



National Institute for Public Health
and the Environment
Ministry of Health, Welfare and Sport

Regulating Endocrine Disruptors in the EU

ZhiChao Dang (党志超)

**National Institute for Public Health
and the Environment (RIVM)**

Zhichao.dang@rivm.nl

Tokyo, Feb. 22, 2018

皆さん、こんにちは。始めます前に、山崎邦彦先生に御礼申し上げたいと思います。日本の環境省の先生には今回の御招待に対する御礼を申し上げたいと思います。大変に光栄でございます。このような形で発表できることを光栄に思います。

本日は、EUにおける内分泌かく乱化学物質（ED）の規制動向についてお話しします。RIVM（オランダ国立公衆衛生環境研究所）のダンと申します。



Outline

- **Regulating EDs—Hazard & Risk approach ?**
- **ED definition & criteria**
- **Data requirements & Endocrine disruptors (EDs)**
- **What are the ED concerns (triggers for testing)**
- **Guidance on the ED identification**
- **Regulating EDs—threshold/non-threshold approach**

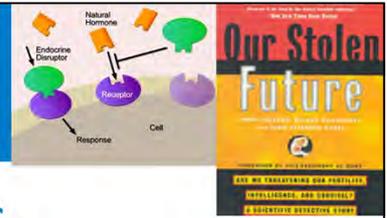
2

私の発表の中では、まず最初に、EDの欧州連合（EU）における規制を御紹介したいと思います。ハザード及びリスクに基づく取り組みという形で紹介いたします。

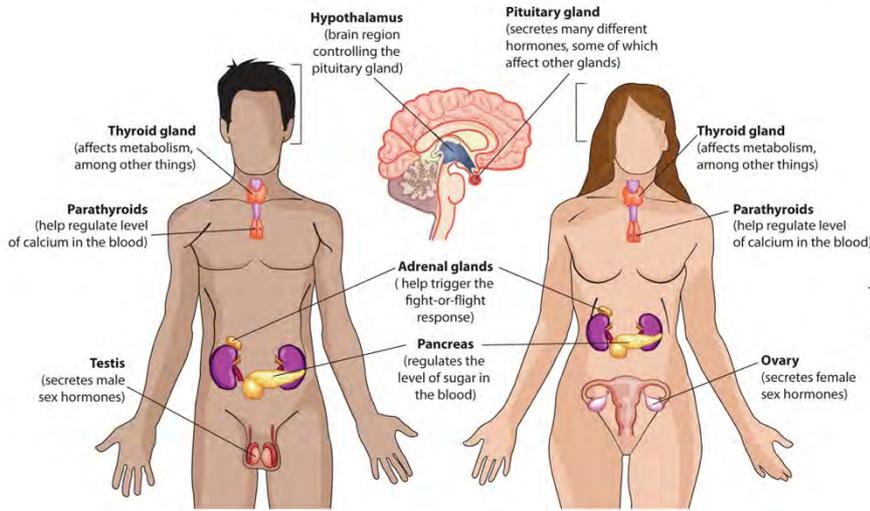
その後、EDの定義並びにその同定のクライテリアを紹介いたします。最新のデータ要件のみでEDは規制できるのかどうかについても述べます。

その後、EDを同定するためのガイダンス案、それから規制で閾値を使うのか、あるいは閾値なしの対応にするのかということについても紹介してまいります。

EDの話をする前に、内分泌系の話をしたいと思います。

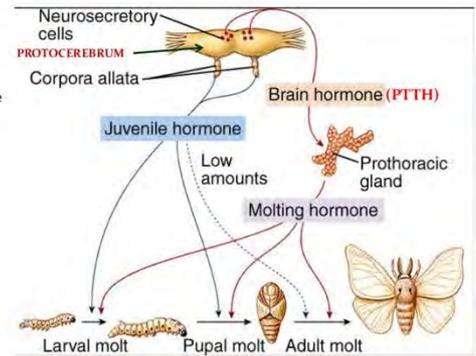


Endocrine System and EDs



Current focuses:

- Estrogenicity
- Androgenicity
- Thyroidogenicity
- Steroidogenesis



There are approx. 50 hormone systems

内分泌系は重要な役割を果たしています。哺乳類、昆虫、無脊椎動物なども含めて生体恒常性（ホメオスタシス）の維持に重要な役割を果たしています。そしてこれら生物の成長、発達、生殖等の過程にも重要な役割を果たしています。また、様々な生物における様々な生理機能について理解が進む中で、より多くのホルモンが発見され、内分泌系の定義がより不明瞭になってきました。

例えば、体脂肪はエネルギー貯蔵器官と考えられていましたが、今では内分泌器官とみなされるようになりました。レプチン、アディポネクチン等、多くのホルモンを分泌しており、それらへの抵抗性は糖尿病や肥満などをより理解する上で重要です。

約50種類のホルモン系が存在していますが、現在のED規制がEATS（エストロゲン、アンドロゲン、甲状腺ホルモン、ステロイド産生）の経路に限定的なのは、テストガイドラインが極めて限定的なものとなっているからです。

内分泌系がかく乱されますと、体に変調が起きてきます。例えば閉経後の女性では女性ホルモン、 17β -エストラジオールが大幅に減少します。そしてほてり、寝汗あるいは骨粗鬆症発症率の増加などの症状が発生します。

工業化学物質、農薬、殺菌剤、医薬品等の中にもホルモンに類似した構造と機能を有することによって内分泌かく乱を引き起こすものもあります。内分泌かく乱問題は実は古くはなく、1990年代に書籍「奪われし未来」の出版をきっかけに、一般市民ひいては科学者の間でも熱心に論じられるようになりました。



Community Strategy for Endocrine Disruptors

• Objectives of the paper were:

