetone)				
•草脫淨 (Atrazine)	○	○		
•倍尼芬 (Benfluralin)	○	○	○	
•畢芬寧 (Bifenox)				
•蓋普丹 (Captan)				
•加保利 (Carbaryl)		○		2-1
•加保扶 (Carbofuran)			○	
•四氯異苯腈 (Chlorothalonil)			○	2-2
•陶斯松 (Chlorpyrifos)				
•賽福寧 (Cyfluthrin)				
•賽滅寧 (Cypermethrin)		○		2-1
•大克草 (DCPA)			○	2-2, 2-3
•大利松 (Diazinon)				
•二氯苯腈 (Diclobenil)		○		2-1
•大滅松 (Dimethoate)			○	2-3
•菌達滅 (EPTC)				
•益化利 (Esfenvalerate)			○	
•普伏松 (Ethoprop)			○	
•芬佈賜 (Fenbutatin oxide)				
•福多寧 (Flutolanil)	○	○		2-1
•福爾培 (Folpet)	○			2-1
•嘉磷塞 (Glyphosate)				
•益達胺 (Imidacloprid)				
•依普同 (Iprodione)	○	○		2-1
•異佛爾酮 (Isophorone)				
•理有龍 (Linuron)		○	○	2-1, 2-2, 2-3
•馬拉松 (Malathion)				
•滅達樂 (Metalaxyl)	○	○		2-1
•納乃得 (Methomyl)				
•莫多草 (Metolachlor)			○	
•滅必淨 (Metribuzin)			○	2-2,2-3
•協力克 (MGK 264)	○		○	
•邁克尼 (Myclobutanil)	○	○		2-1

• 氟草敏 (Norflurazon)			○	
• 鄰苯基苯酚(o-Phenylphenol )	○			2-1
• 毆殺滅 (Oxamyl)				
• 五氯硝苯 (PCNB)	○		○	2-1
• 百滅寧 (Permethrin)		○		
• 益滅松 (Phosmet)			○	
• 協力精 (Piperonyl butoxide)				
• 毆蟎多 (Propargite)			○	2-2
• 普克利 (Propiconazole)	○	○		2-1
• 戊炔草胺 (Propyzamide)		○	○	
• 百利普芬 (Pyriproxyfen)		○		
• 草滅淨 (Simazine)	○	○		
• 得克利 (Tebuconazole)	○	○		2-2
• 樂本松 (Tetrachlorvinphos)			○	
• 三泰芬 (Triadimefon)				
• 三福林 (Trifluralin)				

○：影響此內分泌干擾之路徑；2-1：魚類試驗；2-2：兩棲類試驗；2-3：哺乳類試驗。參考資料來源：美國環保署。

表 2. 歐盟篩選為第 1 類且評估為具內分泌干擾作用高可能性之農藥<sup>(10)</sup>

	評估為具內分泌干擾作用高可能性之農藥		
	高使用與製造量者	低使用與製造量者	原資料不足者
藥劑名稱	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 免克寧 (Vinclozolin)</li> <li>• 錳乃浦 (Maneb)</li> <li>• 得恩地 (Thiram)</li> <li>• 鋅乃浦 (Zineb)</li> <li>• 理有龍 (Linuron (Lorox))</li> <li>• 草脫淨 (Atrazine)</li> <li>• 拉草 (Alachlor)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 三福林 (Trifluralin)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 畢芬寧 (Bifenthrin)</li> <li>• 賽洛寧 (Cyhalothrin)</li> <li>• 第滅寧 (Deltamethrin)</li> <li>• 加保利 (Carbaryl)</li> <li>• 靈丹 (Lindane (HCHs))</li> <li>• 滴滴涕 (DDT)</li> <li>• 芬瑞莫 (Fenarimol)</li> <li>• 代森錳 (Mancozeb)</li> <li>• 免得爛 (Metiram)</li> <li>• 滅必淨 (Metribuzin)</li> <li>• 撲滅寧 (Procymidone)</li> </ul>

