

平成 14 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）

・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 2 回内分泌攪乱化学物質問題検討会(平成 16 年 12 月 24 日開催)において、 p,p' -DDE について、弱いながらもメダカエストロジェン受容体(ER 及び ER)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、 p,p' -DDE の試験結果の評価を行った。

2 . p,p' -DDE の試験結果

(1)メダカを用いた試験

ビテロジェニンアッセイ

7.44、16.5、28.0、53.6、115 $\mu\text{g/L}$ (実測値)のばく露濃度において試験を行ったところ、肝指数には統計学的に有意な変化は認められなかったが、肝臓中ビテロジェニン濃度は 53.6 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露群において、ばく露濃度の上昇と共に増加し、統計学的に有意な高値が認められた。

パーシャルライフサイクル試験

1.05、3.48、11.1、32.4、111 $\mu\text{g/L}$ (実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、孵化率、全長、体重及び生殖腺指数に統計学的に有意な変化は認められなかった。

32.4 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露群において、死亡率の統計学的に有意な高値が認められた。

生殖腺の組織学的検査では、助剤対照区及び 11.1 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露群にお

いて精巣卵の個体がみられ、ばく露濃度の上昇と共に増加した精巣卵出現率に 32.4 µg/L 以上のばく露群において、統計学的に有意な高値が認められた。111 µg/L のばく露群において観察を行った雄 9 個体(性決定遺伝子により雌雄を判定した)のうち、1 個体は卵巣を有する性転換個体であった。

雄の肝臓中ビテロジェニン濃度はばく露濃度の上昇と共に増加し、32.4 µg/L 以上のばく露群において、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、111 µg/L のばく露群において、統計学的に有意な高値が認められた。

1.05 µg/L 及び 32.4 µg/L 以上のばく露群において、孵化日数の統計学的に有意な高値(遅延)が認められた。

32.4 µg/L のばく露群の雄において、肝指数の統計学的に有意な低値が認められ、111 µg/L のばく露群の雄において、肝指数の統計学的に有意な高値が認められた。

1.05 µg/L、3.48 µg/L、11.1 µg/L 及び 111 µg/L のばく露群の雌において、肝指数の統計学的に有意な低値が認められた。

フルライフサイクル試験

0.296、1.00、3.06、9.32、30.9 µg/L(実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、F₀ 世代の孵化率、産卵数、雌の肝指数及び雌の肝臓中ビテロジェニン濃度、F₁ 世代の雌の生殖腺指数及び雄の肝指数に統計学的に有意な変化は認められなかった。

30.9 µg/L のばく露群において、二次性徴を示す雄が存在しなかったため、F₀ 世代の産卵数、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、F₁ 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、生殖腺指数、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。

F₀ 世代の死亡率については、1.00 µg/L 以上のばく露群においてばく露濃度の上昇と共に増加した統計学的に有意な高値が認められた。

受精率については、1.00 µg/L 以上のばく露群においてばく露濃度の上昇と共に減少した統計学的に有意な低値が認められた。

雄の肝臓中ビテロジェニン濃度については、3.06 µg/L 以上のばく露群においてばく露濃度の上昇と共に増加した統計学的に有意な高値が認められた。

孵化日数には、3.06 µg/L 及び 9.32 µg/L のばく露群において統計学的に有意な高値(遅延)が認められた。

1.00 µg/L ばく露群において、全長の統計学的に有意な低値が認められた。

9.32 µg/L 以上のばく露群において、体重の統計学的に有意な高値が認められた。

9.32 µg/L ばく露群において、雌雄の生殖腺指数及び雄の肝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、9.32 µg/L 以上のばく露群において全て卵巣を

保有する個体であったが、遺伝的性判別の結果、各ばく露群の2個体ずつは遺伝的な雄であった。

F₁世代の死亡率は、3.06 µg/L以上のばく露群においてばく露濃度の上昇と共に増加した統計学的に有意な高値が認められた。

雄の肝臓中ビテロジェニン濃度については、0.296 µg/Lばく露群において統計学的に有意な低値が認められた。

雌の肝臓中ビテロジェニン濃度については、1.00 µg/Lばく露群において統計学的に有意な低値が認められた。

0.296 µg/Lばく露群において、孵化率、体重、雌の肝指数の統計学的に有意な低値及び孵化日数の統計学的に有意な高値(遅延)が認められた。

9.32 µg/Lばく露群において、全長、体重及び雄の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、1.00 µg/L以上のばく露群において精巣卵の個体がみられ、9.32 µg/Lばく露群において、精巣卵出現率に統計学的に有意な高値が認められた。

