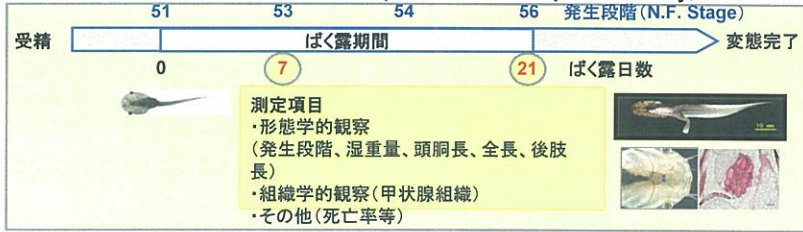


## 両生類を用いた試験法の概要 (1)

### 変態アッセイ(Amphibian Metamorphosis Assay)



試験動物	アフリカツメガエル ( <i>Xenopus laevis</i> )
ばく露期間	発生段階51から21日間
被験物質及び濃度	対照区及び被験物質 4濃度 (各4連) Thyroxine (T <sub>4</sub> ): 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 µg/L Iopanoic acid (IOP): 0.75, 1.5, 3.0, 6.0 mg/L Percholate (PER): 65, 125, 250, 500 µg/L Benzophenone-2 (BP-2): 0.75, 1.5, 3.5, 6.0 mg/L
使用個体数	20匹/4L/tank (但し7日目で5匹を測定のためサンプリング)

## 両生類を用いた試験法の概要 (2)

### 両生類パーシャルライフサイクルテスト



測定項目(各水槽6匹をサンプリング)  
 ・湿重量、全長、後肢長  
 ・ピテロジェニン濃度  
 ・雌雄判定(遺伝的及び組織的)  
 ・生殖腺組織観察  
 ・変態までの日数

測定項目  
 ・湿重量、全長、後肢長、肝重量  
 ・ピテロジェニン濃度  
 ・雌雄判定(遺伝的及び組織的)  
 ・生殖腺組織観察  
 ・二次性徴(前肢拇指・精子数)

試験動物	ニシツメガエル <i>Xenopus (Silurana) tropicalis</i> (USより供与)
被験物質	エチニルエストラジオール 3濃度 (各5連)
ばく露期間	約42 週間 (受精後48時間から成熟まで)
使用個体数	25-30 匹/7L/tank (変態完了まで) 8 匹/7L/tank (変態後から試験終了まで)

### Ⅲ. 無脊椎動物の試験

#### 1. これまでの取組

平成 16 年 4 月に OECD へ提案した Enhanced TG 211\*は、5 月の OECD WNT 会合において、オオミジンコ (*Daphnia magna*) を用いた無脊椎動物における内分泌かく乱作用に関する試験法提案として正式に認められた。12 月の第 3 回 VMG-eco において、OECD 加盟 6 カ国からオオミジンコのさまざまな遺伝系統を手に入れて、予備的試験を実施することが承認され、国立環境研究所において実施した。

平成 17 年 11 月の OECD 第 2 回無脊椎専門家会合において予備的試験の結果を報告し、試験物質の選定、使用系統の選択等、バリデーション・リングテストの実施条件が検討され、12 月に国立環境研究所がリングテストのリード・ラボラトリーとして選定された。

平成 18 年度には 6 カ国 12 研究機関の参加のもと、リングテストを実施した。

平成 19 年 1 月の OECD 第 5 回 VMG-eco 及び 6 月の OECD 第 3 回無脊椎専門家会合に於いてリングテストの結果報告を行った。

平成 20 年 1 月の OECD 第 6 回 VMG-eco にリングテスト報告書案 (Draft Validation Report) を Draft Enhanced TG211 とともに、提出した。会議の結果、TG211 の改訂を行うのではなく、Annex として仔虫性比を付け加えることによって、必要に応じて使えるようにするという位置付けとなった。4 月の第 20 回 WNT では、リングテスト報告書案は提案通り承認された。また Draft Enhanced TG211 に関しては、仔虫の雌雄判別を従来の TG に Annex の形で付け加えることとなっていたため、大幅な改訂の必要がないことが合意され、10 月に改訂版 TG 211 として発行された (添付資料 5)。

