

## フランスの取り組み



フランス食品環境労働衛生安全庁(ANSES)

化学物質の  
リスク評価全てを  
ANSESで行う

### French National Projects on endocrine disruptors

Anses: Agence nationale de sécurité sanitaire de  
l'alimentation, de l'environnement et du travail

French Agency for food, environmental and  
occupational health

### BPA のリスク評価

フランスは、新しく、省庁を超えたANSES(フランス食品環境労働衛生安全庁)を作りまして、全ての化学物質のリスク評価はここに一本化しています。化学物質のリスク評価はここで一手に行います。ANSESには若い役人が集まっています。最初はビスフェノールAのリスク評価を行うと言っていました、今年は訪問していないので、進捗についてはわかりません。



## 5. 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)

ここからは、アメリカ環境保護庁の内分泌かく乱物質に対する取り組みです。



## EPAの取組みの法的根拠



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

Amendments to the Safe Drinking Water Act (SDWA)  
飲料水安全法 (SDWA) の改正

*“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.”*

前にもお話ししましたが、アメリカでは、食品品質保護法や、特に、飲料水安全法の改正をもとに、飲料水に入る化学物質に絡めて、内分泌かく乱物質に対応しています。



## 内分泌かく乱物質スクリーニング計画



### 段階的アプローチを使用

#### 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




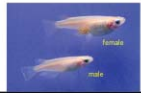

内分泌かく乱物質は、2段階にわけ、第1段階では簡単な動物試験や試験管内試験を用いて内分泌系に関わる物質をスクリーニングします。第2段階では、確定試験法を用いて、物質の有害性を評価することになっています。

## 検証済みのEDSP Tier 1 スクリーニング試験群

<i>In vitro</i>	
Estrogen receptor (ER) binding – rat uterus	エストロゲン受容体結合
Estrogen receptor $\alpha$ (hER $\alpha$ ) transcriptional activation - Human cell line (HeLa-9903) [OECD Test Guideline 455]	エストロゲン受容体転写活性化
Androgen receptor (AR) binding – rat prostate	アンドロゲン受容体結合
Steroidogenesis – Human cell line (H295R) [US lead, validated in OECD program]	ステロイドホルモン合成経路
Aromatase – Human recombinant	アロマターゼ
<i>In vivo</i>	
Uterotrophic (rat) [OECD TG 440]	子宮重量
Hershberger (rat) [OECD TG 441]	前立腺重量
Pubertal female (rat)	思春期雌
Pubertal male (rat)	思春期雄
Amphibian metamorphosis (frog) [OECD TG 231]	両生類変態
Fish short-term reproduction [OECD TG 229]	魚類短期繁殖

第1段階試験で用いる各種のスクリーニングのまとめです。ホルモン受容体の結合試験や転写活性化試験、ラットを用いた子宮重量試験、前立腺重量試験、オタマジャクシを用いた変態試験、魚の短期繁殖試験などがあります。

## EDSP Tier 2 Tests Validation Completion FY13

Tier 2 Tests	
<b>Mammalian two-generation rat 哺乳動物二世代試験 (ラット)</b> (may be replaced by Extended F1-Generation OECD TG 443)	
<b>Avian reproduction 鳥類生殖試験 (ニホンウズラ)</b> (Japanese quail) [US lead, OECD validation program]	
<b>Amphibian growth/reproduction 両生類成長生殖試験 (アフリカツメガエル)</b> (Xenopus) [US lead, OECD validation program]	
<b>Fish life-cycle 魚類ライフサイクル試験 (メダカ)</b> (medaka) [US-Japan co-lead, OECD validation program]	
<b>Mysid life-cycle 無脊椎動物ライフサイクル試験 (アミ)</b> [US lead, OECD validation program]	

この表には、第2段階試験、すなわち、色々な動物の確定試験に用いる予定の試験のまとめです。メダカとアフリカツメガエルの試験は日本と共同(日米二国間協力)で開発しています。



## 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)

「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

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

初期リストには、67物質(農薬成分58物質、助剤9物質)を選定しています。



## 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) – 公開されている科学文献又は既に提出済のPart158 データ

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

試験の進め方です。お手元のプリントアウトを読んでください。





## EDSP List 1 化学物質に対する Tier 1 試験命令・指令



**約750の試験命令の対象者： 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**

**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 – 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-農薬市場から撤退
- 2物質(アセトン、イソホロン) – 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

