

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 $\alpha$ 及びER $\beta$ )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はなかつ

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  $\mu$ 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 $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体 (ER $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 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 $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 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 $\alpha$ ) 及び約 1/590 (ER $\beta$ ) であった。メダカエストロジェン受容体 (ER $\alpha$ ) レポータージーン試験では、ER $\alpha$  に対する活性は認められたが、IC<sub>50</sub> 値は得られなかった。メダカエストロジェン受容体 (ER $\beta$ ) 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 $\alpha$  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 $\beta$ -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 $\beta$ -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 $\beta$ -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 $\beta$ -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 $\beta$  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 $\beta$ -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 $\beta$ -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 $\beta$ -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  $\mu$ g/L 及び0.830  $\mu$ g/L 以上、フルライフサイクル試験においては0.522  $\mu$ 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/m<sup>3</sup>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 $\beta$ ) 結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体 (ER $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 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 $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 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 $\alpha$ ) 及び 1/4,000 (ER $\beta$ ) であった。メダカエストロジェン受容体 (ER $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 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、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  $\mu$ 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  $\beta$ ) 結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体 (ER  $\alpha$  及び ER  $\beta$ ) 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  $\alpha$  及び ER  $\beta$ ) 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  $\alpha$ ) 及び 1/5,300 (ER  $\beta$ ) であった。メダカエストロジェン受容体 (ER  $\alpha$  及び ER  $\beta$ ) 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、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 $\beta$ ) 結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体 (ER $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 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 $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 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 $\alpha$ ) 及び 1/12,700 (ER $\beta$ ) であった。メダカエストロジェン受容体 (ER $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 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、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  $\mu\text{g/L}$ (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0.674  $\mu\text{g/L}$ 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

0.0649、0.120、0.252、0.538、1.04  $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、死亡率、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  $\mu\text{g/L}$  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。

## (2) 試験管内 (*in vitro*) 試験

メダカエストロジェン受容体 (ER $\beta$ ) 結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体 (ER $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 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 $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 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 $\alpha$ ) 及び 1/6,700 (ER $\beta$ ) であった。メダカエストロジェン受容体 (ER $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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 $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体 (ER $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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 $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体 (ER $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 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 $\alpha$ 及びER $\beta$ )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 $\alpha$ )及び約 1/26000(ER $\beta$ )であった。メダカエストロジェン受容体(ER $\alpha$ )レポータージーン試験では、ER $\alpha$ に対する活性は認められたが、IC<sub>50</sub>値は得られなかった。メダカエストロジェン受容体(ER $\beta$ )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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\beta$ )結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体(ER $\alpha$ 及びER $\beta$ )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 $\alpha$ 及びER $\beta$ )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 $\alpha$ )及び約 1/21,000(ER $\beta$ )であった。メダカエストロジェン受容体(ER $\alpha$ 及びER $\beta$ )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 $\beta$ )結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体(ER $\alpha$ 及びER $\beta$ )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 $\alpha$ 及びER $\beta$ )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 $\alpha$ )及び1/100,000(ER $\beta$ )であった。メダカエストロジェン受容体(ER $\alpha$ 及びER $\beta$ )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、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  $\mu$ g/L** は、本試験結果から推定された無影響濃度 **0.0145  $\mu$ 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 <sup>2</sup> -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 <sup>2</sup>	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 <sup>2</sup>	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
エンドソリン	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-コロールテン	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 <sup>2</sup> 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。
デイルトソリン	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 <sup>2</sup> 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 <sup>2</sup> -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 <sup>2</sup> 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 <sup>2</sup> -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 <sup>2</sup> 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 <sup>2</sup> 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 <sup>2</sup> 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 <sup>2</sup> タクロル	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
ヘルメトソリン	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。
ヘソソ <sup>2</sup> 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
ペンタクロフェノール	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
マイレックス	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。
マラチオン	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。
<b>o,p'-DDT</b>	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。

## メダカを用いた 17β-エストラジオール曝露による 精巣卵の程度と受精率に関する検討

### 1. 経緯

現在までの魚類内分泌かく乱試験法開発において、精巣組織中における卵母細胞(精巣卵)の出現はエストロゲン作用を示すパラメータであると考えられており、最も高感度なエンドポイントの一つとなりうることが示されている。しかし、精巣卵出現の生態毒性学的な定義は十分なされておらず、繁殖パラメータ(産卵数及び受精率)との関連性も十分議論されているとはいえない。そこで、**17β-エストラジオール(E2)**によるメダカライフサイクル試験での繁殖検討\*1に用いた雄個体の生殖腺組織を 5 段階にスコアリングし(下表参照)、受精率との相関性について検討した。

\* 1) 繁殖検討：フルライフサイクル試験のふ化後 70 日令の時点で各試験濃度(区)の生存個体の雌雄を外観的形態から判別しペアリングを行ない、ペア毎にふ化後 100 日令まで、毎日、産卵数及び受精率を観察

表 メダカ精巣の分類基準(案)

スコア	定義
1	成熟した雄にみられる精巣構造を有する。組織中には精原細胞、精母細胞及び精細胞といった種々の発達段階の生殖細胞が観察され、活発な精子形成が認められる。卵母細胞は発現していない。
2	全体に精巣の構造であり、精子形成も観察される。しかし、組織中に卵母細胞の発現が認められる。このレベルでの精巣卵の程度は低く、卵母細胞は組織中に散在した状態で 1~10 細胞が観察されるに過ぎない。
3	レベル 2 よりも卵母細胞の発現率が高く、組織中に 10~50 細胞が観察される。卵母細胞の一部は塊として観察される場合もある。しかしながら、全体としてはレベル 1 及び 2 と同様に精巣構造を呈しており、精子形成も観察される。
4	さらに精巣卵が発達し、組織の約 50%までを卵母細胞によって構成される。精子形成は観察されるが、レベル 1~3 と比較すると精子形成に関与する生殖細胞が占めている部分が小さい。
5	組織の約 50%~ほぼ全般を卵母細胞によって構成され、精原細胞、精母細胞等はわずかに散在する程度である。活発な精子形成は観察されていない。また、結合組織の異常な発達が認められる場合もある。

### 2. 方法

17β エストラジオールによるメダカフルライフサイクル試験で繁殖検討に用いた雄個体の生殖腺の切片を 1 個体当たり 10 枚作成し、メダカ精巣の分類基準(案)に基づいてスコアリングを行なった。各個体 10 枚の切片についてそれぞれスコアを求め、その平均値を各個体の生殖腺スコアとした。

なお、繁殖検討においてペアリングした雌個体についても生殖腺の組織学的観察を行った。

### 3. 結果

下図に生殖腺スコアと受精率\*2との相関を示す。

生殖腺スコアと受精率の関係は、生殖腺スコアが約 **4** の個体で受精率の顕著な低下が観察された。生殖腺スコアが **2~3** の個体では、個体により反応の違いが認められた。生殖腺スコアが **1.9** 未満においては、受精率の顕著な低下は認められなかった。

\* 2) 受精率：繁殖試験期間中に雌が産卵した卵数に対する受精卵数の比率の平均 (%)

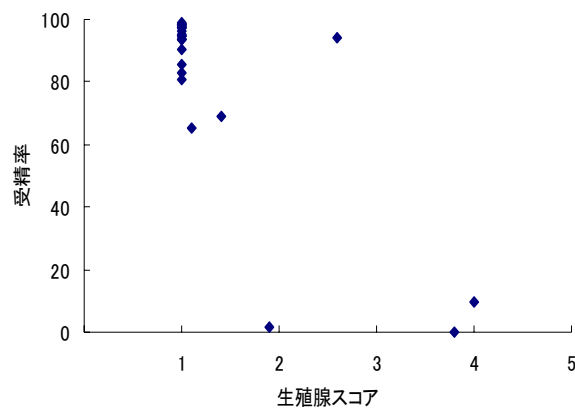


図 生殖腺スコアと受精率(%)との関係

### 4. 考察

今回の検討においては、雌の卵巣に何ら異常が認められなかったことから、本試験における受精率の低下は雄に起因したものであることが推測された。

生殖腺スコアが **1.9** の個体(**31.3 ng/L** 区)は、受精率の低下が認められたが、生殖腺スコアが **2.6** の個体では受精率の低下は認められなかった。生殖腺組織観察では、生殖腺スコア **1.9** 及び **2.6** の個体ともに組織全般にわたる精子形成が観察された。受精率が低下したスコア **1.9** の個体においては生殖腺指数 **GSI** の顕著な低下(対照区の約 **1/3**)が認められ、精子形成の量的阻害が推測された。また、この個体では肝臓中ビテロジェニンの誘導及び乳頭状小突起数の低下も認められた。一方、受精率が低下しなかったスコア **2.6** の個体においては、**GSI** 及びその他の項目において変化は認められなかった。

