

平成15年度選定物質を対象とした 人健康への内分泌かく乱作用による影響に関する 哺乳類を用いた試験結果（案）

I. 平成15年度優先物質の試験結果について

1. アルドリンの試験結果

(1) げっ歯類を用いた1世代試験

① 最高用量(1 mg/kg/day)における変化

F1 児動物(3週齢)の生存率の低値が認められた。

F1 雌雄(生後19日)の行動発達試験における空中正向反射完成率の低値が認められた。

F1 雌雄(3週齢)の肝臓相対重量の高値が認められた。

F1 雌(4週齢)のオープンフィールド試験における区間移動数・身繕い数・立ち上がり数の高値が認められた。

F1 雌(3～4週齢及び3～5週齢)の体重増加量の低値が認められた。

F1 雌(5週齢)の体重の低値が認められた。

F1 雌(10週齢)の胸腺(絶対、相対)重量の低値が認められた。

F1 雌雄の肝臓相対重量の高値及びF1 雌のオープンフィールド試験における立ち上がり数の高値については信頼性の認められた既報告で報告されている。

② 低用量群(0.1、0.5、2.5、12.5 μ g/kg/day)における変化

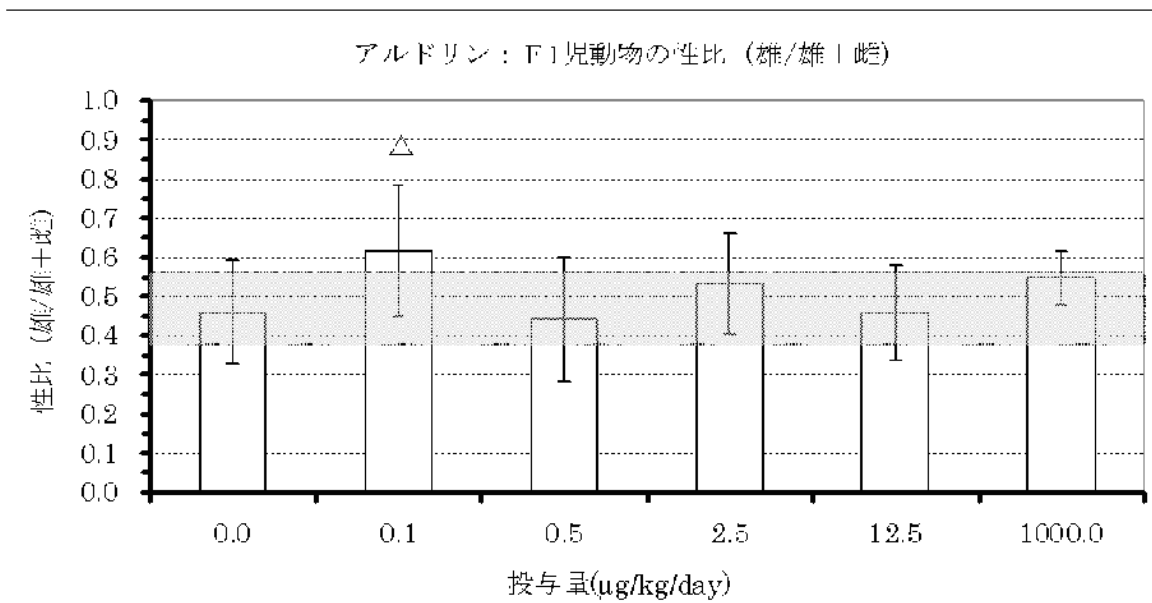
F0 母動物(哺育4～7日)の0.5、2.5 μ g/kg/day 投与群において摂餌量の高値が認められたが、哺育17～21日の摂餌量には有意な差は認められず、一過性の変化であると考えられた。なお、体重、体重増加量には有意な差は認められなかった。

F1 児動物(生後4日)の0.5 μ g/kg/day 投与群において生存率の低値(98.03%)が認められたが、生後21日の生存率には有意な差は認められず、背景データ*(90.01～100%)の範囲内に含まれる変化であり、生理学的変動の範囲内と考えられた。なお、体重には有意な差は認められなかった。

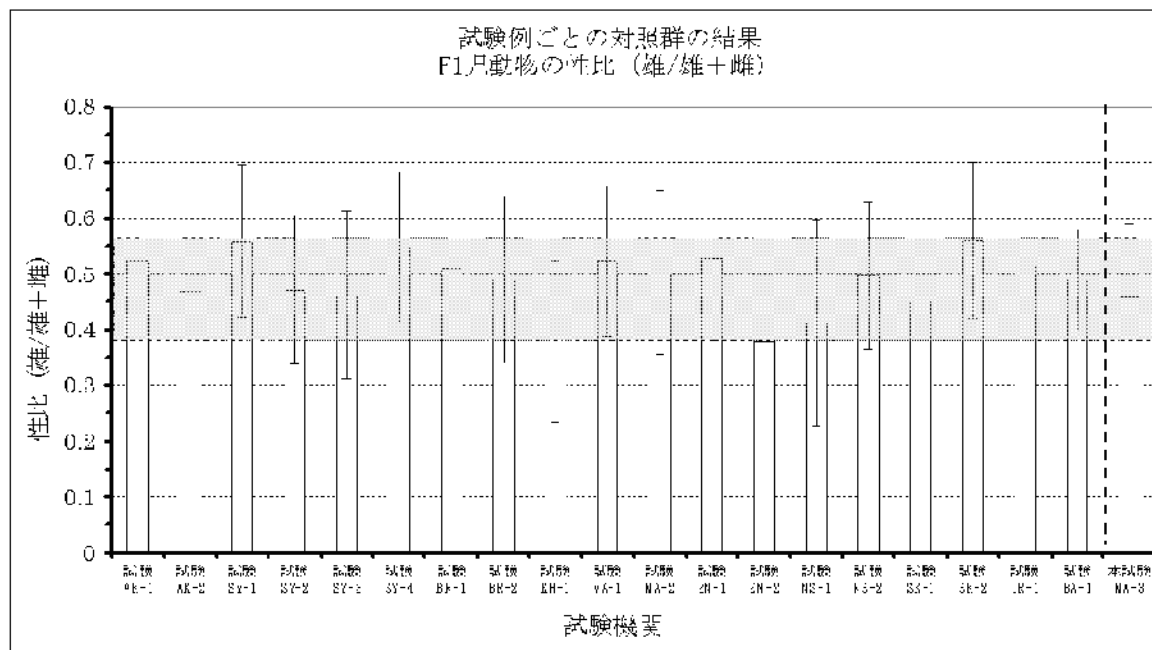
*背景データについて：ここでは、これまで環境省で実施したWistar Hannover ラットを用いた「改良1世代試験」における対照群(被験物質無投与)の平均値の範囲を、背景データとした。

F1 児動物の0.1 μ g/kg/day 投与群において性比(雄/雄+雌)の高値(0.6169)が認められたが、性比の期待値を1:1として χ 二乗検定を行うと、対照群及び投与群における値はいずれも1:1とみなし得るものであった(対照群、0.1、0.5～12.5 μ g/kg 投与群におけるp値は、それぞれ0.52、0.11、0.41～0.55)ため、偶発的な有意差であると考えられた。なお、背景データ*は0.377～0.56。(実施機関における背景データは0.4108～0.5689)。

*背景データについて：ここでは、これまで環境省で実施したWistar Hannover ラットを用いた「改良1世代試験」における対照群(被験物質無投与)の平均値の範囲を、背景データとした。