67物質については、製造業者や輸入業者が、引き続き製造・輸入を行う場合には、試験結果を環境保護庁に提出しなければなりません。58物質の農薬中7物質は再登録しない。また、助剤の7物質も撤退することになり、試験結果の提出はありません。



## 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  
第一次飲料水規制（NPDWR）規制対象物  
（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

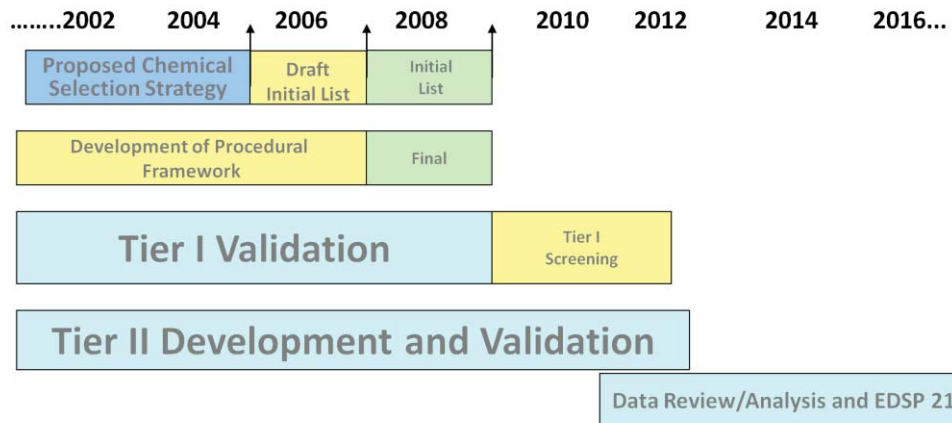
### 追加された農薬活性成分

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

List2として134物質が提案されています。

## EDSP Timelineと今後



ハイスループット スクリーニング系の導入

物質評価のタイムラインです。2013年までには試験を終了することになっていますが、確定試験が完成していないので、間に合いそうにありません。



## 21世紀のEDSPに向けて

### 戦略的な方向性

新しいメカニズムに基づいたコンピューターを利用した毒性ツールの開発と使用、構造活性相関、ハイスループット(大量処理)をスクリーニングに使う

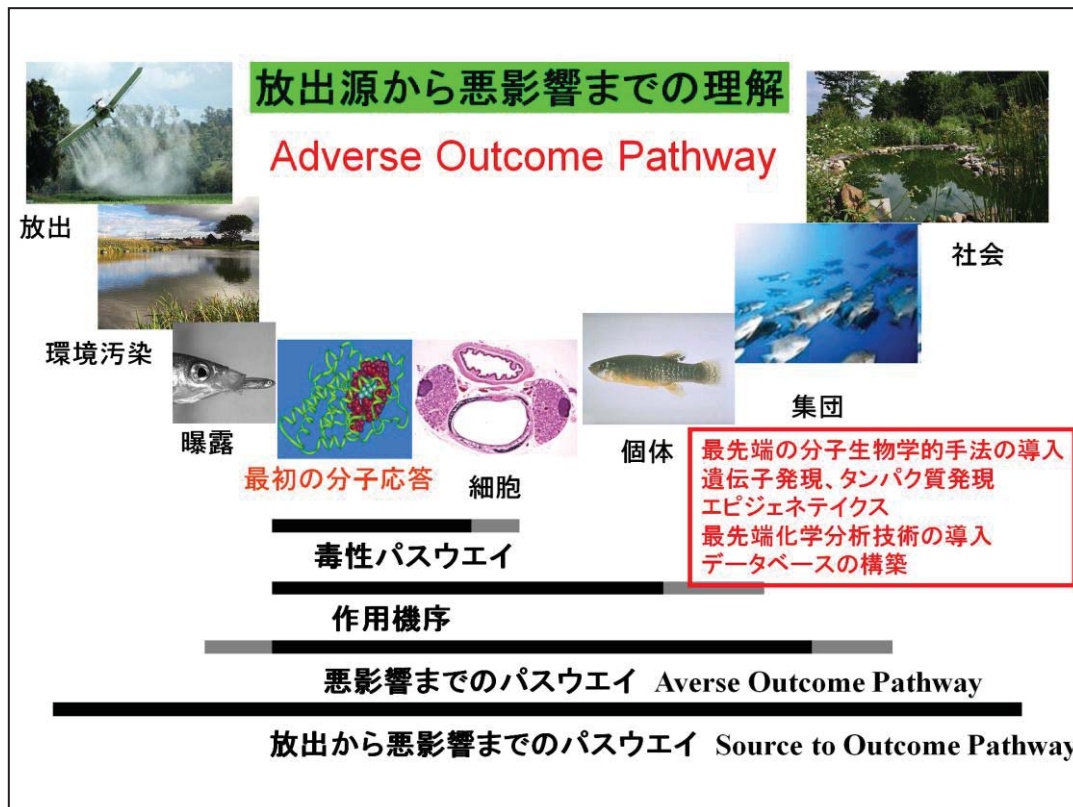
### EDSP in 21<sup>st</sup> Century

#### Hypothesis Driven, Targeted Testing Strategy



既存のデータを最大限利用  
標的化した*in vitro* 毒性スクリーニング  
種々のツールを利用する  
ハイスループット、*in silico* ツール、方法論  
毒性パスウェイでの鍵になる部分の理解

アメリカ環境保護庁では、動物試験に加えて、コンピューターを利用したハイスループット等を利用した方向性も模索しています。



