

試験対象候補物質に関する情報収集状況

1. 試験管内試験の結果

試験対象候補物質*については、平成 17 年度第 2 回化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会(平成 17 年 10 月 31 日開催)において、平成 17 年度は、魚類試験体系そのものの検討を行うため、受容体結合性等の評価及び情報収集のみを行うこととしていた。

今般、平成 17 年に実施した受容体結合性試験等の結果を踏まえて、今後の動物試験実施について検討を行った。

*4-t-ブチルフェノール、ノニルフェノールモノエトキシレート(NP1E0)、ノニルフェノールジエトキシレート(NP2E0)及びノニルフェノキシ酢酸(NP1EC)

環境省が実施した試験において、環境中の濃度を考慮した濃度で 4-ノニルフェノール(分枝型)と 4-t-オクチルフェノールがメダカに対し内分泌かく乱作用を有することが推察されたこと、ノニルフェノールと 4-オクチルフェノール以外の国内における使用実態が認められ、環境中で検出されたアルキルフェノール類について内分泌かく乱作用を有するか否かを確認する必要があること、ノニルフェノールとオクチルフェノールは、それらの前駆物質類が界面活性剤等として使用されており、環境中で検出された前駆物質類について内分泌かく乱作用を有するか否かを確認する必要があること、により試験対象物質の候補とした。

(1) 試験内容

試験対象候補物質について、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、メダカアンドロジェン受容体(AR)レポータージーン試験及びメダカ甲状腺ホルモン受容体結合試験(TR)を行った。

(2) 試験結果

試験結果を下表に示した。

いずれの物質についても、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、EC₅₀ 値は得られず、メダカ

エストロゲン受容体(ER)レポータージーン試験、メダカアンドロゲン受容体レポータージーン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。

メダカエストロゲン受容体(ER 及びER)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、4-t-ブチルフェノールで、約 1/670(ER)及び約 1/380(ER)であり、ノニルフェノールモノエトキシレートで、約 1/380(ER)及び約 1/7,700(ER)であり、ノニルフェノールジエトキシレートで、約 1/3,300(ER)及び約 1/37,000(ER)であり、ノニルフェノキシ酢酸で、約 1/29,000(ER)であった。ノニルフェノキシ酢酸のメダカエストロゲン受容体(ER)結合競合阻害試験では、有意な反応は認められなかった。

	エストロゲン受容体 (%)		エストロゲン受容体 (%)		アンドロゲン受容体(%)	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	結合試験
17β-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-トリヨードチロニン						100
4-t-ブチルフェノール	0.15	n. d.	0.26	-	-	-
ノニルフェノールモノエトキシレート	0.26	n. d.	0.013	-	-	-
ノニルフェノールジエトキシレート	0.030	n. d.	0.0027	-	-	-
ノニルフェノキシ酢酸	0.0035	n. d.	-	-	-	-
4-オクチルフェノール(OP)	16	1.3	0.83	-	-	0.00101
ノニルフェノール(分岐型)(NP)	8.1	0.35	0.83	-	-	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、レポータージーン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 値または EC₅₀ 値は得られず、相対活性が計算できなかった。

(参考)

メダカエストロジェン受容体(ER α 及び ER β)結合活性の
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との比較

	エストロジェン受容体 (%)		エストロジェン受容体 (%)	
	結合競合阻害試験		結合競合阻害試験	
	ノニルフェノール(分岐型)	4-オクチルフェノール	ノニルフェノール(分岐型)	4-オクチルフェノール
	1	1	1	1
4-t-ブチルフェノール	1/54	1/110	1/3	1/3
ノニルフェノールモノエトキシレート	1/31	1/62	1/64	1/64
ノニルフェノールジエトキシレート	1/270	1/530	1/310	1/310
ノニルフェノキシ酢酸	1/2,300	1/4,600	-	-

2. 水環境中での検出状況

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11年度、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」における検出状況は以下のとおりであった。

4-t-ブチルフェノールについては、平成10年度、平成11年度、平成12年度、平成13年、平成14年度及び平成15年度にのべ852地点で測定が行われ、142地点で検出され(検出率17%)、濃度範囲:ND(<0.01)~1.9 μ g/Lであった。