表 p, p' -DDE の FLCT (F0) の測定結果

濃度 (µg/L)	孵化率	孵化日数	死亡率	全長	体重	精巣卵出現率
対照区	-	-	-	-	-	-
助剤対照区	-	-	-	-	-	-
0.296	-	-	-	-	-	-
1.00	-	-	-	-	-	-
3.06	-	-	-	-	-	-
9.32	-	-	-	-	-	全個体が卵巣を保有
30.9	-	-	-	-	-	全個体が卵巣を保有

濃度 (µg/L)	産卵数	受精率	生殖腺指数		肝指数		肝臓中ビテロジェニン濃度	
			雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	-	-	-	-	-	-	-	-
助剤対照区	-	-	-	-	-	-	-	-
0.296	-	-	-	-	-	-	-	-
1.00	-	-	-	-	-	-	-	-
3.06	-	-	-	-	-	-	-	-
9.32	-	-	-	-	-	-	-	-
30.9	二次性徴を示す雄が存在しなかったため、測定できなかった							

注) 対照区及び助剤対照区の測定値と比べて統計学的に有意差が認められた値で、 : 高値、 : 低値、 - : 有意差なし(ただし、太字は $p < 0.01$ 、細字は $p < 0.05$ で有意差が認められた値)

表 p,p' -DDE の FLCT(F1)の測定結果

濃度 ($\mu\text{g/L}$)	孵化率	孵化日数	死亡率	全長	体重	精巣卵 出現率
対照区	-	-	-	-	-	-
助剤対照区	-	-	-	-	-	-
0.296			-	-		-
1.00	-	-	-	-	-	-
3.06	-	-		-	-	-
9.32	-	-				
30.9	二次性徴を示す雄が存在しなかったため、測定できなかった					

濃度 ($\mu\text{g/L}$)	生殖腺指数		肝指数		肝臓中ビテロジェニン 濃度	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	-	-	-	-	-	-
助剤対照区	-	-	-	-	-	-
0.296	-	-	-	-	-	-
1.00	-	-	-	-	-	-
3.06	-	-	-	-	-	-
9.32		-	-	-	-	-
30.9	二次性徴を示す雄が存在しなかったため、測定できなかった					

注) 対照区及び助剤対照区の測定値と比べて統計学的に有意差が認められた値で、
 : 高値、
 : 低値、
 - : 有意差なし(ただし、太字は $p < 0.01$ 、細字は $p < 0.05$ で有意差が認められた値)

(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)レポーター遺伝子試験、メダカアンドロジェン受容体レポーター遺伝子試験及びメダカ甲状腺ホルモン受容体結合試験を行った。

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 1/2,900(ER α)及び約 1/8,300(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では、ER α 及び ER β に対する活性は認められたが、IC₅₀ 値は得られなかった。メダカアンドロジェン受容体レポーター遺伝子試験及びメダカ甲状腺ホルモン受容体結合試験においては、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、 p,p' -DDE 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、死亡率の上昇、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、死亡率の上昇、受精率の減少、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との結合強度はビスフェノールAの約 1/14、*o,p'*-DDTの約 1/16、4-ノニルフェノール(分岐型)の約 1/240、4-*t*-オクチルフェノールの約 1/470、17 β -エストラジオールの約 1/2,900(0.034%)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、*o,p'*-DDTの相対結合強度は、17 β -エストラジオールの約 1/190(0.54%)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との結合強度は *o,p'*-DDTの約 1/14、ビスフェノールAの約 1/26、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 1/69、17 β -エストラジオールの約 1/8,300(0.012%)であった(*o,p'*-DDTの相対結合強度は、17 β -エストラジオールの約 1/590(0.17%)で、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、本物質について、魚類に対して致死毒性が認められなかった濃度範囲においては、内分泌かく乱作用を示す指標に有意な変化は認められなかった。なお、魚類に対して致死毒性が認められた濃度以上において、内分泌かく乱作用を示す指標に有意な変化が認められた。

死亡率の上昇及び受精率の低下が統計学的に有意に認められたばく露濃度は、パーシャルライフサイクル試験において 32.4 $\mu\text{g/L}$ 以上、フルライフサイクル試験において 1.00 $\mu\text{g/L}$ 以上であった。