なお、今後、試験例数を増やし、生殖腺スコアと受精率との関係について、詳細な検討を実施する予定である。

## ジメチルスルホキシドのパーシャルライフサイクル試験結果

## 1. 方法

ジメチルスルホキシド(DMSO)のメダカに及ぼす内分泌かく乱作用を評価するために、メダカ(*Oryzias latipes*)を段階的な濃度(100、320 及び 1,000 mg/L ; 設定濃度)の試験液に受精卵からふ化後 60 日令まで流水条件下で曝露した。

曝露方法については、通常のパーシャルライフサイクル試験と同様の方法で実施した。ふ化後 60 日の時点で、外観的二次性徴から判別して雌雄それぞれ 10 尾ずつを取り上げ、生殖腺組織学及び肝臓中ビテロジェニン濃度の測定を実施した。摘出した生殖腺はブアン液に固定後、常法に従い、雄個体については連続切片を、雌個体については 1 検体当たり 5 切片のパラフィン切片を作成し、組織学的観察を行った。

## 2. 結果

生殖腺組織学において雌雄共に異常は認められなかった。また、肝臓中ビテロジェニン濃度においては、雌雄共に統計学的な有意差及び濃度依存的な反応は認められなかった(下表参照)。

これらの結果から DMSO は本試験濃度範囲においてメダカの性分化及びビテロジェニン産生に影響を及ぼさないことが示された。

表 各試験濃度区における雌雄の肝臓中ビテロジェニン濃度

DMSO 濃度 mg/L	肝臓中ビテロジェニン濃度(ng/mg liver)	
	雄	雌
対照区	ND	1,700 ± 560
100	1.8 ± 1.9	1,800 ± 1,800
320	1.4 ± 2.1	1,400 ± 570
1,000	ND	2,100 ± 500

## メダカを用いた $17\beta$ -エストラジオール曝露による 肝臓中ビテロジェニン濃度と受精率の関係に関する検討

### 1. 経緯

現在までの内分泌かく乱化学物質の魚類に関する試験法開発において、雄個体におけるビテロジェニン誘導はエストロゲン作用を示す直接的なパラメータであり、性分化異常と並び最も高感度なエンドポイントの一つとなりうることを示されている。しかし、ビテロジェニン誘導の生態毒性学的な定義は十分なされておらず、繁殖パラメータ(産卵数及び受精率)との関連性も十分議論されているとはいえない。そこで、**17 $\beta$ -エストラジオール(E2)**によるメダカフルライフサイクル試験を実施し、繁殖検討\*1に用いた雄個体の肝臓中ビテロジェニン濃度を測定し、受精率との相関性について検討した。

\*1) 繁殖検討：フルライフサイクル試験のふ化後 70 日令の時点で各試験濃度(区)の生存個体の雌雄を外観的形態から判別しペアリングを行ない、ペア毎にふ化後 100 日令まで、毎日、産卵数及び受精率を観察

### 2. 方法

$17\beta$ -エストラジオールによるメダカフルライフサイクル試験において、繁殖検討に用いた雄個体の肝臓中ビテロジェニン濃度を測定した。

### 3. 結果

下図に肝臓中ビテロジェニン濃度(対数值)と受精率\*2との相関を示す。

ビテロジェニン濃度が **1,000ng/mg liver** 以上の雄個体では受精率の顕著な低下が認められた。ビテロジェニン濃度が **10~1,000 ng/mg liver** の雄個体では受精率の低下を示す個体が認められた。ビテロジェニン濃度が **10 ng/mg liver** 未満の雄個体においては受精率の顕著な低下は認められなかった。

\*2) 受精率：繁殖試験期間中に雌が産卵した卵数に対する受精卵数の比率の平均(%)

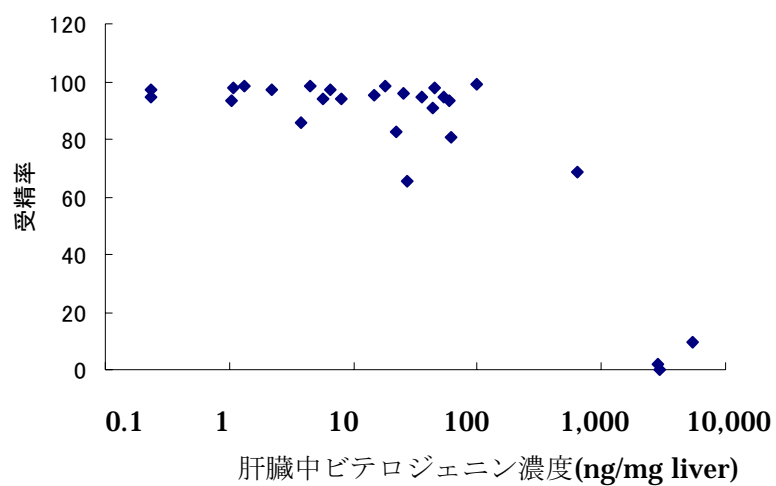


図 肝臓中ビテロジェニン濃度と受精率(%)との関係

#### 4. 考察

雄のビテロジェニン濃度の増加と受精率低下のメカニズムについては不明であるが、ビテロジェニン濃度が増加している個体は同時に精巣卵の程度も著しいため、その結果、受精率低下が生じている可能性が推測される。



***o,p'*-DDT のメダカによる試験結果**

**1. ビテロジェニン産生試験 (試験機関：(財) 化学物質評価研究機構)**

表 1 試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	0	2.4 ± 0.34	2.1 ± 0.56	ND	ND
助剤対照区	3.3	2.1 ± 0.59	1.9 ± 0.41	ND	ND
0.373	0	2.0 ± 0.60	2.1 ± 0.71	ND	ND
0.800	0	2.1 ± 0.58	1.9 ± 0.73	ND	ND
1.50	0	2.2 ± 0.59	1.8 ± 0.52	2.1 ± 4.8	260 ± 560**
3.20	0	2.5 ± 0.89	2.2 ± 0.40	510 ± 1,800**	1,700 ± 2,100**
6.55	0	2.7 ± 0.62	2.7 ± 0.44**	1,800 ± 2,000**	9,300 ± 9,700**

各測定値データの値は、平均±標準偏差、\*\*は  $p < 0.01$  で有意であることを示す。  
ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 (<1ng/mg liver) を示す。

**2. パーシャルライフサイクル試験 (試験機関：(財) 化学物質評価研究機構)**

表 2 - A 試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	100	9.4 ± 0.21	8.3 ± 10	31 ± 2.1	290 ± 50
助剤対照区	100	9.7 ± 0.15	6.7 ± 7.7	30 ± 3.4	280 ± 70
0.195	100	9.8 ± 0.21	5.0 ± 6.4	31 ± 1.3	300 ± 41
0.366	100	10 ± 0.58	5.0 ± 6.4	31 ± 1.7	300 ± 52
0.830	100	10 ± 0.28*	12 ± 6.4	31 ± 1.6**	310 ± 59
1.69	100	9.8 ± 0.11	8.3 ± 6.4	31 ± 2.2	300 ± 58
3.36	98 ± 3.3	9.7 ± 0.091	18 ± 10	28 ± 3.5**	260 ± 81

表 2 - B 試験結果 (続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	尾数	生殖腺指数 (%)		精巣卵出現率(%) (精巣卵/(精巣+精巣卵))	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
		♂	♀		♂	♀	♂	♀
対照区	20	0.98±0.37	7.1±2.9	0 (0/13)	1.8±0.48	3.3±1.2	1.7±3.8	1,800±770
助剤対照区	20	1.2±0.26	6.7±3.7	0 (0/11)	2.0±0.45	3.9±1.1	ND	1,700±1,000
0.195	20	1.6±1.3	6.0±3.3	18* (2 <sup>b</sup> /11)	1.9±0.46	3.7±0.75	2.1±4.8	1,700±970
0.366	20	1.2±0.39	8.1±2.6	0 (0/8)	2.0±0.40	3.4±0.50	2.5±2.6	2,300±1,200
0.830	20	1.2±0.50	5.1±3.3	50** (4 <sup>c</sup> /8)	2.0±0.55	3.9±1.1	3.4±3.1	4,200±2,400*
1.69	20	1.2±0.25	4.1±2.5*	100** (2 <sup>d</sup> /2)	2.3±0.28	4.0±0.81	29±36	7,700±4,000**
3.36	20	- <sup>a</sup>	1.9±1.6**	- <sup>a</sup> (0/0)	- <sup>a</sup>	4.5±0.90*	- <sup>a</sup>	7,500±1,200**

各測定値データの値は、平均±標準偏差、\*\*は  $p < 0.01$ 、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。  
ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 (<1ng/mg liver) を示す。

<sup>a</sup>：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ったため、算出できなかった。<sup>b</sup>：生殖腺スコアは 1.4 であった。