ノニルフェノールモノエトキシレートについては、平成14年度及び平成15年度にのべ99地点で測定が行われ、11地点で検出され(検出率11%)、濃度範囲:ND(<0.1-0.3)~2.5 μ g/Lであった。

ノニルフェノールジエトキシレートについては、平成14年度及び平成15年度にのべ99地点で測定が行われ、17地点で検出され(検出率17%)、濃度範囲:ND(<0.1)~11 μ g/Lであった。

ノニルフェノキシ酢酸については、平成15年度に75地点で測定が行われ、57地点で検出され(検出率76%)、濃度範囲:ND(<0.05)~2.9 μ g/Lであった。

3. 影響の認められた情報の有無

平成17年5月6日及び平成18年6月14日にMEDLINE(PubMed)を利用して文献検索を行い、文献を収集した。キーワードは各物質名(CAS登録番号)とした。

4-t-ブチルフェノールについては、魚類を用いた内分泌かく乱作用に関連した動物試験の信頼性の認められた報告は得られなかった。

ノニルフェノールモノエトキシレート及びノニルフェノールジエトキシレートの混合物について、4.97 µg/Lにおいて、雄ニジマスの血漿ビテロジェニン濃度の高値及び精巣相対重量の低値が認められたとした信頼性のある報告が得られている(Gacら、2001)。

ノニルフェノキシ酢酸について、1 µg/Lにおいて、雌ニジマスの体重の高値及び卵巣相対重量の低値が認められたとした信頼性のある報告が得られている(Ashfieldら、1998)。

最近(平成18年3月)、BalchとMetcalfeは、ノニルフェノール、ノニルフェノールモノエトキシレート及びノニルフェノキシ酢酸等について、メダカの性比、二次性徴及び生殖腺組織への影響の有無について報告している**。

その結果として、ノニルフェノールについては、8.7 µg/Lにおいて、二次性徴への影響が認められ、ノニルフェノールモノエトキシレートについては、105 µg/Lにおいて、二次性徴への影響が認められ、ノニルフェノキシ酢酸等については有意な変化は認められなかったとしている。

**Balch, G. and Metcalfe, C.(2006)Developmental effects in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to nonylphenol ethoxylates and their degradation products. Chemosphere, Vol. 62, Issue 8, p1214-1223.

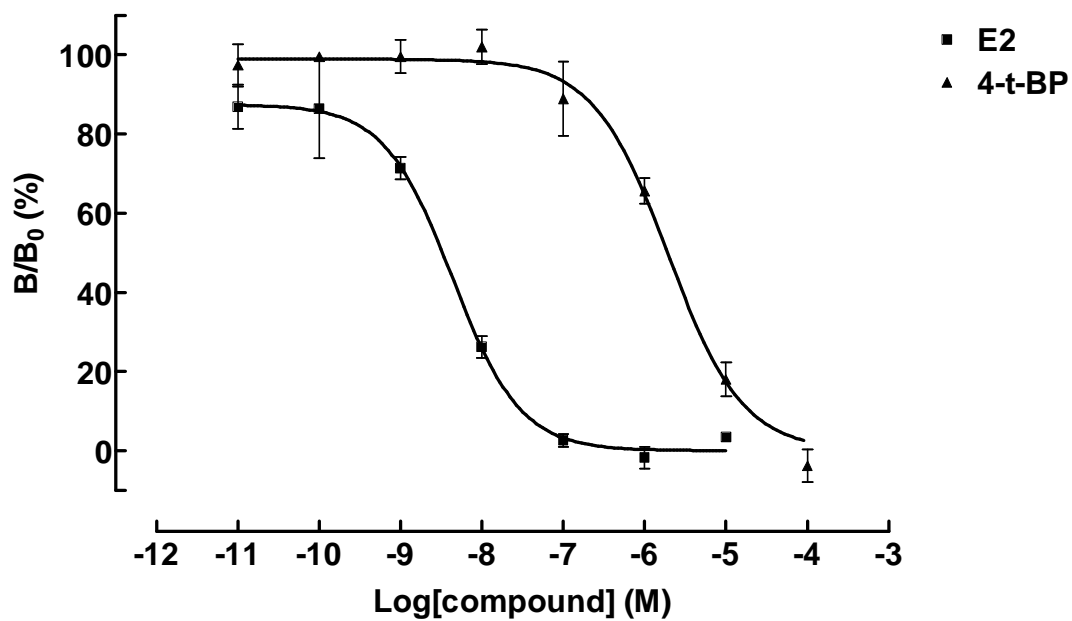
4. 今後の方針(案)

