

エストロンを対象としてこれまでに実施した第1段階生物試験結果及び化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告の信頼性評価結果

第 1 段階生物試験の実施結果について（抜粋）

1. 平成 23 年度に実施した試験結果について

試験管内試験の結果等から第 1 段階生物試験を実施する優先順位が高いと考えられた 3 物質（エストロン、フェニトイン、シアナジン）について、メダカを用いた魚類短期繁殖試験(修正 TG229)を実施した（試験法の概要については p 6 参照）。

（1）エストロンの試験結果

29、112、272、1,009ng/L(実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、受精率、雌雄の死亡率、全長、体重、二次性徴、雌の生殖腺体指数、肝臓体指数に統計学的に有意な変化は認められなかった。

112ng/L 以上のばく露群において雄の肝臓中ビテロゲニン濃度は、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。

272ng/L 以上のばく露群において、雄の肝臓体指数の統計学的に有意な高値が認められた。

1,009ng/L のばく露群において、産卵数、受精卵数、雄の生殖腺体指数の統計学的に有意な低値が認められ、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度の統計学的に有意な高値が認められた。

2. 試験結果のまとめ

（1）エストロン

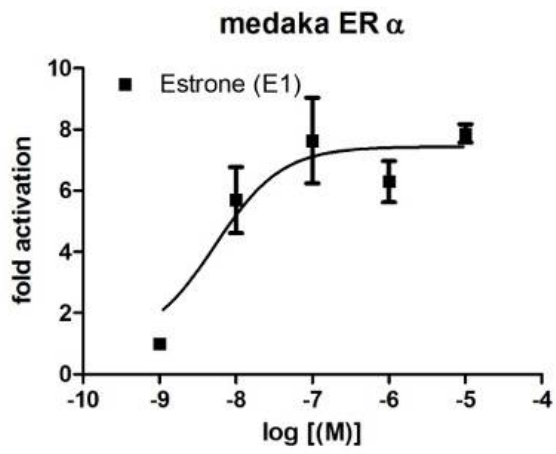
1,009ng/L のばく露群において、産卵数、受精卵数の統計学的に有意な低値が認められたことから、有害性を示すことが示唆された。

エストロンについては既存知見からエストロゲン作用を持つことが想定され、今回の試験結果において、死亡が認められない濃度範囲において、エストロゲン作用を示す雄の肝臓中ビテロゲニン濃度の高値が認められ、エストロゲン作用を持つことが確認された。

なお、有害性が示唆されたばく露濃度 1,009ng/L は、平成 17 年度に実施された化学物質環境実態調査において測定された最高濃度 5.8ng/L の約 170 倍であった。

(参考)

第1段階試験管内試験結果(平成23年度)



EC₅₀=5.4×10⁻⁹、0.043(E2 との相対活性比)

第1段階生物試験結果(TG229)

エストロン

実施機関：国立環境研究所

表 1-A 試験結果

平均濃度実測値 (ng/L)	試験個体数		死亡率 (%)		全長(mm) ^{注1)}		体重(mg) ^{注1)}	
	雄	雌 ^{注1)}	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	12	12	0	0	36.05±1.64	34.41±1.06	468.9±54.9	452.9±34.6
29	12	12	0	0	35.82±1.72	33.79±1.03	468.1±85.0	454.1±56.3
112	12	12	0	0	36.45±1.16	34.30±1.58	480.7±43.5	459.5±85.8
272	12	12	0	0	36.47±1.31	34.01±1.02	464.0±62.3	416.9±41.3
1,009	12	12	0	0	35.94±1.36	34.24±2.09	468.2±53.8	443.3±96.5

表 1-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	産卵数 (eggs/female/day)	受精卵数 (eggs/female/day)	受精率 (%)	生殖腺体指数 (%) ^{注1)}	
				雄	雌
対照区	17.8±2.7	16.2±3.9	90.4±9.07	1.00±0.32	10.81±1.86
29	18.4±3.2	17.1±4.4	91.6±9.78	1.15±0.31	10.68±1.42
112	19.2±2.6	18.5±2.4	96.2±1.29	1.17±0.27	11.23±1.76
272	16.6±2.5	16.0±2.5	95.8±2.81	0.84±0.32	11.34±1.04
1,009	10.1±2.0**	8.7±1.8*	86.1±3.62	0.48±0.23**	11.35±7.06

