

資料 3-2-1

平成14年度及び平成15年度選定物質を対象とした

生態系への内分泌かく乱作用による影響に関する

魚類を用いた試験結果（案）

I. 平成14年度優先物質の試験結果について

1. 試験結果の評価を保留した項目と対応

平成14年度優先物質の試験結果については平成16年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会(平成16年7月27日開催)において、*o,p'*-DDTについて、弱いながらもメダカエストロジェン受容体(ER α 及びER β)との結合性が認められるとともに、用量相関的な肝臓中ビテロジェニン濃度及び精巣卵出現率の統計学的に有意な高値が認められたため、今後、確定試験として環境中濃度を考慮したフルライフサイクル試験を実施し、その結果を踏まえて評価を行うこととしていた。

今般、メダカを用いた試験(ビテロジェニンアッセイ、パーシャルライフサイクル試験及びフルライフサイクル試験)及び試験管内(*in vitro*)試験の結果を踏まえて、*o,p'*-DDTの試験結果の評価を行った。

2. *o,p'*-DDTの試験結果

(1)メダカを用いた試験

①ビテロジェニンアッセイ

0.373、0.800、1.50、3.20、6.55 $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度において肝臓中ビテロジェニン濃度は曝露濃度の上昇と共に増加し、曝露14日後の3.20 $\mu\text{g/L}$ 以上の曝露群及び曝露21日後の1.50 $\mu\text{g/L}$ 以上の曝露群において統計学的に有意な高値が認められた。

なお、曝露21日後の6.55 $\mu\text{g/L}$ の曝露群において肝指数の統計学的に有意な高値が認められた。

②パーシャルライフサイクル試験

0.195、0.366、0.830、1.69、3.36 $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、死亡率及び体重に統計学的に有意な変化は認められなかった。

3.36 $\mu\text{g/L}$ の曝露群において、生殖腺を観察した結果、性決定遺伝子DMYの存在では雄と判定された個体(20尾中9尾)において精巣を有する個体がなかつ

たため、雄の生殖腺指数、精巣卵出現率、肝指数及び肝臓中ビテロジェニン濃度は測定できなかった。

1.69 $\mu\text{g/L}$ 以下の曝露群の雄において、生殖腺指数、肝指数及び肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

生殖腺の組織学的検査では、0.195 $\mu\text{g/L}$ 及び 0.830 $\mu\text{g/L}$ 以上の曝露群において精巣卵の個体がみられ、曝露濃度の上昇と共に増加した精巣卵出現率に統計学的に有意な高値が認められた。

雌の肝臓中ビテロジェニン濃度は曝露濃度の上昇と共に増加し、0.830 $\mu\text{g/L}$ 以上の曝露群において統計学的に有意な高値が認められた。

1.69 $\mu\text{g/L}$ 以上の曝露群の雌において、生殖腺指数の統計学的に有意な低値が認められた。

0.830 $\mu\text{g/L}$ の曝露群において、孵化日数の統計学的に有意な高値(遅延)が認められた。

0.830 $\mu\text{g/L}$ の曝露群において、全長の統計学的に有意な高値及び 3.36 $\mu\text{g/L}$ の曝露群において、全長の統計学的に有意な低値が認められた。

3.36 $\mu\text{g/L}$ の曝露群の雌において、肝指数の統計学的に有意な高値が認められた。

③フルライフサイクル試験

0.0153、0.0474、0.145、0.522、1.94 $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、 F_0 世代の孵化率、孵化日数、死亡率、全長、体重、産卵数、生殖腺指数及び肝指数、 F_1 世代の孵化率、死亡率、体重、雌の肝指数及び雌雄の肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

1.94 $\mu\text{g/L}$ の曝露群において、二次性徴を示す雄が存在しなかったため、 F_0 世代の繁殖に関する産卵数、受精率、生殖腺指数、肝指数及び肝臓中ビテロジェニン濃度、 F_1 世代の孵化率、孵化日数、死亡率、全長、体重、生殖腺の組織学的検査、肝指数及び肝臓中ビテロジェニン濃度は測定できなかった。

F_0 世代の受精率には、0.522 $\mu\text{g/L}$ の曝露群において統計学的に有意な低値が認められた。

雌雄の肝臓中ビテロジェニン濃度については、0.522 $\mu\text{g/L}$ の曝露群において統計学的に有意な高値が認められた。

生殖腺の組織学的検査では、0.522 $\mu\text{g/L}$ 以上の曝露群において精巣卵の個体がみられ、曝露濃度の上昇と共に増加した精巣卵出現率に統計学的に有意な高値が認められた。

F_1 世代の孵化日数は、0.0474 $\mu\text{g/L}$ 以上の曝露群において統計学的に有意な高値(遅延)が認められた。

0.0474 $\mu\text{g/L}$ 曝露群において、全長の統計学的に有意な高値が認められた。

0.0474 $\mu\text{g/L}$ 曝露群の雄において、肝指数の統計学的に有意な低値が認められた。

生殖腺の組織学的検査では、0.522 μ g/L の曝露群において精巣卵の個体がみられ、精巣卵出現率に統計学的に有意な高値が認められた。

(2) 試験管内 (*in vitro*) 試験

メダカエストロジェン受容体 (ER α 及び ER β) 結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体 (ER α 及び ER β) レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験を行った。