いずれの物質も、メダカエストロジェン受容体との結合強度は、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と比較して、弱かった。

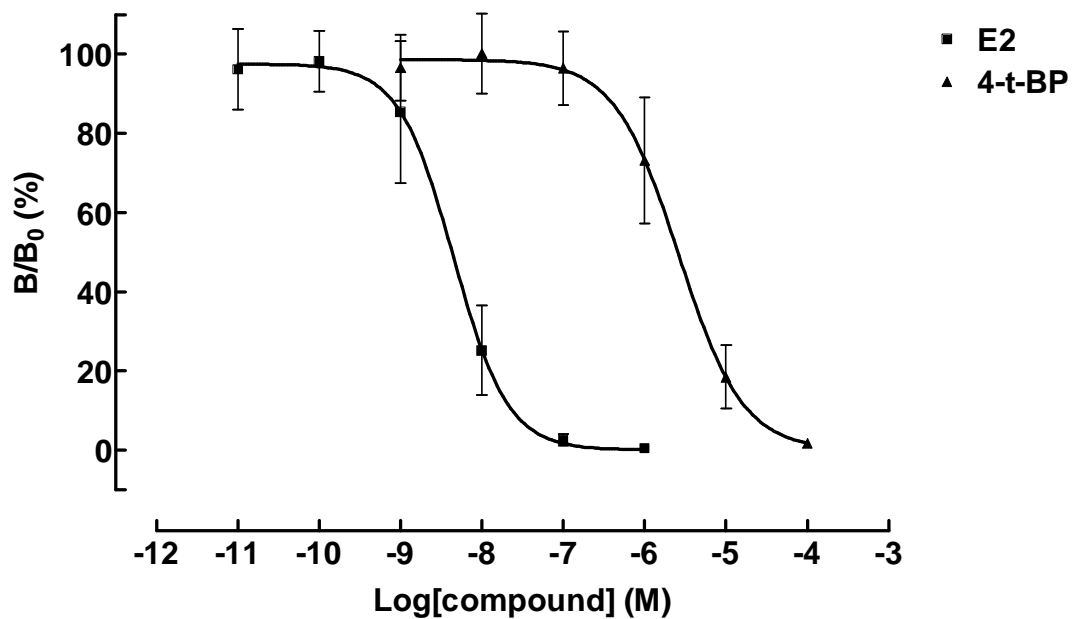
4-t-ブチルフェノールについては、一般環境中における検出状況に関する情報が得られているが、魚類を用いた試験を実施する際の試験濃度の設定に必要な内分泌かく乱作用に関連した影響の認められた信頼性のある情報が得られておらず、魚類を用いた試験の実施が困難である。今後も、影響に関する情報の収集に努めることとする。

ノニルフェノールモノエトキシレート、ノニルフェノールジエトキシレート及びノニルフェノキシ酢酸については、内分泌かく乱作用に関連した影響の認められた信頼性のある情報が得られているが、魚類を用いた試験を実施する際の試験濃度の設定に必要な一般環境中における検出状況に関する情報が不足しており、魚類を用いた試験の実施が困難である。今後、化学物質環境実態調査「化学物質と環境」の調査対象物質とし、一般環境中での調査結果が得られた時点で、魚類を用いた試験の実施について再度検討する。