OECDも同じですが、化学物質の放出(放出源の確定)、それによる環境汚染(環境濃度)、ばく露(ばく露濃度)、体内に入り、細胞内の受容体等への結合、細胞の応答、個体の応答、集団への影響、動物社会への影響について、物質のばく露から毒性影響が表れるまでの過程をきちんと詰めてみようと言うプロジェクトが始まっています。これをAOP(Adverse Outcome Pathway)と呼んでいます。



## 日米二国間協力

2004年以來

OECDの試験法開発について研究協力

メダカ多世代試験 (MMT)

両生類(アフリカツメガエル)幼生成長発達試験  
(LAGDA)

無脊椎動物世代・二世代試験の比較

アミ、コペポッド、オオミジンコ

2004年以來、試験法の確立に向けて、アメリカ環境保護庁と日本の環境省は、二国間協力を行ってござりまして、メダカ多世代試験、両生類成長発達試験、無脊椎動物の生殖試験、などの確定試験を開発してござります。

## オーストラリアの取り組み

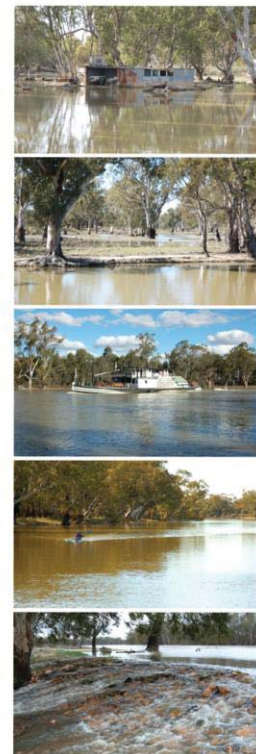


### CSIRO Land and Water

Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation  
(CSIRO): オーストラリア連邦科学産業研究機構

オーストラリアは、Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO)、日本の国立環境研究所のようなところ、が内分泌かく乱物質の取り組みを行っています。オーストラリアの特徴は、オーストラリアの固有の生物を使ってリスク評価をするということが前提となっています。ですから、メダカを使ってオーストラリアの化学物質を評価することはできません。

1. 下水処理水中および環境への放出水の内分秘かく乱物質の生物測定ツールの開発
2. レインボーフィッシュを小型魚類試験のモデル(Murray rainbow fish)
  - 実験室での試験
  - ケージに入れて河川中での曝露
  - バイオマーカー
3. 日英共同研究との提携
4. PPCPs 関連物質
5. Other opportunities