その結果、メダカエストロジェン受容体 (ER α 及び ER β) 結合競合阻害試験では、エストラジオールに対する相対結合強度は約 1/190 (ER α) 及び約 1/590 (ER β) であった。メダカエストロジェン受容体 (ER α) レポータージーン試験では、ER α に対する活性は認められたが、IC₅₀ 値は得られなかった。メダカエストロジェン受容体 (ER β) レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験においては、有意な反応は認められなかった。

(3) 現時点での有害性評価と今後の方針

以上のとおり、*o,p'*-DDT については、ビテロジェニンアッセイ及びパーシャルライフサイクル試験結果において、雌雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の上昇、雄に精巣卵の出現、孵化日数の遅延が統計学的に有意に認められていた。今回実施した環境中濃度を考慮したフルライフサイクル試験結果においては、雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の上昇、雄に精巣卵の出現、受精率の低値、孵化日数の遅延が統計学的に有意に認められた。

試験管内 (*in vitro*) 試験において、メダカエストロジェンレセプター α との結合強度はビスフェノールAの1.1倍、4-ノニルフェノール(分岐型)の約1/15、4-*t*-オクチルフェノールの約1/30、17 β -エストラジオールの約1/190(0.54%)であった(ビスフェノールAの相対結合強度は、17 β -エストラジオールの約1/210(0.48%)で、4-ノニルフェノール(分岐型)の相対結合強度は、17 β -エストラジオールの約1/12(8.1%)で、4-*t*-オクチルフェノールの相対結合強度は、17 β -エストラジオールの約1/6(16%))。メダカエストロジェンレセプター β との結合強度はビスフェノールAの約1/2、4-ノニルフェノール(分岐型)及び4-*t*-オクチルフェノールの約1/5程度、17 β -エストラジオールの約1/590(0.17%)であった(ビスフェノールAの相対結合強度は、17 β -エストラジオールの約1/320(0.31%)で、4-ノニルフェノール(分岐型)及び4-*t*-オクチルフェノールの相対結合強度は、17 β -エストラジオールの約1/120(0.83%))。

これらの結果より、本物質が魚類に対して内分泌かく乱作用を有することが推察された。

精巣卵の出現が統計学的に有意に認められた曝露濃度は、パーシャルライフサイクル試験においては0.195 μ g/L 及び0.830 μ g/L 以上、フルライフサイクル試験においては0.522 μ g/L 以上であった。

曝露群ごとの精巣卵が認められた個体のみの生殖腺スコアの平均値では、パー

シャルライフサイクル試験の $0.195 \mu\text{g/L}$ で 1.4、 $0.830 \mu\text{g/L}$ で 1.6、 $1.69 \mu\text{g/L}$ で 3.7、フルライフサイクル試験の F_0 世代の $0.522 \mu\text{g/L}$ で 1.8、 $1.94 \mu\text{g/L}$ で 3.9、 F_1 世代の $0.522 \mu\text{g/L}$ で 1.8 であった。

生殖腺スコア 2 以上において受精率への影響が認められた知見から(別添 1 参照)、最小作用濃度 LOEC は $1.69 \mu\text{g/L}$ 、最大無作用濃度 NOEC はパーシャルライフサイクル試験の結果からは $0.366 \mu\text{g/L}$ 、フルライフサイクル試験の結果からは $0.145 \mu\text{g/L}$ と考えられた。

DDT については、既に農薬登録は失効しているとともに販売禁止となっており(昭和 46 年 5 月)、化学物質の審査及び製造の規則に関する法律(化審法)の第一種特定化学物質に指定されている(昭和 56 年 10 月)。また、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている。

<参考> 環境中濃度と本試験結果から推定された無影響濃度との比較

(1) 環境実態調査

環境省(庁)が実施した「平成10年度環境ホルモン緊急全国一斉調査」、
「平成12年度環境ホルモン全国一斉調査」、「平成13年度、平成14年度及び平成15年度環境実態調査」において、全国のべ1,383地点について水質、底質、土壌、水生生物、野生生物の環境中濃度を測定した。

①水質調査結果

水質調査では6年間でのべ247地点で測定が行われ、全地点で未検出であった。なお、検出下限値は、 $0.025 \sim 0.05 \mu\text{g/L}$ であった。

②底質調査結果

底質調査では6年間でのべ114地点で測定が行われ、全地点で未検出であった。なお、検出下限値は、 $5 \mu\text{g/kg}$ であった。

③土壌調査結果

平成10年度に実施された土壌調査では101地点中3地点で検出され(検出率3%)、濃度範囲:ND (<5~10) ~ $125 \mu\text{g/kg-dry}$ であった。

