

生態影響評価のための第 1 段階試験について(案)

1. 第 1 段階生物試験の実施状況について (平成 29 年 3 月まで)

(1) これまでの実施状況

これまでに、65 物質について 167 の第 1 段階試験管内試験を実施した (再試験を含まず)。その結果として、23 物質について何らかの作用について陽性の結果が、33 物質について試験を行った全ての作用について陰性の結果が得られた (残りの 9 物質については何らかの作用について試験中)。

また、15 物質について第 1 段階生物試験としてメダカを用いた魚類短期繁殖試験(OECD TG229)を実施した。その結果として、8 物質についてエストロゲン様作用を有することが想定され、13 物質についてメダカの生殖に対する有害性を示すことが示唆された。

なお、メダカを用いた魚類短期繁殖試験を開発するに当たり、以下の物質について OECD TG229 が実施されている。

その結果として、抗アンドロゲン様作用を除いた各作用については、検出可能であることが認められた。

*エストロゲン様作用：4-*t*-ペンチルフェノール、エチニルエストラジオール、4-クロロ-3-メチルフェノール、17 β -エストラジオール

*抗エストロゲン様作用：タモキシフェンクエン酸塩、ラロキシフェン塩酸塩

*アンドロゲン様作用：メチルテストステロン、17 β -トレンボロン、5 α -ヒドロキシテストステロン

*抗アンドロゲン様作用：フルタミド、ビクロゾリン

*ステロイド合成阻害作用：プロクロラズ、ケトコナゾール

*プロゲステロン様作用：プロゲステロン、レヴォノルゲステレル

*陰性対照：ドデシル硫酸ナトリウム

(2) 平成 29 年度の実施予定について

信頼性評価の結果として作用メカニズムが推定できた 29 物質(フルタミド、二硫化炭素、フェンバレレート、グリホサート、ニトロベンゼン、トリクロサ

ン、フタル酸ジイソブチル、ベノミル、トリクロロ酢酸、フィプロニル、アクリロニトリル、ジブロモクオロロメタン、テブフェノジド、4-ノニルフェノール(分岐型)、4-*t*オクチルフェノール、ビスフェノール A、クロロタロニル、カルバリル、シマジン、テブコナゾール、プロピコナゾール、リニュロン、酢酸クロルマジノン、フルオランテン、マンゼブ、クロルピリホス、ジメトエート及びエチレングリコールモノエチルエーテル) について、第1段階試験管内試験を実施する候補とする(合計49試験)。

試験を実施する物質と作用の組み合わせを表1に示した。

また、昨年度実施した第1段階試験管内試験並びに既存知見に基づき、1物質(フタル酸イソブチル)についてメダカ短期繁殖試験(OECD TG229)を実施中である。

2. 第1段階評価の進め方について

第1段階評価の進め方について以下に示した。

- (1)第1段階試験管内試験及び第1段階生物試験(メダカ OECD TG229)の何れかの結果として、内分泌かく乱作用(エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用またはアンドロゲン様作用)を有することが確認された物質であること。
 - (2)有害性が認められなかったばく露濃度(A)と信頼性が認められた「化学物質環境実態調査」等で測定された最高水中濃度(B)*との比(B/A)が比較的大きい物質であること。
*信頼性について疑われた調査において測定された最高水中濃度については、その信頼性について確認を行う。
 - (3)上記の(1)及び(2)に該当した物質について、第2段階生物試験を実施する際の優先順位付けの候補物質とする。
 - (4)上記の候補物質から優先的に試験対象物質を選定する際には、メダカ OECD TG229の結果として認められた有害性の程度を参照する。
 - (5)第2段階生物試験を実施する際の優先順位付けの候補物質に該当しなかった物質については、第2段階生物試験を実施しない。
- ## 3. 第2段階生物試験を実施する際の優先順位付けの候補物質について(案)
- これまでに実施した15物質のメダカ TG229の試験結果を表2に示した(ト

リクロサンの試験概要を追加した。詳細については資料2-4参照)。

2. で示した考え方に則り、現時点では6物質(4-ノニルフェノール(分岐型)、エストロン、 17β -エストラジオール、りん酸トリフェニル、ビスフェノールA及び4-*t*-オクチルフェノール)について第2段階生物試験を実施する際の優先順位付けの候補物質とする。