參考資料來源：歐盟

### 內分泌干擾作用系統性評估及案例

內分泌干擾作用系統性評估方法，基礎是利用證據權重 (weight of evidence; WoE) 之概念，合併經濟合作暨發展組織及美國環保署之階層篩選體系所建立。近 50 年，WoE 主要應用於風險評估，但其於不同領域具有不同定義，因此 Weed (2005) 對於科學性及政策擬定之發表文獻進行統計，發現 WoE 之定義主要分為 3 大區塊：比喻性質者 (metaphorical)、方法論性質者 (methodological) 及理論性質 (theoretical) 者<sup>(8)</sup>。就 WoE 於法規應用而言，美國環保署將 WoE 應用於內分泌干擾物質評估及致癌物質等評估<sup>(4)</sup>至此對 WoE 才有較明確之定義，為判定已得的資料，是否支持某物質可造成特異性影響，其特性描述過程稱之<sup>(5)</sup>；而其展現方法為以證據作為基礎的研究方法，並評估所收集證據之價值或權重，以支持針對某物質之評估結論<sup>(2)</sup>。

為了使評估時 WoE 判定標準一致，美國環保署制定了 WoE 之標準規範及為了確保資料品質等判定時標準一致，也制定了品質判定之標準規範<sup>(6,7)</sup>。整合美國及歐盟之 WoE 概念及經濟合作暨發展組織、美國環保署之內分泌階層試驗，系統性評估包含 6 步驟，並以普克利 (Propiconazole) 與陶斯松 (Chlorpyrifos) 之評估為例<sup>(7)</sup>，步驟 1 為試驗結果蒐集 (Data collecting)，依據美國環保署之階層 1 內分泌干擾作用試驗，收集目標影響指標試驗 (targeted endpoint studies) 資料 (表 3)；步驟 2 為個別農藥之資料蒐集 (Relevant data)，收集個別農藥之所有相關試驗及文獻資料，且應包括多重指標試驗 (multi-endpoint studies) (表 4)；步驟 3 為資料可靠性判定，以 ToxRTool 將所蒐集之資料依 Klimisch 氏分類分為 4 等級，並僅採信等級 1、2 之資料；步驟 4 為以經濟合作暨發展組織階層統整資料，如試驗資料間有所矛盾，則以高階層者為依據；步驟 5 為考量多重影響指標，並以

影響路徑統整資料，(如表 5 陶斯松案例)；步驟 6 為結論及判定。依據其 WoE 權重，評估個別農藥之作用模式 (mode of action; MOA)、影響指標 (endpoint)及影響路徑，最後並依據 Weybridge 定義判定個別農藥分屬於內分泌干擾物質、非內分泌干擾物質或資料不足以判定為內分泌干擾物質等 3 族群。依此系統性評估結果，判定陶斯松非為內分泌干擾物質。另外再以普克利 (Propiconazole)為例，評估結果在階層 1 之試驗結果顯示，普克利對雌性素之路徑干擾方面，其可能與雌性素受體具反應關係、抑制環化酶與抑制睪固酮生成、影響雌性動物發身與魚類生殖；對雄性素之路徑干擾方面，其具雄性素受體結合反應並具拮抗反應、影響雄性動物生殖與發育、影響魚類生殖；而在甲狀腺系統路徑影響方面，美國環保署判定普克利並無影響；據此科學數據評估判定並考量普克利之保護基準劑量 (point of departure)，公告普克利無須再進行階層 2 哺乳類及鳥類之試驗，但仍需階層 2 之魚類試驗 (表 1)以進一步釐清其內分泌干擾作用之疑慮。