④水生生物調査結果

平成10年度に実施された水生生物調査では48地点で測定が行われ、全地点で未検出であった。なお、検出下限値は、 $5 \mu\text{g/kg}$ であった。

(2) POPsモニタリング調査

環境省が実施した「平成14年度及び平成15年度 POPsモニタリング調査」において、全国のべ348地点について水質、底質、生物、大気の中濃度を測定した。

①水質調査結果

水質調査では2年間でのべ74地点、150検体中74地点、150検体で検出され(検出率100%)、濃度範囲は、0.19~100p g /L(0.00000019~0.0001 μ g /L)であった。

②底質調査結果

底質調査では2年間でのべ125地点、375検体中124地点、368検体で検出され(検出率98%)、濃度範囲は、ND~27 μ g/kg-dryであった。

③大気調査結果

大気調査では2年間でのべ68地点、136検体中68地点、136検体で検出され(検出率100%)、濃度範囲:0.00041~0.04ng/m³であった。

④生物調査結果

生物調査では2年間でのべ46地点、228検体中46地点、226検体で検出され(検出率99%)、濃度範囲はND~2.3 μ g/kg-wetであった。

(3) 環境中濃度(水中濃度)の最高値と本試験結果から推定された無影響濃度との比較

環境実態調査及びPOPsモニタリング調査において測定された水中濃度の最高値は0.0001 μ g/Lである。

今回の試験で得られた最大無作用濃度NOECの1/10に当たる0.0145 μ g/Lを本試験結果から推定された無影響濃度と想定した。

環境実態調査及びPOPsモニタリング調査において測定された水中濃度の最高値0.0001 μ g/Lは、本試験結果から推定された無影響濃度0.0145 μ g/Lを下回っており(1/145)、現時点では現実的なリスクは低いと考えられた。

2. まとめ

o,p'-DDTについて行った「メダカを用いた試験」及び「試験管内(*in vitro*)試験」の結果等について取りまとめを行った。

その結果として、*o,p'*-DDTについては、魚類に対して内分泌かく乱作用を有することが推察された。

DDTについては、既に農薬登録は失効しているとともに販売禁止となっており(昭和46年5月)、化学物質の審査及び製造の規則に関する法律(化審法)の第一種特定化学物質に指定されている(昭和56年10月)。また、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs条約)の対象物質となっている*。

*詳細については、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約に基づく国内実施計画」(平成17年6月)を参照。

<参考>

環境実態調査及び POPs モニタリング調査において測定された水中濃度の最高値 $0.0001 \mu\text{g/L}$ は、本試験結果から推定された無影響濃度 $0.0145 \mu\text{g/L}$ を下回っており (1/145)、現時点では現実的なリスクは低いと考えられた。

II. 平成 15 年度優先物質の試験結果について

1. アルドリン

(1) メダカを用いた試験

① ビテロジェニンアッセイ

2.02、3.28、7.34、15.1、 $28.6 \mu\text{g/L}$ (実測値) の曝露濃度において肝指数には統計学的な有意な差は認められなかった。肝臓中ビテロジェニン濃度は曝露 21 日後の $15.1 \mu\text{g/L}$ 曝露群において統計学的に有意な高値が認められた。

$28.6 \mu\text{g/L}$ の曝露群において、曝露 14 日までに 93% の個体が死亡し、生残個体の剖検を実施したため、曝露 21 日後の肝臓中ビテロジェニン濃度及び肝指数は測定できなかった。

② パーシャルライフサイクル試験

0.069、0.225、0.686、2.23、 $7.10 \mu\text{g/L}$ (実測値) の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、体重、雌の肝指数及び雌の肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

$0.069 \mu\text{g/L}$ 以上の曝露群の雄において肝指数の統計学的に有意な低値が認められた。

0.069、0.225、2.23 及び $7.10 \mu\text{g/L}$ 曝露群の雌において生殖腺指数の統計学的に有意な高値が認められた。

0.069、0.686 及び $2.23 \mu\text{g/L}$ 曝露群の雄において、肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値が認められた。

$0.225 \mu\text{g/L}$ 以上の曝露群において死亡率の統計学的に有意な高値が認められた。

0.225 及び $0.686 \mu\text{g/L}$ 曝露群の雄において生殖腺指数の統計学的に有意な高値が認められた。

0.225 及び $2.23 \mu\text{g/L}$ 曝露群において、全長の統計学的に有意な高値が認められた。

$0.686 \mu\text{g/L}$ 曝露群において、孵化日数の統計学的に有意な高値 (遅延) が認められた。

生殖腺の組織学的検査では、助剤対照区及び $0.225 \mu\text{g/L}$ の曝露群において統計学的な有意差は認められなかったが、精巣卵の個体が僅かに認められた。

(2) 試験管内 (*in vitro*) 試験

メダカエストロジェン受容体 (ER β) 結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体 (ER α 及び ER β) レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験を行った。

その結果、メダカエストロジェン受容体 (ER α 及び ER β) 結合競合阻害試験では、エストラジオールに対する相対結合強度は 1/340 (ER α) 及び 1/4,000 (ER β) であった。メダカエストロジェン受容体 (ER α 及び ER β) レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験においては、有意な反応は認められなかった。

