



The U.S. EPA's Endocrine Disruptor Screening Program (EDSP)

Leslie W. Touart

Office of Science Coordination and Policy
Office of Chemical Safety and Pollution Prevention

3 December 2011



EPA's Statutory Authority

Food Quality Protection Act (FQPA) August 3, 1996
Amended the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (FFDCA)

Requires EPA to develop a screening program (EDSP)

*“develop a screening program, using appropriate **validated** test systems and other scientifically relevant information, to determine whether certain substances may have an effect in humans that is similar to an effect produced by a naturally occurring estrogen, or other such endocrine effect as the Administrator may designate.”*



米国環境保護庁(EPA)における 内分泌かく乱化学物質 スクリーニング計画(EDSP)

Leslie W. Touart

Office of Science Coordination and Policy
Office of Chemical Safety and Pollution Prevention

3 December 2011



EPAの取組みの法的根拠

食品品質保護法(FQPA) 1996年8月3日
連邦食品・医薬品・化粧品法(FFDCA)改正

EPAにスクリーニング計画(EDSP)の開発を求める

*「**検証された適切な試験系**及び科学的に妥当な情報を用いて、天然エストロゲンが引き起こすような影響あるいはEPA長官が定義する内分泌影響を、ある物質がヒトに及ぼすか否かを判定するためのスクリーニング計画を開発するものとする」*





EPA's Statutory Authority



Amendments to the Safe Drinking Water Act (SDWA)

"the Administrator may provide for testing under the screening program ... any other substance that may be found in sources of drinking water if the Administrator determines that a substantial population may be exposed to such substance."



Endocrine Disruptor Screening Program



Established following recommendations of:

The Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee (EDSTAC) of 1996-1998

Findings:

- Include androgen and thyroid hormone systems, in addition to estrogen.
- Include fish and other wildlife, in addition to human health.
- Include commercial chemicals, and other environmental contaminants, in addition to pesticides,



EPAの取組みの法的根拠



飲料水安全法 (SDWA) の改正

「EPA長官はスクリーニング計画の一環として試験を提供するものとする。...相当数の集団がばく露されるおそれがあるとEPA長官が判断した場合、飲料水源に見出されたその他あらゆる物質について、」



内分泌かく乱化学物質スクリーニング計画



内分泌かく乱化学物質 スクリーニング及び試験法に関する 諮問委員会 (EDSTAC) 1996-1998

による勧告

知見には以下を含める:

- ・エストロゲンの他、アンドロゲン、甲状腺ホルモン
- ・ヒト健康の他、魚類等の野生生物
- ・農薬の他、市販化成品やその他の環境汚染物質



Endocrine Disruptor Screening Program



Uses a Tiered Approach

Tier 1

In vitro and *in vivo* screens to detect the potential to interact with endocrine system

Tier 2

After review of Tier 1 data to provide information for hazard assessment

Validated EDSP Tier 1 Screening Battery

<i>In vitro</i>
Estrogen receptor (ER) binding – rat uterus
Estrogen receptor α (hER α) transcriptional activation - Human cell line (HeLa-9903) [OECD Test Guideline 455]
Androgen receptor (AR) binding – rat prostate
Steroidogenesis – Human cell line (H295R) [US lead, validated in OECD program]
Aromatase – Human recombinant
<i>In vivo</i>
Uterotrophic (rat) [OECD TG 440]
Hershberger (rat) [OECD TG 441]
Pubertal female (rat)
Pubertal male (rat)
Amphibian metamorphosis (frog) [OECD TG 231]
Fish short-term reproduction [OECD TG 229]



内分泌かく乱化学物質スクリーニング計画



段階的アプローチ (Tiered Approach) を使用

Tier 1

試験管内試験 (*in vitro*) 及び 動物試験 (*in vivo*) によるスクリーニングによって、内分泌系と相互作用する潜在的可能性 (potential) の検出

Tier 2

Tier 1 データのレビュー後、有害性評価に資する情報提供のために実施

検証化済みのEDSP Tier 1 スクリーニング試験群

試験管内試験 (<i>In vitro</i>)
エストロゲン受容体 (ER) 結合 – ラット子宮
エストロゲン受容体 α (ヒトER α) 転写活性化 – ヒト細胞系 (HeLa-9903) [OECD TG 455]
アンドロゲン受容体 (AR) 結合 – ラット前立腺
ステロイド産生 – ヒト細胞系 (H295R) [米国をリードカントリーとし、OECDプログラムで検証]
アロマターゼ – ヒト組み換え体 (?)
動物試験 (<i>In vivo</i>)
子宮肥大 (ラット) [OECD TG 440]
ハーシュバーガー (ラット) [OECD TG 441]
思春期雌 (ラット)
思春期雄 (ラット)
両生類変態 (カエル) [OECD TG 231]
魚類短期繁殖 [OECD TG 229]