- To identify problem of endocrine disruption, its causes and consequences
- To identify appropriate policy action on the basis of the precautionary principle in order to respond quickly and effectively to the problem, thereby alleviating public concern

• 11 actions identified

- 7 Short-term actions
- 3 Medium-term actions
- **1 Long-term action
(Legislative action)**



EDは、EC（欧州委員会）の注目することとなり「コミュニティ戦略」なるものが公表されていますが、この文書の目的は、内分泌かく乱問題、その原因と予想される結果を見出し、そして、この問題に対して政策措置を見出すことでした。

当時見出された11のアクションは、7つの短期的アクション、3つの中期的アクション、1つの長期的アクションに分けられます。そのうちの1つの長期的アクションというのが法規制に関するアクションです。



Overview of provisions for EDs in EU legislation

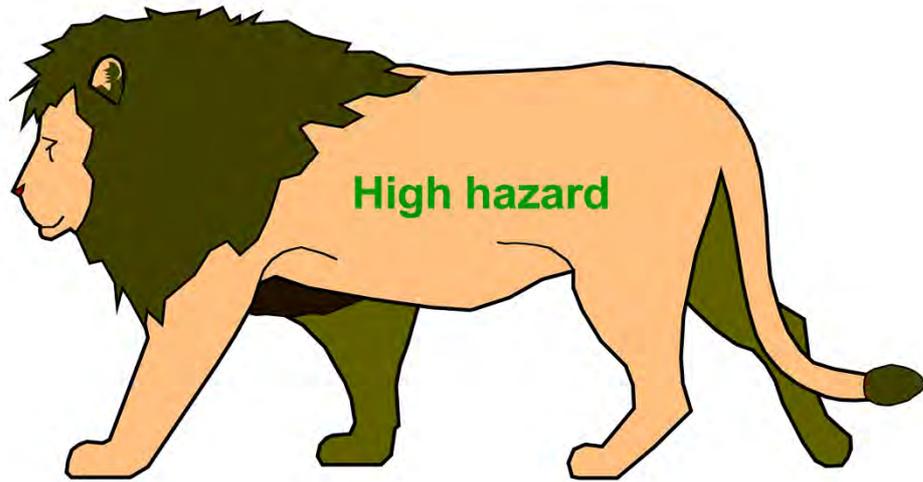
- REACH (Regulation 1907/2006)
- Plant protection products (Regulation 1107/2009)
- Biocidal Products (Regulation 528/2012)
- Medicinal products (EMEA/CHMP/SWP/4447/00 corr 1)
-

**Regulating EDs— Criteria for EDs (deadlines 2013)
Hazard & Risk approach**

こちらが内分泌かく乱問題に対するEU規制の概要です。化学物質の登録、評価、認可及び制限に関する（REACH）規則についてはこれから詳しく説明します。それから、植物保護製品（PPP）規制、殺生物性製品（BP）規則、そして医薬品に対する規制があります。このPPPやBPに対する規制においては、2013年末までにクライテリアを制定すべきことが明記されていましたが、農薬であるPPPについては今なお議論が継続中です。もう一つ重要な問題は、ハザード評価に基づく規制もあれば、REACHや医薬品の規制のようにリスク評価に基づく規制もある点です。



High hazard



6

では、ハザード、リスクとはどういうものでしょうか。このライオンですが、ライオンというのは危険だと思われがちです。



High hazard... low risk



7

しかし、動物園のライオンのように檻の中にいるライオンを眺めても危険だとは思わないわけではあります。なぜなら皆さんはライオンに直接さらされるわけではございませんから。同様に、ハザードとは実際は純然たる毒性のことでありまして、リスクは毒性及びその物質に対するばく露によって決まるわけです。



Hazard & Risk approaches--EDs



National Institute for Public Health
and the Environment
Ministry of Health, Welfare and Sport

Endocrine disrupting chemicals within EU
legal frameworks: environmental
perspectives

RIVM Letter report 2016-0145
Z. Dang et al.

Legal framework	Identification	Risk assessment	Data requirement
REACH	yes	RCR/SEA	yes
PPPR	yes	Approval*	yes
BPR	yes	Exclusion*	yes
Hum. Pharm.	no	yes	yes
Vet. Pharm.	no	yes	yes
WFD	no	no	no
CLP	no	no	no

Data requirement & framework related

2016年に我々は内分泌かく乱に関連した規制をまとめた報告書を公表しております。ハザードアプローチというのはBPとPPPに対する規制です。リスクアプローチというのは主にREACH及び医薬品に関する規制になります。その他、分類・ラベル・包装に関する規則（CLP）はGH Sに関連していますが、ハザードアプローチであり、物質の毒性のみに着目しています。



ED definitions

Endocrine disruptor (WHO/IPCS, 2002)

*An endocrine disruptor is an exogenous substance or mixture that alters **function(s) of the endocrine system** and **consequently causes adverse health effects** in an **intact organism**, or its progeny, or (sub)populations.*

Adversity

Endocrine mode/mechanism of action

Causality

Intact organism

WHO/IPCS Definition \neq Criteria for EDCs

9

では、EDとは一体何でしょうか。EU規制では、世界保健機関（WHO）による定義が広く受け入れられ、採用されているように思います。この定義には3つの重要な要素があります。有害性、内分泌経路作用機序（MOA）、未処置生物における有害性と内分泌経路MOAとの因果関係です。

有害性は、毒性学あるいは生態毒性学において最も根幹的な要素となります。その他二つの要素、内分泌経路MOAと因果関係は、毒性学において実は新しい要素となります。この内分泌経路MOAが持ち込まれると話全体が大変ややこしくなります。毒性学上最も根幹的な要素であるはずの有害性が不明瞭になるからです。例えば女性ホルモンである 17β -エストラジオールの体内濃度変化ですが、哺乳類における正常な生理学的変化としても起き得ますし、他の化学物質による影響としても起き得ます。化学物質の有害性と判断すべきか、単に生理学的な制御過程と判断すべきか、は難しいところです。