(3) 試験結果のまとめと今後の方針

以上のおり、アルドリンについては、ビテロジェニンアッセイにおいて雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値 (1.8ng/mg liver) が認められるとともにパーシャルライフサイクル試験において雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値 (11ng/mg liver) が認められたが、平成 14 年度に行った追加試験③の結果 (別添 3 参照) を踏まえると、受精率に明らかな悪影響を与えるとは考えられなかった。また、助剤対照区及び曝露群において用量相関性もなく、低頻度で統計学的な有意差は認められない精巣卵 (曝露群ごとの精巣卵が認められた個体のみ) の生殖腺スコアの平均値 1.7 及び 1.1) がみられたが、平成 14 年度に行った追加試験①の結果 (別添 1 参照) を踏まえると、受精率に悪影響を与えるとは考えられず、今回の試験結果において、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

アルドリンについては、「化学物質の環境リスク評価 第 1 巻」の中で行われた生態リスク初期評価において、「予測環境中濃度 (PEC) と予測無影響濃度 (PNEC) との比は、淡水域では 0.08 未満となるため、現時点では作業は必要ないと考えられる。海水域ではこの比が 42 未満となるため、現時点では生態リスクの判定はできない」と評価されている。

アルドリンについては、既に農薬登録は失効しており (昭和 50 年 2 月)、化学物質の審査及び製造の規則に関する法律 (化審法) の第一種特定化学物質に指定されている (昭和 56 年 10 月)。また、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」 (POPs 条約) の対象物質となっている*。

*詳細については、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約に基づく国内実施計画」 (平成 17 年 6 月) を参照。

2. エンドリン

(1) メダカを用いた試験

① ビテロジェニンアッセイ

0.037、0.075、0.144、0.309、0.648 μ g/L (実測値) の曝露濃度において肝臓中ビテロジェニン濃度及び肝指数には統計学的に有意な変化は認められな

った。

0.648 $\mu\text{g/L}$ の曝露群において、曝露 14 日までに 83%の個体が死亡し、生残個体の剖検を実施したため、曝露 21 日後の肝臓中ビテロジェニン濃度及び肝指数は測定できなかった。

②パーシャルライフサイクル試験

0.00188、0.0058、0.0178、0.0562、0.19 $\mu\text{g/L}$ (実測値) の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、孵化日数、死亡率、体重、生殖腺指数、生殖腺の組織学的検査、肝指数及び雌の肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

0.0058 $\mu\text{g/L}$ 以上の曝露群の雄において肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値が認められた。

0.0178 $\mu\text{g/L}$ の曝露群において全長の統計学的に有意な低値が認められた。

(2)試験管内 (*in vitro*) 試験

メダカエストロジェン受容体 (ER β) 結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体 (ER α 及び ER β) レポーター遺伝子試験及びメダカアンドロジェン受容体レポーター遺伝子試験を行った。

その結果、メダカエストロジェン受容体 (ER α 及び ER β) 結合競合阻害試験では、エストラジオールに対する相対結合強度は 1/480 (ER α) 及び 1/5,300 (ER β) であった。メダカエストロジェン受容体 (ER α 及び ER β) レポーター遺伝子試験及びメダカアンドロジェン受容体レポーター遺伝子試験においては、有意な反応は認められなかった。

(3)試験結果のまとめと今後の方針

以上のとおり、エンドリンについては、パーシャルライフサイクル試験において雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値 (9.1ng/mg liver) が認められたが、追加試験③の結果 (別添 3 参照) を踏まえると、受精率に明らかな悪影響を与えるとは考えられず、今回の試験結果において、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

エンドリンについては、「化学物質の環境リスク評価 第 1 巻」の中で行われた生態リスク初期評価において、「予測環境中濃度 (PEC) と予測無影響濃度 (PNEC) との比は、淡水域では 0.35 となるため、情報収集に努める必要があると考えられる。海水域における PEC/PNEC 比は 50 未満となるため、現時点では生態リスクの判定はできない」と評価されている。

エンドリンについては、既に農薬登録は失効しており (殺そ剤として昭和 48 年 6 月及び殺虫剤として昭和 50 年 12 月)、化学物質の審査及び製造の規則に関する法律 (化審法) の第一種特定化学物質に指定されている (昭和 56 年 10 月)。また、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約) の対象物

質となっている*。

*詳細については、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約に基づく国内実施計画」(平成17年6月)を参照。

3. ディルドリン

(1) メダカを用いた試験

① ビテロジェニンアッセイ

0.27、0.70、2.26、7.23、24.2 $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度において肝指数には統計学的な有意な差は認められなかった。肝臓中ビテロジェニン濃度は曝露14日後の7.23 $\mu\text{g/L}$ 曝露群、曝露21日後の0.27、0.70、2.26 $\mu\text{g/L}$ 曝露群において統計学的に有意な高値が認められた。

24.2 $\mu\text{g/L}$ の曝露群において、曝露9日目までに全個体が死亡したため、肝臓中ビテロジェニン濃度及び肝指数は測定できなかった。

② パーシャルライフサイクル試験

0.023、0.073、0.230、0.754、2.33 $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、全長、体重、雌の生殖腺指数及び雌の肝指数に統計学的に有意な変化は認められなかった。