Initial List (EDSP List 1)



67 Chemicals Selected for Initial Screening

58 Pesticide Active Ingredients

9 High Production Volume (HPV) Chemicals that were also Pesticide Inerts

FR Notice April 15, 2009



Initial List (EDSP List 1)



Not a list of “known” or “likely” endocrine disruptors

Based on potential human exposure

Pesticide Active Ingredients with food, water, residential, occupational exposure, or exposure through multiple routes

HPV Pesticide Inerts

Human and eco biomonitoring

Water and air monitoring



初期リスト(EDSP List 1)



初期スクリーニングにおいて選定された67物質

農薬活性成分58物質

高生産量(HPV)かつ農薬不活性成分である9物質

2009年4月15日 連邦官報(FR Notice)



初期リスト(EDSP List 1)



「既知の」または「予想される」内分泌かく乱化学物質のリストではない

潜在的ヒトばく露に基づく

農薬活性成分

食品、飲料水、居住、職業及びその複数
を介したばく露経路をもつ

高生産量(HPV)な農薬不活性成分

ヒト及び生態バイオモニタリング

水質及び大気モニタリング



Procedures



The Test Order provides the option of submitting or citing existing data along with a rationale as to how the data satisfies the order

Existing data may include:

Data that has already been generated using the assay(s) specified in the Order or other scientifically relevant information (OSRI) – typically from the publicly available scientific literature or previously submitted Part 158 data.

17



Procedures



Existing data may be functionally equivalent to information that would have been obtained from the Tier 1 assays ...or data that provide information on a potential effect due to disruption of the estrogen, androgen, or thyroid systems

Any member of the public can submit scientifically relevant information, in addition to the Tier 1 Test Order Recipient

18



進め方



試験命令では、試験を実施してデータを提出するか、あるいは合理的説明のもと既存データを引用するか
の選択肢がある

既存データとして、以下が含まれ得る:

- ・本命令が定める試験法を用いて既に得られているデータ。
- ・他の科学的関連情報(OSRI) – 典型的には、公開されている科学文献又は既に提出済のPart 158 データ

19



進め方



既存データは、Tier 1 試験から得られた情報あるいは、エストロゲン、アンドロゲン、甲状腺系のかく乱による潜在的影響に関する情報を提供するデータと同等の効力をもつ

Tier 1 試験命令を受けた者に加え、一般市民の誰もが科学的な情報の提出を行うことができる

20



Procedure Goals



- Minimize duplicative testing
- Promote fair and equitable cost sharing
- Protect data from inappropriate public disclosure
- Minimize burden to extent practical
build on existing procedures and infrastructures internally (EPA) and externally (affected entities)



EDSP Tier 1 Test Orders for List 1 Chemicals



Approximately 750 Test Orders issued to:

- Registrants of the 58 pesticide active ingredients
- Manufacturers and importers of the 9 inert ingredients



進め方における目標



- 試験の重複を極力避ける
- 公正かつ平等なコスト負担を図る
- 不適切な公開からデータを保護する
- 可能な限り負担を低減する
- 組織内(EPA)においても組織外(関連機関)においても既存の進め方及び設備に立脚する



EDSP List 1 化学物質に対する Tier 1 試験命令



約750の試験命令の対象者は以下の通り

- 農薬活性成分58物質の登録者
- 不活性成分9 物質の製造業者及び輸入業者



EDSP Tier 1 Test Orders for List 1 Chemicals



Status of 58 Pesticide Actives:

- 45 pesticides - received other scientifically relevant information accepted for some assays for 25/45 pesticides
- 5 pesticides - generating all of the data
- 7 pesticides - canceled or cancelling registration
- 1 pesticide – pending (resmethrin)

Status of 9 Inerts:

- 7 inerts "opted out" of the pesticide market
- 2 inerts are generating all of the data (acetone, isophorone)

other activities:

- Rebuttals: 11 submitted total - approved 6.
- Time extensions: 47 requested - approved 38 (review time)
- "catch-up" Orders - 4 issued



EDSP Tier 1 Test Orders for List 1 Chemicals



EPA publically posts and updates order status

http://www.epa.gov/scipoly/oscpendo/pubs/edsp_orders_status.pdf



EDSP List 1 化学物質に対する Tier 1 試験指令



農薬活性成分58 物質の進捗内訳:

- 45農薬 –その他科学的関連情報の提出あり
25件については何らかの試験実施が決定(?)
- 5 農薬 – 全試験データ取得中
- 7 農薬 – 失効または再登録せず
- 1農薬 – 未定(レスメトリン)

不活性成分 9物質の進捗内訳:

- 7物質は農薬市場から撤退
- 2物質(アセトン、イソホロン)については
全試験データを取得中

その他の不活性成分:

- 反論: 11 件提出、6件承認
- 期間延期(審査期間): 47件要請、38件承認
- 「後追い」命令: 4件



EDSP List 1 化学物質に対する Tier 1 試験命令



EPA は、命令の進捗状況を公表及び更新中

http://www.epa.gov/scipoly/oscpendo/pubs/edsp_orders_status.pdf



Review of Tier 1 Data for List 1



500 studies (Oct 11, 2011 - Feb 12, 2012)

EPA tools to facilitate review:

- Standard Evaluation Procedures
- Data Evaluation Record templates
- Dedicated Database
- Weight-of-Evidence Guidance (WoE)



EDSP List 2 Chemicals



134 Chemicals proposed

SDWA Priority Chemicals

Chemicals regulated with a national primary drinking water regulation (NPDWR) (aka Six Year Review List)

Contaminants listed on Third Contaminant Candidate List (CCL 3)



List 1 化学物質の Tier 1 データ審査



試験研究数500

(2011年10月11日から2012年2月12日まで)

EPA審査を円滑に実施するための仕組み

- 標準評価手順
- データ評価記録書式
- 提供データベース
- 科学的根拠重み付けガイダンス



EDSP List 2 化学物質



134化学物質を提案

飲料水安全法(SDWA)優先化学物質

第一次飲料水規則(NPDWR)規制対象物質 (Six Year Review Listとして知られている)

第三次汚染候補物質リスト(CCL 3)に記載された汚染物質



EDSP List 2 Chemicals



Additional Pesticide Active Ingredients
Pesticides that entered into Registration
Review during FY07 & FY08

Some substances were excluded from list:
naturally occurring elemental inorganics

33

EDSP Tier 2 Tests Validation Completion FY13

Tier 2 Tests
Mammalian two-generation rat (may be replaced by Extended F1-Generation OECD TG 443)
Avian reproduction (Japanese quail) [US lead, OECD validation program]
Amphibian growth/reproduction (Xenopus) [US lead, OECD validation program]
Fish life-cycle (medaka) [US-Japan co-lead, OECD validation program]
Mysid life-cycle [US lead, OECD validation program]



EDSP List 2 化学物質



追加された農薬活性成分
2007及び2008会計年度に再登録審査対象とな
った農薬

自然界に起因する無機成分等、リストから除外さ
れた物質もあり

35

EDSP Tier 2 試験 2013会計年度に検証終了

Tier 2 試験
哺乳類二世代ラット (拡張 F1-世代 OECD TG 443に変更予定)
鳥類繁殖 (日本ウズラ) [リードカントリー米国、OECD 検証プログラム]
両生類成長・繁殖 (アフリカツメガエル) [リードカントリー米国、OECD 検証プログラム]
魚類ライフサイクル (メダカ) [リードカントリー米国・日本、OECD 検証プログラム]
アミ類ライフサイクル [リードカントリー米国、OECD 検証プログラム]



EDSP Tier 2 Mammalian Testing



- Two-generation rat reproduction test -- OECD TG 416 / OCSPP 870.3800 (with additional endpoints)
 - includes gonadal function, the estrous cycle, mating behavior, conception, gestation, parturition, lactation, and weaning, and on the growth and development of the offspring
- Extended F1-Generation -- OECD TG 443



37



Multigeneration fish Tier 2 assays

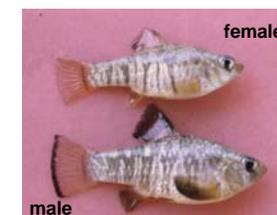


- Test development with freshwater (Medaka) and estuarine (sheepshead minnow) species
- Standard test species, short life cycle
- Short-term and life cycle tests developed
- Survival, growth
- Reproduction (fecundity, fertility, hatch, behavior)
- Pathology, hormones, genomics