同様に、既存の毒性試験では内分泌経路MOAを定義することは困難であり、有害性と内分泌経路MOAとの因果関係を実証するとなれば不可能に近いと言えます。したがって、WHOによる定義は実際問題としては広範すぎるので、EDを特定するクライテリアが必要とされています。



ED Criteria--BPR

2014 sept– 2015 Jan, public consultation (an impact assessment)

2016 June-- a draft of the delegated act

2016 June– July 2017, consulted an expert group (the 'Biocides CA meeting'), at least 7 meetings

7 June 2018 --- criteria shall apply

REGULATIONS

COMMISSION DELEGATED REGULATION (EU) 2017/2100

of 4 September 2017

setting out scientific criteria for the determination of endocrine-disrupting properties pursuant to Regulation (EU) No 528/2012 of the European Parliament and Council

10

この7～8年間、EDを特定するためのクライテリアの開発に多大な注力がなされてきました。この4～5年間の会合での議論をここに整理しましたが、BPについてはクライテリアがついに昨年採択され、今年7月から施行となります。このクライテリアはヒトに関連するクライテリア、非標的生物に対するクライテリアの2部構成となっております。このクライテリアはWHOの2定義、1つはEDに関する定義で、もう1つは有害性に関する定義を採り入れています。



ED Criteria—Section A, Humans

Criteria

- a) adversity—intact organism, WHO definition;
- b) it has an endocrine mode of action, i.e. it alters the function(s) of the endocrine system;
- c) the adverse effect is a consequence of the endocrine mode of action.

Basis

- a) all available relevant scientific data;
- b) assessment of the available data based on a WoE approach;
- c) establish a biological plausibility;
- d) adverse effects that are non-specific secondary consequences of other toxic effects shall not be considered for the identification of the substance as endocrine disruptor.

11

ここに記載されているように、WHOに基づくEDクライテリアは、a)、b)、c)に分割することができます。

そしてEDを同定する上での根拠ですが、4つ列挙されています。

1つ目は、あらゆる科学的な関連データに基づく。

2つ目は、WoE（証拠の重み）アプローチに基づく入手可能データの評価。

3つ目は、因果関係の代わりに生物学的蓋然性を採用する。蓋然性というのは、私の理解では因果関係よりも判断する上での苦労が少ないと思います。

そして4つ目は、内分泌系影響以外の二次的な毒性有害影響は含めないということです。



ED Criteria—Section B, non-target organisms

Criteria

a) adversity—non-target organism, WHO definition; b), c).

Basis a)—d)

(3) If the intended biocidal mode of action of the active substance being assessed consists of controlling target organisms other than vertebrates via their endocrine systems, the effects on organisms of the same taxonomic phylum as the targeted one shall not be considered for the identification of the substance as having endocrine- disrupting properties with respect to non-target organisms.

非標的生物に関するクライテリアも、ヒトではなく非標的生物という以外はほとんど同様です。ただし、追加の根拠として、非標的生物を定義せねばなりません。



Data requirements (REACH)



REACH data requirements (tonnage related)	MOA
Repeated dose 28-day study (TG407)-updated	Y
Repeated dose 90-day study (TG408)	N/Y
Prenatal developmental toxicity study (TG 414)	N/Y
Chronic toxicity and carcinogenicity studies (TG 451-3)	N
Reproductive screening test (TG 421/2)-updated	Y
Extended one-generation reproductive Toxicity Study (TG 443)	Y
Daphnia Reproduction Test (TG 211)	N
Fish Early-life Stage Toxicity Test (TG 210)	N
Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-fry Stages (TG 212)	N
Fish Juvenile Growth Test (TG 215)	N

次に、実践的な話題に移りたいと思います。このようなクライテリアを用いて実際にED同定ができるかどうかについて述べますと、REACHのデータ要件をみますと、生産量、すなわちトン数によるものです。トン数に関係しないデータ要件としては、単に哺乳類試験ということになりますので、MOA情報獲得のために実施すべき要件も限られてきます。内分泌かく乱の環境的側面を考慮する際はMOA情報を得るために課せられる要件は特にありません。

Conclusions



- **Standard data requirement in different frameworks focus on adverse effects.**
- **They supply little information on mechanisms of action and on how the observed effects are mediated.**
- **ED concern– further testing (e.g. substance evaluation)**

これが私が述べてきた内容の総括になります。有害性に関するデータ要件は十分ですが、内分泌MOAに関するデータ要件は非常に限定的です。REACHにおいて何らかの物質の評価過程において追加データが必要となった場合、更なる試験の実施が必要となることもしばしばです。しかし、特定のED懸念に基づくことになるので、どのような試験を実施したらいいかということまでは明確になっていません。



ED concern – Human Pharmaceuticals

1. Drugs may target every hormone system
2. MOA is already known before ERA (Environmental risk assessment)
3. What is the ED concern?
 - *Potential endocrine disruptors*, may need to be addressed irrespective of the quantity released into the environment.
 - Some drugs may affect the *reproduction* $\leq 0.01 \mu\text{g/L}$.
 - Q&A specifies some tests that focus on the adverse effects on reproduction, and are needed for potential '*sexual endocrine disrupting*' chemicals.