0.023 $\mu\text{g/L}$ 曝露群の雄において肝指数の統計学的に有意な低値が認められた。

0.073 $\mu\text{g/L}$ の曝露群の雄において、生殖腺指数の高値が認められた。

0.073 及び 0.230 $\mu\text{g/L}$ の曝露群において、孵化日数の高値(遅延)が認められた。

0.073 及び 2.33 $\mu\text{g/L}$ の曝露群において、死亡率の高値が認められた。

0.073 及び 2.33 $\mu\text{g/L}$ の曝露群の雄において、肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値が認められた。

0.754 $\mu\text{g/L}$ の曝露群の雌において、肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値が認められた。

生殖腺の組織学的検査では、0.023 及び 0.074 $\mu\text{g/L}$ の曝露群において統計学的な有意差は認められなかったが、精巣卵の個体が僅かに認められた。

(2) 試験管内(*in vitro*)試験

メダカエストロジェン受容体(ER β)結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体(ER α 及びER β)レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験を行った。

その結果、メダカエストロジェン受容体(ER α 及びER β)結合競合阻害試験では、エストラジオールに対する相対結合強度は1/330(ER α)及び1/12,700(ER β)であった。メダカエストロジェン受容体(ER α 及びER β)レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験においては、有意な反

応は認められなかった。

(3) 試験結果のまとめと今後の方針

以上のとおり、ディルドリンについては、ビテロジェニンアッセイにおいて雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値(3.1ng/mg liver)が認められるとともにパーシャルライフサイクル試験において雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値(2.5ng/mg liver)が認められたが、平成14年度に行った追加試験③の結果(別添 3 参照)を踏まえると、受精率に明らかな悪影響を与えるとは考えられなかった。また、用量相関性もなく、低頻度で統計学的な有意差は認められない精巣卵(曝露群ごとの精巣卵が認められた個体のみの生殖腺スコアの平均値 1.1)がみられたが、平成14年度に行った追加試験①の結果(別添 1 参照)を踏まえると、受精率に悪影響を与えるとは考えられず、今回の試験結果において、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

ディルドリンについては、「化学物質の環境リスク評価 第1巻」の中で行われた生態リスク初期評価において、「予測環境中濃度(PEC)と予測無影響濃度(PNEC)との比は、淡水域では3.7となるため、詳細な評価を行う候補と考えられる。海水域ではこの比が3.8未満となるため、現時点では生態リスクの判定はできない」と評価されている。ディルドリンについては、既に農薬登録は失効しており(昭和50年6月)、化学物質の審査及び製造の規則に関する法律(化審法)の第一種特定化学物質に指定されている(昭和56年10月)。また、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている*。

*詳細については、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約に基づく国内実施計画」(平成17年6月)を参照。

4. ヘプタクロル

(1) メダカを用いた試験

① ビテロジェニンアッセイ

0.674、1.29、2.52、5.66、11.4 μ g/L(実測値)の曝露濃度において肝臓中ビテロジェニン濃度には統計学的に有意な変化は認められなかった。

なお、曝露14日後の0.674 μ g/Lの曝露群において肝指数の統計学的に有意な低値が認められた。

② パーシャルライフサイクル試験

0.0649、0.120、0.252、0.538、1.04 μ g/L(実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、死亡率、全長、体重、生殖腺指数、生殖腺の組織学的検査、肝指数及び肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

0.252 μ g/L 曝露群において、孵化日数の統計学的に有意な高値(遅延)が認め

られた。

(2) 試験管内 (*in vitro*) 試験

メダカエストロジェン受容体 (ER β) 結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体 (ER α 及び ER β) レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験を行った。

その結果、メダカエストロジェン受容体 (ER α 及び ER β) 結合競合阻害試験では、エストラジオールに対する相対結合強度は 1/630 (ER α) 及び 1/6,700 (ER β) であった。メダカエストロジェン受容体 (ER α 及び ER β) レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験においては、有意な反応は認められなかった。

(3) 試験結果のまとめと今後の方針

以上のとおり、ヘプタクロルについては、今回の試験結果において、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

ヘプタクロルについては、「化学物質の環境リスク評価 第1巻」の中で行われた生態リスク初期評価において、「予測環境中濃度 (PEC) と予測無影響濃度 (PNEC) との比は、淡水域では 0.13 未満、海水域では 1,667 未満となるため、現時点では生態リスクの判定はできない」と評価されている。ヘプタクロルについては、既に農薬登録は失効しており (昭和 50 年 5 月)、化学物質の審査及び製造の規則に関する法律 (化審法) の第一種特定化学物質に指定されている (昭和 61 年 9 月)。また、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」 (POPs 条約) の対象物質となっている*。

*詳細については、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約に基づく国内実施計画」 (平成 17 年 6 月) を参照。

5. マイレックス

(1) メダカを用いた試験

① ビテロジェニンアッセイ

1.07、2.99、8.36、23.8、65.6 μ g/L (実測値) の曝露濃度において肝臓中ビテロジェニン濃度及び肝指数には統計学的に有意な変化は認められなかった。