<sup>c</sup>：生殖腺スコアは 1.6 であった。<sup>d</sup>：生殖腺スコアは 3.7 であった。

### 3. フルライフサイクル試験（試験機関：(財) 化学物質評価研究機構）

表3-A：1世代目（F0）試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)	尾数	精巣卵出現率(%) (精巣卵/(精巣+精巣卵))
対照区	97 $\pm$ 3.8	9.9 $\pm$ 0.060	0	30 $\pm$ 1.3	280 $\pm$ 49	20	0 (0/8)
助剤対照区	95 $\pm$ 3.3	10 $\pm$ 0.033	7.0 $\pm$ 0.24	31 $\pm$ 1.0	290 $\pm$ 43	20	0 (0/11)
0.0153	97 $\pm$ 6.7	9.9 $\pm$ 0.13	1.7 $\pm$ 3.3	31 $\pm$ 1.3	300 $\pm$ 38	20	0 (0/11)
0.0474	98 $\pm$ 3.3	9.9 $\pm$ 0.054	3.3 $\pm$ 3.8	31 $\pm$ 0.94	300 $\pm$ 26	20	0 (0/8)
0.145	100	10 $\pm$ 0.19	5.0 $\pm$ 6.4	31 $\pm$ 1.7	290 $\pm$ 49	20	0 (0/10)
0.522	98 $\pm$ 3.3	9.8 $\pm$ 0.20	5.1 $\pm$ 6.4	31 $\pm$ 1.0	300 $\pm$ 34	20	55 (6 <sup>a</sup> /11)**
1.94	95 $\pm$ 6.4	9.8 $\pm$ 0.10	7.3 $\pm$ 6.3	30 $\pm$ 1.5	290 $\pm$ 45	20	100 (2 <sup>b</sup> /2)**

表3-B：(続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	産卵数	受精率 (%)	生殖腺指数 (%)		肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 (ng/mg liver)	
			♂	♀	♂	♀	♂	♀
対照区	1,200 $\pm$ 130	98 $\pm$ 1.0	0.95 $\pm$ 0.25	9.9 $\pm$ 1.2	1.4 $\pm$ 0.33	4.6 $\pm$ 1.3	ND	1,200 $\pm$ 340
助剤対照区	1,100 $\pm$ 140	99 $\pm$ 0.27	1.0 $\pm$ 0.32	11 $\pm$ 2.3	1.7 $\pm$ 0.53	4.1 $\pm$ 0.83	ND	1,300 $\pm$ 250
0.0153	1,200 $\pm$ 160	98 $\pm$ 1.4	1.0 $\pm$ 0.25	10 $\pm$ 1.7	1.4 $\pm$ 0.41	3.7 $\pm$ 0.98	ND	1,300 $\pm$ 240
0.0474	1,100 $\pm$ 170	98 $\pm$ 2.5	1.0 $\pm$ 0.37	9.5 $\pm$ 1.2	1.4 $\pm$ 0.48	3.9 $\pm$ 0.88	ND	1,300 $\pm$ 350
0.145	1,000 $\pm$ 210	98 $\pm$ 0.77	1.2 $\pm$ 0.32	9.8 $\pm$ 2.0	1.5 $\pm$ 0.33	3.9 $\pm$ 1.6	1.5 $\pm$ 2.5	1,400 $\pm$ 230
0.522	1,000 $\pm$ 380	80 $\pm$ 33*	1.2 $\pm$ 0.41	10 $\pm$ 2.1	1.9 $\pm$ 0.54	4.2 $\pm$ 1.5	110 $\pm$ 220**	1,700 $\pm$ 390**
1.94	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\*は  $p < 0.01$ 、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 (<1ng/mg liver) を示す。

<sup>a</sup> 生殖腺スコアは 1.8 であった。

<sup>b</sup> 生殖腺スコアは 3.9 であった。

<sup>c</sup> オスの二次性徴を示す個体が存在しなかったため繁殖検討を実施できず、値を算出できなかった。

表3-C : 2世代目 (F1) 試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)	尾数	精巣卵出現率(%) (精巣卵/(精巣+精巣卵))
対照区	99 $\pm$ 2.4	9.7 $\pm$ 0.26	3.3 $\pm$ 3.8	29 $\pm$ 1.2	260 $\pm$ 38	20	0 (0/12)
助剤対照区	99 $\pm$ 1.4	9.5 $\pm$ 0.26	0	30 $\pm$ 1.4	260 $\pm$ 37	20	0 (0/7)
0.0153	91 $\pm$ 12	9.7 $\pm$ 0.43	3.3 $\pm$ 3.8	30 $\pm$ 1.7	260 $\pm$ 52	20	0 (0/9)
0.0474	98 $\pm$ 2.6	9.9 $\pm$ 0.27**	3.3 $\pm$ 6.7	30 $\pm$ 1.4**	270 $\pm$ 40	20	0 (0/12)
0.145	97 $\pm$ 2.9	10 $\pm$ 0.27**	0	30 $\pm$ 1.7	270 $\pm$ 35	20	0 (0/7)
0.522	96 $\pm$ 5.5	9.9 $\pm$ 0.24**	1.7 $\pm$ 3.3	30 $\pm$ 1.7	260 $\pm$ 45	20	25 (2 <sup>a</sup> /8)*
1.94	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>

表3-D : (続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度(ng/mg liver)	
	♂	♀	♂	♀
対照区	1.8 $\pm$ 0.40	3.2 $\pm$ 0.87	ND	1,400 $\pm$ 340
助剤対照区	1.9 $\pm$ 0.30	3.4 $\pm$ 0.70	11 $\pm$ 34	1,200 $\pm$ 590
0.0153	1.9 $\pm$ 0.51	3.3 $\pm$ 0.63	ND	1,100 $\pm$ 620
0.0474	1.4 $\pm$ 0.33**	3.0 $\pm$ 0.55	1.0 $\pm$ 1.6	1,200 $\pm$ 570
0.145	1.7 $\pm$ 0.36	2.9 $\pm$ 0.71	1.2 $\pm$ 1.2	1,800 $\pm$ 1,500
0.522	1.8 $\pm$ 0.26	3.3 $\pm$ 0.58	1.4 $\pm$ 1.9	1,900 $\pm$ 690
1.94	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>	- <sup>b</sup>

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\*は  $p < 0.01$ 、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 (<1ng/mg liver) を示す。

<sup>a</sup> 生殖腺スコアは 1.8 であった。

<sup>b</sup> 1 世代目においてオスの二次性徴を示す個体が存在しなかったため、次世代を得ることができなかった。

## アルドリンのメダカによる試験結果

### 1. ビテロジェニン産生試験（試験機関：独）国立環境研究所）

表 1：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	0	2.0 $\pm$ 0.38	2.0 $\pm$ 0.44	1.3 $\pm$ 1.3	ND
助剤対照区	0	2.1 $\pm$ 0.59	2.2 $\pm$ 0.48	ND	ND
2.02	3.3	2.2 $\pm$ 0.36	1.9 $\pm$ 0.32	ND	ND
3.28	3.3	2.2 $\pm$ 0.53	1.9 $\pm$ 0.31	ND	ND
7.34	0	1.8 $\pm$ 0.47	2.1 $\pm$ 0.60	ND	ND
15.1	33	1.9 $\pm$ 0.62	2.4 $\pm$ 0.73 <sup>b</sup>	ND	1.8 $\pm$ 0.94 <sup>b**</sup>
28.6	93	1.9 $\pm$ 0.70 <sup>a</sup>	-	2.6 $\pm$ 3.6 <sup>a</sup>	-

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\*は  $p<0.01$ 、\*は  $p<0.05$  で有意であることを示す。  
ビテロジェニンの定量下限は 1 $\text{ng/mg liver}$

a: N=2, b: N=5

### 2. パーシャルライフサイクル試験（試験機関：独）国立環境研究所）

表 2 - A：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	83 $\pm$ 5.8	11 $\pm$ 0.092	3.9 $\pm$ 3.4	29 $\pm$ 2.1	340 $\pm$ 82
助剤対照区	82 $\pm$ 2.9	11 $\pm$ 0.59	8.2 $\pm$ 3.7	28 $\pm$ 2.1	320 $\pm$ 70
0.069	92 $\pm$ 7.6	11 $\pm$ 1.0	14 $\pm$ 5.0	30 $\pm$ 2.5	350 $\pm$ 93
0.225	87 $\pm$ 7.6	12 $\pm$ 1.4	18 $\pm$ 6.6*	30 $\pm$ 2.1*	360 $\pm$ 89
0.686	83 $\pm$ 14	13 $\pm$ 0.42*	22 $\pm$ 2.9**	30 $\pm$ 2.0	360 $\pm$ 85
2.23	77 $\pm$ 14	12 $\pm$ 0.69	18 $\pm$ 6.6*	30 $\pm$ 1.8*	360 $\pm$ 87
7.10	92 $\pm$ 2.9	10 $\pm$ 0.73	64 $\pm$ 7.0**	30 $\pm$ 1.4	360 $\pm$ 65