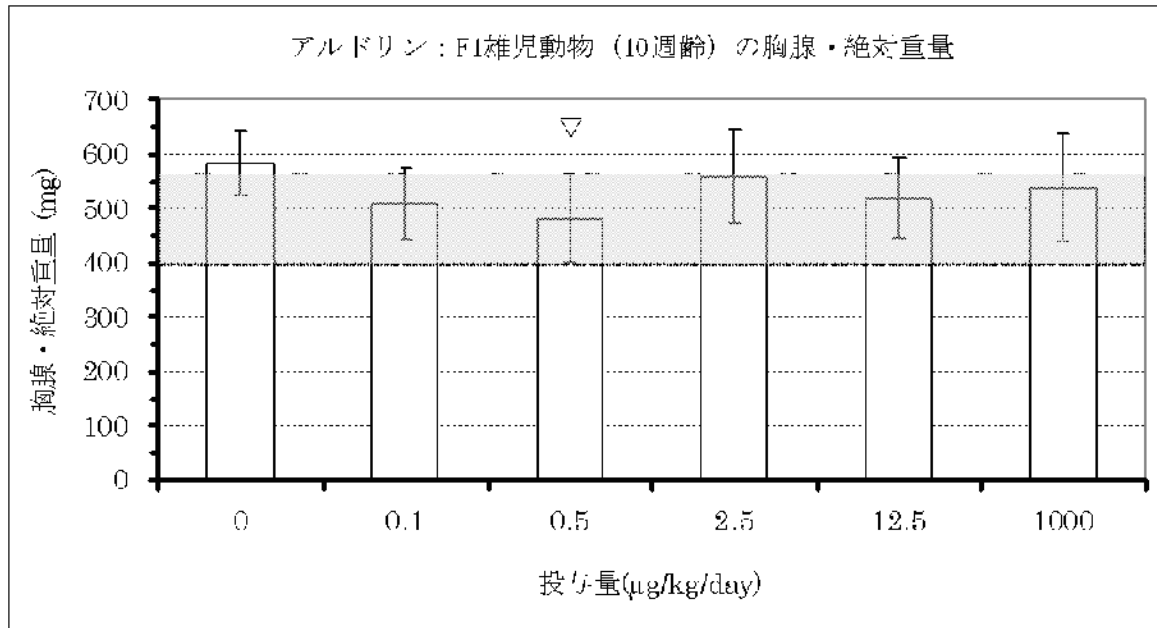
注1) △：統計学的に有意な高値(<0.05)
 注2) 網掛部分：背景データの範囲(平均値)



注) 網掛部分：背景データの範囲(平均値)

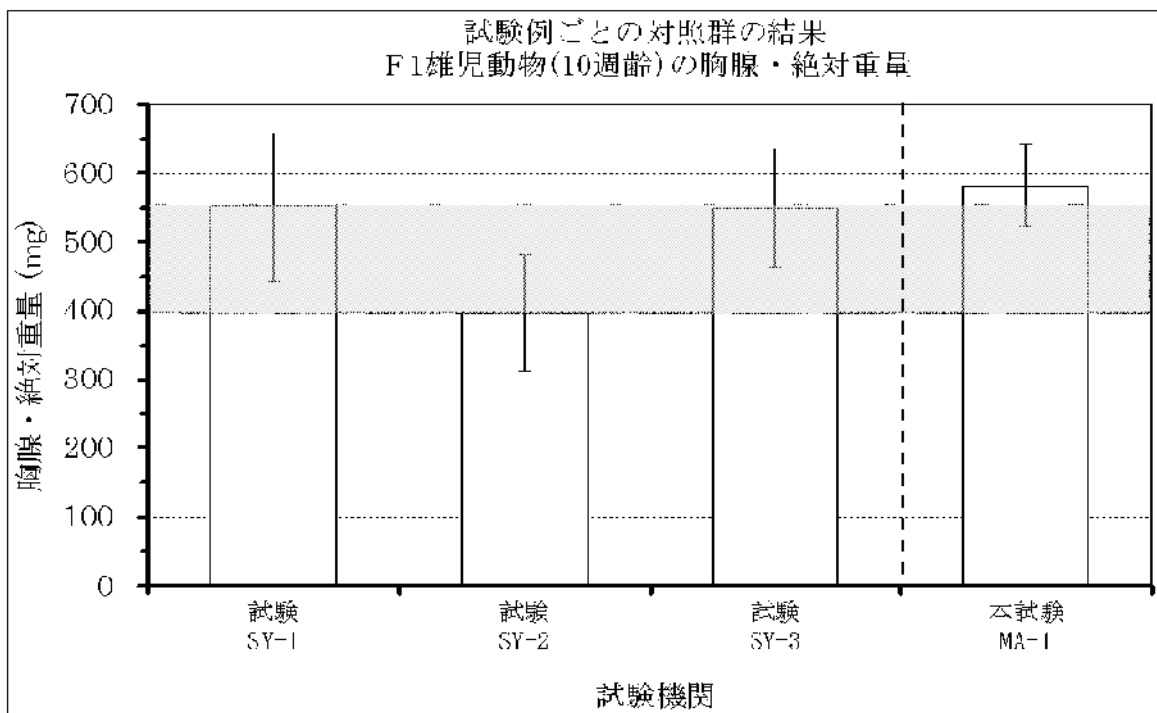
F1 雄(10 週齢)の 0.5 μ g/kg/day 投与群において胸腺(絶対、相対)重量の低値及び F1 雌(10 週齢)の 0.5、12.5 μ g/kg/day 投与群において胸腺(絶対、相対)重量の低値が認められたが、21 週齢時には有意な差は認められず、一過性の変化であると考えられた。雄の 0.5 μ g/kg/day 投与群での胸腺(絶対、相対)重量(絶対重量 480.4mg、相対重量 152.36mg%)は、背景データ*(絶対重量 397~551.3mg、相対重量 96.2~173.58mg%)の範囲内に含まれる変化であり、生理的変動の範囲内と考えられた。雌の 0.5 μ g/kg/day 投与群での胸腺(絶対、相対)重量(絶対重量 429.2mg、相対重量 200.18mg%)及び 12.5 μ g/kg/day 投与群での胸腺(絶対、相対)重量(絶対重量 410.3mg、相対重量 195.86mg%)は、背景データ*(絶対重量 387~461.2mg、相対重量 158~203.02mg%)の範囲内に含まれる変化であり、生理的変動の範囲内と考えられた。なお、病理組織学的検査において有意な差は認められなかった。

*背景データについて：ここでは、これまで環境省で実施した Wistar Hannover ラットを用いた「改良 1 世代試験」における対照群(被験物質無投与)の平均値の範囲を、背景データとした。

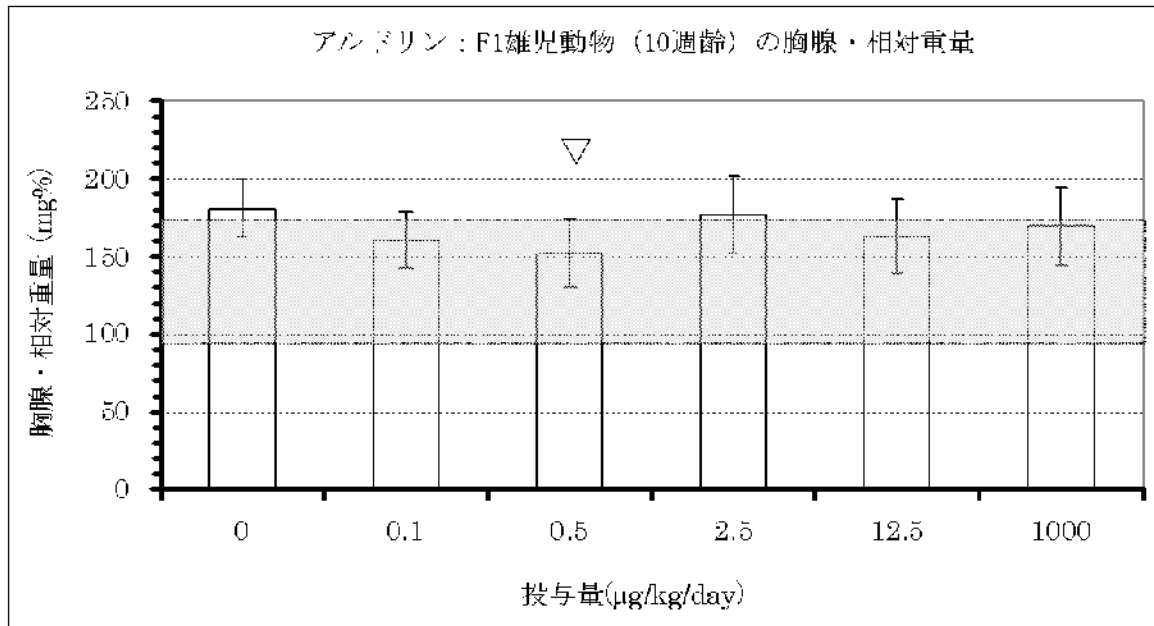


注1) ▽：統計学的に有意な低値 (<math>p < 0.05</math>)