エストロゲン様作用が認められた 17α -エチニルエストラジオールについては、平成17年度に実施された環境実態調査では水中濃度は未検出であったため、平成29年度に環境実態調査の調査要望物質とし、その測定結果をもって今後の対応を検討する。

また、 17α -エチニルエストラジオールについては、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を実施していないため、今後内分泌かく乱作用に関連する報告の整理を行う。

なお、平成29年度からは、OECDで承認されたメダカ拡張1世代繁殖試験(MEOGRT)に準じた検証試験(エストロン及び4-*t*-オクチルフェノール)を実施し、第2段階生物試験としての適用に向けて知見の収集を行う。

表1 試験を実施する内分泌かく乱に係る作用

	名称	示唆された作用						
		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	脱皮 ホル モン
1	フルタミド				○*			
2	二硫化炭素				○			
3	フェンバレート				○			
4	グリホサート				○			
5	ニトロベンゼン				○			
6	トリクロサン				○			
7	フタル酸ジイソブチル				○			
8	ベノミル				○			
9	トリクロ酢酸				○			
10	フィプロニル				○			
11	アクリロニトリル				○			
12	ジプロモクロロメタン				○			
13	テブフェノジト							○
14	4-ニルフェノール(分岐型)				○			
15	4- <i>t</i> -オクチルフェノール				○			
16	ビスフェノール A				○			
17	クロタロニル(TPN)					○**	○**	○
18	カルハリル			○**				
19	シマジン	○**		○**	○**			
20	テブコナゾール			○**				
21	プロピコナゾール			○**				
22	リニuron	○**	○	○	○	○	○	
23	酢酸クロルマジノン		○					
24	フルオランテン				○			
25	マンゼブ [®] 又はマンコゼブ [®]			○	○	○	○	
26	マンネブ [®]				○	○	○	
27	クロルピリホス	○	○		○	○	○	
28	ジメテート					○	○	

29	エチレングリコールモノエチルエーテル					○	○	
合計	49 試験	3 試験	3 試験	6 試験	21 試験	7 試験	7 試験	2 試験

○：試験を実施する内分泌かく乱に係る作用

*フルミド[®]については、抗アンドロゲン作用の陽性対照としての試験実績がある。

**USEPA EDSP において指摘された作用

表2 メダカ TG229 の結果まとめ (1)

物質名:信頼性評価の結果として推定された作用 TG229 試験濃度 (雄死亡率) (雌死亡率)	試験管内試験の結果から推定された作用 濃度:M(相対活性比)	TG229 の結果から推定された作用(濃度)	TG229 の結果(有害性の程度:対照区との比)			有害性が認められなかったばく露濃度:A	環境実態調査等で測定された水中最高濃度:B	B/A
			産卵数(濃度) 有意水準	受精卵数(濃度) 有意水準	受精率(濃度) 有意水準			
4-ノニルフェノール(分岐型):E, A, AA, T, AT 5.63、18.8、51.8、170 μg/L (0、0、0、8.3%) (0、0、0、8.3%)	エストロゲン EC ₅₀ =3.6×10 ⁻⁸ (0.0049) 抗エストロゲン:実施せず アンドロゲン:ND 抗アンドロゲン:実施中 甲状腺ホルモン:ND 抗甲状腺ホルモン:ND	エストロゲン:雄 Vtg 高値(18.8) 抗エストロゲン:ND アンドロゲン:ND	61% (51.8) <i>p</i> <0.05	39% (51.8) <i>p</i> <0.05	63% (51.8) <i>p</i> <0.05	A:18.8 μg/L (参考: FLCT:8.2 μg/L)	0.69 μg/L H27 公共用水域 (分岐型異性体の合計値)	0.037 (参考: 0.084)
エストロン:E 29、112、272、1,009ng/L (0、0、0、0%) (0、0、0、0%)	エストロゲン EC ₅₀ =5.4×10 ⁻⁹ (0.043) 抗エストロゲン:実施せず アンドロゲン:実施せず	エストロゲン:雌雄 Vtg 高値(雄 112、雌 1,009) 抗エストロゲン:ND アンドロゲン:ND	57% (1,009) <i>p</i> <0.01	54% (1,009) <i>p</i> <0.05	(95%) (1,009)	A:272ng/L	5.8ng/L H17 環境実態	0.021
17β-エストラジオール 22.1、115、553ng/L (0、8.3、8.3%) (0、8.3、17%)	エストロゲン EC ₅₀ =9.9×10 ⁻¹¹ (1) 抗エストロゲン:実施せず アンドロゲン:実施せず	エストロゲン:雌雄 Vtg 高値(雄 22.1、雌 115) 抗エストロゲン:ND アンドロゲン:ND	57% (553) <i>p</i> <0.05	43% (553) <i>p</i> <0.05	88% (553) <i>p</i> <0.05	A:115ng/L	1.7ng/L H17 環境実態 (環境実態調査実施中)	0.015