Human Pharmaceuticals: Case by case (PRs, Angiogenesis inhibitors, etc)—not limited to EATS

15

そこでEDに対する懸念をどのように同定していくかが課題となります。医薬品においては、現行の環境リスク評価は段階的アプローチとなっています。第一段階でばく露を考慮しており、環境中濃度が10ng/Lを超える場合には、第二段階、事実上のリスク評価の即対象となります。環境リスク評価実施前に医薬品のMOAが判明している場合には、EDに対する懸念による評価が可能ですが、その場合はケースバイケースの意思決定になります。私が知る限りではプロゲステロン受容体結合、血管新生阻害に関する試験を要求する場合があります。内分泌MOAの着眼点はEATS経路には決して限定されていませんし、現在EUでのガイダンス改訂に係っている安全作業部会においても将来的にはEATS経路に限定的ではなくなると思います。



Legislation: marketing authorization

- **Human pharma's:**
 - **ERA is performed, but not part of the benefit/risk analysis and thus cannot be a ground to refuse marketing authorization.**

- **Veterinary pharma's:**
 - **ERA is part of the benefit/risk analysis.**

医薬品に関する規制は、ヒト用医薬品と動物用医薬品とで異なります。ヒト用医薬品では環境リスク評価を実施しますが、その物質が上市されることを拒否する根拠とはなりません。しかし動物用医薬品においては、環境リスク評価が重要な判断材料となります。



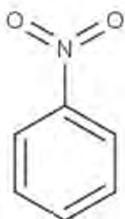
ED concern – triggers for testing (REACH)

- IT Screening/Manual Screening
- More than 80 chemicals with potential ED in the ECHA website
- ED concerns are **not limited to EATS pathway**

EC / List no.: 202-716-0

CAS no.: 98-95-3

Mol. formula: C₆H₅NO₂



Nitrobenzene

- infertility of male animals (rat and mouse)
- testis (↓ sperm numbers, testicular atrophy)
- ↑ inhibin secretion of sertoli cells (FSH-HPG)

17

REACHにおいては医薬品とは状況がかなり異なります。通常REACHでは体系的手法があり、その一つがITスクリーニングです。ITスクリーニングには構造の検討、潜在的EDリストの検討等のキーワードがあります。このITスクリーニングを実施後にマニュアルスクリーニングというのがあります。

これまでに約80以上の化学物質を潜在的EDとしてリストアップし、欧州化学物質庁（ECHA）のウェブサイトにて提示しています。例えばニトロベンゼンですが、これはEATS経路によるものではありません。



The OECD Conceptual Framework for Testing and Assessment of Endocrine Disruptors (as revised in 2012) lists the **OECD Test Guidelines and standardized test methods** available, under development or proposed that can be used to evaluate chemicals for endocrine disruption. The Conceptual Framework is intended to provide **a guide to the tests** available which can provide information for endocrine disruptors' assessment but is **not intended to be a testing strategy**. Furthermore, this Conceptual Framework does not include evaluation of **exposure**; however this should be included when deciding whether further testing is needed.

- 1) Five levels; 2) Levels 3-5 are divided into Mammalian and Non-mammalian categories

Level 1 Existing Data and Non-Test Information

- Physical & chemical properties, e.g., M.W., reactivity, volatility, biodegradability-
- All available (eco)toxicological data from standardized or non-standardized tests
- Read across, chemical categories, QSARs and other in silico predictions, and ADME model predictions

ED同定のためのガイダンスの話に進む前に、経済協力開発機構（OECD）概念的フレームワークについてごく簡単に説明します。この概念的フレームワークは、あくまでもツールボックスであって、この中にテストガイドライン（TG）や標準化試験方法が包括されています。試験法は、5段階のレベルに分類されます。

レベル1に含まれるのは、既存あるいは*in silico*の試験方法による知見、他のレベルに該当しない生物試験（*in vivo*）の試験方法も入っています。



Endocrine MOAs/pathways---EATS

Level 2

In vitro assays providing data about selected endocrine mechanism(s) / pathway(s)
(Mammalian and non mammalian methods)

- Estrogen or androgen receptor binding affinity (TG493)
- Estrogen receptor transcriptional activation (TG 455)
- Androgen receptor transcriptional activation (TG458)
- Steroidogenesis in vitro (draft TG 456)
- MCF-7 cell proliferation assays (ER ant/agonist)
- Thyroid transcriptional activation (If/when TGs are available)
- Other assays as appropriate

Mammalian Toxicology

Non-Mammalian Toxicology

Level 3

In vivo assays providing data about selected endocrine mechanism(s) / pathway(s) 1

- Uterotrophic assay (TG 440)
- Hershberger assay (TG 441)

- Xenopus embryo thyroid signalling assay (When/if TG is available)
- Amphibian metamorphosis assay (TG 231)
- Fish Reproductive Screening Assay (TG 229)
- Fish Screening Assay (TG 230)
- Androgenized female stickleback screen (GD 148)

レベル2というのは、試験管内試験 (*in vitro*) の試験方法になります。
レベル3というのは、*in vivo*の試験方法になります。



Level 4

In vivo assays providing data about multiple endocrine mechanisms and effects

- Repeated dose 28-day study (407)
- Male pubertal assay
- Female pubertal assay
- Intact adult male endocrine screening assay
- Repeated dose 90-day study (408)
- 1-generation assay (TG 415)
- Prenatal developmental toxicity study (TG 414)
- Chronic toxicity and carcinogenicity studies (TG 451-3)
- Reproductive screening test (TG 421)
- Combined 28 day/reproductive screening assay (TG 422 if enhanced)
- Developmental neurotoxicity (TG 426)

Level 5

In vivo assays providing more comprehensive data on adverse effects on endocrine relevant endpoints over more extensive parts of the life cycle of the organism²

- Extended one-generation reproductive Toxicity Study (draft TG 443)
- 2-Generation assay (TG 416 most recent update)