Medaka



Sheepshead minnow



38



EDSP Tier 2 哺乳類試験



- 二世代ラット繁殖試験 -- OECD TG 416 / OCSPP 870.3800 (エンドポイントの追加あり)
 - 性腺機能、発情周期、交尾行動、受胎、妊娠、出産、哺乳、離乳、仔動物の生長・発達など
- 拡張F1-世代 -- OECD TG 443



39



魚類多世代 Tier 2 試験



- 淡水種(メダカ)及び汽水種(シープヘッドミノー)を用いた試験法開発
- 標準的試験魚、短いライフサイクル
- 短期間ライフサイクル試験の開発
- 生存、成長
- 生殖(産卵、受精、孵化、行動)
- 病理学、ホルモン、ゲノミクス

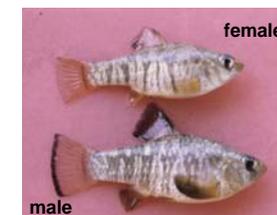
メダカ



雌

雄

シープヘッドミノー



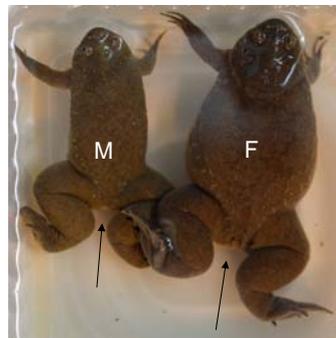
40



Larval Amphibian Growth and Development Assay



- *Xenopus laevis*
- Detect life cycle effects on amphibians
- Major endpoints:
 - genotype, histology
 - growth, metamorphosis
 - hormones, VTG



41



Invertebrate life-cycle/two generation Tier 2 assay



- Assess chemicals disrupting hormonal activity in invertebrates
- Major endpoints (Fo, F1):
 - survival, growth
 - reproduction (#young)
 - maturation time, brood release
 - sex ratio
 - λ
- Testosterone – mys



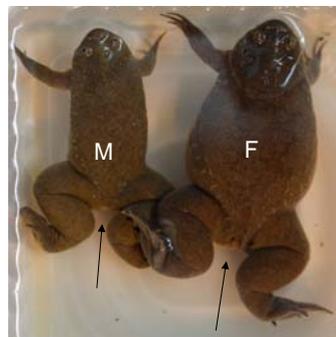
42



両生類幼生 成長・発達試験



- アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*)
- 両生類のライフサイクルに及ぼす影響の検出
- 主なエンドポイント:
 - 遺伝型、組織学的検査
 - 成長、変態
 - ホルモン、ビテロゲン (VTG)



43



無脊椎動物ライフサイクル・二世世代 Tier 2 試験



- 無脊椎動物における化学物質によるホルモンかく乱作用を評価
- 主なエンドポイント (F0 及び F1):
 - 生存、成長
 - 繁殖 (仔動物数)
 - 成熟までの期間、仔動物の放出
 - 性比
 - 個体数増加率 λ
- 試験生物種の選択 – アミ又はカイアシ類



44



Avian two generation Tier 2 test

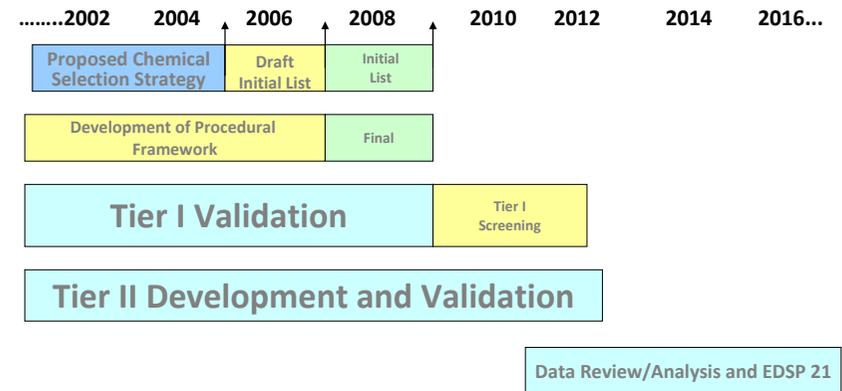


- Detect chemical disruption of hormonally controlled sexual differentiation in birds
- Oviparity in birds affects retention and transfer of chemicals
- Test designed to determine long-term effects of maternal transfer and *in ovo* exposure
- Japanese quail