表 1-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	肝臓体指数 (%) ^{注1)}		ビテロゲン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴 ^{注1)}	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	2.10±0.49	5.99±0.93	3.676±4.34	955.2±189	101±21.8	0
29	2.03±0.28	5.36±0.61	47.92±54.0	651.6±391	97.3±13.6	0
112	2.08±0.54	5.48±0.77	381.8±351*	976.6±274	97.6±24.8	0
272	2.68±0.38*	5.99±0.76	3,649±665**	1,017±238	85.3±14.4	0
1,009	3.45±0.50**	5.13±1.24	5,429±687**	1,994±1,480**	85.1±18.3	0

表 1-D 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	その他の所見
対照区	特になし
29	特になし
112	特になし
272	特になし
1,009	特になし

結果は平均値±標準偏差

有意差水準 (** $p<0.01$, * $p<0.05$).

ビテロゲン濃度の検出下限値は 1 ng/mg liver

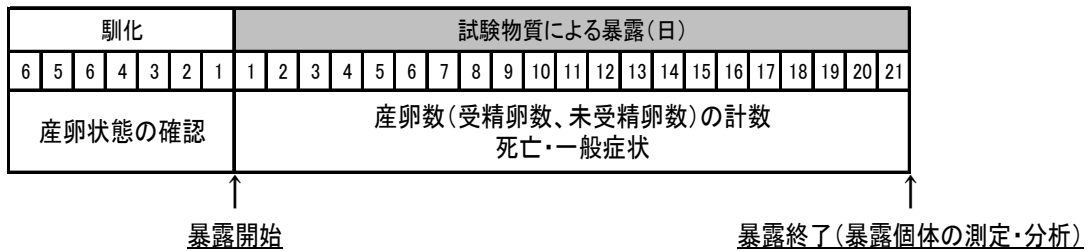
二次性徴：乳頭状突起数

注 1：28 日目に測定

(参考)

メダカを用いた魚類短期繁殖試験法

魚類短期繁殖試験（OECD TG229）は、成熟したメダカを雌雄混合で試験物質に21日間ばく露し、ばく露期間中の産卵状況並びにばく露終了時の生存個体の肝臓中ビテロジェニン濃度及び二次性徴を調べる試験法である。



エンドポイント

- ・産卵状態(産卵数、受精率、受精卵数)
- ・肝臓中ビテロジェニン濃度
- ・二次性徴
- ・生殖腺組織(オプション:実施せず)

- ・全長、体重
- ・肝臓、生殖腺重量(HSI、GSI)
- ・肝臓中ビテロジェニン濃度
- ・二次性徴(尻鰭乳頭状突起)

化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告の信頼性評価について（抜粋）

1. エストロンの内分泌かく乱作用に関連する報告の信頼性評価結果

エストロンの内分泌かく乱作用に関連する報告として、生態影響、発達影響及びエストロジェン様作用の有無に関する報告がある。これらの報告について、個々の信頼性も評価し、化学物質の内分泌かく乱作用に関する試験対象物質の選定に係る観点から現時点で以下のようにまとめた。

(1) 生態影響

- ①Panter らによって、エストロン 9.9、31.8、99.3、318、993ng/L に 21 日間ばく露された成熟雄ファットヘッドミノール *Pimephales promelas* への影響が検討されている。その結果として、31.8ng/L 以上のばく露区で血漿中ビテロジェニン濃度の高値、318ng/L のばく露区で生殖腺相対重量の低値が認められた。(0012)
- ②Routledge らによって、エストロン 6.25、12.5、25.0、50.0、100ng/L に 21 日間ばく露された成熟雄ニジマス *Oncorhynchus mykiss* への影響が検討されている。その結果として、100ng/L のばく露区で血漿中ビテロジェニン濃度の高値が認められた。(0493)
- ③van den Belt らによって、エストロン 30、120、250、500、1,000ng/L (0.11、0.46、0.92、1.84、3.66nM) に 3 週間ばく露された成熟雌ゼブラフィッシュ *Danio rerio* への影響が検討されている。その結果として、250ng/L (0.92nM) 以上のばく露区で血漿中ビテロジェニン濃度の高値、1,000ng/L (3.66nM) のばく露区で卵巣相対重量の高値が認められた。(12192)
- ④Ghekiere らによって、エストロン 10、100、1,000ng/L に 96 時間ばく露されたステージ I 胚をもつ雌イサザアミの一種 *Neomysis integer* への影響が検討されている。その結果として、1,000ng/L ばく露区で体内ビテリン濃度の低値が認められた。(12190)