表2 メダカ TG229 の結果まとめ (2)

物質名:信頼性評価の結果として推定された作用 TG229 試験濃度 (雄死亡率) (雌死亡率)	試験管内試験の結果から推定された作用 濃度:M(相対活性比)	TG229 の結果から推定された作用(濃度)	TG229 の結果(有害性の程度:対照区との比)			有害性が認められなかったばく露濃度:A	環境実態調査等で測定された水中最高濃度:B	B/A
			産卵数(濃度) 有意水準	受精卵数(濃度) 有意水準	受精率(濃度) 有意水準			
17 α -エチニルエストラジオール 17.8、84.9、424ng/L (0、0、33%) (0、0、8.3%)	エストロゲン EC ₅₀ =6.2 \times 10 ⁻¹¹ (1.6) 抗エストロゲン:実施せず アンドロゲン:実施せず	エストロゲン:雌雄 Vtg 高値(雄 17.8、雌 424) 抗エストロゲン:ND アンドロゲン:ND	74% (84.9) <i>p</i> <0.05	38% (424) <i>p</i> <0.05	80% (424) <i>p</i> <0.05	A:17.8ng/L	<0.11ng/L H17 環境実態 (環境実態調査実施中)	<0.0062
りん酸トリフェニル:AA(E の可能性も), TG229 の結果から AE 2.13、7.19、17.1、44.9 μ g/L (0、0、0、0%) (0、0、0、8.3%)	エストロゲン EC ₅₀ =9.7 \times 10 ⁻⁶ (0.000021) 抗エストロゲン:ND アンドロゲン:実施せず 抗アンドロゲン:ND	エストロゲン:確認 できず 抗エストロゲン:雌 Vtg 低値(7.19) アンドロゲン:ND	70% (44.9) <i>p</i> <0.05	69% (44.9) <i>p</i> <0.05	(98%) (44.9)	A:17.1 μ g/L	0.06 μ g/L H17 公共用水域 (環境実態調査実施中)	0.0035
ビスフェノール A:E, AE, A, AA, AT 155、826、4,670 μ g/L (16.7、8.3、70.8%)雌雄合計	エストロゲン EC ₅₀ =2.2 \times 10 ⁻⁷ (0.0008) 抗エストロゲン:ND アンドロゲン:ND 抗アンドロゲン:実施中 抗甲状腺ホルモン:ND	エストロゲン:雄 Vtg 高値(4,670) 抗エストロゲン:ND アンドロゲン:ND	10% (4,670) <i>p</i> <0.05	-	61% (4,670) <i>p</i> <0.05	A:826 μ g/L (参考: FLCT:248 μ g/L)	0.28 μ g/L H26 環境実態	0.00034 (参考: 0.0011)

表2 メダカ TG229 の結果まとめ (3)