最小作用濃度 LOEC は 1.00 $\mu\text{g/L}$ 、最大無作用濃度 NOEC は 0.296 $\mu\text{g/L}$ と考えられた。

DDE は、DDT の分解物であり、農薬としては未登録である。

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、DDE 及び DDT は、「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。

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、0.025～0.05 µg/Lであった。

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、4地点で検出され(検出率3.5%)、濃度範囲:ND (< 5) ~ 154 µg/kg-dryであった。

土壌調査結果

平成10年度に実施された土壌調査では101地点で測定が行われ、15地点で検出され(検出率15%)、濃度範囲:ND (< 5) ~ 287 µg/kg-dryであった。

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、31地点で検出され(検出率65%)、濃度範囲:ND (< 5) ~ 71 µg/kg-wet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、平成15年度及び平成16年度 POPsモニタリング調査」において、全国のべ546地点について水質、底質、生物、大気的环境中濃度を測定した。

水質調査結果

水質調査では3年間でのべ112地点、188検体中112地点、188検体で検出され(検出率100%)、濃度範囲は、1.3～760pg/L(0.0000012～0.00076 µg/L)であった。

底質調査結果

底質調査では3年間でのべ188地点、564検体中188地点、564検体で検出され(検出率100%)、濃度範囲は、0.008～80 µg/kg-dryであった。

大気調査結果

大気調査では3年間でのべ177地点、245検体中177地点、245検体で検出され(検出率100%)、濃度範囲:0.00056～0.095ng/m³であった。

生物調査結果

生物調査では3年間でのべ69地点、339検体中69地点、339検体で検出され(検出率100%)、濃度範囲は0.14~240 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0.00076 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0.0296 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0.00076 μ g/Lは、本試験結果から推定された無影響濃度0.0296 μ g/Lを下回っており(1/39)、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

p,p'-DDE 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、*p,p'*-DDE については、魚類に対して致死毒性が認められなかった濃度範囲においては、内分泌かく乱作用を示す指標に有意な変化は認められなかった。

DDE は、DDT の分解物であり、農薬としては未登録である。

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、DDE 及び DDT は、「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 0.00076 μ g/L は、本試験結果から推定された無影響濃度 0.0296 μ g/L を下回っており(1/39)、現時点では現実的なリスクは低いと考えられた。

表 魚類（メダカ）を用いた試験の結果

物質名	試験結果
アジピソ酸ジ-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	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。
塩化トリフェノルス	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
塩化トリブフェノルス	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-オキソフェノール	魚類の女性ホルモン受容体との結合性が強く、雄肝臓中ビテロジェニン(卵黄タンパク前駆体)濃度の上昇、精巣卵の出現、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-クロルデン	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
ケセ	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。
ディルトリン	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。
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。
trans-ノカロール	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
4-ニロフェノール(分岐型)	魚類の女性ホルモン受容体との結合性が強く、雄肝臓中ビテロジェニン(卵黄タンパク前駆体)濃度の上昇、精巣卵の出現、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	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、雄肝臓中ビテロジェニン(卵黄タンパク前駆体)濃度の上昇、精巣卵の出現、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-1ヒル	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。
フタル酸ジ-ジロヘキシル	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。
フタル酸ジ-n-ブフェ	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。
フタル酸ジ-ブフェ	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-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-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。
フタル酸ジ-フルペンジ	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。
-ヘキサクロシクロヘキサン	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。
ヘキサクロペンゼン	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。
ヘブタロール	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。
ペンタフェノ	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、低濃度(文献情報等により得られた魚類推定ばく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。
マイルックス	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'-D D D	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'-D D E	魚類に対して致死毒性が認められなかった濃度範囲においては、内分泌かく乱作用を示す指標に有意な変化は認められなかった。
o,p'-D D T	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、雄肝臓中ビテロジェニン(卵黄タンパク前駆体)濃度の上昇、精巣卵の出現、受精率の低下、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'-D D T	明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

p,p'-DDE 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

測定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン (ng/mg liver)	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	0	2.5 \pm 0.57	2.4 \pm 0.64	ND	ND
助剤対照区	3.3	3.1 \pm 0.80	2.4 \pm 0.33	ND	ND
7.44	3.3	2.8 \pm 0.66	2.7 \pm 0.50	ND	ND
16.5	0	2.7 \pm 0.46	2.6 \pm 0.52	ND	ND
28.0	0	2.6 \pm 0.45	2.5 \pm 0.80	ND	ND
53.6	0	2.2 \pm 0.60	3.1 \pm 1.3	1.2 \pm 1.5**	34 \pm 36**
115	3.3	2.5 \pm 0.56	2.9 \pm 0.95	90 \pm 120**	360 \pm 570**