(2) 発達影響

- ①Holland らによって、エストロン 11mg/rat を最長 21 日間埋設皮下投与された幼若雌 Noble ラットへの影響が検討されている。その結果として、投与期間中の乳腺細胞分化度、乳腺細胞の G1 細胞周期率、乳腺細胞の S 細胞周期率、上皮細胞数、発情期にある個体率、子宮相対重量の高値が認められた。(5413)

(3) エストロジェン様作用

- ①van den Belt らによって、エストロンについて、MVLN アッセイ（プロモータ領域にヒトエストロジェン受容体応答配列をもつレポータを遺伝子導入したヒト乳がん細胞 MCF-7 によるルシフェラーゼ発現誘導）が検討されている。その結果として、エストロンは、EC₅₀ 値 0.078nM の濃度において、ルシフェラーゼの発現を誘導した。

また、エストロンについて、YES スクリーン（ヒトエストロジェン受容体を恒常発現するエストロジェン応答性酵母による β-ガラクトシダーゼ発現誘

導)が検討されている。その結果として、エストロンは、EC₅₀値 0.390nM の濃度において、β-ガラクトシダーゼの発現を誘導した。(12192)

信頼性評価のまとめと今後の対応案(1)

物質名：エストロン

区分	筆頭著者	整理番号	作業班会議における信頼性評価結果			今後の対応案
			再現性の観点での評価 ¹⁾	内分泌かく乱作用との関連の有無 ²⁾	内分泌かく乱作用に関する試験対象物質の選定の根拠としての評価 ³⁾	
(1)生態影響	①Panter	0012	△	○P	○	エストロゲン作用を持つことが明らかであり、内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る。
	②Routledge	0493	△	○P	○	
	③van den Belt	12192	△	?	×*	
	④Ghekiere	12190	△	?	—	
(2)発達影響	①Holland	5413	○	○P	○	
(3)エストロゲン様作用	①van den Belt	12192	○	○P	○	

1)○：信頼できる、△：ある程度信頼できる、×：信頼性は低い、—：評価を行わない

2)○：内分泌かく乱作用との関連性が認められる（P：作用が認められる、N：作用が認められない）、

?：内分泌かく乱作用との関連性は不明、×：内分泌かく乱作用との関連性が認められない、—：評価を行わない

3)○：試験対象物質の選定の根拠として認められる、×：試験対象物質の選定の根拠として認められない、—：内分泌かく乱作用との関連性が不明であるため、評価ができない

*試験方法に問題があるため、×と評価した

参考文献

0012 : Panter GH, Thompson RS and Sumpter JP (1998) Adverse reproductive effects in male fathead minnows (*Pimephales promelas*) exposed to environmentally relevant concentrations of the natural oestrogens, oestradiol and estrone. *Aquatic Toxicology*, 42, 243-253.

0493 : Routledge EJ, Sheahan D, Desbrow C, Brighty GC, Waldock M and Sumpter JP (1998) Identification of estrogenic chemicals in STW. effluent. 2: *In vivo* responses in trout and roach. *Environmental Science and Technology*, 32 (11), 1559-1565.

12192 : van den Belt K, Berckmans P, Vangenechten C, Verheyen R and Witters H (2004) Comparative study on the *in vitro/in vivo* estrogenic potencies of 17beta-estradiol, estrone, 17alpha-ethynylestradiol and nonylphenol. *Aquatic Toxicology*, 66 (2), 183-195.

12190 : Ghekiere A, Verslycke T and Janssen C (2006) Effects of methoprene, nonylphenol, and estrone on the vitellogenesis of the mysid *Neomysis integer*. *General and Comparative Endocrinology*, 147 (2), 190-195.

5413 : Holland MB and Roy D (1995) Estrone-induced cell proliferation and differentiation in the mammary gland of the female Noble rat. *Carcinogenesis*,

6 (8), 1955-1961.