45

EDSP Timeline



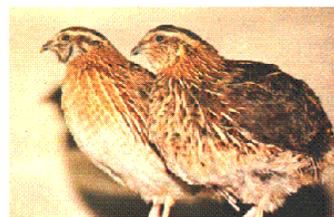
46



鳥類二世代 Tier 2 試験

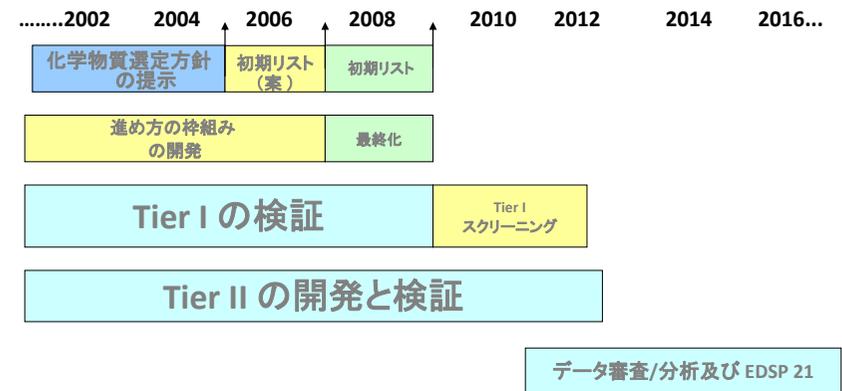


- 鳥類においてホルモン制御下にある性分化において化学的なかく乱を検出する
- 鳥類の産卵は化学物質の残留と移行によって影響される
- 母動物からの移行及び卵内 (*in ovo*) ばく露による長期影響の判定を目的とした試験設計
- ニホンウズラ



47

EDSP の工程表



48



EDSP Future



Use of new High Throughput Screening Tools

EPA is working to develop and refine high throughput screening (HTS) tools to:

Support prioritization of testing

Build confidence in HTS tools to increase efficiency through prioritization for Tier 1 Screening.

Near term goal

Prioritized list of chemicals for screening through EDSP Tier 1 Assay Battery

Longer term goal

Enhance or replace current Tier 1 assays.

49



Objective

- Maximize use of existing data.
- Targeted *in vivo* toxicity testing.
- Use a variety of tools in a tiered testing and assessment framework.
- Systematically add new tools, methodologies.
- Advance understanding of key events in toxicity pathways.

50



EDSP 今後の課題



新たなハイスループット・スクリーニングツールの使用

EPA は以下の目的でハイスループット・スクリーニング (HTS) ツールの開発・改良を実施中:

試験の優先順位付けを支援する

Tier 1 スクリーニング優先順位付けによる効率向上のためにツールの信頼性を高める

短期目標

EDSP Tier 1 試験群でのスクリーニングに向けた優先化学物質リスト

長期目標

現行 Tier 1 試験の拡張又は入れ替え

51

目的

- 既存データを最大限に利用する
- *in vivo* 毒性試験を対象とする
- 段階的な試験及び評価の枠組みの種々のツールを利用する
- 新たなツール、方法論を体系的に追加する
- 毒性発現経路における主要な事象について知見を深める

52



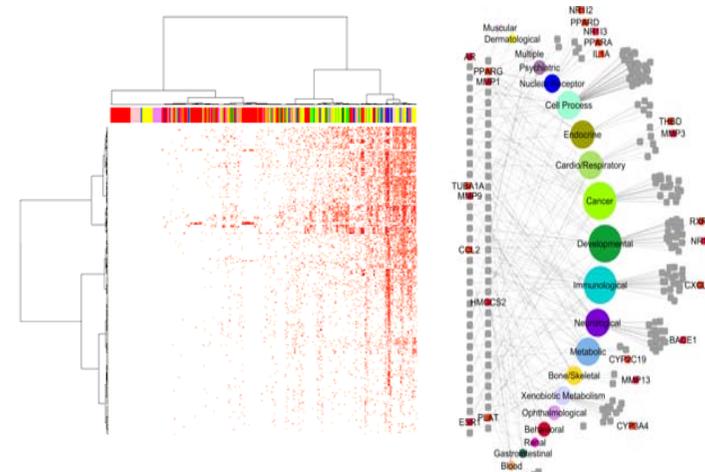
Challenges

- Large number of chemicals with many possible adverse outcomes.
- Finite resources and time.
- Public expectations for scientific soundness, transparency, and timeliness.
- Science increasingly complex and changing.
 - New risk assessment and management challenges always arise.