- Fish sexual development test(TG 234)
- Fish Reproduction Partial Lifecycle Test (when/If TG is Available)
- Larval Amphibian Growth & Development Assay (when TG is available)
- Avian Reproduction Assay (TG 206)
- Mollusc Partial Lifecycle Assays (when TG is available)
- Chironomid Toxicity Test (TG 218-219)

- FLCTT (Fish LifeCycle Toxicity Test) (when TG is available)
- Medaka Multigeneration Test (MOEGRT. 241)
- Avian 2 generation reproductive toxicity assay (when TG is available)
- Mysid Life Cycle Toxicity Test (when TG is available)
- Copepod Reproduction and Development Test (when TG is available)
- Daphnia Reproduction Test (with male induction) (TG 211)
- Daphnia Multigeneration Assay (if TG is available)
- Sediment Water Chironomid Life Cycle Toxicity Test (TG 233)
- Mollusc Full Lifecycle Assays (when TG is available)

レベル4、レベル5も*in vivo*の試験方法になります。何が違うか。通常レベル3では主として内分泌MOAに関する*in vivo*の情報を得ることを目的としますが、その一部、例えば魚類短期繁殖試験TG229から得られる情報というのは有害性に関するものであり、試験デザインは主としてスクリーニングが目的となります。

レベル4と5との違いは、ライフサイクル試験の期間です。レベル4では通常パーシャルライフサイクル試験を行いますが、レベル5ではフルライフサイクル試験を実施します。



Basis – ED assessment strategy

Basis

- ED criteria (adversity, endocrine activity, biologically plausible link)
- EATS-mediated parameters provide evidence for both endocrine activity and the resulting adverse effects

Grouping parameters for the ED identification

- **Mechanistic:**

 - in vitro—level 2 (e.g. TG 455)

 - in vivo—levels 3, 4, and 5 (e.g. VTG, uterus weight)

- **EATS-mediated**

 - in vivo—levels 4 and 5 (e.g. sex ratio, anogenital distance)

- **EATS-related (Sensitive to, but not diagnostic of, EATS)**

 - in vivo—levels 4 and 5 (e.g. fecundity, brain weight)

さてここからは、ED同定のためのガイダンス案についてお話しします。これは、ECHAと欧州食品安全機関（EFSA）とが作成したフローチャートであり、2つの根拠に基づいています。その1つがED同定クライテリア、そして2つ目の根拠は、OECDガイダンス文書150に相当するEATS経由のエンドポイント又はパラメータです。

このガイダンスでは、様々なパラメータを3つのカテゴリーに分けています。

カテゴリーの1つ目は、メカニズムに関わるもので、*in vitro*も*in vivo*も含みますが、後で事例を説明します。

2つ目は、EATSを経由したエンドポイントまたはパラメータと呼ばれるものです。

3つ目のカテゴリーは、EATS関連エンドポイントであり、感受性は高いけれども判定には向かないというものです。



Mechanistic parameters (*in vitro*)

Test guideline	OECD TG 455	US EPA OPPTS 890.1250 / OECD TG 493 ***	US EPA OPPTS 890.1150	OECD TG 458 **	US EPA OPPTS 890.1200	OECD TG 456 (EU B.57)
Species / <i>in vitro</i> test system	ER TA (human) cells expressing ER α	Binding to rat (EPA) or human (OECD) estrogen receptor	Binding to rat androgen receptor	AR TA (human AR-EcoScreen TM cell line)	Human recombinant microsomes	Human H295R cells
Indicative of:	E	E	A	A	S	S
Androgen receptor binding/transactivation			x	X		
Aromatase					x	
Estrogen receptor binding/transactivation	x	x				
Steroidogenesis (estradiol and/or testosterone synthesis)						x

22

これは、*in vitro*試験の事例のいくつかです。純粋にメカニズ的なエンドポイントです。現段階ではEAS経路についてしかありません。甲状腺（T）経路に対応する試験管内試験はありません。



Parameters in fish assays

Mechanistic

EATS-mediated

Sensitive to, but not diagnostic of, EATS

parameters	229	230	240	234	FFLC	GD148
SSC	x	x	x	x		
VTG	x	x	x	x	x	
Spiggin						x
gonad histology	x		x	x		
sex ratio			x	x	x	
behaviour	x	x	x	x	x	x
length			x	x	x	
morphological abnormalities	x	x	x	x		x
GSI			x			
embryo time to hatch			x			
fecundity, fertility	x		x		x	
survival	x	x	x	x	x	x
larval survival and length				x		
time to maturity						
hatching success			x	x	x	
body weight			x	x	x	x

23

これは魚類試験のエンドポイントですが、1つ目がメカニズム的、2つ目がEATS経由、3つ目が、ご覧のように多くの項目がありますが、EATS関連エンドポイントとして感受性は高いけれども判定には向かないというものです。なお、EATS経由のエンドポイントとしては実のところ生殖腺組織学的検査と性比の2つのみです。



Parameters in amphibian assays

Mechanistic

Parameter name	Indicative of #:	OECD TG 231	OECD TG 241
Hind-limb length	T	X	
Developmental stage	T	X	
Plasma level of VTG	E, A, S		X
Thyroid histopathology (amphibian)*	T	X	X
Histopathology (gonad, reproductive ducts)*	E, A		X
Sex ratio (phenotypic (gonad histology), genetic)	E, A		X
Time to metamorphosis (NF stage 62)	T		X
Body weight	N	X	X
Snout-vent length/Growth	N	X	X
Malformations	N	X	X
Mortality	N	X	X
Behaviour	N	X	X
Histopathology (liver, kidney)*	N		X
Liver weight (liver somatic index,)	N		X