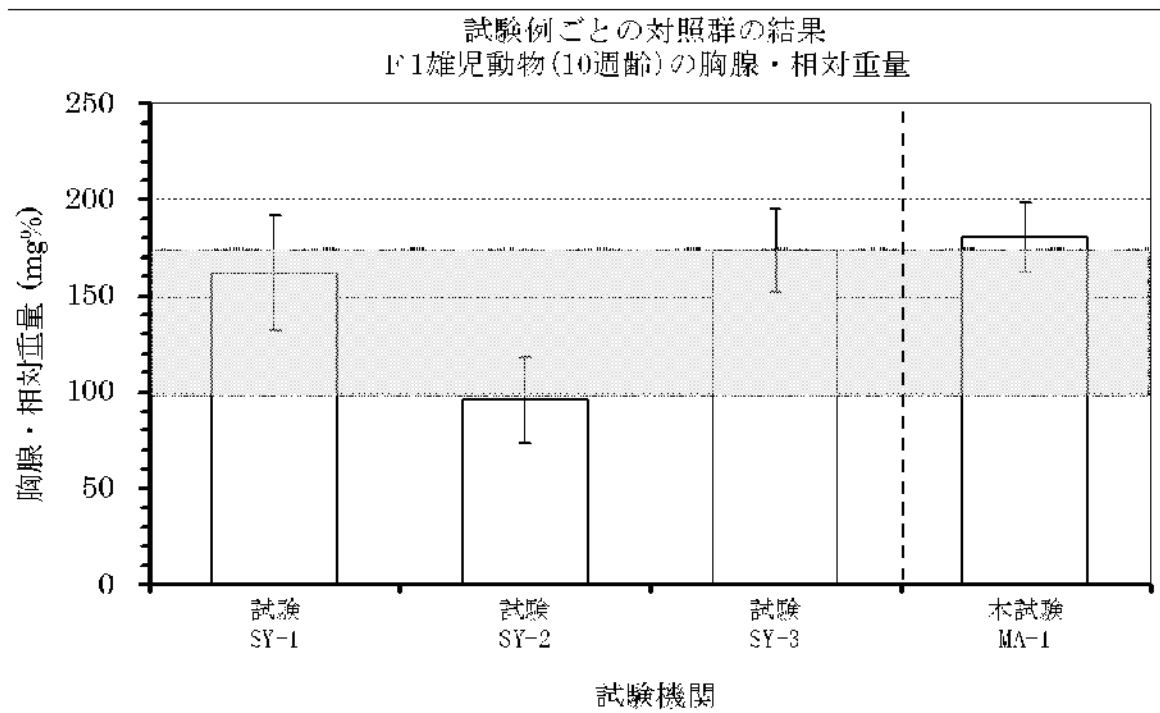
注2) 網掛部分：背景データの範囲 (平均値)



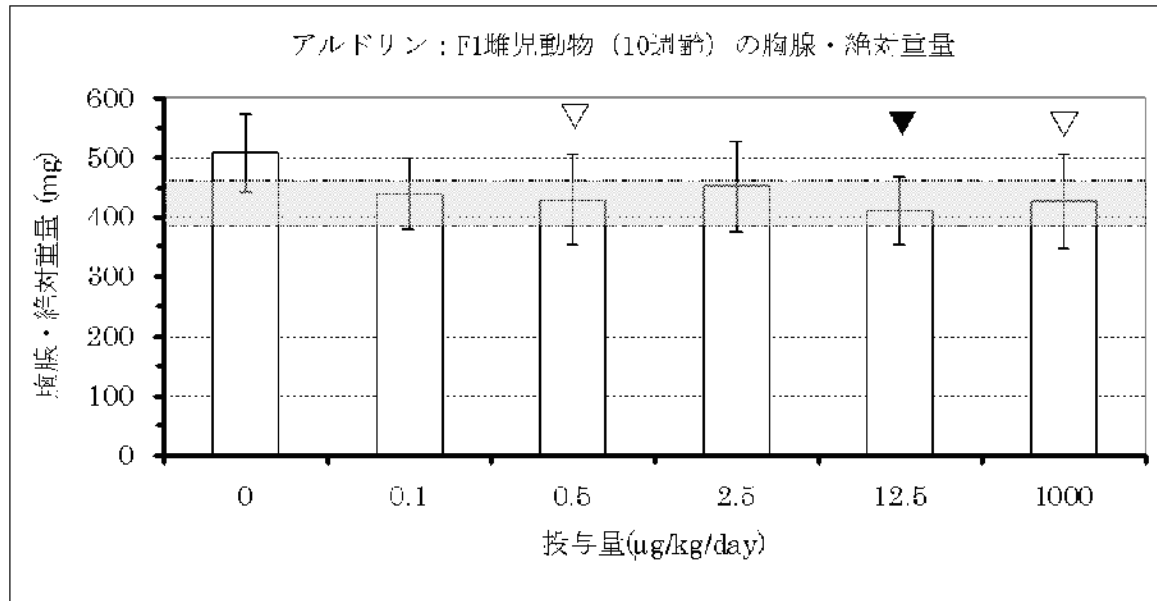
注) 網掛部分：背景データの範囲 (平均値)



注1) ▽：統計学的に有意な低値(<0.05)



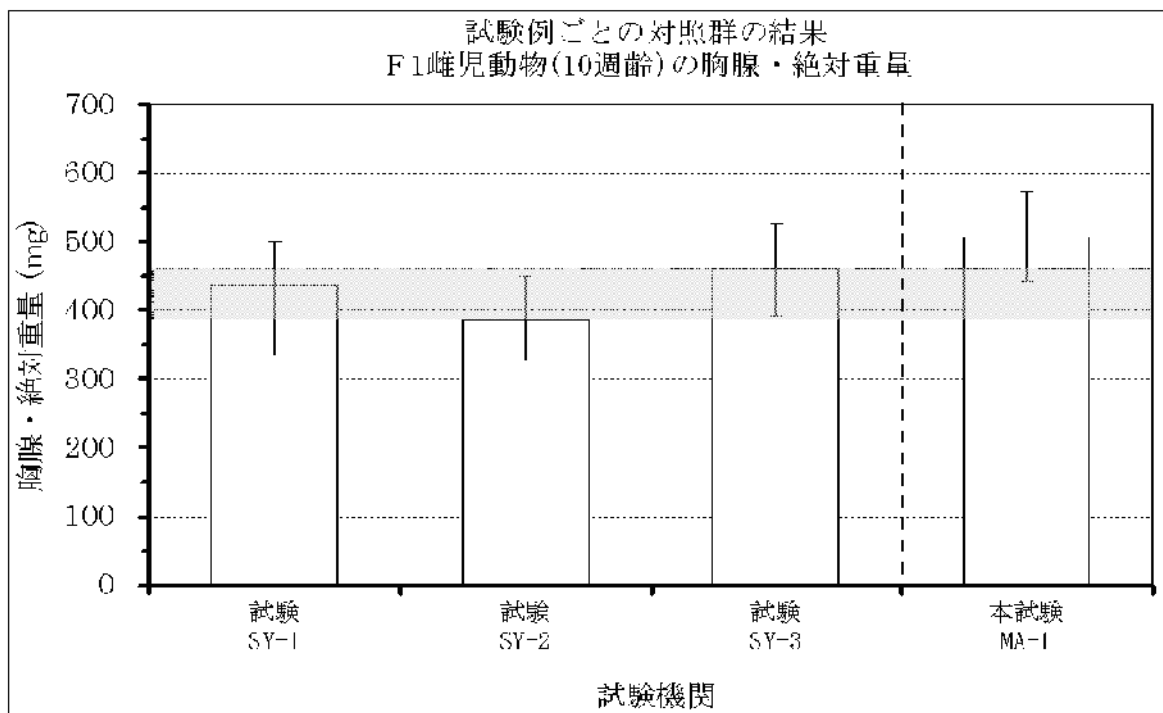
注) 網掛部分：背景データの範囲（平均値）



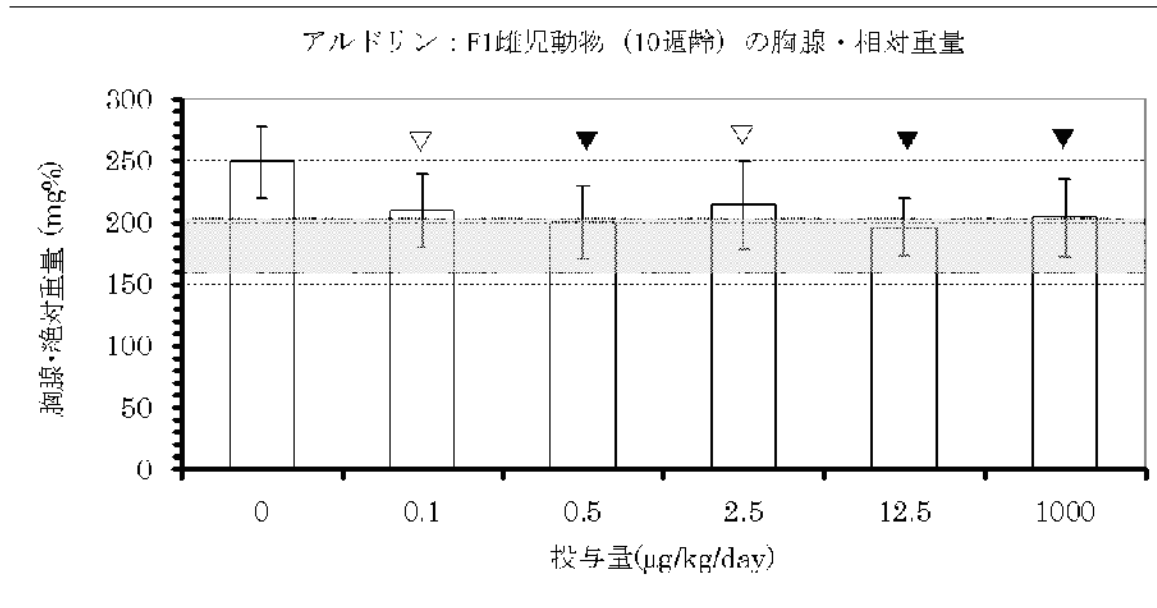
注1) ▼：統計学的に有意な低値(<0.01)