② パーシャルライフサイクル試験

0.0809、0.222、0.549、1.61、4.05 μ g/L (実測値) の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、孵化日数、死亡率、全長、体重、生殖腺指数、肝指数及び肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

0.252 μ g/L 曝露群において、孵化日数の統計学的に有意な高値 (遅延) が認められた。

生殖腺の組織学的検査では、0.222 及び 0.549 μ g/L の曝露群において統計学

的な有意差は認められなかったが、精巣卵の個体が僅かに認められた。

(2) 試験管内 (*in vitro*) 試験

メダカエストロジェン受容体 (ER α 及び ER β) 結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体 (ER α 及び ER β) レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験を行った。

その結果、いずれの試験においても有意な反応は認められなかった。

(3) 試験結果のまとめと今後の方針

以上のとおり、マイレックスについては、用量相関性もなく、低頻度で統計学的な有意差は認められない精巣卵(曝露群ごとの精巣卵が認められた個体のみ)の生殖腺スコアの平均値 1.2) がみられたが、平成 14 年度に行った追加試験①の結果(別添 1 参照)を踏まえると、受精率に悪影響を与えるとは考えられず、今回の試験結果において、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

マイレックスについては、わが国では未登録の殺虫剤であるが、既に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている*。

*詳細については、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約に基づく国内実施計画」(平成 17 年 6 月)を参照。

6. ケルセン

(1) メダカを用いた試験

① ビテロジェニンアッセイ

3.03、4.48、6.68、10.4、14.6 μ g/L(実測値)の曝露濃度において肝指数には統計学的な有意な差は認められなかった。肝臓中ビテロジェニン濃度は曝露 21 日後の 14.6 μ g/L 曝露群において統計学的に有意な高値が認められた。

② パーシャルライフサイクル試験

0.275、0.550、1.10、2.18、4.52 μ g/L(実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、死亡率、全長、体重、生殖腺指数、生殖腺の組織学的検査、肝指数及び肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

4.52 μ g/L 曝露群において、孵化日数の統計学的に有意な高値(遅延)が認められた。

(2) 試験管内 (*in vitro*) 試験

メダカエストロジェン受容体 (ER α 及び ER β) 結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体 (ER α 及び ER β) レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験を行った。

その結果、メダカエストロジェン受容体(ER α 及びER β)結合競合阻害試験では、エストラジオールに対する相対結合強度は約 1/4200(ER α)及び約 1/26000(ER β)であった。メダカエストロジェン受容体(ER α)レポータージーン試験では、ER α に対する活性は認められたが、IC₅₀値は得られなかった。メダカエストロジェン受容体(ER β)レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験においては、有意な反応は認められなかった。

(3) 今後の方針

以上のとおり、ケルセンについては、ビテロジェニンアッセイにおいて雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値(8.1ng/mg liver)が認められたが、追加試験③の結果(別添 3参照)を踏まえると、受精率に明らかな悪影響を与えるとは考えられず、今回の試験結果において、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

ケルセンについては、既に農薬登録は失効しており(平成 16 年 3 月)、化学物質の審査及び製造の規則に関する法律(化審法)の第一種特定化学物質に指定されている(平成 17 年 4 月)。

7. ペルメトリン

(1) メダカを用いた試験

① ビテロジェニンアッセイ

0.279、0.632、1.29、2.19、5.49 μ g/L(実測値)の曝露濃度において肝臓中ビテロジェニン濃度及び肝指数には統計学的に有意な変化は認められなかった。

② パーシャルライフサイクル試験

0.177、0.279、0.424、0.636、0.907 μ g/L(実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、孵化日数、死亡率、全長、体重、雌の生殖腺指数、肝指数及び肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

0.424 μ g/L 曝露群の雄において、生殖腺指数の統計学的に有意な高値が認められた。

生殖腺の組織学的検査では、0.279 及び 0.424 μ g/L の曝露群において統計学的な有意差は認められなかったが、精巣卵の個体が僅かに認められた。

(2) 試験管内(*in vitro*)試験

メダカエストロジェン受容体(ER β)結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体(ER α 及びER β)レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験を行った。

その結果、メダカエストロジェン受容体(ER α 及びER β)結合競合阻害試験では、エストラジオールに対する相対結合強度は約 1/11,000(ER α)及び約 1/21,000(ER β)であった。メダカエストロジェン受容体(ER α 及びER β)レポ-

タージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験においては、有意な反応は認められなかった。

(3) 試験結果のまとめと今後の方針

以上のとおり、ペルメトリンについては、用量相関性もなく、低頻度で統計学的な有意差は認められない精巣卵(曝露群ごとの精巣卵が認められた個体のみの生殖腺スコアの平均値 1.2)がみられたが、平成 14 年度に行った追加試験①の結果(別添 1 参照)を踏まえると、受精率に悪影響を与えるとは考えられず、今回の試験結果において、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