EATS-mediated

Sensitive to, but not diagnostic of, EATS

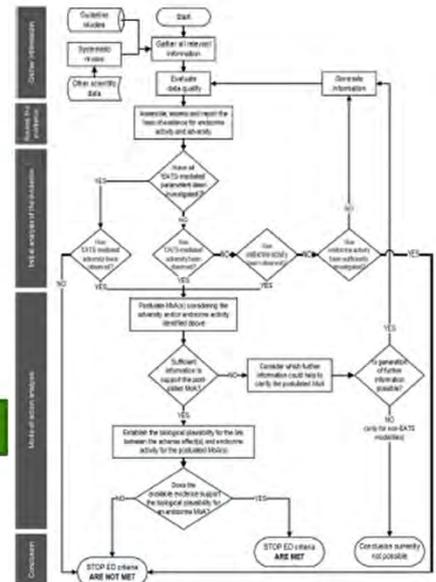
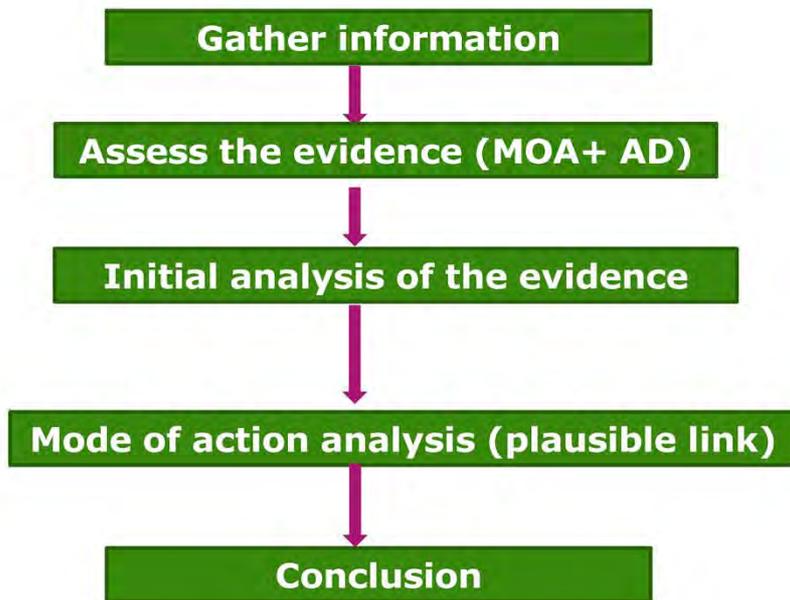
24

魚類については以上で、次に両生類についてですが、同様に3つのカテゴリーのエンドポイントがあります。そして先ほどのカテゴリーと比較しますと、EATS関連エンドポイントとして感度は高いけれども判定には向かないというものは同様に多く、EATS経由のエンドポイントについてはやはり限定的です。

以上が生態影響に関する現況でした。ヒト健康については、具体的な事例をお示しませんが、EATS経由のエンドポイントはEATS関連エンドポイントと比較してもっと多いです。



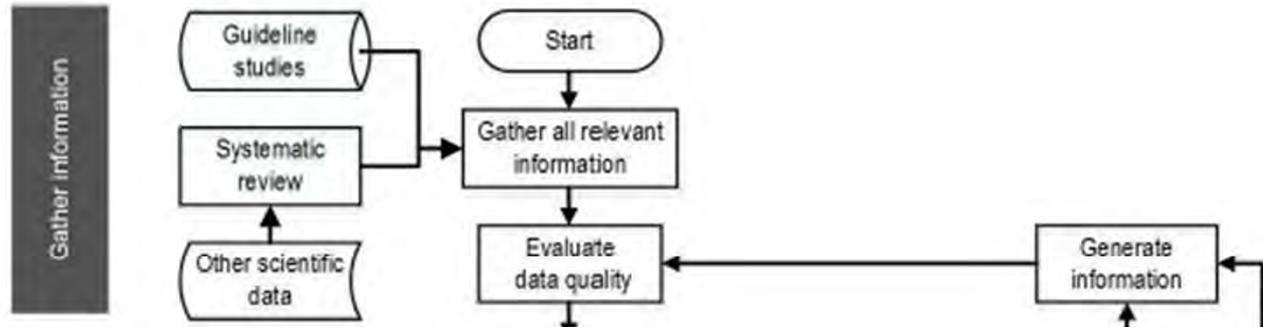
Overview -- ED Assessment Strategy Flowchart



ED評価戦略のガイダンス案全体についてはフローチャートとなっており、幾つかの項目が含まれています。その1つ目が情報収集、2つ目は科学的根拠の評価、3つ目は得られた科学的根拠の一次的な分析、4つ目はMOAに関する分析を行うというものです。4つ目には蓋然性が認められる関連性の評価も含まれています。その上で結論が導き出されますが、このフローチャートについてもう少し詳しく説明します。



Gather all relevant information



- **Data: TGs, other scientific data (*in silico*, epidemio., field)**
 - 1) Adversity and MOA data
 - 2) Excel template for reporting effects (appendix E)
- **Evaluate the data quality (relevance and reliability)**

あらゆる関連情報を収集することですが、それ自体は毒性学やリスク評価の分野においては昔ながらの一般的なやり方です。しかし、今月上旬にブリュッセルで開催されたワークショップにおいて新たな動向がありました。その際に私たちはPPPやBP規制に向けた経験を共有しましたが、データの質、信頼性、*in vitro*データとの関連性を現段階において評価するのは非常に困難であると述べた加盟国もありました。実に多くの試験方法がテストガイドラインに準拠していないからです。すなわち、情報を適正に評価していくためには、試験方法の更なるガイドンス化が必要だという要請でした。