53



Associating Bioactivity in vitro with Pathways and Diseases



54



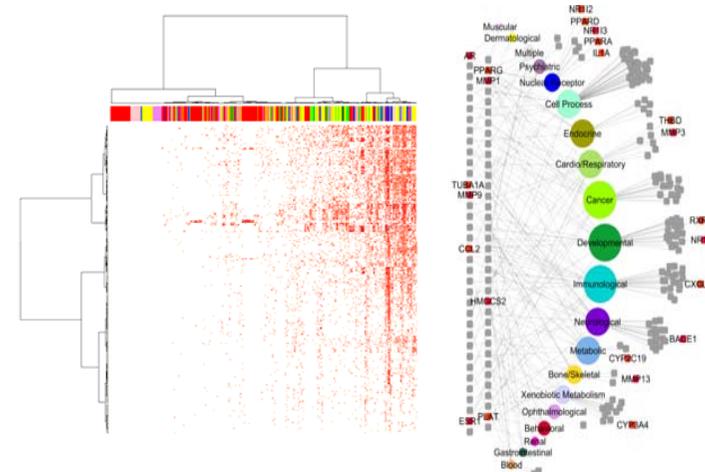
課題

- 多くの有害影響を及ぼし得る化学物質数の膨大さ
- 資金、時間的な限界
- 科学的な健全性、透明性、適時性に対する一般的期待
- 複雑化し変化し続ける科学
 - 新たなリスク評価・管理上の課題が常に発生している