表 2 - B：(続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	生殖腺指数 (%)		尾数	精巣卵出現率(%) (精巣卵/(精巣+精巣卵))	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
	♂	♀			♂	♀	♂	♀
対照区	0.91 $\pm$ 0.11	7.9 $\pm$ 2.2	20	0(0/9)	2.2 $\pm$ 0.55	5.5 $\pm$ 0.57	ND	2,000 $\pm$ 750
助剤対照区	0.88 $\pm$ 0.27	3.7 $\pm$ 2.2 <sup>c</sup>	20	25(2/8) <sup>d</sup>	3.5 $\pm$ 0.78 <sup>c</sup>	5.1 $\pm$ 0.93	ND	1,300 $\pm$ 1,000
0.069	1.0 $\pm$ 0.20	8.9 $\pm$ 3.1**	20	0(0/11)	2.0 $\pm$ 0.41**	5.1 $\pm$ 1.1	11 $\pm$ 16**	1,700 $\pm$ 730
0.225	1.2 $\pm$ 0.13**	8.7 $\pm$ 2.0**	20	14(1/7) <sup>e</sup>	2.3 $\pm$ 0.44**	5.3 $\pm$ 1.1	3.1 $\pm$ 5.4	1,800 $\pm$ 920
0.686	1.1 $\pm$ 0.24*	6.7 $\pm$ 4.3	20	0(0/10)	2.6 $\pm$ 0.66**	4.9 $\pm$ 1.2	2.6 $\pm$ 3.7*	1,100 $\pm$ 850
2.23	0.84 $\pm$ 0.17	8.8 $\pm$ 2.3**	20	0(0/7)	2.1 $\pm$ 0.47**	5.3 $\pm$ 1.0	6.9 $\pm$ 8.6**	1,500 $\pm$ 750
7.10	0.80 $\pm$ 0.14	8.5 $\pm$ 1.4**	20	0(0/10)	2.1 $\pm$ 0.47**	4.7 $\pm$ 1.7	ND	1,800 $\pm$ 650

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\*は  $p<0.01$ 、\*は  $p<0.05$  で有意であることを示す。  
ビテロジェニンの定量下限は 1 $\text{ng/mg liver}$

c) 対照区と助剤対照区の間で有意差。曝露区との検定は助剤対照区に対して実施。

d) 精巣卵スコアは、1.7 $\pm$ 0.78。

e) 精巣卵個体のスコアは、1.1。

## エンドリンのメダカによる試験結果

### 1. ビテロジェニン産生試験（試験機関：独）国立環境研究所）

表 1：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	0	1.9 $\pm$ 0.27	1.9 $\pm$ 0.27	1.6 $\pm$ 0.85	ND
助剤対照区	0	2.0 $\pm$ 0.36	2.2 $\pm$ 0.42* <sup>a</sup>	1.9 $\pm$ 0.76	ND
0.037	10	2.0 $\pm$ 0.35	2.0 $\pm$ 0.30	2.3 $\pm$ 1.25	ND
0.075	3.3	1.8 $\pm$ 0.24	2.0 $\pm$ 0.32	1.8 $\pm$ 0.72	ND
0.144	3.3	1.8 $\pm$ 0.34	2.0 $\pm$ 0.37	1.6 $\pm$ 0.67	ND
0.309	13.3	2.0 $\pm$ 0.52	2.0 $\pm$ 0.41	2.0 $\pm$ 0.80	ND
0.648	83.3	1.8 $\pm$ 0.34	- <sup>b</sup>	2.1 $\pm$ 0.39	- <sup>b</sup>

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\*は  $p<0.01$ 、\*は  $p<0.05$  で有意であることを示す。  
ビテロジェニンの定量下限は 1 $\text{ng/mg liver}$ 。

a: 対照区と助剤対照区の間で有意差。曝露区との検定は助剤対照区に対して実施。

b: 14 日目に生残個体をすべて解剖したため(N=5)、サンプルはなし。

### 2. パーシャルライフサイクル試験（試験機関：独）国立環境研究所）

表 2 - A：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	83 $\pm$ 7.6	9.3 $\pm$ 1.2	7.8 $\pm$ 8.4	29 $\pm$ 2.6	310 $\pm$ 99
助剤対照区	72 $\pm$ 10	12 $\pm$ 2.4	15 $\pm$ 14	29 $\pm$ 2.0	300 $\pm$ 80
0.00188	88 $\pm$ 5.8	10 $\pm$ 1.0	23 $\pm$ 11	29 $\pm$ 2.2	300 $\pm$ 82
0.0058	88 $\pm$ 2.9	12 $\pm$ 2.0	17 $\pm$ 9.4	29 $\pm$ 2.3	300 $\pm$ 82
0.0178	83 $\pm$ 7.6	14 $\pm$ 3.7	24 $\pm$ 2.3	28 $\pm$ 2.6*	280 $\pm$ 87
0.0562	73 $\pm$ 7.6	12 $\pm$ 1.0	22 $\pm$ 22	29 $\pm$ 2.2	300 $\pm$ 85
0.19	80 $\pm$ 15	12 $\pm$ 2.4	28 $\pm$ 7.5	28 $\pm$ 2.9	280 $\pm$ 90

表 2 - B：(続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	生殖腺指数 (%)		尾数	精巣卵出現率(%) (精巣卵/精巣+精巣卵)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
	♂	♀			♂	♀	♂	♀
対照区	0.98 $\pm$ 0.18	6.9 $\pm$ 3.2	20	0(0/11)	3.3 $\pm$ 0.46	6.1 $\pm$ 1.2	ND	3,200 $\pm$ 2,300
助剤対照区	1.0 $\pm$ 0.27	6.5 $\pm$ 4.2	20	0(0/9)	2.8 $\pm$ 0.55* <sup>c</sup>	5.8 $\pm$ 1.5	ND	3,200 $\pm$ 2,300
0.00188	0.95 $\pm$ 0.27	8.6 $\pm$ 2.8	20	0(0/13)	2.9 $\pm$ 0.86	5.5 $\pm$ 0.56	ND	2,800 $\pm$ 1,700
0.0058	0.82 $\pm$ 0.33	7.8 $\pm$ 3.1	20	0(0/10)	3.3 $\pm$ 0.69	6.4 $\pm$ 1.0	3.4 $\pm$ 5.1**	2,300 $\pm$ 1,100
0.0178	1.1 $\pm$ 0.34	5.8 $\pm$ 3.4	20	0(0/9)	2.8 $\pm$ 0.82	5.4 $\pm$ 0.76	9.1 $\pm$ 21**	2,400 $\pm$ 1,700
0.0562	1.0 $\pm$ 0.22	5.6 $\pm$ 4.0	20	0(0/13)	2.9 $\pm$ 0.57	5.8 $\pm$ 0.98	2.0 $\pm$ 0.70**	3,200 $\pm$ 2,800
0.19	0.82 $\pm$ 0.26	7.3 $\pm$ 4.2	20	0(0/12)	2.8 $\pm$ 1.0	5.1 $\pm$ 0.97	1.5 $\pm$ 0.31**	2,200 $\pm$ 1,600

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\*は  $p<0.01$ 、\*は  $p<0.05$  で有意であることを示す。

ビテロジェニンの定量下限は 1 $\text{ng/mg liver}$ 。

c: 対照区と助剤対照区の間で有意差。曝露区との検定は助剤対照区に対して実施。

ディルドリンのメダカによる試験結果

1. ビテロジェニン産生試験 (試験機関：独) 国立環境研究所)

表1：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14日	21日	14日	21日
対照区	3.3	2.0 $\pm$ 0.40	2.3 $\pm$ 0.44	1.6 $\pm$ 0.47	1.6 $\pm$ 0.80
助剤対照区	6.7	2.0 $\pm$ 0.40	2.5 $\pm$ 0.43	1.4 $\pm$ 0.65	1.8 $\pm$ 0.65
0.27	0	2.0 $\pm$ 0.47	2.2 $\pm$ 0.37	1.8 $\pm$ 0.58	3.1 $\pm$ 1.7**
0.70	3.3	2.0 $\pm$ 0.47	2.2 $\pm$ 0.40	1.7 $\pm$ 0.49	2.7 $\pm$ 1.3*
2.26	0	2.2 $\pm$ 0.36	2.2 $\pm$ 0.26	1.6 $\pm$ 0.73	2.4 $\pm$ 1.1*
7.23	16.7	2.2 $\pm$ 0.52	2.2 $\pm$ 0.33	2.0 $\pm$ 0.79*	2.6 $\pm$ 1.4
24.2	100 <sup>a</sup>	-	-	-	-