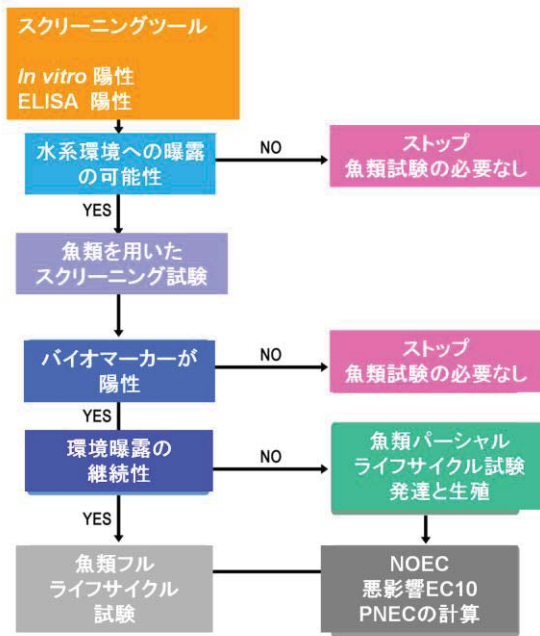


メダカの代わりにオーストラリアが使おうとしているのは、レインボーフィッシュという、もう少し大きな魚です。右の写真のような場所にの魚をケージに入れて、川につけておいて影響を見えています。

また、CSIROの研究者が、研究手法の習得や情報収集のために、日英共同研究にも参加しています。



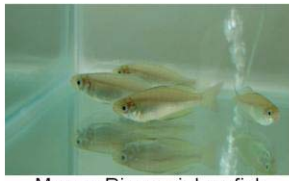
## 魚類を用いた内分泌かく乱物質試験の概念図



(adapted from Hutchinson *et al.*, 2006)

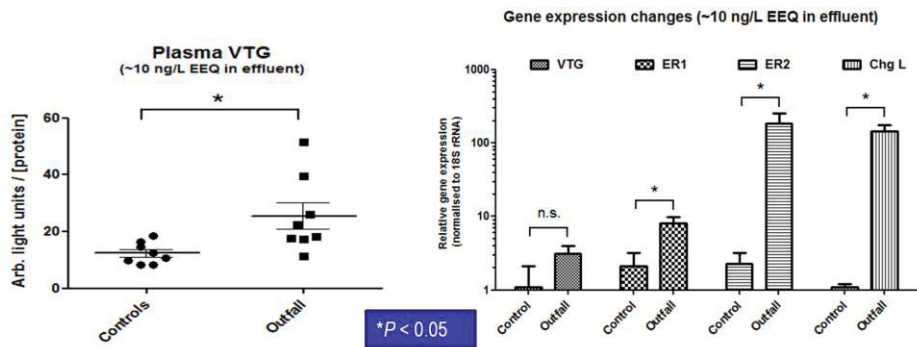
オーストラリアが考えている内分泌かく乱物質試験の概念図です。右下の写真が、レインボーフィッシュです。

## 7日間ケージ曝露試験



Murray River rainbowfish  
*Melanotaenia fluviatilis*

野外曝露の評価



ケージに入れて河川につけておいた雄のレイノボーフィッシュで、ビテロゲニンが有意に高くなっていますので、この川の水には女性ホルモン作用を持つ物質が流れ込んでいます。

## 現時点での評価基準



EEQ (ng/L)	Preliminary hazard rating
Less than 1 ng/L	Low Hazard
1-10 ng/L	Moderate Hazard
> 10 ng/L	High Hazard

オーストラリアはまだ規制する物質については考えていません。エストロゲン作用と比べて、エストロゲン1ng/Lよりも作用が低ければ、ハザードは低い、1-10 ng/Lでは中程度。10ng/L以上あれば、ハザードが高いと、濃度で分けているのが特徴です。

## リスク評価に向けて

- 魚をケージに入れて曝露 (35-日間)
  - 底質、河川水のサンプリング及び試験
1. マイクロトックス試験  
*Mircrotox*
  2. 藻類試験 *Lemna*
  3. ネコゼミジンコ試験  
*Ceriodaphnia*
  4. 魚類 試験
  5. ユスリカ試験と分析データ



オーストラリアは、OECDの状況、日本の状況あるいはEUの状況を見ながら、独自の体系でリスク評価をしようとしています。リスク評価には、この表にあるような生物を用いた試験を行うとのことです。

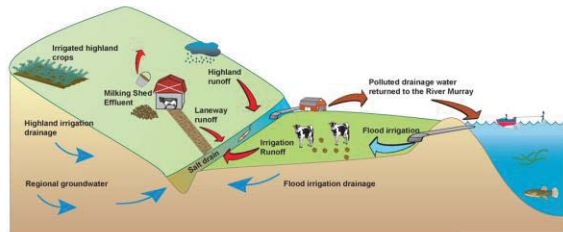
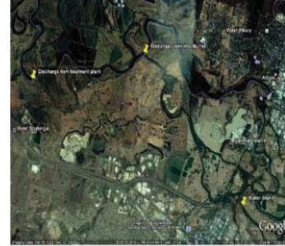
オーストラリアは、日本の助力が欲しいと、私たちの研究室に共同研究を申し込んできています。