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 ($< 1\text{ng/mg liver}$) を示す。

2. パーシャルライフサイクル試験 (試験機関: (独)国立環境研究所)

表 2 - A: 試験結果

測定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	82 \pm 2.9	10 \pm 0.38	10 \pm 3.4	30 \pm 2.2	340 \pm 66
助剤対照区	87 \pm 2.9	9.9 \pm 1.3	7.7 \pm 3.5	30 \pm 1.9	330 \pm 69
1.05	92 \pm 5.8	14 \pm 2.0*	20 \pm 13	30 \pm 2.3	320 \pm 86
3.48	83 \pm 2.9	14 \pm 2.6	20 \pm 15	30 \pm 1.8	360 \pm 69
11.1	87 \pm 7.6	13 \pm 1.5	19 \pm 11	31 \pm 1.7	350 \pm 68
32.4	78 \pm 12	16 \pm 2.6**	77 \pm 14**	31 \pm 1.4	370 \pm 49
111	75 \pm 8.7	14 \pm 0.97*	66 \pm 15**	31 \pm 1.4	390 \pm 55

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。

表 2 - B: (続き)

測定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	生殖腺指数 (%)		尾 数	精巣卵出現率 (%) (精巣卵/(精巣+精巣 卵)) ⁽¹⁾	肝指数 (%)		ビテロジェニン (ng/mg liver)	
対照区	0.85 \pm 0.21	8.4 \pm 3.4	20	0(0/11)	2.8 \pm 0.51	4.8 \pm 0.68	ND	2,100 \pm 1,100
助剤対照区	0.81 \pm 0.23	6.8 \pm 3.6	20	11 ^a (1/9)	3.1 \pm 0.66	6.2 \pm 0.94	7.4 \pm 10	1,300 \pm 660
1.05	0.85 \pm 0.26	9.1 \pm 2.0	20	0(0/12)	2.9 \pm 0.90	4.6 \pm 0.91**	9.3 \pm 21	1,600 \pm 250
3.48	0.86 \pm 0.19	8.1 \pm 3.3	20	0(0/8)	2.5 \pm 0.90	5.3 \pm 0.82*	19 \pm 21	1,800 \pm 720
11.1	0.96 \pm 0.31	7.4 \pm 2.3	20	11 ^b (1/9)	3.0 \pm 0.92	4.9 \pm 0.92**	19 \pm 24	1,900 \pm 570
32.4	0.90 \pm 0.26	9.8 \pm 1.3	10	100 ^c (7/7)**	2.3 \pm 0.34*	4.9 \pm 0.61	210 \pm 170**	1,300 \pm 440
111	1.4 \pm 1.6	9.5 \pm 1.1	15	89 ^d (8/9)** ⁽²⁾	4.2 \pm 1.2**	4.0 \pm 0.77**	1,900 \pm 1,000**	2,600 \pm 820*

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 ($< 1\text{ng/mg liver}$) を示す。

雄の肝臓中ビテロジェニン濃度、雌の肝指数の検定結果は、対照区と助剤対照区の間で有意差が生じたため、統計処理は助剤対照区と各ばく露区について実施

精巣卵スコアは、a: 1.1, b: 3.0, c: 2.3 \pm 0.64, d: 4.4 \pm 0.56 であった。

(1): すべての個体について雄決定遺伝子(DMY)の有無の確認を行い、遺伝的オスを同定した。

(2): 観察に用いたオス 9 個体のうち、1 個体は性転換個体(卵巣を保有)であった。

3. フルライフサイクル試験 (試験機関: (独)国立環境研究所)