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\*は  $p<0.01$ 、\*は  $p<0.05$  で有意であることを示す。  
ビテロジェニンの定量下限は  $1\text{ng/mg liver}$ 。

a: 曝露開始後9日目までにすべて死亡。

2. パーシャルライフサイクル試験 (試験機関：独) 国立環境研究所)

表2-A：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	93 $\pm$ 7.6	13 $\pm$ 1.1	13 $\pm$ 3.0	29 $\pm$ 2.0	290 $\pm$ 61
助剤対照区	88 $\pm$ 16	11 $\pm$ 0.95	13 $\pm$ 4.8	29 $\pm$ 1.8	280 $\pm$ 55
0.023	93 $\pm$ 7.6	13 $\pm$ 0.77	16 $\pm$ 1.4	29 $\pm$ 2.4	300 $\pm$ 75
0.073	85 $\pm$ 5.0	16 $\pm$ 1.5**	31 $\pm$ 12**	29 $\pm$ 2.2	280 $\pm$ 69
0.230	83 $\pm$ 12	16 $\pm$ 1.9**	17 $\pm$ 10	29 $\pm$ 2.6	290 $\pm$ 82
0.754	80 $\pm$ 8.7	14 $\pm$ 1.8	4.3 $\pm$ 3.8	30 $\pm$ 2.0	300 $\pm$ 69
2.33	87 $\pm$ 7.6	14 $\pm$ 1.0	29 $\pm$ 4.6*	29 $\pm$ 1.6	290 $\pm$ 53

表2-B：(続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	生殖腺指数 (%)		尾数	精巣卵出現率(%) (精巣卵/(精巣+精巣卵))	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
	♂	♀			♂	♀	♂	♀
対照区	0.74 $\pm$ 0.23	7.7 $\pm$ 1.1	20	0(0/12)	3.0 $\pm$ 0.44	5.4 $\pm$ 0.66	ND	1,500 $\pm$ 320
助剤対照区	0.83 $\pm$ 0.22	6.4 $\pm$ 2.1	20	0(0/9)	2.9 $\pm$ 0.52	5.8 $\pm$ 0.58	ND	1,700 $\pm$ 580
0.023	0.92 $\pm$ 0.17	7.8 $\pm$ 3.3	20	13(1/8) <sup>b</sup>	2.4 $\pm$ 0.47*	5.3 $\pm$ 0.68	ND	2,000 $\pm$ 700
0.073	1.1 $\pm$ 0.32**	6.1 $\pm$ 3.8	20	7.7(1/13) <sup>c</sup>	2.6 $\pm$ 0.56	5.4 $\pm$ 0.84	1.5 $\pm$ 1.9*	1,900 $\pm$ 550
0.230	0.84 $\pm$ 0.32	6.2 $\pm$ 3.6	20	0(0/9)	3.0 $\pm$ 0.58	5.7 $\pm$ 0.68	ND	2,000 $\pm$ 1,300
0.754	0.76 $\pm$ 0.27	8.2 $\pm$ 2.7	20	0(0/11)	2.7 $\pm$ 0.56	5.8 $\pm$ 1.2	ND	2,100 $\pm$ 720*
2.33	0.80 $\pm$ 0.19	6.9 $\pm$ 3.2	20	0(0/12)	2.8 $\pm$ 0.42	5.1 $\pm$ 1.1	2.5 $\pm$ 4.0*	2,100 $\pm$ 790

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\*は  $p<0.01$ 、\*は  $p<0.05$  で有意であることを示す。  
ビテロジェニンの定量下限は  $1\text{ng/mg liver}$ 。

b, c: 精巣卵スコアはそれぞれ 1.1。

ヘプタクロルのメダカによる試験結果

1. ビテロジェニン産生試験 (試験機関：国土環境(株))

表1：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14日	21日	14日	21日
対照区	0	1.8 $\pm$ 0.42	1.9 $\pm$ 0.39	ND	ND
助剤対照区	0	1.8 $\pm$ 0.43	1.7 $\pm$ 0.33	ND	ND
0.674	0	1.4 $\pm$ 0.28*	2.0 $\pm$ 0.39	ND	ND
1.29	0	1.8 $\pm$ 0.37	1.9 $\pm$ 0.36	ND	ND
2.52	0	1.6 $\pm$ 0.20	1.9 $\pm$ 0.40	1.5 $\pm$ 2.5	1.1 $\pm$ 2.2
5.66	0	2.0 $\pm$ 0.49	2.0 $\pm$ 0.50	ND	ND
11.4	23	1.8 $\pm$ 0.23	1.9 $\pm$ 0.35	ND	ND

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*は $p < 0.05$ で有意であることを示す。

ビテロジェニン濃度のNDは、定量下限未満 (< 1 ng/mg liver) を示す。

2. パーシャルライフサイクル試験 (試験機関：財) 化学物質評価研究機構)

表2-A：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	98 $\pm$ 3.3	10 $\pm$ 0.16	1.8 $\pm$ 3.6	30 $\pm$ 1.8	290 $\pm$ 49
助剤対照区	100	9.9 $\pm$ 0.054	3.3 $\pm$ 3.8	30 $\pm$ 1.6	280 $\pm$ 46
0.0649	100	10 $\pm$ 0.11	1.7 $\pm$ 3.3	30 $\pm$ 1.3	280 $\pm$ 41
0.120	100	10 $\pm$ 0.19	1.7 $\pm$ 3.3	30 $\pm$ 1.5	280 $\pm$ 42
0.252	100	10 $\pm$ 0.11*	1.7 $\pm$ 3.3	30 $\pm$ 1.6	290 $\pm$ 45
0.538	95 $\pm$ 6.4	10 $\pm$ 0.064	3.7 $\pm$ 4.3	30 $\pm$ 3.1	290 $\pm$ 64
1.04	98 $\pm$ 3.3	10 $\pm$ 0.18	1.8 $\pm$ 3.6	30 $\pm$ 1.4	280 $\pm$ 33

表2-B：(続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	生殖腺指数 (%)		尾数	精巣卵出現率(%) (精巣卵/(精巣+精巣卵))	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
	♂	♀			♂	♀	♂	♀
対照区	1.0 $\pm$ 0.17	5.2 $\pm$ 3.6	20	0 (0/9)	2.0 $\pm$ 0.45	3.2 $\pm$ 0.66	ND	1,700 $\pm$ 1,100
助剤対照区	1.0 $\pm$ 0.36	6.0 $\pm$ 2.8	20	0 (0/10)	1.9 $\pm$ 0.40	4.3 $\pm$ 2.1	ND	1,800 $\pm$ 1,200
0.0649	0.91 $\pm$ 0.29	6.9 $\pm$ 3.3	20	0 (0/8)	2.0 $\pm$ 0.27	3.7 $\pm$ 1.0	ND	1,500 $\pm$ 800
0.120	1.0 $\pm$ 0.44	7.1 $\pm$ 2.4	20	0 (0/10)	1.7 $\pm$ 0.34	3.5 $\pm$ 0.72	ND	1,500 $\pm$ 770
0.252	1.0 $\pm$ 0.21	5.1 $\pm$ 3.2	20	0 (0/7)	1.9 $\pm$ 0.66	3.4 $\pm$ 0.89	2.7 $\pm$ 1.7	2,200 $\pm$ 1,000
0.538	1.2 $\pm$ 0.35	6.2 $\pm$ 3.8	20	0 (0/10)	1.9 $\pm$ 0.44	3.6 $\pm$ 0.50	1.0 $\pm$ 0.74	2,200 $\pm$ 1,400
1.04	0.87 $\pm$ 0.29	7.1 $\pm$ 3.8	20	0 (0/10)	1.6 $\pm$ 0.33	3.6 $\pm$ 0.69	ND	1,600 $\pm$ 1,000

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*は $p < 0.05$ で有意であることを示す。

ビテロジェニンのNDは、定量下限未満 (< 1 ng/mg liver) を示す。

## マイレックスのメダカによる試験結果

### 1. ビテロジェニン産生試験 (試験機関：国土環境(株))

表 1：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	3.3	1.8 $\pm$ 0.41	1.9 $\pm$ 0.23	ND	ND
助剤対照区	0	1.7 $\pm$ 0.36	1.9 $\pm$ 0.28	ND	ND
1.07	0	1.7 $\pm$ 0.28	2.0 $\pm$ 0.26	ND	ND
2.99	0	1.7 $\pm$ 0.28	2.0 $\pm$ 0.27	ND	ND
8.36	0	1.8 $\pm$ 0.39	1.7 $\pm$ 0.25	ND	ND
23.8	0	1.9 $\pm$ 0.37	1.9 $\pm$ 0.30	ND	ND
65.6	0	1.7 $\pm$ 0.31	1.8 $\pm$ 0.29	ND	ND