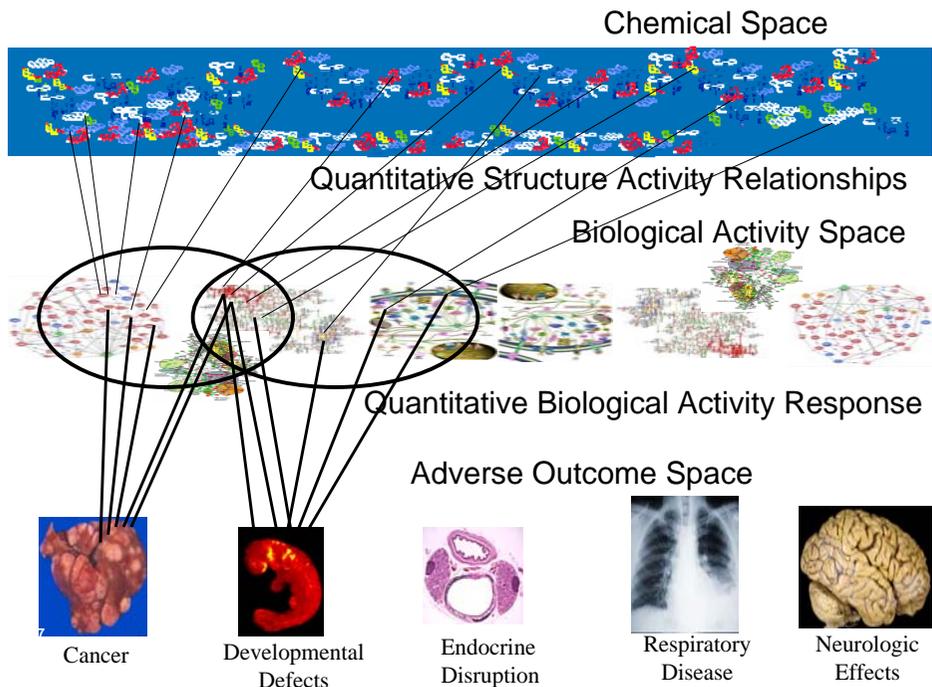
55



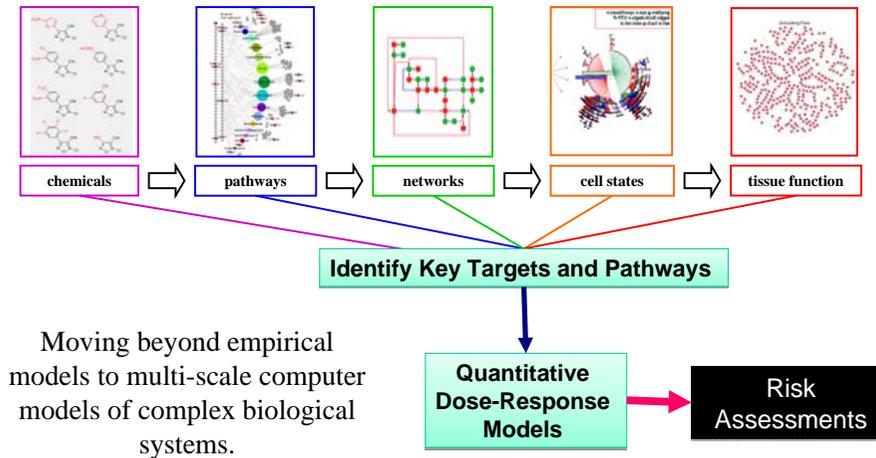
in vitro 生物活性を 発現経路と疾病とに関連付ける



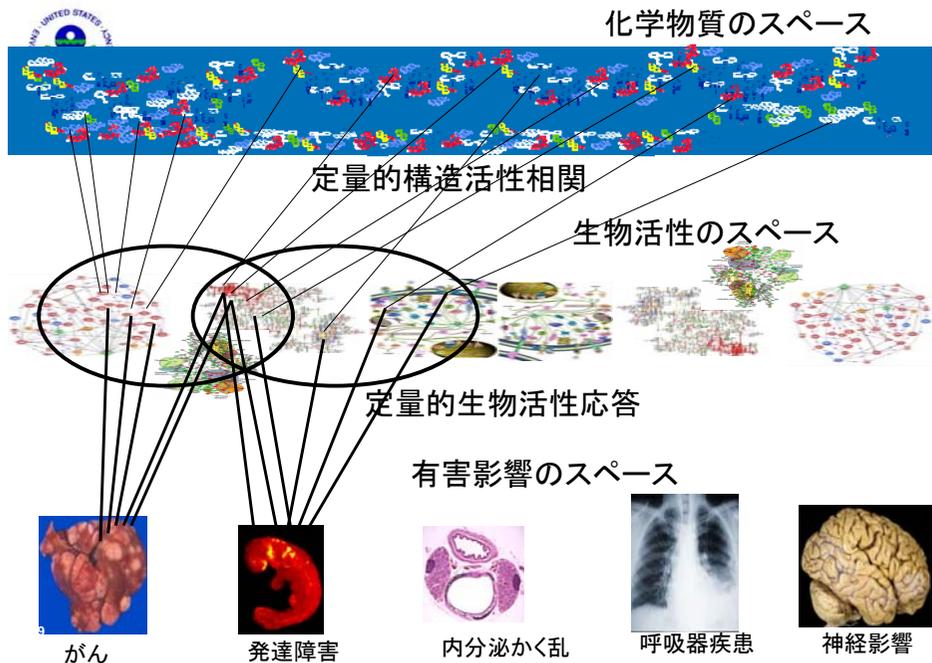
56



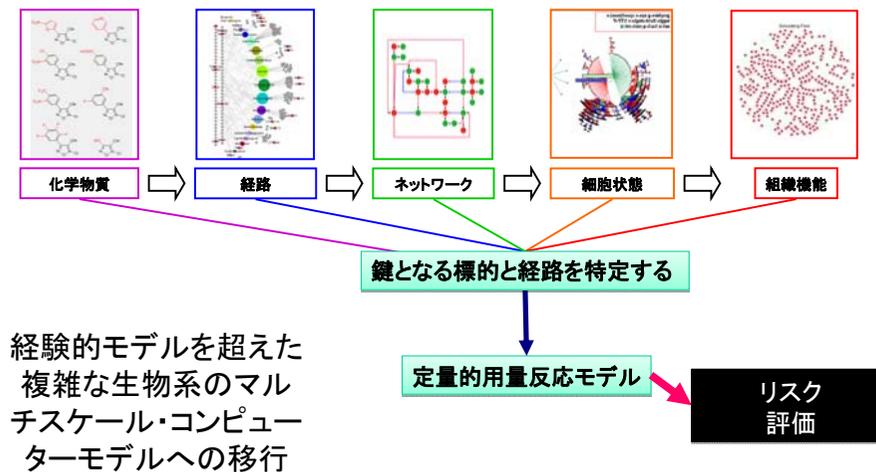
Modeling Toxicity: Pathways to Virtual Tissues



58



毒性のモデル化: 仮想組織への経路



60



Use of *In Silico* Computational Models and *In Vitro* High Throughput Assays in the Endocrine Disruptor Screening Program (EDSP):