表3 - A: 1世代目 (F0) 試験結果

測定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)	尾数 ^a	精巢卵出現率(%) (精巢卵/(精巢+精巢卵))
対照区	88 \pm 10	11 \pm 0.48	3.8 \pm 3.3	31 \pm 1.9	360 \pm 89	20	0(0/9)
助剤対照区	90 \pm 8.7	11 \pm 0.79	12 \pm 6.8 ^c	31 \pm 2.3	370 \pm 86	20	0(0/10)
0.296	92 \pm 2.9	12 \pm 0.18	18 \pm 7.7	31 \pm 1.6	380 \pm 84	20	0(0/7)
1.00	85 \pm 0.0	12 \pm 0.89	35 \pm 12*	30 \pm 1.4*	330 \pm 54	20	0(0/9)
3.06	80 \pm 10	14 \pm 0.34**	43 \pm 7.2**	30 \pm 3.0	360 \pm 121	15	0(0/7)
9.32 ^b	75 \pm 17	13 \pm 1.4**	50 \pm 22**	32 \pm 1.5	430 \pm 75*	11	-(0/0)
30.9 ^b	75 \pm 10	12 \pm 1.0	87 \pm 1.8**	31 \pm 1.4	440 \pm 51*	6	-(0/0)

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。

a: サンプルは、繁殖試験に供する雌雄ペアの余り個体からランダムに 20 尾を選別。20 尾に満たない場合は、全個体とした。

b: 遺伝的性判別の結果、卵巣個体のうち、各 2 個体は遺伝的オスであった。

c: 対照区と助剤対照区の間で有意差が生じたため、統計処理は助剤対照区と各ばく露区について実施。

表3 - B: (続き)

測定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	産卵数	受精率 (%)	生殖腺指数 (%)	肝指数 (%)	肝臓中ピテロジェニン濃度 (ng/mg liver)			
対照区	1,000 \pm 200	94 \pm 3.1	0.84 \pm 0.14	7.7 \pm 1.3	1.6 \pm 0.29	4.5 \pm 0.90	2.0 \pm 2.8	880 \pm 360
助剤対照区	850 \pm 260	98 \pm 2.2 ^c	0.93 \pm 0.26	7.5 \pm 0.98	1.6 \pm 0.26	4.2 \pm 0.70	1.0 \pm 1.7	660 \pm 260
0.296	920 \pm 140	93 \pm 8.1	0.84 \pm 0.12	8.1 \pm 0.79	1.5 \pm 0.31	4.1 \pm 0.76	ND	1,100 \pm 370
1.00	1,000 \pm 320	89 \pm 12*	0.89 \pm 0.20	8.7 \pm 1.5	1.4 \pm 0.61	4.3 \pm 0.88	3.3 \pm 3.4	920 \pm 310
3.06	820 \pm 340	74 \pm 30*	0.73 \pm 0.37	9.9 \pm 3.3	1.5 \pm 0.32	4.2 \pm 1.0	75 \pm 51**	880 \pm 290
9.32	580 \pm 220	58 \pm 40*	4.7 \pm 5.7**	10 \pm 0.68*	2.5 \pm 0.93**	4.5 \pm 0.055	500 \pm 550**	940 \pm 45
30.9 ^d	-	-	-	-	-	-	-	-

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。

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

c: 対照区と助剤対照区の間で有意差が生じたため、統計処理は助剤対照区と各ばく露区について実施。

d: 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 (F 1) 試験結果

測定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)	尾数	精巢卵出現率(%) (精巢卵/(精巢+精巢卵))
対照区	80 \pm 0	11 \pm 1.4	10 \pm 7.2	31 \pm 1.7	360 \pm 70	20	0(0/10)
助剤対照区	100 \pm 0	11 \pm 0.65	6.7 \pm 2.9	30 \pm 1.8	350 \pm 71	20	0(0/10)
0.296	73 \pm 10* ^e	16 \pm 3.5**	23 \pm 21	29 \pm 4.2	320 \pm 124*	20	0(0/8)
1.00	92 \pm 7.6	14 \pm 1.2	17 \pm 6.8	30 \pm 2.2	340 \pm 90	20	8.3(1/12)
3.06	80 \pm 10	14 \pm 1.4	51 \pm 18**	30 \pm 1.7	330 \pm 68	20	15(2/13)
9.32 ^f	83 \pm 15	11 \pm 0.6	89 \pm 4.9**	32 \pm 0.89**	440 \pm 61*	5	100(1/1)**
30.9 ^g	-	-	-	-	-	-	-

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。
e: 対照区と助剤対照区の間で有意差が生じたため、統計処理は助剤対照区と各ばく露区について実施。

f: 遺伝的性判別の結果、卵巣個体のうち 2 個体は遺伝的オスであった。

g: 繁殖試験が実施できなかったため、データなし。

表 3 - D : (続き)