注2) ▽：統計学的に有意な低値(<0.05)

注3) 網掛部分：背景データの範囲(平均値)



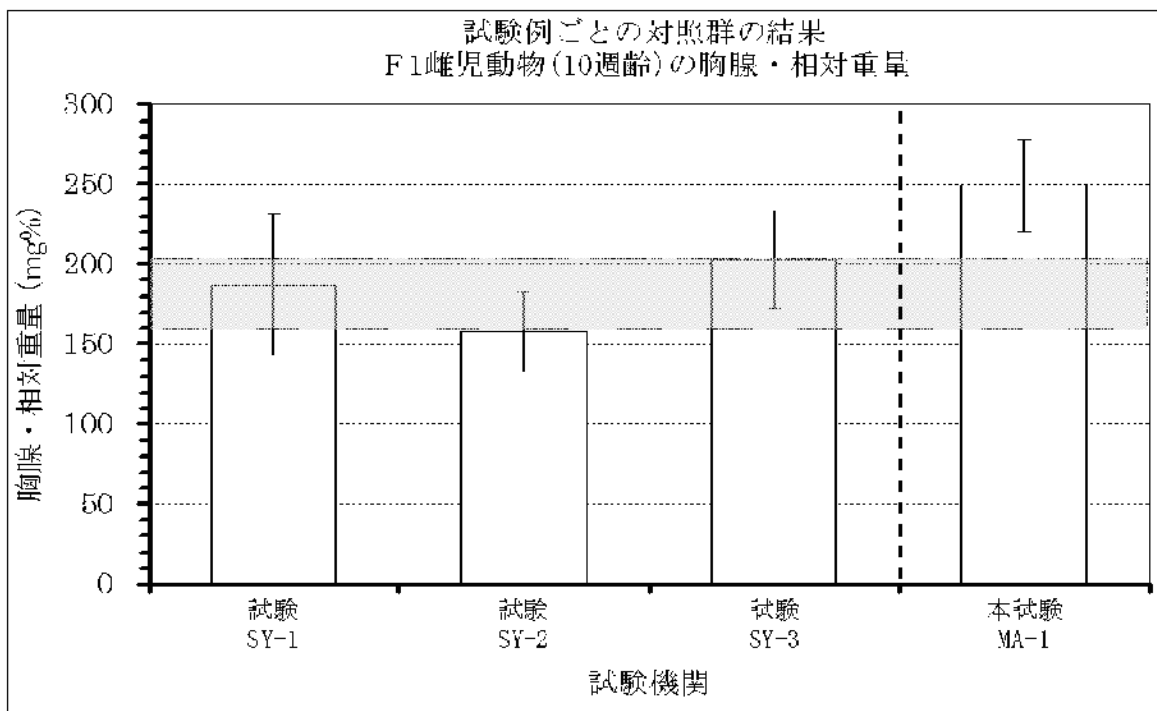
注) 網掛部分：背景データの範囲(平均値)



注1) ▼：統計学的に有意な低値(<0.01)

注2) ▽：統計学的に有意な低値(<0.05)

注3) 網掛部分：背景データの範囲（平均値）



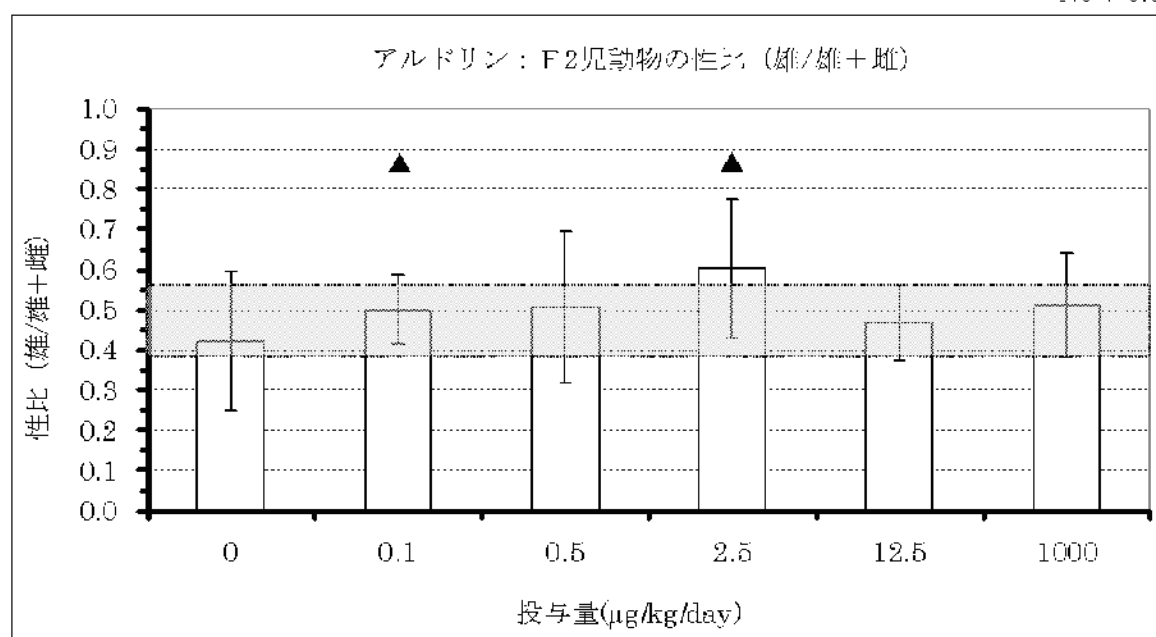
注) 網掛部分：背景データの範囲（平均値）

F2 児動物の 0.1、2.5 µg/kg/day 投与群において性比(雄/雄+雌)の高値(0.5701、0.6016)が認められたが、性比の期待値を 1:1 として χ^2 二乗検定を行うと、対照群及び投与群における値はいずれもが 1:1 とみなし得るものであった(対照群、0.1、2.5µg/kg 投与群、他の投与群における p 値は、それぞれ 0.20、0.29、0.36、0.71~1.00)ため、偶発的な有意差であると考えられた。なお、F1 児動物の背景データ*は 0.377~0.56。(実施機関における背景データは 0.4108~0.5689)。

*背景データについて：ここでは、これまで環境省で実施した Wistar Hannover ラットを用

いた「改良1世代試験」における対照群(被験物質無投与)の平均値の範囲を、背景データとした。

U.377-C.56



注1) \blacktriangle ：統計学的に有意な高値(<0.01)
注2) 網掛け部分：背景データの範囲(F1の平均値)

F2 雌雄(生後4日)の $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 投与群において体重の高値及びF2 雌雄(生後0~4日)の体重増加量の高値が認められたが、高値であり、悪影響とは考えられなかった。

なお、絶対重量及び相対重量ともに有意差の認められた変動は得られなかったものの、その一方に有意差が認められた器官(脳を除く)は以下のとおり。

*F0 母動物： $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 投与群において甲状腺絶対重量の高値

*F1 雌(10週齢)： 0.1 、 $2.5 \mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ 投与群において胸腺相対重量の低値

(2) 試験管内(*in vitro*)試験

ヒトエストロゲン受容体($\text{ER}\alpha$ 及び $\text{ER}\beta$)結合競合阻害試験、ヒト乳がん細胞 E-Screen 試験、ヒト乳がん細胞アンドロゲン受容体レポーター遺伝子試験(アゴニスト及びアンタゴニスト)、ラットアンドロゲン受容体結合阻害試験及びヒト甲状腺ホルモン受容体($\text{TR}\alpha$ 及び $\text{TR}\beta$)酵母試験を行った。