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差として示した。

ビテロジェニン濃度の ND は、定量下限未満 (< 1  $\text{ng/mg liver}$ ) を示す。

### 2. パーシャルライフサイクル試験 (試験機関：(財) 化学物質評価研究機構)

表 2 - A：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	100	9.7 $\pm$ 0.16	0	30 $\pm$ 1.7	280 $\pm$ 48
助剤対照区	100	9.8 $\pm$ 0.14	6.7 $\pm$ 5.4	30 $\pm$ 1.2	270 $\pm$ 37
0.0809	100	9.7 $\pm$ 0.054	5.0 $\pm$ 10	30 $\pm$ 1.9	270 $\pm$ 46
0.222	98 $\pm$ 3.3	9.7 $\pm$ 0.16	3.3 $\pm$ 3.8	30 $\pm$ 1.4	280 $\pm$ 45
0.549	100	9.5 $\pm$ 0.24	5.0 $\pm$ 6.4	30 $\pm$ 1.1	270 $\pm$ 41
1.61	100	9.5 $\pm$ 0.42	3.3 $\pm$ 3.8	30 $\pm$ 1.5	270 $\pm$ 42
4.05	97 $\pm$ 3.8	9.5 $\pm$ 0.22	5.0 $\pm$ 10	30 $\pm$ 0.92	260 $\pm$ 29

表 2 - B：(続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	生殖腺指数 (%)		尾数	精巣卵出現率(%) (精巣卵/(精巣+精巣卵))	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
	♂	♀			♂	♀	♂	♀
対照区	0.98 $\pm$ 0.32	6.4 $\pm$ 3.3	20	0 (0/8)	1.7 $\pm$ 0.45	3.2 $\pm$ 1.1	ND	1,500 $\pm$ 740
助剤対照区	0.89 $\pm$ 0.19	6.7 $\pm$ 2.4	20	0 (0/9)	1.6 $\pm$ 0.64	4.0 $\pm$ 2.1	ND	1,900 $\pm$ 690
0.0809	1.2 $\pm$ 0.27	7.4 $\pm$ 2.2	20	0 (0/10)	1.6 $\pm$ 0.71	3.2 $\pm$ 0.56	1.3 $\pm$ 2.5	1,600 $\pm$ 620
0.222	1.0 $\pm$ 0.25	6.1 $\pm$ 3.1	20	10 (1 <sup>a</sup> /10)	1.8 $\pm$ 0.27	3.2 $\pm$ 0.63	ND	1,600 $\pm$ 870
0.549	0.99 $\pm$ 0.23	7.7 $\pm$ 1.1	20	8.3 (1 <sup>a</sup> /12)	2.1 $\pm$ 0.59	3.9 $\pm$ 1.0	ND	1,800 $\pm$ 500
1.61	1.1 $\pm$ 0.20	7.5 $\pm$ 3.0	20	0 (0/9)	1.8 $\pm$ 0.29	3.4 $\pm$ 0.85	1.3 $\pm$ 2.5	1,700 $\pm$ 430
4.05	0.76 $\pm$ 0.31	7.5 $\pm$ 2.7	20	0 (0/12)	1.7 $\pm$ 0.26	3.2 $\pm$ 0.98	ND	1,800 $\pm$ 710

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差として示した。

ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 (< 1  $\text{ng/mg liver}$ ) を示す。

<sup>a</sup> 生殖腺スコアは 1.2 であった。



ケルセンのメダカによる試験結果

1. ビテロジェニン産生試験（試験機関：(財) 化学物質評価研究機構）

表 1：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	0	2.6 $\pm$ 0.60	2.4 $\pm$ 0.35	ND	ND
助剤対照区	0	2.2 $\pm$ 0.55	2.0 $\pm$ 0.38	ND	ND
3.03	0	2.4 $\pm$ 0.67	2.2 $\pm$ 0.53	ND	ND
4.48	0	2.3 $\pm$ 0.37	2.2 $\pm$ 0.43	ND	ND
6.68	0	2.3 $\pm$ 0.38	2.1 $\pm$ 0.41	ND	ND
10.4	0	2.3 $\pm$ 0.44	2.5 $\pm$ 0.53	ND	ND
14.6	6.7	2.0 $\pm$ 0.48	2.1 $\pm$ 0.31	ND	8.1 $\pm$ 7.7**

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\* は  $p < 0.01$  で有意であることを示す。

ビテロジェニン濃度の ND は、定量下限未満 ( $< 1 \text{ ng/mg liver}$ ) を示す。

2. パーシャルライフサイクル試験（試験機関：(財) 化学物質評価研究機構）

表 2 - A：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	93 $\pm$ 5.4	9.6 $\pm$ 0.14	11 $\pm$ 12	30 $\pm$ 1.6	270 $\pm$ 43
助剤対照区	97 $\pm$ 3.8	9.1 $\pm$ 0.10	14 $\pm$ 11	30 $\pm$ 1.4	280 $\pm$ 42
0.275	98 $\pm$ 3.3	9.3 $\pm$ 0.18	10 $\pm$ 4.1	30 $\pm$ 1.8	290 $\pm$ 58
0.550	98 $\pm$ 3.3	9.2 $\pm$ 0.12	10 $\pm$ 8.6	30 $\pm$ 1.4	280 $\pm$ 37
1.10	100	9.4 $\pm$ 0.084	6.7 $\pm$ 9.4	30 $\pm$ 1.9	280 $\pm$ 53
2.18	95 $\pm$ 6.4	9.2 $\pm$ 0.20	17 $\pm$ 6.4	30 $\pm$ 2.5	280 $\pm$ 54
4.52	97 $\pm$ 6.7	9.5 $\pm$ 0.15**	8.8 $\pm$ 4.4	30 $\pm$ 1.3	280 $\pm$ 33

表 2 - B：(続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	生殖腺指数 (%)		尾数	精巣卵出現率(%) (精巣卵/(精巣+精巣卵))	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
	♂	♀			♂	♀	♂	♀
対照区	0.87 $\pm$ 0.23	5.0 $\pm$ 3.0	20	0 (0/8)	1.7 $\pm$ 0.35	3.2 $\pm$ 0.77	ND	1,200 $\pm$ 660
助剤対照区	1.0 $\pm$ 0.43	7.5 $\pm$ 2.7	20	0 (0/11)	1.8 $\pm$ 0.79	4.0 $\pm$ 0.57	ND	1,400 $\pm$ 410
0.275	1.1 $\pm$ 0.34	5.4 $\pm$ 4.0	20	0 (0/10)	1.9 $\pm$ 0.50	3.7 $\pm$ 0.50	ND	1,200 $\pm$ 760
0.550	1.1 $\pm$ 0.39	3.7 $\pm$ 3.3	20	0 (0/12)	2.2 $\pm$ 0.76	3.6 $\pm$ 0.61	ND	620 $\pm$ 890
1.10	1.1 $\pm$ 0.17	5.1 $\pm$ 3.4	20	0 (0/7)	1.7 $\pm$ 0.31	3.4 $\pm$ 1.3	ND	1,100 $\pm$ 810
2.18	0.93 $\pm$ 0.36	2.8 $\pm$ 3.1	20	0 (0/12)	1.7 $\pm$ 0.80	3.2 $\pm$ 0.60	1.1 $\pm$ 1.8	570 $\pm$ 830
4.52	1.0 $\pm$ 0.54	6.5 $\pm$ 1.1	20	0 (0/12)	2.1 $\pm$ 0.58	4.0 $\pm$ 0.62	1.3 $\pm$ 1.8	1,600 $\pm$ 340

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\* は  $p < 0.01$  で有意であることを示す。

ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 ( $< 1 \text{ ng/mg liver}$ ) を示す。

ペルメトリンのメダカによる試験結果

1. ビテロジェニン産生試験（試験機関：(財) 化学物質評価研究機構）

表 1：試験結果

平均濃度 <sup>a</sup> ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	0	2.2 $\pm$ 0.59	2.1 $\pm$ 0.40	ND	ND
助剤対照区	0	2.4 $\pm$ 0.53	2.0 $\pm$ 0.45	ND	ND
0.279	0	2.0 $\pm$ 0.52	1.9 $\pm$ 0.49	ND	ND
0.632	0	2.2 $\pm$ 0.63	2.1 $\pm$ 0.45	ND	ND
1.29	0	2.3 $\pm$ 0.52	2.2 $\pm$ 0.55	ND	ND
2.19	0	2.1 $\pm$ 0.46	2.1 $\pm$ 0.47	ND	ND
5.49	3.3	2.2 $\pm$ 0.65	2.0 $\pm$ 0.49	ND	ND

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差として示した。

ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 (< 1  $\text{ng/mg liver}$ ) を示す。