4-t-Butylphenol の ERs 結合曲線

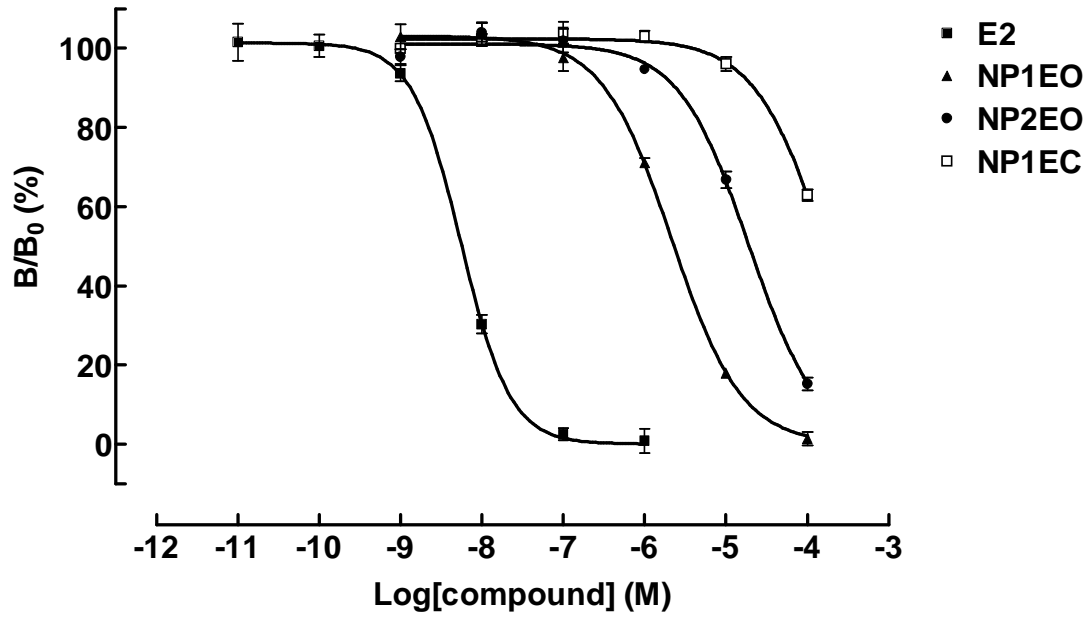


ER 結合曲線

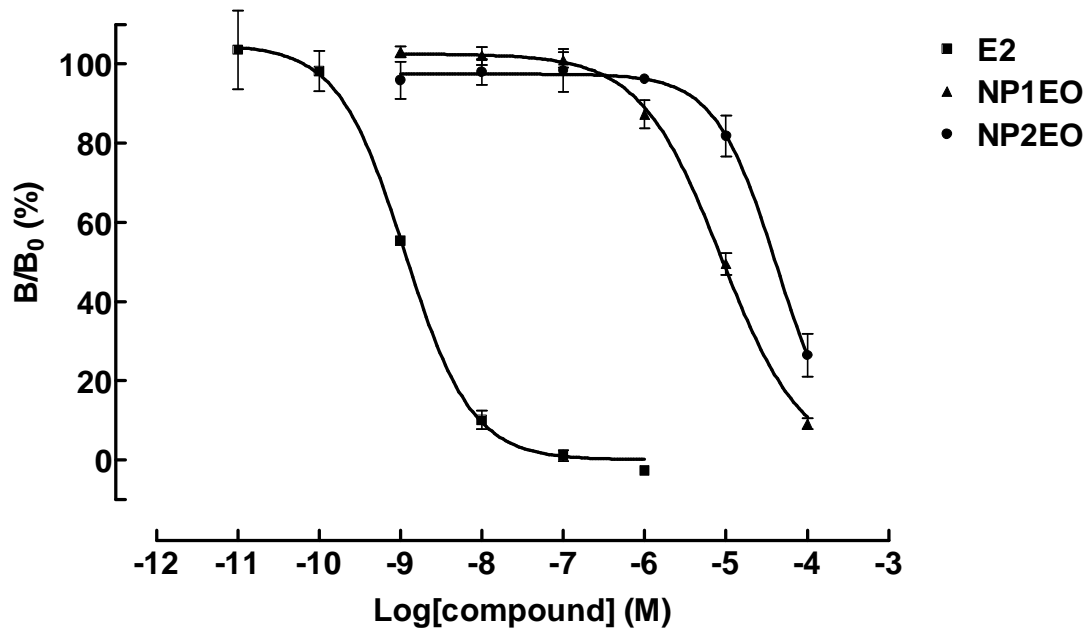


ER 結合曲線

NPs の ERs 結合曲線