その結果、ヒトエストロゲン受容体($\text{ER}\alpha$ 及び $\text{ER}\beta$)結合競合阻害試験では、活性がみられた。ヒト乳がん細胞 E-Screen 試験では、細胞毒性を示す濃度未満の 10^{-6}M において有意な細胞増殖が認められた。ヒト乳がん細胞アンドロゲン受容体レポーター遺伝子試験(アンタゴニスト)では、 IC_{50} 値($7.14 \times 10^{-5}\text{M}$)が得られた。ラットアンドロゲン受容体結合阻害試験では、 IC_{50} 値($4.1 \times 10^{-4}\text{M}$)が得られた。ヒト乳がん細胞アンドロゲン受容体レポーター遺伝子試験(アゴニスト)及びヒト甲状腺ホルモン受容体($\text{TR}\alpha$ 及び $\text{TR}\beta$)酵母試験では、有意な反応は得られなかった。

(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、今回の試験結果において、低用量(文献情報等により得られた人推定曝露量を考慮した比較的low用量)においては、明らかな内分泌かく乱作用

は認められなかった。

また、最高用量(既報告で影響が認められた用量)においてのみ、一般毒性と考えられる影響が認められた。

アルドリンについては、健康リスク初期評価が「化学物質の環境リスク評価 第1巻」において行われ、「健康リスクについては現時点では作業は必要ないと考えられる」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。

被験物質名	試験機関名	使用動物物数	投与方法	用量設定	投与量	試験方法の形式	母動物の観察項目	見動物の観察項目	備考
アルドリン	三菱化学 安全科学研 究所	<p>1. 系統 Wistar-Hann over GALAS</p> <p>2. 群構成 12 匹/群×6 群 (対照群, 低用量群 4 群, 毒性用 量群)</p>	<p>1. 経路 強制経口投与 (媒体: コー ン油)</p> <p>2. 期間 妊娠 0 日 ~ 離 乳を経て剖検 前日まで</p>	<p>1. 低用量群 アルドリンの ADI を参考 に決定した。すなわち, ADI は 0.1 μg/kg 相当との 情報から, 低用量群には, 0.1 μg/kg を最低用量と し, 以下公比 5 で上げ, 0.5, 2.5 および 12.5 μg/kg を設定した。</p> <p>2. 毒性用量群 予備試験 (用量: 0, 1, 3, 5, 10, 15 mg/kg, 投与期 間: 妊娠 0 日 ~ 哺育 4 日, 4 ~ 5 匹/群) の結果, 5 mg/kg 以上の群では母動物 のほぼ全例が妊娠期間中 に死亡し, 3 mg/kg 群では 母動物の死亡は認められ なかったものの, ほぼ全例 で全出産児死亡が認めら れた。1 mg/kg 群では母動 物死亡および出生児死亡 は認められなかった。これ らの結果から 1 mg/kg を設 定した。</p>	<p>0 μg/kg 0.1 μg/kg¹⁾ 0.5 μg/kg 2.5 μg/kg 12.5 μg/kg (公比 5) 1 mg/kg</p>	<p>1. 児数調整 実施しない。</p> <p>2. 離乳後検査 離乳時に雌雄各 3 匹/腹を選 抜し, 以下の検査に供する。 この他の見動物は離乳時に 剖検する。</p> <p>[離乳後検査への対応] No.1: 生殖機能検査動物 剖検時期: 生後 17 週以降 体重, 性成熟, 性周期 (10 週 齢から 2 週間), 精子検査, 生殖機能, 分娩させ哺育 4 日まで観察^{a)}</p> <p>No.2: 10 週齢剖検動物 剖検時期: 生後 10 週以降 体重, 性成熟, 性周期 (膈 開口から 3 サイクル), 剖 検, 器官重量, 病理組織検 査</p> <p>No.3: 行動検査動物 剖検時期: 生後 13 週以降 行動検査 (情動性, 学習能), 剖検, 血中ホルモン濃度*, mRNA* *: 10 週齢剖検で異常が認 められた場合</p> <p>離乳時剖検動物 剖検時期: 生後 3 週 剖検, 器官重量 (雌雄各 2 匹) ＜計画書変更＞ a): オープンフィールドテストの結果, 1 mg/kg 群の雌で多動の傾 向があったため, 帝王切開 を変更し, 分娩・哺育行動 を観察。</p>	<p>1. 一般検査 一般状態, 体重, 摂餌量, 受胎率, 分娩状態, 妊娠期 間, 着床数, 出生率, 出生 率, 哺育状態</p> <p>2. 病理学的検査 以下の器官を採材し, 必要 に応じて組織検査を実施す る (下線: 器官重量測定)。 脳, 下垂体, 甲状腺, 肝臓, 腎臓, 脾臓, 副腎, 卵巢, 子宮, 膈, 乳腺, 肉眼的異 常部位</p>	<p>1. 離乳前検査 出産児数 (生存, 死亡), 性比, 生存率 (出 生時生存率, 4 日生存率, 離乳率), 外表 異常, 一般状態, 体重, AGD (生後 4 日), 乳頭発育 (生後 12 日), 生後形態分化 (耳 介展開, 切歯萌出, 眼瞼開裂), 反射反応 性 (平面向反射, 角膜反射, 聴覚性驚 愕反応, 疼痛反応, 空中正向反射)</p> <p>2. 離乳後検査 体重, 性成熟 (膈開口, 包皮分離), 行動 検査 (オープンフィールドテスト^{b)}, 水迷路), 性固 期, 精子検査, 生殖機能 (交尾率, 受胎 率), 分娩・哺育機能 (妊娠期間, 黄体数, 着床数, 出生率, 出生率, 出産児数, 出 生時生存率, 4 日生存率)^{a)}</p> <p>3. 病理学的検査 以下の器官を採材し, 10 週齢剖検動物に ついて組織検査を実施する (下線: 器官 重量測定) 1) 3 週齢: 脳, 胸腺, 肝臓, 脾臓, 精巣, 精巢, 精巢上体, 精囊(凝固腺), 前立腺(腹葉), 卵巢, 子宮, 膈, 肉眼的異常部位 2) 10 週齢: 脳, 下垂体, 甲状腺, 胸腺, 肝臓, 腎臓, 副腎, 脾臓, 精巣, 精巢上 体, 精囊(凝固腺), 前立腺(腹葉), 卵巢, 卵管, 子宮, 膈, 肉眼的異常部位 3) 行動検査: 10 週齢時に異常が認めら れた場合, 追加検討を実施する^{c)}</p> <p>4. その他 (必要なら追加検査) 血中ホルモン濃度および mRNA* *: 10 週齢剖検時に必要の可能性が考 えられた場合, 行動検査動物から採 取し, 血清および生殖器を凍結保存 ＜計画書変更＞ b): オープンフィールドテストの結果, 1 mg/kg 群の 雌で多動の傾向があったため, 同動物の 再検査と生殖用動物の検査を実施。 c): 10 週齢の胸腺重量で有意差がみられ たため行動検査用の胸腺を測定。</p>	

注: 試験方法の形式には, 間引きの有無を記載する。備考には被験物質固有の特記事項を記入する

2. エンドリンの試験結果

(1) げっ歯類を用いた1世代試験

① 最高用量(0.4mg/kg/day)における変化

- F0 母動物の全児死亡した個体の出現頻度の高値が認められた。
- F0 母動物(妊娠0～7日及び0～14日)の体重増加量の低値が認められた。
- F0 母動物(妊娠0日及び6日)の摂餌量の低値が認められた。
- F1 雄(生後4日)の肛門生殖突起間相対距離の高値が認められた。
- F1 雌雄(16～17週齢)の肝臓相対重量の低値が認められた。
- F1 雌(16～17週齢)の下垂体(絶対、相対)重量の低値が認められた。

F0 母動物の全児死亡した個体の出現頻度の高値及びF0 母動物の体重増加量の低値については信頼性の認められた既報告で報告されている。

② 低用量群(0.1、1、5、25 µg/kg/day)における変化

F0 母動物(妊娠6日)の1 µg/kg/day 投与群において摂餌量の低値が認められたが、妊娠0、9、12、15、17、19日の摂餌量には有意な差は認められず、一過性の変化であると考えられた。なお、体重、体重増加量には有意な差は認められなかった。