測定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	生殖腺指数 (%)		肝指数 (%)		肝臓中ピテロジェニン濃度 (ng/mg liver)	
対照区	0.92 \pm 0.33	7.8 \pm 3.1	2.5 \pm 0.27	5.1 \pm 0.79	ND	1,300 \pm 220
助剤対照区	0.99 \pm 0.20	7.6 \pm 2.0	2.2 \pm 0.41	5.1 \pm 0.53	13 \pm 12	1,200 \pm 400
0.296	1.1 \pm 0.27	5.8 \pm 3.1	2.2 \pm 0.37	4.4 \pm 0.73*	1.4 \pm 2.4** ^h	1,300 \pm 930
1.00	1.1 \pm 0.30	6.0 \pm 2.9	2.5 \pm 0.62	4.9 \pm 0.49	14 \pm 18	820 \pm 570*
3.06	1.1 \pm 0.40	7.4 \pm 3.7	2.6 \pm 0.47	4.6 \pm 0.73	16 \pm 12	1,500 \pm 840
9.32	4.1 \pm 3.9*	9.6 \pm 0.25	3.5 \pm 0.92	5.2 \pm 0.32	1,000 \pm 1,000	1,900 \pm 390
30.9 ^g	-	-	-	-	-	-

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

g: 繁殖試験が実施できなかったため、データなし。

h: 対照区と助剤対照区の間で有意差が生じたため、統計処理は助剤対照区と各ばく露区について実施。

表 選定物質のメダカエストロジェン受容体（ α 、 β ）結合競合阻害試験、
メダカエストロジェン受容体（ α 、 β ）レポーター遺伝子試験、
メダカアンドロジェン受容体レポーター遺伝子試験及び
メダカ甲状腺ホルモン受容体結合試験の結果

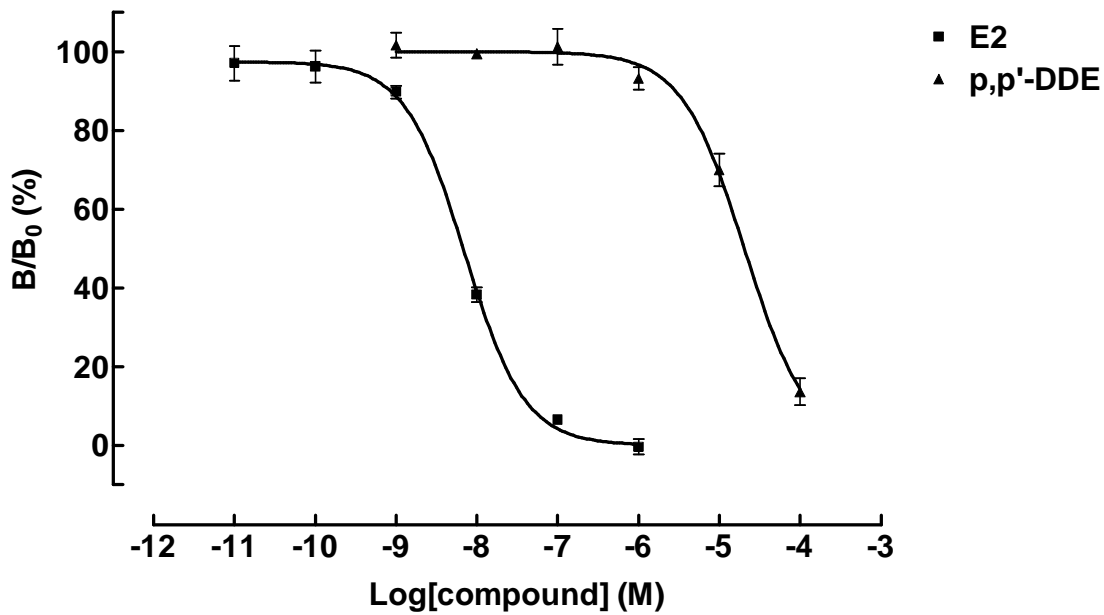
	エストロジェン受容体 (α) (%)		エストロジェン受容体 (β) (%)		アンドロジェン受容体 (%)	甲状腺ホルモン受容体 (%)
	結合競合阻害試験	レポーター遺伝子試験	結合競合阻害試験	レポーター遺伝子試験	レポーター遺伝子試験	結合試験
17 β -エストラジオール	100	100	100	100		
ジヒドロテストステロン					100	
3,3',5-トリオトチロン						100
<i>p,p'</i> -DDE	0.034	n. d.	0.012	n. d.	-	-