表 3. 陶斯松在美國環保署階層 1 內分泌干擾試驗結果摘要<sup>(3)</sup>

	試驗方法	MoA <sup>*(1)</sup>	濃度或劑量	結果	LOEL <sup>*(2)</sup>	備註
體外 (in vitro)	雌性素受體結合試驗	E(拮抗)	10 <sup>-10</sup> -10 <sup>-3</sup> M	-	無	對雌性素受體無活性
	雌性素受體媒介轉錄試驗	E	10 <sup>-10</sup> -10 <sup>-4</sup> M	+	10 <sup>-5</sup> 、10 <sup>-4</sup> M	10-25%之誘發率
	雄性素受體結合試驗	A(拮抗)	10 <sup>-10</sup> -10 <sup>-3</sup> M	+/-	10 <sup>-4</sup> 、10 <sup>-3</sup> M	體內試驗較低濃度造成腦及紅血球乙醯膽鹼脂酶減少
	固醇生成試驗	S(雌性素及睪固酮)	10 <sup>-10</sup> -10 <sup>-4</sup> M	+	10 <sup>-5</sup> 、10 <sup>-4</sup> M	睪固酮生成增加、雌性素生成減少、體內試驗腦及紅血球乙醯膽鹼脂酶減少
	環化酶試驗	S(雌性素)	10 <sup>-10</sup> -10 <sup>-3</sup> M	-	無	非抑制性
體內 (in vivo)	子宮切除試驗	E	0, 0.5, 1.5, 4 mg/kg/day	-	無	23%增重減少、4 mg/kg/day 紅血球乙醯膽鹼脂酶減少
	Hershberger 試驗	A(拮抗)、S(DHT)	0, 1, 6, 12 mg/kg/day	-	無	腦(6、12 mg/kg/day)及紅血球(所有劑量)乙醯膽鹼脂酶降低
	雌性發身試驗	E(拮抗)、S(雌性素)、HPG axis、HPT axis	0, 0.5, 1, 2 mg/kg/day	-	無	腦(2 mg/kg/day)及紅血球(所有劑量)乙醯膽鹼脂酶降低
	雄性發身試驗	A(拮抗)、S(睪固酮)、HPG axis、HPT axis	0, 0.5, 1, 2 mg/kg/day	-	無	腦(2 mg/kg/day)及紅血球(所有劑量)乙醯膽鹼脂酶降低
	兩棲類變態試驗	HPT axis	0, 0.215, 0.881, 3.68, 13.6 µg/L	-	無	四肢及尾乙醯膽鹼脂酶降低(3.68、13.6 µg/L)
	魚類短期繁殖試驗	E(拮抗)、A(拮抗)、S(雌性素及睪固酮)、HPG axis	0, 0.251, 0.812, 3.02 µg/L	+	無	腦乙醯膽鹼脂酶降低(雌性所有劑量; 雄性 0.812、3.02 µg/L)

\* (1) MoA, mode of action (作用模式), E: estrogenicity (具雌性素作用), S: steroidogenesis (雌性素、睪固酮), A: androgenicity (具雄性素作用), DHT: dihydrotestosterone (二氫睪固酮); HPT axis: hypothalamus pituitary thyroid axis (下視丘-腦下垂體-甲狀腺內分泌軸線); HPG axis: hypothalamus pituitary gonad (下視丘-腦下垂體-性腺內分泌軸線)。

\* (2) LOEL, Lowest observed effect level (最低無可見毒害藥量)

參考資料來源: Juberg, 2013。

表 4. 試驗項目與內分泌干擾有關的影響指標。

試驗項目	內分泌影響指標摘要
亞慢性毒性試驗	生長、卵巢重、肝重、腎重、腎上腺重、睪丸重、臨床生化學、各器官組織病理學：子宮、卵巢、甲狀腺、腎、腎上腺、腦下垂體、肝、輸卵管、副甲狀腺、副睪、睪丸、前列腺、貯精囊
慢性/致癌性毒性試驗	生長、卵巢重、甲狀腺重、肝重、腎重、腎上腺重、睪丸重、臨床生化學、各器官組織病理學：子宮、卵巢、甲狀腺、腎臟、腎上腺、腦下垂體、肝、副睪、睪丸、前列腺、貯精囊、包皮腺
發育毒性試驗	生長、子宮腺重、肝重、子代畸形
繁殖毒性試驗	雌性：生長、交配時間、臨床生化學、各器官組織病理學：子宮、卵巢、甲狀腺、腎臟、腎上腺、腦下垂體、肝、輸卵管；雄性：各器官組織病理學：副睪、睪丸、甲狀腺、腎臟、腎上腺、腦下垂體、前列腺、肝臟、貯精囊。
神經發育毒性試驗	生長、陰莖包皮分離年齡

\*影響指標應於發育敏感時期觀察，包括產前、產後初期及發身時期

表 5. 陶斯松在經濟合作暨發展組織 (OECD) 階層統整資料及影響路徑表<sup>(3)</sup>

		雌性素路徑			雄性素路徑			
OECD 階層	試驗方法	雌性素活性	雌性素拮抗	固醇生成	試驗方法	雄性素活性	雄性素拮抗	固醇生成
階層 2	雌性素受體結合	-	-	無	雄性素受體 結合	$+10^{-5}$ - $10^{-4}$ M	$+10^{-4}$ - $10^{-3}$ M	無
	雌性素受體媒介 轉錄分析	$10^{-5}$ - $10^{-4}$ M 輕 微反應	無	無				
	固醇生成	無	無	睪固酮下降**、 雌性素上升**	固醇生成	無	無	睪固酮下降**、 雌性素上升**
	環化酶	無	無	非抑制	環化酶	無	無	非抑制
階層 3	子宮激性	-	無	無	Hershberger	-	-	-
階層 4	雌性發身試驗	-	-	-	雄性發身	-	-	-
	魚類短期繁殖	-	-	-	魚類短期繁 殖	-	-	-