ペルメトリンについては、今後、生態リスク初期評価を行う際に、今回の試験結果も参照する予定である。

8. マラチオン

(1) メダカを用いた試験

① ビテロジェニンアッセイ

1.49、4.57、15.1、45.6、148 $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度において肝臓中ビテロジェニン濃度には統計学的に有意な変化は認められなかった。

なお、曝露 14 日後の 4.57、15.1 $\mu\text{g/L}$ の曝露群において肝指数の統計学的に有意な低値が認められた。

② パーシャルライフサイクル試験

0.375、0.781、1.62、2.77、6.26 $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、孵化日数、死亡率、全長、体重、生殖腺指数、生殖腺の組織学的検査、肝指数及び雄の肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

6.26 $\mu\text{g/L}$ 曝露群の雌において、肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な低値が認められた。

(2) 試験管内(*in vitro*)試験

メダカエストロジェン受容体(ER β)結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体(ER α 及びER β)レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験を行った。

その結果、メダカエストロジェン受容体(ER α 及びER β)結合競合阻害試験では、エストラジオールに対する相対結合強度は約 1/23,000(ER α)及び1/100,000(ER β)であった。メダカエストロジェン受容体(ER α 及びER β)レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験においては、有意な反応は認められなかった。

(3) 試験結果のまとめと今後の方針

以上のとおり、マラチオンについては、今回の試験結果において、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

マラチオンについては、今後、生態リスク初期評価を行う際に、今回の試験結果も参照する予定である。

Ⅲ. まとめ

平成 14 年度優先物質である o,p' -DDT について行った「メダカを用いた試験」及び「試験管内(*in vitro*)試験」の結果等について取りまとめを行った。

その結果として、 o,p' -DDT については、魚類に対して内分泌かく乱作用を有することが推察された。DDT については、既に農薬登録は失効しているとともに販売禁止となっており(昭和 46 年 5 月)、化学物質の審査及び製造の規則に関する法律(化審法)の第一種特定化学物質に指定されている(昭和 56 年 10 月)。また、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている。

<参考>

環境実態調査及び POPs モニタリング調査において測定された水中濃度の最高値 $0.0001 \mu\text{g/L}$ は、本試験結果から推定された無影響濃度 $0.0145 \mu\text{g/L}$ を下回っており(1/145)、現時点では現実的なリスクは低いと考えられた。

平成 15 年度優先物質であるアルドリン、エンドリン、ディルドリン、ヘプタクロル、マイレックス、ケルセン、ペルメトリン及びマラチオンについて行った「メダカを用いた試験」及び「試験管内(*in vitro*)試験」の結果等について取りまとめを行った。

アルドリン及びディルドリンについては、雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値及び用量相関性もなく、低頻度で統計学的な有意差は認められない精巣卵がみられたが、受精率に悪影響を与えるとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

アルドリンについては、「化学物質の環境リスク評価 第 1 巻」の中で行われた生態リスク初期評価において、「予測環境中濃度(PEC)と予測無影響濃度(PNEC)との比は、淡水域では 0.08 未満となるため、現時点では作業は必要ないと考えられる。海水域ではこの比が 42 未満となるため、現時点では生態リスクの判定はできない」と評価されている。アルドリンについては、既に農薬登録は失効しており(昭和 50 年 2 月)、化学物質の審査及び製造の規則に関する法律(化審法)の第一種特定化学物質に指定されている(昭和 56 年 10 月)。また、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている*。

ディルドリンについては、「化学物質の環境リスク評価 第 1 巻」の中で行われた生態リスク初期評価において、「予測環境中濃度(PEC)と予測無影響濃度

(PNEC)との比は、淡水域では 3.7 となるため、詳細な評価を行う候補と考えられる。海水域ではこの比が 3.8 未満となるため、現時点では生態リスクの判定はできない」と評価されている。ディルドリンについては、既に農薬登録は失効しており(昭和 50 年 6 月)、化学物質の審査及び製造の規則に関する法律(化審法)の第一種特定化学物質に指定されている(昭和 56 年 10 月)。また、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている*。

エンドリン及びケルセンについては、雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値が認められたが、受精率に明らかな悪影響を与えるとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

エンドリンについては、「化学物質の環境リスク評価 第 1 巻」の中で行われた生態リスク初期評価において、「予測環境中濃度(PEC)と予測無影響濃度(PNEC)との比は、淡水域では 0.35 となるため、情報収集に努める必要があると考えられる。海水域における PEC/PNEC 比は 50 未満となるため、現時点では生態リスクの判定はできない」と評価されている。エンドリンについては、既に農薬登録は失効しており(殺そ剤として昭和 48 年 6 月及び殺虫剤として昭和 50 年 12 月)、化学物質の審査及び製造の規則に関する法律(化審法)の第一種特定化学物質に指定されている(昭和 56 年 10 月)。また、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている*。

ケルセンについては、既に農薬登録は失効しており(平成 16 年 3 月)、化学物質の審査及び製造の規則に関する法律(化審法)の第一種特定化学物質に指定されている(平成 17 年 4 月)。

マイレックス及びペルメトリンについては、用量相関性もなく、低頻度で統計学的な有意差は認められない精巣卵がみられたが、受精率に悪影響を与えるとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