2. パーシャルライフサイクル試験（試験機関：(財) 化学物質評価研究機構）

表 2 - A：試験結果

平均濃度 <sup>a</sup> ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	100	9.8 $\pm$ 0.14	3.3 $\pm$ 3.8	30 $\pm$ 1.5	270 $\pm$ 41
助剤対照区	100	9.5 $\pm$ 0.15	3.3 $\pm$ 3.8	30 $\pm$ 1.4	260 $\pm$ 46
0.177	98 $\pm$ 3.3	9.5 $\pm$ 0.32	3.5 $\pm$ 4.0	30 $\pm$ 2.0	250 $\pm$ 40
0.279	98 $\pm$ 3.3	9.4 $\pm$ 0.22	1.8 $\pm$ 3.6	29 $\pm$ 1.9	260 $\pm$ 45
0.424	100	9.1 $\pm$ 0.23	5.0 $\pm$ 3.3	30 $\pm$ 1.5	270 $\pm$ 41
0.636	100	9.6 $\pm$ 0.12	1.7 $\pm$ 3.3	30 $\pm$ 1.5	270 $\pm$ 41
0.907	95 $\pm$ 6.4	9.6 $\pm$ 0.27	3.6 $\pm$ 7.1	30 $\pm$ 1.4	260 $\pm$ 43

表 2 - B：(続き)

平均濃度 <sup>a</sup> ( $\mu\text{g/L}$ )	生殖腺指数 (%)		尾 数	精巢卵出現率(%) (精巢卵/(精巢+精巢卵))	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
	♂	♀			♂	♀	♂	♀
対照区	0.97 $\pm$ 0.23	7.9 $\pm$ 1.2	20	0 (0/11)	2.2 $\pm$ 0.43	3.5 $\pm$ 0.76	ND	1,100 $\pm$ 530
助剤対照区	0.90 $\pm$ 0.30	7.6 $\pm$ 3.3	20	0 (0/11)	2.2 $\pm$ 0.49	3.8 $\pm$ 1.3	ND	1,300 $\pm$ 740
0.177	0.93 $\pm$ 0.24	7.8 $\pm$ 1.7	19 <sup>b</sup>	0 (0/9)	1.8 $\pm$ 0.67	3.6 $\pm$ 0.73	ND	1,800 $\pm$ 930
0.279	0.98 $\pm$ 0.19	9.6 $\pm$ 1.5	20	9.1 (1 <sup>c</sup> /11)	2.0 $\pm$ 0.58	3.6 $\pm$ 0.81	ND	1,400 $\pm$ 320
0.424	1.2 $\pm$ 0.33 <sup>*</sup>	6.1 $\pm$ 3.2	20	7.7 (1 <sup>c</sup> /13)	2.0 $\pm$ 0.73	3.2 $\pm$ 1.3	ND	1,700 $\pm$ 660
0.636	1.2 $\pm$ 0.22	6.2 $\pm$ 2.4	20	0 (0/7)	1.8 $\pm$ 0.33	3.2 $\pm$ 1.2	ND	1,500 $\pm$ 320
0.907	1.2 $\pm$ 0.30	8.9 $\pm$ 2.4	20	0 (0/10)	2.0 $\pm$ 0.70	3.6 $\pm$ 0.85	ND	1,700 $\pm$ 540

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。

ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 (< 1  $\text{ng/mg liver}$ ) を示す。

<sup>a</sup> 平均測定濃度は *cis* 体と *trans* 体のそれぞれの平均濃度の合計とした。

<sup>b</sup> 固定作業における操作ミスのため N=19 とした。

<sup>c</sup> 生殖腺スコアは 1.2 であった。

## マラチオンのメダカによる試験結果

### 1. ビテロジェニン産生試験（試験機関：国土環境株式会社）

表 1：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	0	2.1 $\pm$ 0.26	2.4 $\pm$ 0.29	ND	ND
助剤対照区	0	2.1 $\pm$ 0.33	2.3 $\pm$ 0.33	ND	ND
1.49	0	2.2 $\pm$ 0.40	2.0 $\pm$ 0.27	ND	ND
4.57	0	1.8 $\pm$ 0.31*	2.2 $\pm$ 0.39	ND	ND
15.1	0	1.9 $\pm$ 0.27*	2.2 $\pm$ 0.55	ND	ND
45.6	0	1.9 $\pm$ 0.14	2.2 $\pm$ 0.29	ND	ND
148	0	2.0 $\pm$ 0.34	2.2 $\pm$ 0.36	ND	ND

### 2. パーシャルライフサイクル試験（試験機関：(財)化学物質評価研究機構）

表 2-A：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	100	9.9 $\pm$ 0.18	1.7 $\pm$ 3.3	29 $\pm$ 1.7	260 $\pm$ 43
助剤対照区	100	10 $\pm$ 0.033	0	30 $\pm$ 2.3	270 $\pm$ 63
0.375	100	9.9 $\pm$ 0.094	0	29 $\pm$ 1.6	260 $\pm$ 47
0.781	98 $\pm$ 3.3	10 $\pm$ 0.16	1.7 $\pm$ 3.3	30 $\pm$ 2.0	270 $\pm$ 52
1.62	100	10 $\pm$ 0.064	0	30 $\pm$ 1.0	270 $\pm$ 31
2.77	98 $\pm$ 3.3	10 $\pm$ 0.11	5.0 $\pm$ 6.4	30 $\pm$ 2.7	280 $\pm$ 54
6.26	100	10	3.3 $\pm$ 3.8	30 $\pm$ 1.5	270 $\pm$ 48

表 2-B：(続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	生殖腺指数 (%)		尾 数	精巢卵出現率(%) (精巢卵/(精巢+精巢卵))	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
	♂	♀			♂	♀	♂	♀
対照区	1.0 $\pm$ 0.32	6.2 $\pm$ 3.5	20	0 (0/11)	2.3 $\pm$ 0.73	3.3 $\pm$ 0.67	ND	1,500 $\pm$ 860
助剤対照区	1.0 $\pm$ 0.23	7.2 $\pm$ 3.1	20	0 (0/9)	1.9 $\pm$ 0.54	3.7 $\pm$ 0.33	ND	1,600 $\pm$ 720
0.375	1.1 $\pm$ 0.20	8.0 $\pm$ 1.7	20	0 (0/9)	1.7 $\pm$ 0.36	3.5 $\pm$ 0.81	ND	1,800 $\pm$ 550
0.781	0.96 $\pm$ 0.25	8.5 $\pm$ 2.6	20	0 (0/9)	1.4 $\pm$ 0.56	3.8 $\pm$ 0.76	ND	1,900 $\pm$ 510
1.62	1.2 $\pm$ 0.40	9.4 $\pm$ 1.6	20	0 (0/11)	1.9 $\pm$ 0.70	3.8 $\pm$ 0.75	ND	1,400 $\pm$ 310
2.77	1.2 $\pm$ 0.30	7.4 $\pm$ 3.4	20	0 (0/11)	1.9 $\pm$ 0.42	3.9 $\pm$ 1.0	ND	1,300 $\pm$ 440
6.26	1.1 $\pm$ 0.22	8.7 $\pm$ 2.1	20	0 (0/9)	2.1 $\pm$ 0.67	3.7 $\pm$ 0.57	ND	1,100 $\pm$ 290*

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。  
ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 ( $< 1 \text{ ng/mg liver}$ ) を示す。

表 選定物質のメダカエストロジェン受容体 ( $\alpha$ 、 $\beta$ ) 結合競合阻害試験、  
メダカエストロジェン受容体 ( $\alpha$ 、 $\beta$ ) 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の結果

	エストロジェン受容体 $\alpha$ (%)		エストロジェン受容体 $\beta$ (%)		アンドロジェン受容体 (%)
	結合競合阻害試験	レポータージーン試験	結合競合阻害試験	レポータージーン試験	レポータージーン試験
17 $\beta$ -エストラジオール ジヒドロテストステロン	100	100	100	100	100
アルドリン	0.29	—	0.025	—	—
エンドリン	0.21	—	0.019	—	—
ディルドリン	0.30	—	0.0079	—	—
ヘプタクロル	0.16	—	0.015	—	—
マイレックス	—	—	—	—	—
マラチオン	0.0044	—	0.0010	—	—
ケルセン	0.024	n. d.	0.0038	—	—
ペルメトリン	0.0090	—	0.0048	—	—
op'-DDT	0.54	n. d.	0.17	—	—

結合競合阻害試験では陽性対象物質の活性を 100 とした際の相対結合親和性 (%) を、レポータージーン試験では相対遺伝子転写活性 (%) を示した。マラチオン、ケルセン、ペルメトリンについては各試験を実施中。