なお、絶対重量及び相対重量ともに有意差の認められた変動は得られなかったものの、その一方に有意差が認められた器官(脳を除く)は以下のとおり。

- *F1 雄(3週齢)：0.2 µg/kg/day 投与群において下垂体相対重量の低値
- *F1 雄(16～17週齢)：1 µg/kg/day 投与群において副腎絶対重量の高値
- *F1 雄(16～17週齢)：1、25 µg/kg/day 投与群において前立腺腹葉絶対重量の低値
- *F1 雄(16～17週齢)：5、25 µg/kg/day 投与群において肝臓相対重量の低値
- *F1 雄(16～17週齢)：25 µg/kg/day 投与群において脾臓相対重量の低値
- *F1 雌(16～17週齢)：0.2、1 µg/kg/day 投与群において腎臓絶対重量の高値
- *F1 雌(16～17週齢)：1 µg/kg/day 投与群において脳絶対重量の高値
- *F1 雌(16～17週齢)：25 µg/kg/day 投与群において甲状腺相対重量の低値
- *F1 雌(16～17週齢)：25 µg/kg/day 投与群において肝臓相対重量の低値

(2) 試験管内(*in vitro*)試験

ヒトエストロゲン受容体(ER α 及びER β)結合競合阻害試験、ヒト乳がん細胞E-Screen試験、ヒト乳がん細胞アンドロゲン受容体レポーター遺伝子試験(アゴニスト及びアンタゴニスト)、ラットアンドロゲン受容体結合阻害試験及びヒト甲状腺ホルモン受容体(TR α 及びTR β)酵母試験を行った。

その結果、ヒトエストロゲン受容体(ER α 及びER β)結合競合阻害試験では、活性がみられた。ヒト乳がん細胞E-Screen試験では、細胞毒性を示す濃度未満の10⁻⁵Mにおいて有意な細胞増殖が認められた。ヒト乳がん細胞アンドロゲン受容体レポーター遺伝子試験(アンタゴニスト)では、IC₅₀値(2.28×10⁻⁵M)が得られた。ラットアンドロゲン受容体結合阻害試験では、IC₅₀値(7.07×10⁻⁴M)が得られた。ヒト乳がん細胞アンドロゲン受容体レポーター遺伝子試験(アゴニスト)及びヒト甲状腺ホルモン受容体(TR α 及びTR β)酵母試験では、有意な反応は得られなかった。

(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、今回の試験結果において、低用量(文献情報等により得られた人推定曝露量を考慮した比較的低用量)においては、明らかな内分泌かく乱作

用は認められなかった。

また、最高用量(既報告で影響が認められた用量)においてのみ、一般毒性と考えられる影響が認められた。

エンドリンについては、健康リスク初期評価が「化学物質の環境リスク評価 第1巻」において行われ、「健康リスクについては現時点では作業は必要ないと考えられる」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。

プロトコル概要 (エンドリン)

被験物質	試験機関	被験動物	使用動物数	投与方法 投与期間	用量設定	投与容量	試験方法 の形式	母動物の観察項目	見動物の観察項目	備考
エンドリン	株式会社新日本科学	Wistar-Hannover ラット BrdHan: WIST@Icl (GALAS)	購入 雄 30 匹 雌 100 匹 交尾成立 母動物 各群 12 匹 × 6 群	強閉経口 コーン油 に溶解 妊娠 0 日 ～哺育 20 日連続	0 0. 2 1 5 25 µg/kg/day 被験物質の 1 日許容摂取 量が 0. 2 µg/kg/day で あることから低用量は 0. 2 µg/kg/day とした。	1 mL/kg/day	哺乳児数 の調整は 行わない。 雌乳児は 各腹 4 匹の みを試験 に用いる。	一般状態 体重測定 摂餌量測定 分娩/哺育状況 妊娠期間 着床率 出産率 全例剖検 器官重量測定、固定保 存 ☆脳、下垂体、甲状腺、 胸腺、肝臓、副腎、 腎臓、脾臓、卵巣、 子宮	哺乳児 出生率、生存率、離乳率、一般状態、体重、AGD (生後 4 日)、身体発達 (耳介展開、切歯萌出、眼瞼開裂)、初期行 動発達 (正方向反射、背地走性、瞳孔反射、プレイヤール反射、 痛覚反応)、保存 (死亡児、異常児) 離乳時の器官重量測定 (各腹の雄 2 匹、雌 2 匹、固定保存) ☆脳、下垂体、甲状腺、胸腺、肝臓、副腎、腎臓、脾臓、 精巣、精巣上体、精嚢、前立腺腹葉、卵巣、子宮 ☆病理組織学的検査 剖検で肉眼的に異常的に認められた器官 及び下垂体、甲状腺、肝臓について、病理 組織学的検査を実施する。 ☆剖検時採血/肝臓の外側右葉の一部 (約 1g) を凍結保存 する。(血中或いは肝臓中のエンドリン濃度測定が必要 な場合は試験計画書を変更する)。 ☆離乳時の器官重量測定及び育成児以外はすべて離乳時 に剖検する。	比重 約 1.7
				強閉経口 コーン油 に溶解 妊娠 0 日 ～哺育 20 日連続	最高用量群 0.40 mg/kg/day ラット妊娠期間に 0.45 mg/kg/day を投与投 与した報告では、母動物 の著しい体重増加量抑 制がみられた。一方、ラ ットの妊娠及び哺育期 間に 0.3 mg/kg/day を投 与した報告では、母動物 の体重増加抑制はみら れなかったが、F1 児の運 動量への影響が報告さ れていることから、親動 物の一般毒性的影響 が予想される 0.40 mg/kg/day (400 µg/kg/day) とした。	1 mL/kg/day	病理組織学的検査 ☆剖検で肉眼的に異常 のみにめられた器官及び 肝臓 剖検時採血/肝臓採取 ☆肝臓外側右葉の一部 (約 1g) を凍結保存 する。(血中或いは 肝臓中のエンドリン 濃度測定が必要な場 合は試験計画書を変 更する)。	離乳後の育成児 (各腹の雄 2 匹、雌 2 匹) ☆一般状態、包皮分離、臍開口、性周期 (各腹雌 1 例)、 オーブンプライールド検査、剖検、 同群内交配 (各腹雄 1 匹、雌 1 匹)、固 定保存。 ☆成熟動物の剖検及び器官重量 (各腹の雄 1 匹、雌 1 匹、 固定保存) 脳、下垂体、甲状腺、胸腺、肝臓、副腎、腎臓、脾臓、 精巣、精巣上体、精嚢、前立腺腹葉、卵 巣、子宮 剖検時採血/肝臓の外側右葉の一部 (約 1g) を凍結保存する。(血中或いは肝臓中 のエンドリン濃度測定が必要な場合は試 験計画書を変更する)。 ☆病理組織学的検査 (各腹の雄 1 匹、雌 1 匹) 肝臓、胸腺、脾臓、腎臓、生殖器 (精巣、 精巣上体、精嚢、前立腺腹葉、卵巣及び子 宮) 及び内分泌器官 (下垂体、甲状腺、副 腎)。 ☆生殖機能検査 交尾率、受胎率、妊娠 13 日剖検 (着床率、胚生存率)		

3. デILDロリンの試験結果

(1) げっ歯類を用いた1世代試験

① 最高用量(1 mg/kg/day)における変化

F1 児動物(生後4日)の生存率の低値が認められた。

F1 雌(10週齢)の肝臓相対重量の高値が認められた。

② 低用量群(0.1、0.5、2.5、12.5 μ g/kg/day)における変化

F0 母動物(哺育7~14日)の12.5 μ g/kg/dayにおいて体重増加量の高値が認められたが、哺育0~21日の体重増加量には有意な差は認められず、一過性の変化であると考えられた。なお、体重には有意な差は認められなかった。

F0 母動物(哺育8日)の0.1 μ g/kg/day 投与群において摂餌量の低値が認められたが、哺育1~17日の摂餌量には有意な差は認められず、一過性の変化であると考えられた。なお、体重、体重増加量には有意な差は認められなかった。

F1 雌(妊娠0、4日)の0.1 μ g/kg/day 投与群及びF1 雌(妊娠0、4、7、11、13日)の0.5 μ g/kg/day 投与群において体重の低値が認められたが、体重増加量には有意な差は認められず、解剖動物と交配検査動物の振り分けにより生じた偏りによるものと考えられた。

F1 雄(16週齢)の0.1 μ g/kg/day 投与群において精子検査における精子頭部の振幅の低値が認められたが、精子密度等のその他の項目には有意な差は認められなかった。また、交配検査における受胎率にも有意な差は認められなかった。