平成 21 年 6 月の OECD 第 4 回無脊椎動物専門家会合では、TG 211 を用いた化学物質暴露で試験個体が死んだ場合、その死亡データを統計にどう反映させるかについて、ガイドラインに記載するようにとのあらたな提案について議論を行った。これはすでに 4 月の WNT 会議において北欧の国々 (ノルウェー、デンマーク、スウェーデン、フィンランド) から正式に提案されていたもので、これについて無脊椎動物グループの会議で議論するように要請があった。

日本からは、国内のデータ 277 試験のうち対象となる 53 試験についての再計算を行い、その結果を示した。試験個体が試験中に死亡した場合、それらの個体を解析から除外しても含めても、37 試験では結果に違いはみられなかった。一方、残り 16 試験のうち、14 試験で NOEC が安全域にシフトし、2 試験では反対に NOEC が高くなった。これらの結果より、北欧の国々の懸念はほとんどないことが示された。会議では TG 211 改訂の歴史的な経緯をふまえ、現行のままでよいとの意見が大勢を占めた。

- \* 従来ミジンコでの毒性試験として使用されてきたテストガイドライン 211 に、オスの出現（仔虫の性比の変化）、脱皮回数の変化という新たなエンドポイントを追加することを改訂テストガイドライン（Enhanced TG 211）として提案している（添付資料 6）。

## 2. 平成 21 年度検討及び実施事項

### (1) TG211 改訂後の OECD における無脊椎動物試験法開発及び改訂に関する情報収集

平成 21 年 6 月の第 4 回無脊椎動物専門家会合に出席し、北欧 4 カ国から提案のあった仔虫数のデータ解析方法に関する改定案に対して、日本が行った国内試験データを用いた試算結果を示した。また他の無脊椎動物を用いた試験法開発に関する情報収集を行った。

### (2) OECD 及び EPA（米国環境保護庁）との研究協力におけるミジンコ多世代試験の検討及び実施

前年度に引き続き、日本はミジンコを用いた多世代試験法の検討の一環として、殺虫剤フィプロニルと除草剤アトラジンについて、オオミジンコ 21 日間繁殖試験と短期親曝露試験を行った。結果については、平成 20 年 12 月に東京で開かれた日米二国間協力実務者会議において報告された。

そのほか会議では、すでに試験が終了している物質（ミジンコについては一世代試験）についてのリストを更新し、今後試験を行いたい物質の優先順位を決めた。試験物質は、ミジンコとアミ、コペポッドとの間での結果の比較が行えるように共通の物質をなるべく選ぶようにしている。

日本は、すでに一世代試験として繁殖データが得られているフィプロニルとアトラジンについては、次の段階として F0 世代での曝露と組み合わせて F1 世代での繁殖への影響を見る予定で、さらにその先の F2 世代までつなげていくことを目指したい。ただし、多世代化に付随する問題点として、次世代の試験個体を得る際に生物の順化だけでなく、試験個体の選定時に元気な個体を選ぶなどの形でバイアスがかかってしまうということが挙げられる。この問題をどう捉え、解決するかが一つの課題である。そしてあらたにリンデンについても短期親曝露試験と 21 日間繁殖試験を行う予定である。

さらに、日米二国間協力実務者会議へ出席し、別途環境省が発注する化学物質の内分泌かく乱作用に関する日米二国間協力業務において報告する無脊椎動物に係る試験法開発進捗状況の説明を行い、試験法に関する提案を行う。

### (3) ミジンコの性比に影響を及ぼす化学物質の情報収集及びスクリーニング試験 OECD に提案した Enhanced TG211 試験は、試験法承認のための、バリデー