Assess lines of evidence

- **Assembling the line(s) of evidence for adverse effects**
- **Assembling the line(s) of evidence for endocrine activity**
in vitro and in vivo mechanistic information
- **Assessment of the lines of evidence for adverse effects and endocrine activity**

Empirical support:

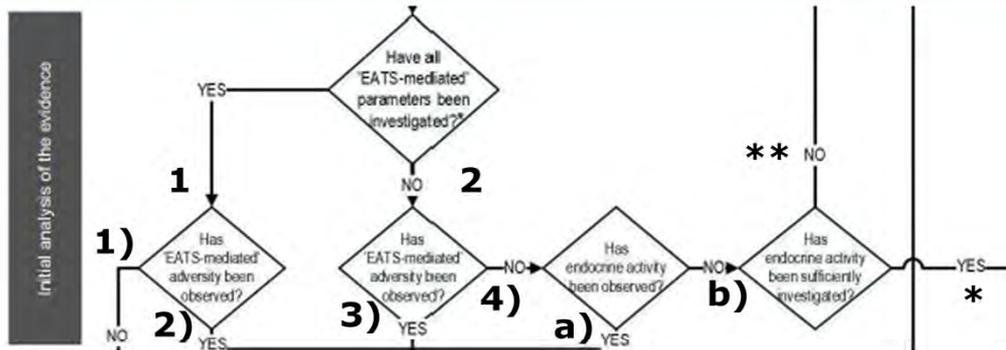
dose-response, temporal concordance, consistency among studies and species and repeatability for the line of evidence.

Expert judgement

- **Reporting the lines of evidence**

Tabular format, examples in the GD

もう一つの部分では、一連の科学的根拠の評価を行うとのですが、ガイダンスではExcelファイルが作られ、有害性と内分泌経路MOAそれぞれの科学的根拠にリンクされています。今月上旬にブリュッセル開催されたワークショップに参加した多くの国々が、このExcelファイルは有用ではあっても、データが多い化学物質についてはExcelファイルでは不十分ではないかとの見解を示しました。



1. EATS-mediated (sufficiently investigated, TG443/240/241)

1) No adversity indicated by EATS-mediated parameters—not ED

2) Adversity indicated by EATS-mediated parameters—MOA analysis (ED)

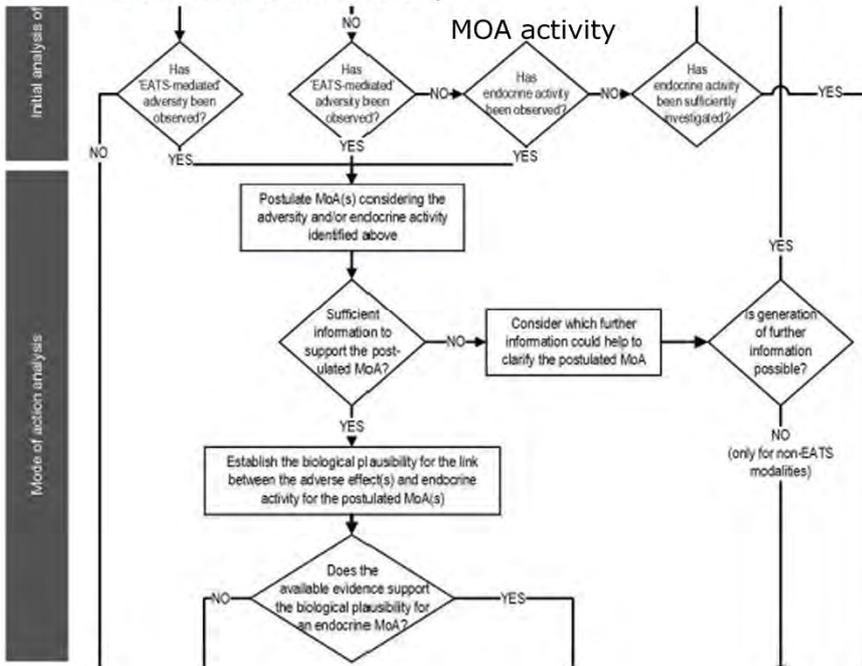
科学的根拠の一次分析については、関連性の蓋然性の分析について主にお話します。ここに2つの判断の流れがあり、一つが有害性がEATSを経由する流れ、もう一つが内分泌活性に着目した判断の流れです。2つの流れを基本として、幾つかのシナリオが存在します。このスライドに示されているとおりですが、時間の関係で詳細については説明を省きます。

MOA analysis- plausible link



1. Postulate MOAs (AOPs) 2. Establish the plausibility

EATS-mediated Adversity



1. Plausibility for the KER
2. Dose response, temporal concordance for the KER
3. Essentiality, consistency, analogy and specificity
4. Human relevance
5. Relevance at population level for non-target organisms.

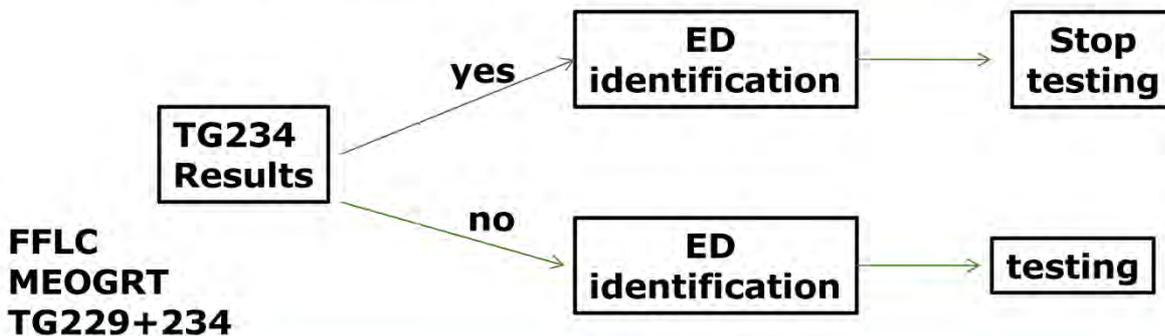
MOA分析をここに示しました。単にMOA分析ということではなく、蓋然性が認められる関連性ということでお示ししています。その根拠となるのがAOP（Adverse Outcome Pathway）です。このようなガイドラインによってMOAがまず確立され、これに従った判断が蓋然性についてなされます。