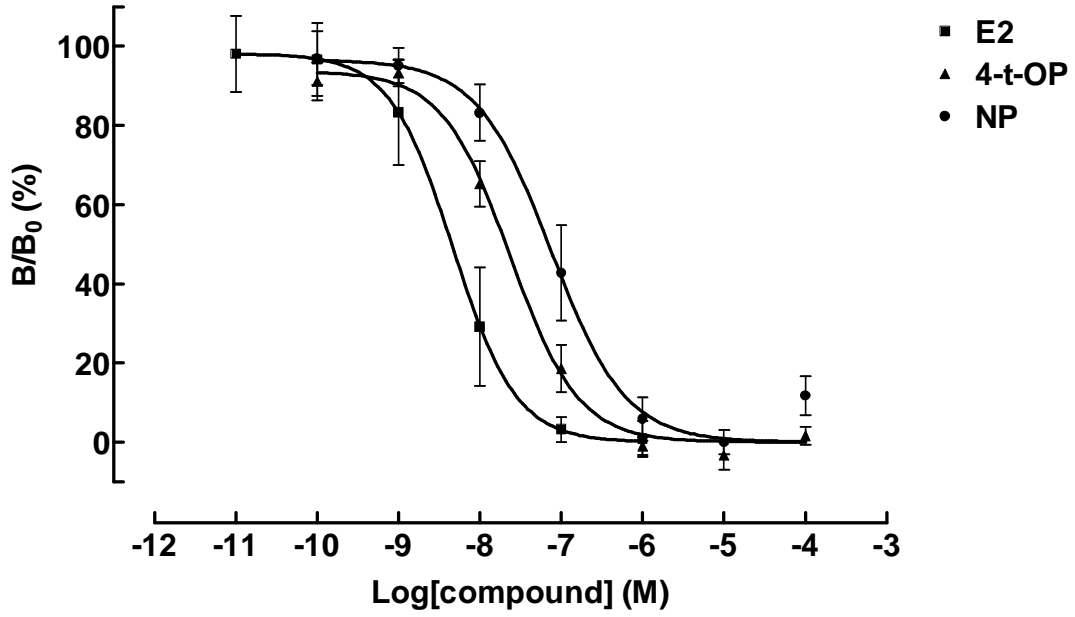


ER 結合曲線

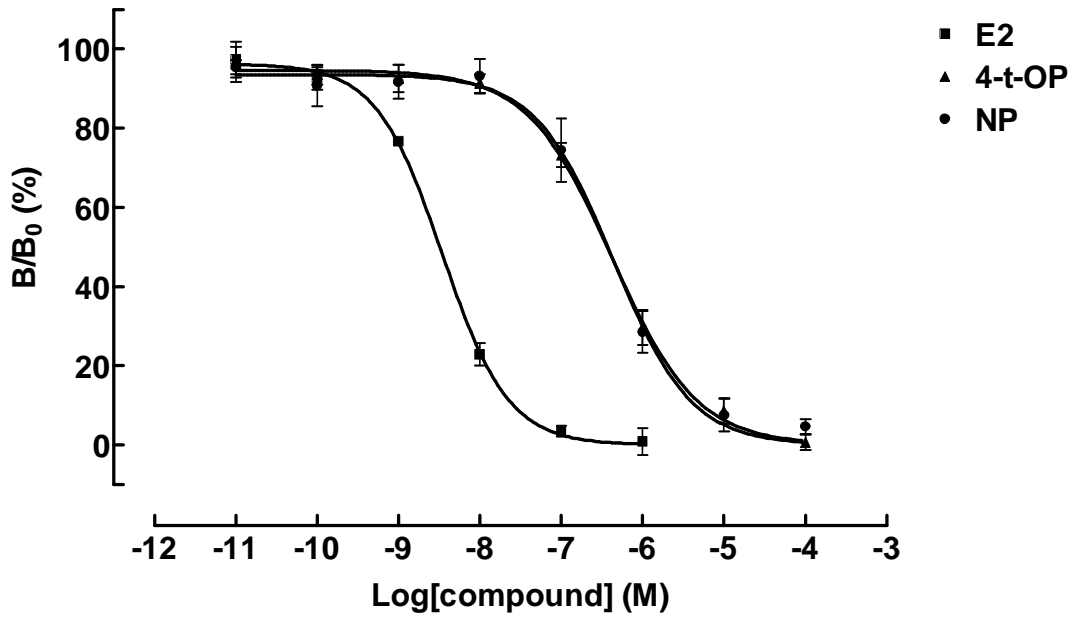


ER 結合曲線

OP、NP の ERs 結合曲線



ER 結合曲線



ER 結合曲線

OP、NP の ERs レポーター応答曲線