## 政策レベルでの必要性

- 下水処理水で**オーストラリア固有種**に内分泌かく乱をおこす可能性物質を検出
- 抗アンドロゲン作用物質の調査の必要性
- PPCPs の複合曝露の懸念
- 家畜からの物質の調査の必要性
- より多くの試験・研究ツールおよび議中の必要性

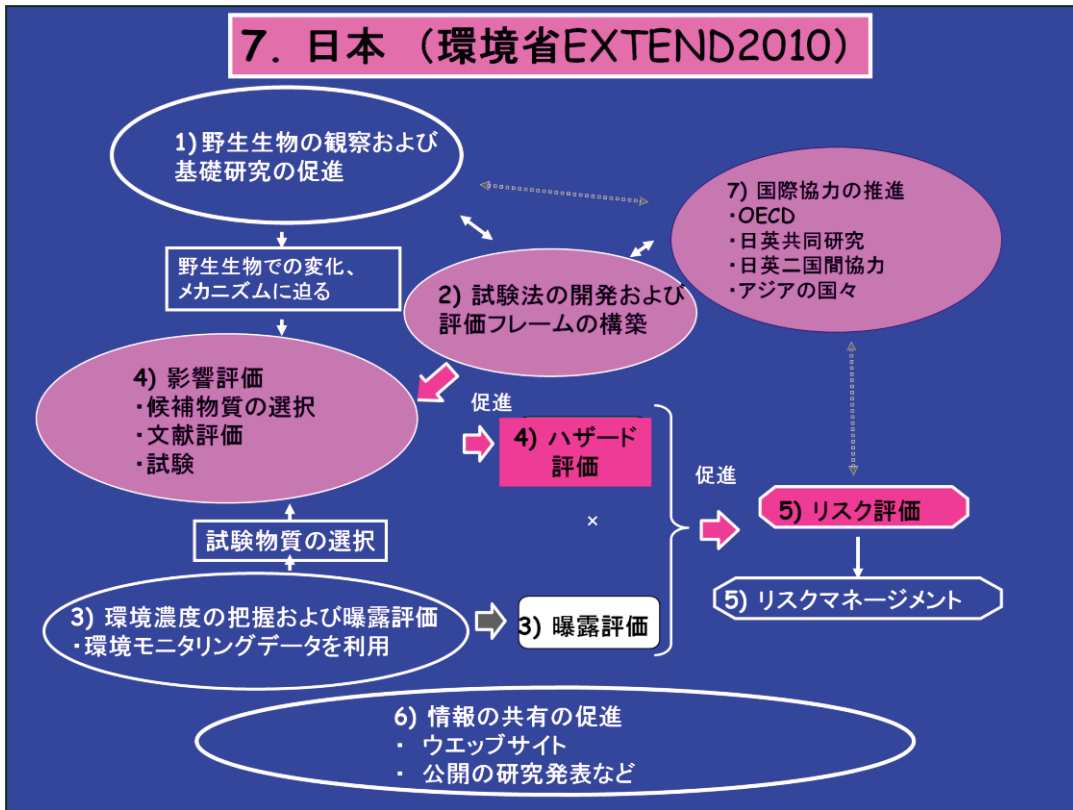
### 政策の観点から

- 内分泌かく乱物質および医薬品から選択した物質がWQGsに加えられた
- 州の規制官は下水処理水の分析データを必要としている
- トリクロサンについて判定中



オーストラリアの今後の必要性として、下水処理水中の化学物質の理解、抗アンドロゲン作用物質の調査、医薬品や動物医薬品の調査などを挙げています。

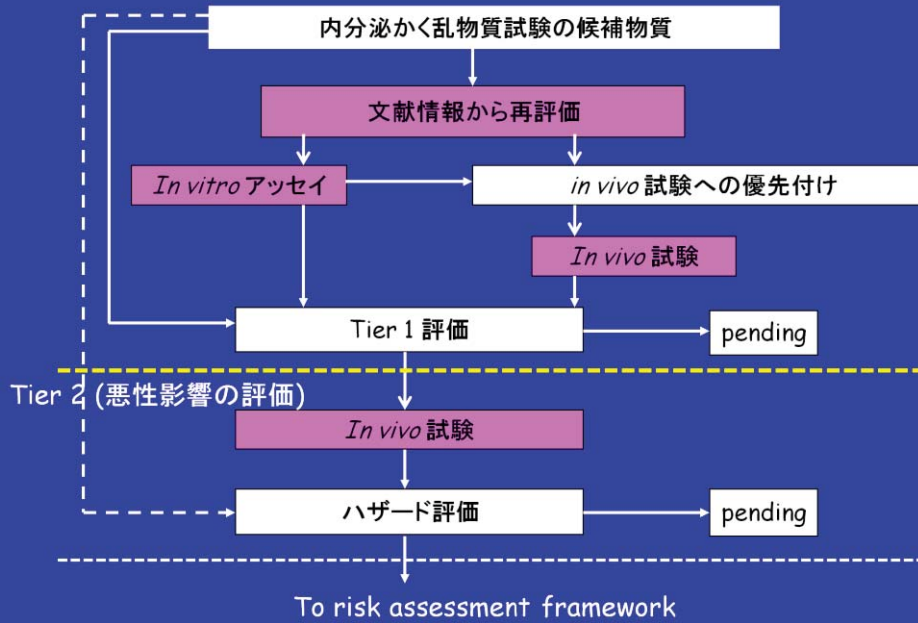
## 7. 日本（環境省EXTEND2010）



日本の取り組みについてはすでにお話しがありましたので省略いたします。

# Tier 1 評価

Tier 1 (内分泌系を介した作用の評価)



## Tier 1 試験(アッセイ)

	検出すべき作用									
	エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモン	抗甲状腺ホルモン	視床下部・下垂体・生殖腺軸	視床下部・下垂体・甲状腺軸	幼若ホルモン	脱皮ホルモン
<i>In vitro</i> アッセイ										
メダカ ER $\alpha$ レポーター遺伝子アッセイ	*	*								
メダカ AR $\beta$ レポーター遺伝子アッセイ			*	*						
ニシツメガエル TR $\beta$ レポーター遺伝子アッセイ					*	*				
オオミジンコ EcR レポーター遺伝子アッセイ										*
幼若ホルモン受容体レポーター遺伝子アッセイ										*