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、レポーター遺伝子試験では相対遺伝子転写活性 (%) を示した。

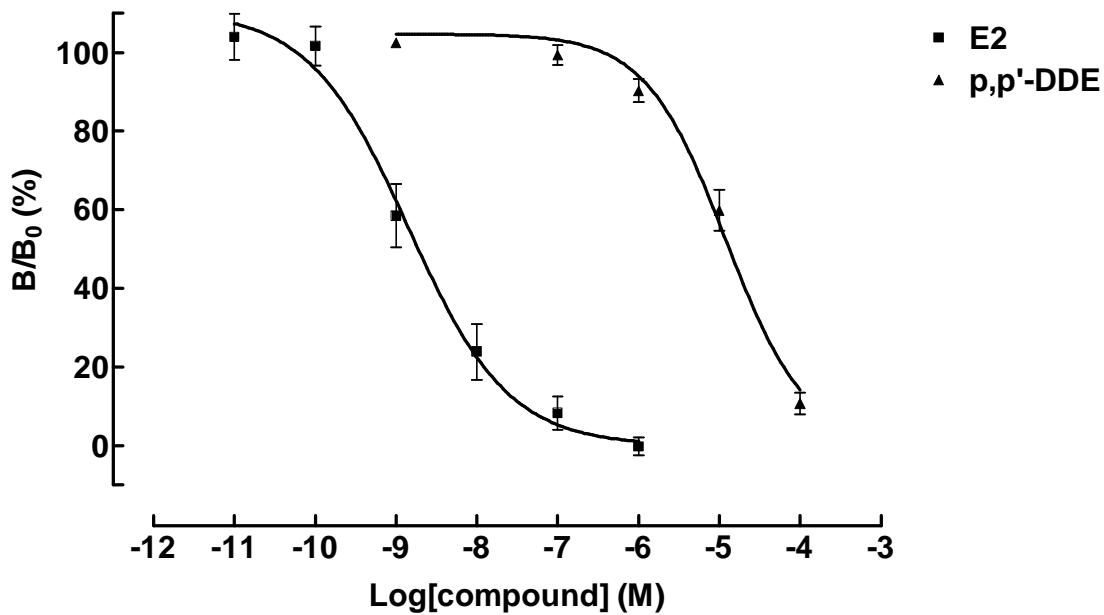
- : 試験した濃度範囲で活性が認められなかった。

n. d. : 活性が認められたが IC₅₀ 値は得られず、相対活性が計算できなかった。

p,p'-DDE の ERs 結合曲線

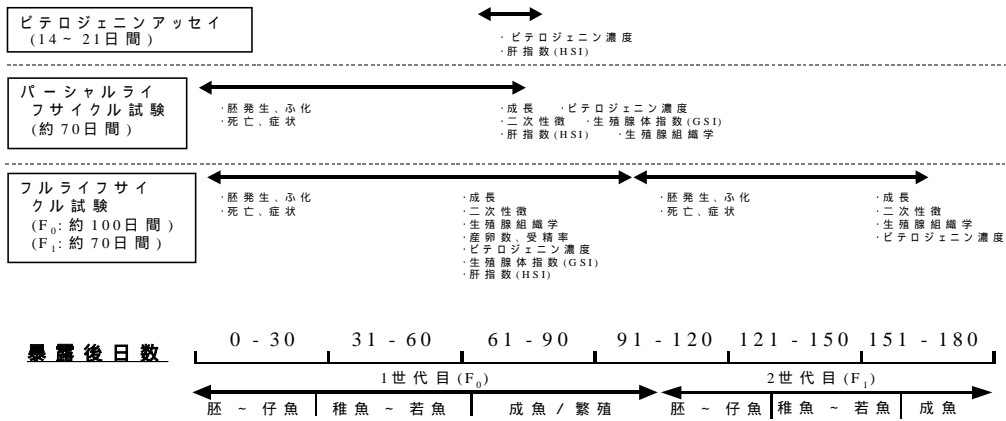


ER 結合曲線



ER 結合曲線

(参考)



ピ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ばく露する。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