—: 試験した濃度範囲で活性が認められなかった。

n. d.: 活性が認められたが IC<sub>50</sub> 値は得られず、相対活性が計算できなかった。

## SPEED'98における生態系への内分泌かく乱作用による影響に関する 魚類を用いた試験体系の概況

### 1. 評価体制

平成16年度までは、「内分泌攪乱化学物質問題検討会」のもとに設置された「内分泌攪乱作用が疑われる物質のリスク評価検討会」のなかに生態系の専門家からなる「内分泌攪乱化学物質の生態影響に関する試験法開発検討会」を設置し（鳥類、両生類、無脊椎動物についてはそれぞれ担当グループを更に設置）、①物質ごとのプロトコール及び②そのプロトコールに則った実施状況や試験結果について助言評価を行った。

平成17年度からは、「化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会」のもとに設置された「作用・影響評価検討会」のなかに生態系の専門家からなる「魚類試験実務者会議」を設置し（両生類、無脊椎動物についてはそれぞれ試験法開発研究班を更に設置）、①物質ごとのプロトコール及び②そのプロトコールに則った実施状況や試験結果について助言評価を行った。

### 2. 有害性評価の対象とした化学物質

環境省においては、内分泌攪乱化学物質の生態系への影響評価のため、スクリーニング・試験法について、**OECD**（経済協力開発機構）の国際的取組に協調しつつ開発を進めるとともに、わが国において開発した方法（メダカの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・フルライフサイクル試験・レセプターバインディングアッセイ・レポータージーンアッセイ）を用いて、有害性評価を進めた。対象とした化学物質は、平成12年度に選定した12物質<sup>1)</sup>、平成13年度に選定した8物質<sup>2)</sup>、平成14年度に選定した8物質<sup>3)</sup>及び平成15年度に選定した8物質<sup>4)</sup>である。

- 1) トリブチルスズ、4-オクチルフェノール、ノニルフェノール、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジシクロヘキシル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、オクタクロロスチレン、ベンゾフェノン、トリフェニルスズ、フタル酸ジエチル、フタル酸ブチルベンジル及びアジピン酸ジ-2-エチルヘキシル
- 2) ペンタクロロフェノール、アミトロール、ビスフェノールA、2,4-ジクロロフェノール、4-ニトロトルエン、フタル酸ジペンチル、フタル酸ジヘキシル及びフタル酸ジプロピル
- 3) ヘキサクロロベンゼン、ヘキサクロロシクロヘキサン、クロルデン、オキシクロルデン、trans-ノナクロル、DDT、DDE及びDDD
- 4) 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、マラチオン及びペルメトリン

### 3. 魚類

メダカを試験動物とし、スクリーニングの位置付けで、①ビテロジェニンアッセイ、②パーシャルライフサイクル試験、③**FLF・d-rR**メダカ試験等を実施するとともに、確定試験の位置付けでフルライフサイクル試験を実施した。また、必要に応じて、物質ごとに試験を追加するとともに、これらの試

験結果を補完する目的で試験管内 (*in vitro*) 試験を実施した。なお、OECDにおいて、魚類のビテロジェニン産生試験の標準化を目的としたリングテスト（試験法の有用性や妥当性等を検証する目的で、同一試験を同一条件で複数の機関により実施するテスト）が平成15年3月より開始され、日本がリーダーラボ（取りまとめ試験機関）として結果を取りまとめている。

## (1) スクリーニング試験

### ① ビテロジェニンアッセイ

雄メダカを化学物質に21日間曝露し、ビテロジェニン産生能力を測定することにより、化学物質のエストロジェン様作用の有無・程度を把握した。曝露濃度は、環境実態調査結果により得られた魚類の推定曝露濃度を参考に、被験物質の水溶解度、一般毒性値、内分泌攪乱作用を示すと疑われた試験結果（信頼性評価済み）及び水中での検出限界値等を考慮して、5群設定した。本アッセイについては、36物質<sup>5)</sup>について試験を実施した。

5)ヘキサクロロベンゼン、ヘキサクロロシクロヘキサン、**cis**-クロルデン、**trans**-ノナクロル、**p,p'**-DDT、**o,p'**-DDT、**p,p'**-DDE、**p,p'**-DDD、トリブチルスズ、4-オクタチルフェノール、ノニルフェノール、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジシクロヘキシル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、オクタクロロスチレン、ベンゾフェノン、トリフェニルスズ、フタル酸ジエチル、フタル酸ブチルベンジル、アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル、ペンタクロロフェノール、アミトロール、ビスフェノールA、2,4-ジクロロフェノール、4-ニトロトルエン、フタル酸ジペンチル、フタル酸ジヘキシル、フタル酸ジプロピル、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、マラチオン及びペルメトリン

### ② パーシャルライフサイクル試験

化学物質をメダカに受精卵から成熟期を通して約70日間曝露することにより、主に性分化への影響を把握する試験であり、孵化、孵化後の生存、成長、二次性徴、生殖腺組織、ビテロジェニン産生等をエンドポイントとした。曝露濃度は、原則としてビテロジェニンアッセイの結果を参考に、5群設定した。本試験については、36物質<sup>5)</sup>について試験を実施した。

### ③ FLF・d-rR メダカ試験

胚の白色色素の有無により遺伝的な性別が判別できるFLFメダカや体色により遺伝的な性別が判別できるd-rRメダカなどの試験生物の開発を進めており、アーリーライフステージでの影響を把握する試験へ応用できる系統を確立した。

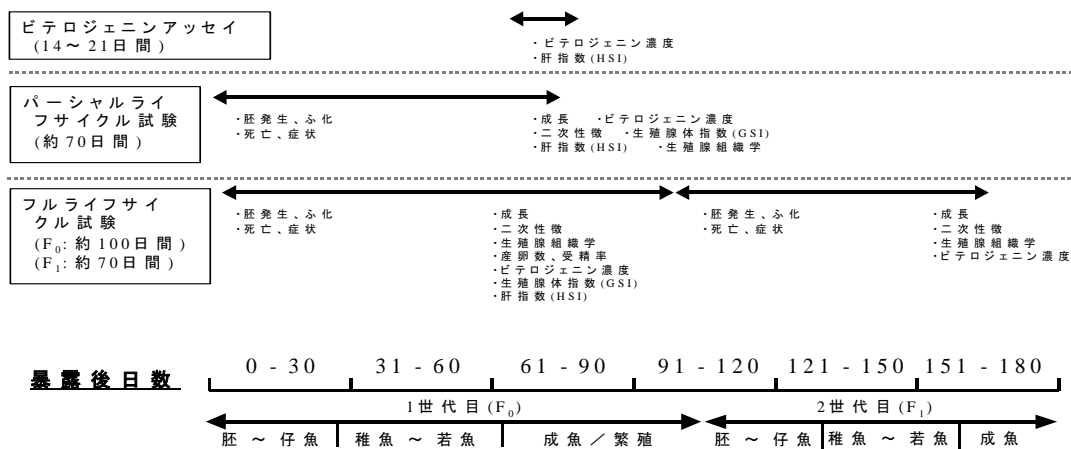
## (2) 確定試験

### ① フルライフサイクル試験

化学物質をメダカに少なくとも2世代（約180日間）にわたり曝露するこ

とにより、発達、成熟、繁殖期を含む全生涯を通しての影響を把握する試験であり、孵化、孵化後の生存、成長、二次性徴、生殖腺組織、ビテロジェニン産生、産卵数、受精率等をエンドポイントとした。曝露濃度は、パーシャルライフサイクル試験結果を参考に、原則として5群設定した。本試験については、5物質<sup>6)</sup>及び陽性対照物質（17β-エストラジオール、エチニルエストラジオール、メチルテストステロン、フルタミド）について試験を実施した。

6) 4-オクチルフェノール、ノニルフェノール、フタル酸ジ-n-ブチル、ビスフェノールA及びo,p'-DDT



ビテロジェニンアッセイでは雄メダカに21日間、パーシャルライフサイクル試験では受精卵から成熟期を通して約70日間、フルライフサイクル試験では少なくとも2世代(約180日間)にわたり試験物質を曝露する。なおメダカが孵化して産卵する期間は、約90日から120日程度である。

図1 メダカ試験の概要

### (3) 試験管内 (*in vitro*) 試験

#### ① レセプターバインディングアッセイ

化学物質のメダカエストロジェンレセプター (ER $\alpha$  及び ER $\beta$ ) への結合能力を測定するアッセイを開発し、36物質<sup>5)</sup>について試験を実施した。

#### ② レポータージーンアッセイ

レセプター遺伝子及びレポータージーンを導入したヒト子宮頸がん由来 HeLa 細胞を用いることにより、化学物質のメダカエストロジェンレセプター (ER $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 及びアンドロジェンレセプター (AR) への結合後の転写活性能力を測定するアッセイを開発し、36物質<sup>5)</sup>について試験を実施した。

### 内分泌攪乱化学物質の魚類への影響評価のための試験体系について

※必要に応じて、物質ごとに試験を追加する。