5点列挙しましたが、重要事象の関連（Key event relationship）に関する蓋然性、用量反応性、経時的一致性をみる。また、必然性、一貫性、類似性、特異性をみる。そして更にもう1つ評価をしなければならないのは、ヒトとの関連性あるいは非標的生物の個体群レベルとの関連性があるかどうかをみる必要があります。



Discussions on TG234

- TG210 as standard information requirement
- When there are ED concerns (e.g. in vitro, in vivo-M)
- TG234 will be suggested.
- Discussion issue over TG234



31

詳細は省略しますが、特に一点だけ触れておきたいと思います。先ほどECHAの標準データ要件の話をしました。内分泌かく乱活性を有する化学物質もあります。その場合、初期生活段階の試験TG210に替えて、直ちに魚類性発達毒性試験TG234を実施するようECHAでは提案しています。そうすればお金も動物も無駄にせず済むでしょう。この図はあくまで戦略の概略ですが。



Substance	Date	ED	Tests reported
4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenol, (4-tert-Octylphenol)	01/08/2011	ER	In vitro, in vivo HH, Env (fish, amphibians, invertebrates)
4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenol, ethoxylated	06/08/2012	ER	No HH, in vitro, in vivo ENV (fish), read-across NP
4-Nonylphenol, branched and linear	06/08/2012	ER	No HH, in vitro, in vivo, Env (fish, amphibians, invertebrates)
4-Nonylphenol, branched and linear, ethoxylated	04/02/2013	ER	No HH, in vitro, in vivo (fish)
Benzyl butyl phthalate (BBP)	04/08/2014	S	In vitro, in vivo HH, Env (fish, amphibians, invertebrates)
Bis (2-ethylhexyl)phthalate (DEHP)	04/08/2014	S, ER	In vitro, in vivo HH, Env (fish, amphibians, invertebrates)
Dibutyl phthalate (DBP)	04/08/2014	S	In vitro, in vivo HH, Env (fish, amphibians)
Diisobutyl phthalate (DIBP)	04/08/2014	S	In vitro, in vivo HH, Env (fish, amphibians)
Dicyclohexyl phthalate (DCHP)	03/08/2015	S, ER/T	In vitro, in vivo, HH, daphnia

ECHAウェブサイトでは高懸念物質（SVHC）リストを提示しています。EDの特性を有する物質として、これまでこのような化学物質が同定されてきました。これまで述べたクライテリアを根拠としています。EDのリストとしてはインターネット上で色々異なったものが掲載されていると思います。異なる選択基準に基づいていて、ECHAのED同定クライテリアには全く合致しないものもあるでしょう。



Substance of very high concern (SVHC)

- CMR (57a, carcinogenic; 57b, mutagenic; 57c, toxic for reproduction)
- PBT/vPvB (57d)
- Article 57 (f) substances - such as those having **endocrine disrupting properties** [...] for which there is scientific evidence of probable **serious effects to human health or the environment** which give rise to an **equivalent level of concern to those ...** [PBT, vPvB, CMR]

Discussions on the added value for 57f

- CMR, category 2
- Non-CMR endpoints, STOT RE
- RA (NMDR, low dose)
- Further testing

33

もう一点考慮すべきは、REACH規制において、ある物質が既に生殖毒性として分類されている場合、その物質がEDであるかの検討を更に実施するかどうかです。REACHでは、条項 (Article) 57fがEDについて規定しています「同等程度の懸念を生じさせる」化学物質であるとしていますが、REACHでよく議論されるのは、何がこのような内容、57fへの付加的な評価となるのかについてです。「57fへの付加的な価値に関する議論」として列挙しましたが、CMRカテゴリー1A及び1Bに該当する場合のみSVHCリストに入るべきであり、カテゴリー2に該当する物質は含めるべきではないと言われています。つまり、本当に内分泌かく乱物質があるのかどうかをみて、その上でSVHCとしての検討が必要ということでしょう。その他、非単調用量関係、低用量影響、反復投与毒性、重篤性などについても検討する必要があります。



Regulating EDs (REACH)

Adequate Control Route (threshold)

Must show that risk from use is adequately controlled i.e., $RCR < 1$
Exposure < Derived No-Effect Level (DNEL) or Predicted No Effect Concentration (PNEC)

Socio-economic Route (non-threshold)

- Socio-economic benefits outweigh risk
- No suitable alternatives

REACHでのED規制では2つの認可ルートが検討されます。

1つは、適切な規制ができるかどうかということであり、この場合は閾値があつて、1を超える場合は認可しないという判断が下されることとなります。

もう1つは、閾値が適用できない化学物質の場合です。通常、社会経済学的な解析を行うルートがとられます。EDについては、多くの場合この社会経済学的なルートが選ばれ、つまり閾値のない化学物質という判断がなされます。



Conclusions

- **Regulating EDs—Hazard & Risk approach** (Legal framework dependent)
- **Standard data requirements focus on adverse effects.**
- **ED concerns** – beyond the scope of EATS
- **Criteria and Guidance – BPR/PPPR** (EATS, vertebrates)
- **Regulating EDs– learning by doing** (REACH)

御覧いただいているのが結論であります。詳細は省略します。



Thank you for your attention!



御清聴ありがとうございました。