物質名:信頼性評価の結果として推定された作用 TG229 試験濃度 (雄死亡率) (雌死亡率)	試験管内試験の結果から推定された作用 濃度:M(相対活性比)	TG229 の結果から推定された作用(濃度)	TG229 の結果(有害性の程度:対照区との比)			有害性が認められなかったばく露濃度:A	環境実態調査等で測定された水中最高濃度:B	B/A
			産卵数(濃度) 有意水準	受精卵数(濃度) 有意水準	受精率(濃度) 有意水準			
4- <i>t</i> オクチルフェノール:E, AA AT 25.3、82.3、250 μg/L (0、0、8.3、0%) (0、0、0、0%)	エストロゲン EC ₅₀ =3.5×10 ⁻⁸ (0.005) 抗エストロゲン:実施せず アンドロゲン:実施せず 抗アンドロゲン:実施中 抗甲状腺ホルモン:ND	エストロゲン:雄 Vtg 高値(82.3) 抗エストロゲン:ND アンドロゲン:ND	(94%) (250)	(89%) (250)	(94%) (250)	A:>250 μg/L (参考: FLCT:30.4 μg/L)	0.031 μg/L H24 環境実態	<0.00012 (参考: 0.0010)
4- <i>t</i> ペンチルフェノール:E, AA 58.4、227、940 μg/L (0、0、0%) (8.3、8.3、25%)	エストロゲン EC ₅₀ =1.0×10 ⁻⁶ (0.00021) 抗エストロゲン:実施せず アンドロゲン:実施せず 抗アンドロゲン IC ₅₀ =4.1×10 ⁻⁶ (0.031)	エストロゲン:雌雄 Vtg 高値(雄 58.4、雌 940) 抗エストロゲン:ND アンドロゲン:ND	68% (940) <i>p</i> <0.05	61% (940) <i>p</i> <0.05	(90%) (940)	A:227 μg/L	<0.0011 μg/L H20 環境実態	<0.0000048
4-ヒドロキシ安息香酸メチル:E, AE 357、1,900、9,750 μg/L (0、0、8.3%) (0、0、17%)	エストロゲン EC ₅₀ =7.0×10 ⁻⁵ (0.0000038) 抗エストロゲン:ND アンドロゲン:実施せず	エストロゲン:雄 Vtg 高値(1,900) 抗エストロゲン:ND アンドロゲン:ND	72% (9,750) <i>p</i> <0.05	60% (9,750) <i>p</i> <0.05	83% (9,750) <i>p</i> <0.05	A:1,900 μg/L	0.003 μg/L H20 環境実態	0.0000015

表2 メダカ TG229 の結果まとめ (4)

物質名:信頼性評価の結果として推定された作用 TG229 試験濃度 (雄死亡率) (雌死亡率)	試験管内試験の結果から推定された作用 濃度:M(相対活性比)	TG229 の結果から推定された作用(濃度)	TG229 の結果(有害性の程度:対照区との比)			有害性が認められなかったばく露濃度:A	環境実態調査等で測定された水中最高濃度:B	B/A
			産卵数(濃度) 有意水準	受精卵数(濃度) 有意水準	受精率(濃度) 有意水準			
フェンバレレート:E, AE, AA, T, AT 0.019、0.294、1.30 μg/L* (0、0、0%) (0、0、0%)	エストロゲン EC ₅₀ =2.4×10 ⁻⁶ (0.0000049) 抗エストロゲン:ND アンドロゲン:実施せず 抗アンドロゲン:実施中 甲状腺ホルモン:ND 抗甲状腺ホルモン:ND	エストロゲン:確認できず 抗エストロゲン:ND アンドロゲン:ND	(122%) (1.30)	-	(103%) (1.30)	A:>1.30 μg/L	0.041 μg/L H18 要調査項目	<0.032
トリクロサン:E, AE, AA, T, AT 54.5、103.9、176.8、352.8 μg/L 雌雄(4.1、12.5、29.1、50.0%)	エストロゲン PC ₁₀ =2.0×10 ⁻⁶ (0.000017) 抗エストロゲン:ND 抗エストロゲン:ND 抗エストロゲン:ND 抗エストロゲン:ND 抗エストロゲン:ND 抗エストロゲン:ND	エストロゲン:確認できず <u>Ishibashi ら(2004)*</u> <u>12.8及び60.8μg/Lのばく露区で雄肝臓ビテロゲニン濃度の高値が認められている。</u> 抗エストロゲン:ND 抗エストロゲン:ND	<u>39.4%</u> <u>(352.8)</u> <u>p<0.01</u>	<u>40.5%</u> <u>(352.8)</u> <u>p<0.01</u>	<u>(101%)</u> <u>(352.8)</u>	A:103.9 μg/L (死亡) A:176.8 μg/L (繁殖)	<u>0.093 μg/L</u> H26 環境実態	<u>0.000895</u> (死亡) <u>0.000526</u> (繁殖)