\*對下視丘-腦下垂體-性腺均無影響，\*\*濃度為  $10^1$ - $10^2$   $\mu$ M

參考資料來源：Juberg, 2013。

## 結論

由於我國與歐盟或美國的農藥使用狀況有所異同，現階段針對國內農藥之內分泌干擾作用評估策略以選擇具有內分泌干擾作用疑慮、國內常用、但國內外試驗測試結果不完整者為先，藉由有效地應用系統性評估及舉辦專家討論會議或研討會，整合國內專家意見，最終以農藥之雌性素、雄性素及甲狀腺系統之內分泌干擾作用無可見毒害劑量 (no observed adverse effect level, NOAEL)或保護基準劑量與現行法規制定值 (如每日可接受攝食量, acceptable daily intake, ADI)所使用的 NOAEL 值進行比對，進而提供法規制定修訂參考，以確保農藥安全使用及環境安全，達到農產品安心消費的目的。

## 參考文獻

1. Borgert C. J., Mihaich E. M., Ortego L. S., Bentley K. S., Holmes C. M., Levine S. L., Becker R. A. 2011. Hypothesis-driven weight of evidence framework for evaluating data within the USEPA's Endocrine Disruptor Screening Program. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 61, 185–191.
2. European Chemical Agency. 2010. How to report weight of evidence. European Chemical Agency. ([echa.europa.eu/.../pg\\_report\\_weight\\_of\\_evidence\\_en.pdf](http://echa.europa.eu/.../pg_report_weight_of_evidence_en.pdf))
3. Juberg D. R., Gehen S. C., Coady K. K., LeBaron M. J., Kramer V. J., Lu H., Marty M. S. 2013. Chlorpyrifos: Weight of evidence evaluation of potential interaction with the estrogen, androgen, or thyroid pathways. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 66, 249-263.
4. Krinsky S. The weight of scientific evidence in policy and law. *American Journal of Public Health* 95, 129-136.
5. Rhomberg L. R., Bailey L. A., Goodman J. E. 2010. Hypothesis-based weight of evidence: A tool for evaluating and communicating uncertainties and inconsistencies in the large body of evidence in proposing a carcinogenic mode of action—naphthalene as an example. *Critical Reviews in Toxicology* 40, 671–696.
6. USEPA. 2011. Endocrine disruptor screening program: Weight of evidence: Evaluating Results of EDSP Tier 1: Screening to Identify the Need for Tier 2 Testing. (<http://www.epa.gov/endo/>)
7. USEPA. 2008. Guidelines for ensuring and maximizing the quality, objectivity, utility, and integrity of information disseminated by the environmental protection agency.
8. Weed D. L. 2005. Weight of Evidence: A review of concept and methods. *Risk Analysis* 25, 1545-1557.
9. [www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/endocrine-disruptor-screening](http://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/endocrine-disruptor-screening)

[-program-tier-1-assessments](#)

10. [www.ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/strategy/substances\\_en.htm#priority\\_list](http://www.ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/strategy/substances_en.htm#priority_list)

# Endocrine Disruption and Environmental Medicine

Yueh Yi Lee<sup>1</sup>, Wei Ren Tsai<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Applied Toxicology, Agricultural Chemicals And Toxic Substances Research Institute, Council Of Agriculture, Executive Yuan

## Abstract

Endocrine disruptors, which can change the function of endocrine system and affect organism and offspring health, comprise natural, synthetic and industrial chemicals and result in sperm decreasing, reproductive abnormal, cancer, and neuronal development. Here for determining pesticide endocrine disruptor regulation making trend, first, endocrine disruptor identification and screening status in EU and USEPA is reviewed. Second, systemic evaluation and its applying cases are revealed, and the last, strategies of endocrine disruptors evaluation in our country is introduced. In addition, the evaluation method of how to identify an endocrine disruptor is recently established and concluded in 2011. The basic concept of systemic evaluation is weight of evidence (WoE), and the evaluation methods are based on OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) and USEPA (US Environmental Protection Agency) guidelines. For any pesticide, three endocrine pathway including androgen, estrogen, and thyroid pathway interferences can be evaluated, and these results and information may be used as cornerstone and references for risk assessment or policy making.

**Key words:** endocrine disruptor, weight of evidence (WoE)