マイレックスについては、わが国では未登録の殺虫剤であるが、既に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている*。

ペルメトリンについては、今後、生態リスク初期評価を行う際に、今回の試験結果も参照する予定である。

ヘプタクロル及びマラチオンについては、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

ヘプタクロルについては、「化学物質の環境リスク評価 第 1 巻」の中で行われた生態リスク初期評価において、「予測環境中濃度(PEC)と予測無影響濃度(PNEC)との比は、淡水域では 0.13 未満、海水域では 1,667 未満となるため、現時点では生態リスクの判定はできない」と評価されている。ヘプタクロルについては、既に農薬登録は失効しており(昭和 50 年 5 月)、化学物質の審査及び製造の規則に関する法律(化審法)の第一種特定化学物質に指定されている(昭和 61 年 9 月)。また、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs

条約)の対象物質となっている*。

マラチオンについては、今後、生態リスク初期評価を行う際に、今回の試験結果も参照する予定である。

*詳細については、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約に基づく国内実施計画」(平成17年6月)を参照。

表 魚類（メダカ）を用いた試験の結果

物質名	試験結果
アジピノン酸ジ ² -エチルヘキシル	頻度は低いものの、精巣卵の出現が確認されたが、受精率に悪影響を与えとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
アミトロール	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
アルドリソ	頻度は低いものの、精巣卵の出現が確認されたが、受精率に悪影響を与えとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
塩化トリフェニルス ²	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
塩化トリブチルス ²	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
エンドリン	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
オクタクロステレン	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
4-t-オクチルフェノール	①魚類の女性ホルモン受容体との結合性が強く、②肝臓中ビテロジェニン(卵黄タンパク前駆体)濃度の上昇、③精巣卵の出現、④産卵数・受精率の低下が認められ、魚類に対して内分泌かく乱作用を有することが強く推察された。
cis-ケルテン	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
ケルセン	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
2,4-ジクロロフェノール	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
デイルトリン	頻度は低いものの、精巣卵の出現が確認されたが、受精率に悪影響を与えとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
4-ニトロトルエン	頻度は低いものの、精巣卵の出現が確認されたが、受精率に悪影響を与えとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
trans-ノナコロール	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
4-ニルフェノール(分岐型)	①魚類の女性ホルモン受容体との結合性が強く、②肝臓中ビテロジェニン(卵黄タンパク前駆体)濃度の上昇、③精巣卵の出現、④受精率の低下が認められ、魚類に対して内分泌かく乱作用を有することが強く推察された。
ビスフェノール A	①魚類の女性ホルモン受容体との結合性が弱いながらも認められ、②肝臓中ビテロジェニン(卵黄タンパク前駆体)濃度の上昇、③精巣卵の出現、④孵化日数の高値(遅延)が認められ、魚類に対して内分泌かく乱作用を有することが推察された。
フタル酸ジ ² エチル	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
フタル酸ジ ² -エチルヘキシル	頻度は低いものの、精巣卵の出現が確認されたが、受精率に悪影響を与えとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
フタル酸ジ ² シクロヘキシル	頻度は低いものの、精巣卵の出現が確認されたが、受精率に悪影響を与えとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
フタル酸ジ ² -n-ブチル	頻度は低いものの、精巣卵の出現が確認されたが、受精率に悪影響を与えとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
フタル酸ジ ² プロピル	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
フタル酸ジ ² ヘキシル	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
フタル酸ジ ² ペンチル	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
フタル酸ブチルベンジル	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
β-ヘキサクロロシクロヘキサソ	頻度は低いものの、精巣卵の出現が確認されたが、受精率に悪影響を与えとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
ヘキサクロロベンゼソ	頻度は低いものの、精巣卵の出現が確認されたが、受精率に悪影響を与えとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
ヘブタクロロ	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
ペルメトリン	頻度は低いものの、精巣卵の出現が確認されたが、受精率に悪影響を与えとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
ベンゾ ² フェソ	頻度は低いものの、精巣卵の出現が確認されたが、受精率に悪影響を与えとは考えられず、低濃度(文献情報等により得られた魚類推定曝露量を考慮した比較的低濃度)での明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

物質名	試験結果
p,p'-DDE	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
p,p'-DDD	頻度は低いものの、精巣卵の出現が確認されたが、受精率に悪影響を与えるとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
p,p'-DDE	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
p,p'-DDD	頻度は低いものの、精巣卵の出現が確認されたが、受精率に悪影響を与えるとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
p,p'-DDE	肝臓中ビテロジェニン(卵黄タンパク前駆体)濃度の濃度依存的な上昇、精巣卵の濃度依存的な出現が認められたため、フルライフサイクル試験を実施後に評価の予定。
o,p'-DDT	①魚類の女性ホルモン受容体との結合性が弱いながらも認められ、②肝臓中ビテロジェニン(卵黄タンパク前駆体)濃度の上昇、③精巣卵の出現、④受精率の低下、⑤孵化日数の高値(遅延)が認められ、魚類に対して内分泌かく乱作用を有することが推察された。
p,p'-DDT	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。