表2 メダカ TG229 の結果まとめ (5)

物質名:信頼性評価の結果として推定された作用 TG229 試験濃度 (雄死亡率) (雌死亡率)	試験管内試験の結果から推定された作用 濃度:M(相対活性比)	TG229 の結果から推定された作用(濃度)	TG229 の結果(有害性の程度:対照区との比)			有害性が認められなかったばく露濃度:A	環境実態調査等で測定された水中最高濃度:B	B/A
			産卵数(濃度) 有意水準	受精卵数(濃度) 有意水準	受精率(濃度) 有意水準			
ダイアジノン:E, AE, A, AA 38、196、598、952 μg/L (0、8.3、50.0、58.3%) (8.3、33.3、66.7、58.3%)	エストロゲン PC ₁₀ =1.0×10 ⁻⁵ (0.0000021) 抗エストロゲン:ND アンドロゲン:ND 抗アンドロゲン:ND	エストロゲン:確認できず 抗エストロゲン:ND アンドロゲン:ND	5.5% (196) <i>p</i> <0.01	0.5% (196) <i>p</i> <0.01	12% (196) <i>p</i> <0.01	A:38 μg/L	0.019 μg/L H18 環境実態	0.0005
1-ナフトール:E, AA, AT 80.0、258、857 μg/L (0、0、0、0%) (0、0、0、0%)	エストロゲン EC ₅₀ =7.8×10 ⁻⁵ (0.0000027) 抗エストロゲン:実施せず アンドロゲン:実施せず 抗アンドロゲン:ND 抗甲状腺ホルモン:ND	エストロゲン:確認できず。雌 Vtg 高値(857) 抗エストロゲン:ND アンドロゲン:ND	(68%) (857)	(47%) (857)	68% (857) <i>p</i> <0.05	A:258 μg/L	0.0093 μg/L H20 環境実態	0.000036
フェニトイン:AE, A, AT 2,250、4,760、8,720、18,510 μg/L (0、0、8.3、58.3%) (0、0、0、8.3%)	エストロゲン:実施せず 抗エストロゲン IC ₅₀ =2.1×10 ⁻⁶ (0.00016) アンドロゲン:ND 抗甲状腺ホルモン IC ₃₀ =6.3×10 ⁻⁵ (-)	エストロゲン:ND 抗エストロゲン:確認できず アンドロゲン:ND	39% (8,720) <i>p</i> <0.01	20% (8,720) <i>p</i> <0.01	53% (8,720) <i>p</i> <0.01	A:4,760 μg/L	0.112 μg/L H18 環境実態	0.000024

表2 メダカ TG229 の結果まとめ (6)

物質名:信頼性評価の結果として推定された作用 TG229 試験濃度 (雄死亡率) (雌死亡率)	試験管内試験の結果から推定された作用 濃度:M(相対活性比)	TG229 の結果から推定された作用(濃度)	TG229 の結果(有害性の程度:対照区との比)			有害性が認められなかったばく露濃度:A	環境実態調査等で測定された水中最高濃度:B	B/A
			産卵数(濃度) 有意水準	受精卵数(濃度) 有意水準	受精率(濃度) 有意水準			
シアナジン:AE 110、349、1,020 μg/L (0、0、8.3%) (0、8.3、8.3%)	エストロゲン:実施せず 抗エストロゲン IC ₅₀ =6.1×10 ⁻⁷ (0.00053) アンドロゲン:実施せず	エストロゲン:ND 抗エストロゲン:確認できず アンドロゲン:ND	39% (1,020) <i>p</i> <0.05	35% (1,020) <i>p</i> <0.05	(79%) (1,020)	A:349 μg/L	0.0025 μg/L H18 環境実態	0.0000071

信頼性評価の結果として推定された作用:エストロゲン:E、抗エストロゲン:AE、
 アンドロゲン:A、抗アンドロゲン:AA、甲状腺ホルモン:T、抗甲状腺ホルモン:AT
 括弧内:有意差なし。

ND:確認されず

*フェンバレートの水溶解度:24 μg/L(20°C)