<i>In vivo</i> 試験										
魚類短期生殖アッセイ (TG229)	*	*	*	*			*			
魚類21日間短期スクリーニング試験 (TG230)	*	*	*							

私どもの研究室では、赤字で示したように、ミジンコ御幼若ホルモン受容体を単離しまして、物質の幼若ホルモン作用を簡便に調べるための試験管内試験が確立できる状況になってきました。



## 環境ホルモン問題から16年 — 欧米やオーストラリアなどの現在の取り組みについて

1. 歴史的背景および現在の問題点
2. WHO/UNEP
3. EU
4. イギリス
5. アメリカ
6. オーストラリア
7. 日本(環境省)

1. 化学物質を規制する側の内分泌かく乱物質の定義の世界的なコンセンサスが得られておらず、各国独自の定義で取り組まれている
2. 内分泌かく乱作用が疑われる物質の確定試験に向けた取り組みが進んでいる
3. ヒトへの影響や野生生物への影響を調べるためには疫学的な調査が必要
4. 曝露を減らすための方策、複合影響、化学物質の感受期、世代を超えた影響、肥満などの代謝異常との関連などの基礎研究の継続が必要
5. 国際的なさらなる連携が必要

本日のお話しのまとめです。

雑駁な話をしましたが、化学物質のEUの取り組みとしては、悪影響をどう定義するか、内分泌かく乱物質というには悪影響が明らかでなければならない、それをもって規制に使えるような定義をどうするかということが中心に動いているようです。

日本では、産卵数や受精率を悪影響とみなしています。

EUはまずフレームを決めてから動くので、決めたフレームに合うようなデータが出るかどうかわかりませんが、方針を決めてから動き始めるので、いつ結論が出るのかは不明です。

少し古い話から、WHO/UNEPの最近のとりまとめ、EUやアメリカ環境保護庁、オーストラリアで現在議論されていることなどについてお話ししました。以上です。