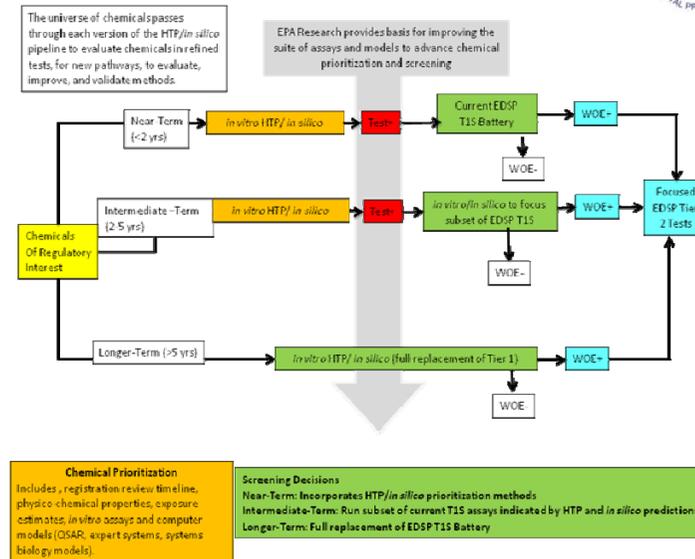
Prioritization and Screening

EDSP21 Work Plan

Executive Summary and Tasks
Part of Comprehensive Management Plan for EDSP
In Response to OIG Recommendations.



Evolution of EDSP Tier 1



内分泌かく乱化学物質スクリーニング計画 (EDSP) における *In Silico* コンピュータモデル及び *In Vitro* ハイスループット試験の利用:

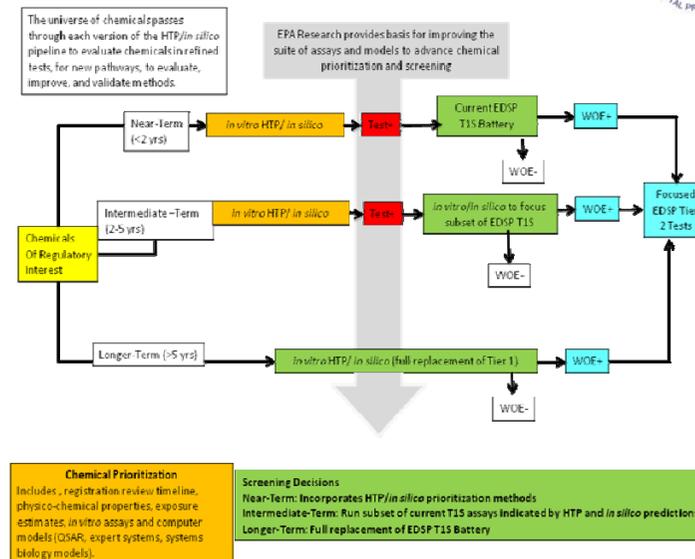
優先順位付とスクリーニング

EDSP21 ワークプラン

Executive Summary and Tasks
Part of Comprehensive Management Plan for EDSP
In Response to OIG Recommendations.



EDSP Tier 1 の進化





EDSP21 Goals



Short-term goal: Use computational or *in silico* models and molecular-based *in vitro* high-throughput (HTP) screening assays to prioritize chemicals for EDSP Tier 1 screening.

Intermediate-term goal: Incorporate computational or *in silico* models and molecular-based *in vitro* high-throughput (HTP) screening assays into EDSP Tier 1 screening.

Long term goal: Use information derived from *in vitro*, *in silico* and *in vivo* data to fully replace for the current EDSP T1S Battery such that animal-based testing is eliminated.

65



Additional Information



- General
 - www.epa.gov/endo
- Policy and Procedures
 - www.regulations.gov docket # EPA-HQ-OPPT-2007-1080
- Final list of Chemicals for Initial Screening
 - www.regulations.gov docket # EPA-HQ-OPPT-2004-0109
- Protocols
 - www.epa.gov/ocspp select "Test Methods & Guidelines"

66



EDSP21 の目標



短期目標: EDSP Tier 1 スクリーニングにおける化学物質の優先順位付のために、コンピュータを用いた *in silico* モデル及び分子生物学に基づいた *in vitro* ハイスループット (HTP) スクリーニング試験を利用する。

中期目標: コンピュータを用いた *in silico* モデル及び分子生物学に基づいた *in vitro* ハイスループット (HTP) スクリーニング試験を、EDSP Tier 1 スクリーニングに取り入れる。

長期目標: 現行の EDSP T1S 試験群を動物試験に依存しないものに完全に置き替えるために、*in vitro*、*in silico* 及び *in vivo* データから得られる情報を利用する。

67



更なる情報については



- 全般
 - www.epa.gov/endo
- 政策及び進め方
 - www.regulations.gov docket # EPA-HQ-OPPT-2007-1080
- 初期スクリーニング化学物質の最終リスト
 - www.regulations.gov docket # EPA-HQ-OPPT-2004-0109
- プロトコール
 - www.epa.gov/ocspp select "Test Methods & Guidelines"

68