なお、絶対重量及び相対重量ともに有意差の認められた変動は得られなかったものの、その一方に有意差が認められた器官(脳を除く)は以下のとおり。

*F0 母動物：0.1 μ g/kg/day 投与群において子宮絶対重量の高値

*F1 雌(10週齢)の12.5 μ g/kg/day 投与群において腎臓相対重量の高値

(2) 試験管内(*in vitro*)試験

ヒトエストロゲン受容体(ER α 及びER β)結合競合阻害試験、ヒト乳がん細胞E-Screen試験、ヒト乳がん細胞アンドロゲン受容体レポーター遺伝子試験(アゴニスト及びアンタゴニスト)、ラットアンドロゲン受容体結合阻害試験及びヒト甲状腺ホルモン受容体(TR α 及びTR β)酵母試験を行った。

その結果、ヒトエストロゲン受容体(ER α)結合競合阻害試験では、活性がみられた。ヒトエストロゲン受容体(ER β)結合競合阻害試験では、弱い活性がみられた。ヒト乳がん細胞E-Screen試験では、10⁻⁶Mにおいて有意な細胞増殖が認められた。ヒト乳がん細胞アンドロゲン受容体レポーター遺伝子試験(アンタゴニスト)では、IC₅₀値(2.28 \times 10⁻⁵M)が得られた。ヒト乳がん細胞アンドロゲン受容体レポーター遺伝子試験(アゴニスト)、ラットアンドロゲン受容体結合阻害試験及びヒト甲状腺ホルモン受容体(TR α 及びTR β)酵母試験では、有意な反応は得られなかった。

(3) 試験結果のまとめと今後の方針

以上のとおり、デILDロリンについては、今回の試験結果において、低用量(文献情報等により得られた人推定曝露量を考慮した比較的低用量)においては、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

また、最高用量(既報告で影響が認められた用量)においてのみ、一般毒性と考えられる影響が認められた。

ディルドリンについては、健康リスク初期評価が「化学物質の環境リスク評価 第1巻」において行われ、「健康リスクについては現時点では作業は必要ないと考えられる」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。

プロトコル概要 (デイルドリン)

被験物質名 デイルドリン	試験機関名 株式会社 日本バイオ リサーチセ ンター	被験動物名 Wistar Hanover ラット、 BrHan: WIST@Jc1 (GALAS)	使用動物数 各群 14 匹、 但し、 1mg/kg 群 22 匹、全 6 群 計 86 匹	投与方法 強制経口 投与 (溶媒: コーンオ イル)	用量設定 0 0.1 0.5 2.5 12.5µg/kg/day ADI 0.1µg/kg を参考に公比 5 で乗じて設定 した。	投与量 1ml/kg/ day	試験方法の形式 離乳時(哺育 21 日)まで間引き は行わない。 離乳時に半数 の母動物の児 動物を剖検し、 残りの半数の 母動物の児動 物を各検査に 割り当てる。	母動物の観察項目 一般状態観察、 体重測定、体重 増加量、摂餌量 測定、分娩およ び哺育行動観 察、剖検、器官重 量測定(下垂体、 甲状腺、胸腺、 肝臓、脾臓、腎 臓、副腎、卵巣、 子宮)。器官・組 織を 10%中性緩 衝ホルマリンで 保存。 血清凍結保存。 肝臓一部凍結保 存。	見動物の観察項目 哺育期(全児/腹) 出生児数、死産児数、一般状態観察、体重 測定、AGD(4日)、乳頭発現(14日)。 21日齢児(半数の母動物) 剖検、器官重量測定(胸腺、肝臓、脾臓、 腎臓、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、卵 巣、子宮)。器官組織を 10%中性緩衝ホル マリンで保存。肝臓一部凍結保存(♂1♀ 1/腹)。 離乳から成熟まで(半数の母動物) 一般状態観察、体重測定、自発運動量測定 (♂♀半数/腹)、膈開口、包皮分離、性周 期。 70日齢児(♂♀半数/腹) 剖検、器官重量測定(下垂体、甲状腺、胸 腺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、精巣 上体、前立腺、卵巣、子宮)。器官・組織 を 10%中性緩衝ホルマリンで保存。肝臓 一部凍結保存(♂1♀1/腹)。血清凍結保存。 交配(♂♀半数/腹) 交配後(雌) 体重測定、妊娠 13 日剖検、胚の観察。 交配後(雄) 剖検、器官重量測定、精子検査。	備考
-----------------	--	---	--	---	--	-----------------------	--	---	---	----

4. ヘプタクロルの試験結果

(1)げっ歯類を用いた1世代試験

①高用量群(1、3 mg/kg/day)における変化

F0 母動物の3 mg/kg/day 投与群において全児死亡した個体の出現頻度の高値が認められた。

F1 児動物の3 mg/kg/day 投与群において死亡・消失個体の出現頻度の高値及び哺育0日の生存率の低値が認められた。

F1 雌雄(3週齢)の1、3 mg/kg/day 投与群において肝臓(絶対、相対)重量の高値ならびに肝臓の病理組織学的検査における小葉中心性肝細胞肥大個体の出現頻度の高値が認められた。

F1 雌の1 mg/kg/day 投与群において性成熟試験における膺開口日の高値(遅延)及び膺開口完了時体重の高値が認められた。

F1 児動物の生存率の低値については信頼性の認められた既報告で報告されている。

②低用量群(0.05、0.5、5 μ g/kg/day)における変化

F1 雄(12週齢)の5 μ g/kg/day 投与群において甲状腺の病理組織学的検査における小胞上皮細胞水腫変性個体の出現頻度の低値が認められた。低値であり、悪影響とは考えられなかった。

(2)試験管内(*in vitro*)試験

ヒトエストロゲン受容体(ER α 及びER β)結合競合阻害試験、ヒト乳がん細胞E-Screen試験、ヒト乳がん細胞アンドロゲン受容体レポーター遺伝子試験(アゴニスト及びアンタゴニスト)、ラットアンドロゲン受容体結合阻害試験及びヒト甲状腺ホルモン受容体(TR α 及びTR β)酵母試験を行った。

ヒトエストロゲン受容体(ER α 及びER β)結合競合阻害試験では、活性がみられた。ヒト乳がん細胞E-Screen試験では、細胞毒性を示す濃度未満の 10^{-6} Mにおいて有意な細胞増殖が認められた。ヒト乳がん細胞アンドロゲン受容体レポーター遺伝子試験(アゴニスト及びアンタゴニスト)、ラットアンドロゲン受容体結合阻害試験及びヒト甲状腺ホルモン受容体(TR α 及びTR β)酵母試験では、有意な反応は得られなかった。

(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、低用量(文献情報等により得られた人推定曝露量を考慮した比較的低用量)においては、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

また、高用量群(既報告で影響が認められた用量群)においてのみ、一般毒性と考えられる影響が認められた。

ヘプタクロルについては、健康リスク初期評価が「化学物質の環境リスク評価 第1巻」において行われ、「健康リスクについては現時点では作業は必要ないと考えられる」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。

表. プロトコル概要 (ヘプタクロル)

被験物質	試験機関	被験動物	使用動物数	投与方法 投与期間	用量設定	試験方法の形式	母動物の観察項目	見動物の観察項目	備考
ヘプタクロル	(財) 残留農薬研究所	Wistar Hannover ラット BrIHan: WIST@Jcl (GALAS)	購入雄 60 匹 雌 100 匹 交尾成立母動物各群 12 匹 ×6 群	強制経口投与 妊娠 0 日～哺育 20 日連続	0 0.05 0.50 5.0 µg/kg/day ADI は 0.5 µg/kg/day であることから、この量を中心にして、1/10 から 10 倍量投与する。	哺育児数の調整は行わない。 雌乳児は群ごと の F1 雌雄が同数となるよう雌乳した各腹から少なくとも雌雄それぞれ 2 匹を無作為に選抜して F1 動物とし、残りは全て剖検に供する。	一般状態 体重測定 体重増加量 摂餌量測定 分娩および哺育行動 ☆受胎率、出産率、妊娠期間、着床数 採血、剖検 器重量測定 ☆脳、下垂体、甲状腺、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、卵巣、子宮 器官保存 ☆重量測定器官の他、肉眼的異常部位	各生後段階において一般状態、体重測定、体重増加量、摂餌量測定 哺育児 (0～21 日齢) 出産児数、性比、生存率、AGD (4 日齢)、乳頭発達、身体発達 (耳介開展、切歯萌出、眼瞼開裂)、初期行動発達 (正方向反射、空中正方向反射) 21 日齢で安楽死させた雌乳児剖検、 器重量測定 ☆脳、胸腺、肝臓、脾臓、精巣、精巣上体、前立腺腹葉、精囊、卵巣、子宮 器官保存 ☆重量測定器官の他、肉眼的異常部位 病理組織学的検査 ☆胸腺、肝臓、精巣、精巣上体、精囊、凝固線、前立腺腹葉、卵巣、子宮 観察継続雌乳児 性成熟 (包皮分離、陰開口)、性周期 (陰開口日から 3 週間または 3 周期、ならびに交配前 2 週間)、オープンフィールド (交配を行わない F1 雌雄 (各腹で雌雄各 1 匹)) 12 週齢<各群における約半数の雌雄は交配させ、残りは交配しない> 交配終了後に安楽死させる F1 雌雄 (各腹で原則として順位の早い雌雄それぞれ 1 匹; 雌は妊娠 14 日に安楽死させて子宮内の受胎産物の有無を確認) 剖検、 器官保存 ☆脳、下垂体、甲状腺、脾臓、副腎、腎臓、精巣、精巣上体、精囊、凝固線、前立腺腹葉、卵巣、子宮、膈 交配を行わずに安楽死させる F1 雌雄 採血、剖検、 器重量測定、器官保存 ☆脳、下垂体、甲状腺、脾臓、副腎、腎臓、精巣、精巣上体、精囊、凝固線、前立腺腹葉、卵巣、子宮、膈 (器官保存のみ) 精子検査: 精巣精子頭部数、精巣上体精子数、運動能、形態 病理組織学的検査 ☆下垂体、甲状腺、肝臓、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮、膈	
				陽性対照 妊娠 0 日～哺育 20 日連続	1 3 mg/kg/day ラットにおける LD50 値 (40～188 mg/kg) を参考にし、非妊娠雌動物を用いる予備試験 (10、30 および 100 mg/kg/day で 2～12 日間投与: 1 および 3 mg/kg/day で 7 日間投与を追加実施) の結果から決定する。 ラットの妊娠および哺育期間中の母動物への被験物質暴露による生殖毒性兆候の情報はないも得られていないので、陽性対照を 2 群設けて試験を実施する。	剖検、 器官保存 ☆重量測定器官の他、肉眼的異常部位 病理組織学的検査 ☆重量測定器官の他、肉眼的異常部位 器官保存 ☆重量測定器官の他、肉眼的異常部位 病理組織学的検査 (必要に応じて)			

5. マイレックスの試験結果

(1) げっ歯類を用いた1世代試験

① 最高用量(2 mg/kg/day)における変化

F0 母動物の全児死亡した個体の出現頻度の高値、肝臓の病理組織学的検査における小葉中心性肝細胞肥大個体の出現頻度の高値が認められた。

F0母動物(哺育0～10日、0～14日)の体重増加量の低値及びF0母動物(哺育0～7日、0～10日、0～14日)の摂餌量の低値が認められた。

F1 児動物(生後0日、4日、21日)の生存産児数の低値及びF1 児動物(生後0日、0～4日、4～21日)の生存率及び出生率の低値が認められた。

F1 雌雄の一般状態における白内障個体の出現頻度の高値が認められた。

F1 雌雄(哺育4日)の行動発達試験における正向反射完成率の低値が認められた。

F1 雌(哺育13日)の身体発達試験における耳道開通完成率の低値が認められた。

F1 雌の性成熟試験における膻開口日の高値(遅延)が認められた。

F1 雌(3～4週齢)の体重増加量の低値が認められた。

F0 母動物の体重増加量の低値、肝臓の病理組織学的検査における小葉中心性肝細胞肥大個体の出現頻度の高値、F1 児動物の生存率及び出生率の低値、白内障個体の出現頻度の高値については信頼性の認められた既報告で報告されている。

② 低用量群(0.02、0.2、2、20 μ g/kg/day)における変化

F1 雌(11週齢)の2 μ g/kg/day 投与群において体重の高値が認められたが、10、12週齢時の体重に有意な差は認められず、一過性の変化であると考えられた。

F1 雌(12週齢)の2、20 μ g/kg/day 投与群において解剖時体重の高値が認められたが、解剖動物と交配検査動物の振り分けにより生じた偏りによるものと考えられた。

なお、絶対重量及び相対重量ともに有意差の認められた変動は得られなかったものの、その一方に有意差が認められた器官(脳を除く)は以下のとおり。

*F1 雄(3週齢)：20 μ g/kg/day 投与群において前立腺腹葉相対重量の高値

(2) 試験管内(*in vitro*)試験

ヒトエストロゲン受容体(ER α 及びER β)結合競合阻害試験、ヒト乳がん細胞E-Screen試験、ヒト乳がん細胞アンドロゲン受容体レポーター遺伝子試験(アゴニスト及びアンタゴニスト)、ラットアンドロゲン受容体結合阻害試験及びヒト甲状腺ホルモン受容体(TR α 及びTR β)酵母試験を行った。

ヒトエストロゲン受容体(ER α 及びER β)結合競合阻害試験では、弱い活性がみられた。ヒト乳がん細胞E-Screen試験では、有意な細胞増殖は認められなかった。ヒト乳がん細胞アンドロゲン受容体レポーター遺伝子試験(アゴニスト及びアンタゴニスト)、ラットアンドロゲン受容体結合阻害試験及びヒト甲状腺ホルモン受容体(TR α 及びTR β)酵母試験では、有意な反応は得られなかった。

(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、今回の試験結果において、低用量(文献情報等により得られた人推定曝露量を考慮した比較的低用量)においては、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

また、最高用量(既報告で影響が認められた用量)においてのみ、一般毒性と考えられる

影響が認められた。

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。

①マイレックス

プロトコル概要 (マイレックス)

被験物質	試験機関	被験動物	使用動物数	投与方法	用量設定	投与量	試験方法の形式	母動物の観察項目	児動物の観察項目	備考
マイレックス	日本バイオアッセイ研究センター	Wistar Hannover ラット BrIHan: WIST@Jcl (GALAS)	導入 雌100匹 雄 60匹 試験使用 雌90匹 1群15匹 (12匹の妊娠雌を確保する)	強制経口投与 (コーン油) 妊娠0日～ 哺育20日 連続投与	低用量：0 0.02 0.2 2 20 µg/kg/day 1日許容摂取量 (ADI)は規定されていないため、1日の推定摂取量を計算した。 0.0003 µg/kg (アガシテイナーモデルによる計算結果) 0.56 µg/kg (過去の最高測定値による計算結果) 29 µg/kg (米国汚染地域での計算結果) 0.2 µg/kg (EPA-RfD) 以上の1日推定摂取量及び飼料中検出限界値(0.05 µg/kg)を考慮して設定。	2mL/kg (BW)	哺育児数の調製(間引き)は行わない。 21日齢で離乳する。	一般状態 体重 摂餌量 分娩・哺育状態 血漿・血清凍結保存 病理学的検査 剖検 臓器重量 胸腺,副腎,下垂体,甲状腺,肝臓,腎臓, 甲狀腺,肝臓,腎臓, 病理組織学的検査 甲狀腺,肝臓 肝臓の一部凍結保存 着床痕数	哺育期(雌雄全匹) 産児数・生存児数、一般状態、体重、AGD、乳頭、行動発達(正向反射,自由落下反射)、身体発達(切歯の萌出,耳道の開通,眼瞼の開裂) (グループ1) 離乳から12週齢まで(6腹,雌雄全匹) 一般状態、体重、包皮分離、陰開口、性周期(グループ1A) 交配後(雌) (6腹,各3匹) 体重、病理学的検査(剖検,臓器保存)、帝王切開(妊娠黄体数,着床痕数,胚の生死) 交配後(雄) (6腹,各3匹) 病理学的検査(剖検,臓器保存) 交配検査の結果に応じて精子検査 (グループ1B) 12週齢(6腹,グループ1A以外の雌雄) 血漿・血清凍結保存 病理学的検査 剖検 臓器重量：胸腺,副腎,下垂体,甲状腺,肝臓,腎臓,脾臓,子宮,卵巣,精巣,精巣上体,前立腺,精嚢+凝固腺 病理組織学的検査：甲状腺,肝臓 肝臓の一部凍結保存 (グループ2) 21日齢児(グループ1以外の腹の雌雄全匹) 血漿・血清凍結保存 病理学的検査 剖検 臓器重量：胸腺,副腎,下垂体,甲状腺,肝臓,腎臓,脾臓,子宮,卵巣,精巣,精巣上体,前立腺,精嚢+凝固腺 病理組織学的検査：甲状腺,肝臓 肝臓の一部凍結保存	