

令和3年度及び令和4年度化学物質の内分泌かく乱作用に関する第2段階生物試験 (17 β -エストラジオール)の試験結果について(概要版)

1. 令和3年度及び令和4年度に実施した試験結果について

第2段階生物試験として、17 β -エストラジオール(CAS No. 50-28-2、(8R,9S,13S,14S,17S)-13-メチル-6,7,8,9,11,12,14,15,16,17-デカヒドロジクロペンタ[a]フェナントレン-3,17-ジオール)について、メダカ拡張1世代繁殖試験(MEOGRT: OECD TG240)を実施した。

メダカ(*Oryzias latipes*)を用い、1.07、3.22、8.21、25.7、84.4ng/L(実測値)のばく露濃度で試験(全ばく露期間：19週間)を行った。

本試験は、テストガイドラインが規定する試験有効性基準をすべて満たしていた。

(1) F0世代(ばく露期間：4週間)

対照区及び曝露区の生存個体数、雌雄の全長、雄の体重、総産卵数、受精卵数、雌雄の生殖腺体指数、雌雄の肝臓体指数、雌雄の二次性徴には有意な変化は認められなかった。

25.7ng/L以上のばく露群において、雌雄の肝臓中ビテロゲニン濃度には統計学的に有意な高値が認められ、受精率には統計学的に有意な低値が認められた。

84.4ng/Lのばく露群において、雌の体重には統計学的に有意な低値が認められた。

(2) F1世代(ばく露期間：16週間)

対照区及び曝露区のみ化日数、生存率(21日目、9週齢、成熟個体)、雌の肝臓体指数(10週齢)、雌の二次性徴(10週齢、成熟個体において尻びれに乳頭状小突起が形成されなかった)、肝臓中ビテロゲニン濃度(成熟個体)に統計学的には有意な変化は認められなかった。

1.07ng/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(10週齢)には統計学的に有意な高値が認められた。

3.22ng/L以上のばく露群において、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度(10週齢)、雄の肝臓中ビテロゲニン濃度(成熟個体)には統計学的に有意な高値が認められた。

8.21ng/L以上のばく露群において、雄の全長(10週齢、成熟個体)、雄の肝臓体指数(成熟個体)には統計学的に有意な高値が認められ、総産卵数、受精卵数、受精率、雌の体重(成熟個体)、雄の二次性徴(成熟個体、尻びれに形成される乳頭状小突起)には統計学的に有意な低値が認められた。

25.7ng/L以上のばく露群において、雄の体重(10週齢、成熟個体)、雄の肝臓体指数(10

週齢)には統計学的に有意な高値が認められ、雌の体重(10 週齢)、雄の二次性徴(10 週齢)、雌の全長(成熟個体)、雌の肝臓体指数(成熟個体)には統計学的に有意な低値が認められた。

84.4ng/L のばく露群において、雄の生殖腺体指数(10 週齢)には統計学的に有意な高値が認められ、ふ化率、ふ化後生存率(14 日目)、雌の全長(10 週齢)、雌の生殖腺体指数(10 週齢)、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度(成熟個体)には統計学的に有意な低値が認められた。

(3) F2 世代(ばく露期間：2 週間)

対照区及び曝露区のみ化率、ふ化日数に統計学的に有意な変化は認められなかった。
25.7ng/L 以上のばく露群において、F2 世代は得られなかった。

2. 試験結果のまとめ

17 β -エストラジオールについては、エストロゲン（女性ホルモン）でありエストロゲン作用を持つことは自明である。

平成 29 年度に実施したメダカエストロゲン受容体 α レポーター遺伝子試験の結果として EC₅₀ 値は、 1.6×10^{-10} M で、17 β -エストラジオールに対する相対活性比は、1.0 であった。

今回の試験結果において、死亡(ふ化率の低値)が認められなかった濃度範囲(84.4ng/L 未満)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には統計学的に有意な高値が認められ、メダカに対してエストロゲン作用を持つことが確認された。

また、同年度に実施したメダカアンドロゲン受容体 β レポーター遺伝子試験の結果としてアンドロゲン作用は陰性であったが、抗アンドロゲン作用は陽性 (IC₅₀ 値は、 1.4×10^{-6} M で、2-ヒドロキシフルタミドに対する相対活性比は、0.45 であった) であった。

今回の試験結果において、F1 世代において雄の二次性徴の低値が認められ、抗アンドロゲン作用を持つことが疑われた。

8.21ng/L 以上のばく露群において総産卵数、受精卵数及び受精率並びに雌の体重には統計学的に有意な低値が認められたことから、メダカの繁殖及び成長に対する有害性を示すことが認められた。

なお、過年度に第 1 段階生物試験として実施したメダカを用いた魚類短期繁殖試験 (OECD TG229)では、553ng/L のばく露群において総産卵数、受精卵数、受精率には統計学的に有意な低値が認められていた(添付資料参照)。

また、この試験結果から、17 β -エストラジオールはメダカに対してエストロゲン作用を示すことが確認されたとともに、本物質がメダカの繁殖及び成長に及ぼす影響に関する最低影響濃度(LOEC)として、8.21ng/L が得られた。

メダカの繁殖及び成長に対する有害性が示唆されたばく露濃度 8.21ng/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 1.7ng/L の約 5 倍

であった。

また、メダカの繁殖及び成長に対する有害性が示唆されなかったばく露濃度 (NOEC)3.22ng/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 1.7ng/L の約 2 倍であった。

(別添)

メダカ拡張1世代繁殖試験結果(MEOGRT: OECD TG240)

17β-エストラジオール

実施機関：国立環境研究所

1. F0世代

表 1-A 試験結果

平均濃度実測値 (ng/L)	試験個体数		生存個体数		全長(mm)		体重(mg)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	12	12	11	12	34.7 ± 1.5	34.4 ± 1.5	469 ± 55	587 ± 66
1.07	6	6	6	5	35.4 ± 1.6	35.1 ± 0.8	478 ± 78	590 ± 46
3.22	6	6	6	6	35.2 ± 1.3	34.5 ± 0.9	465 ± 54	590 ± 50
8.21	6	6	6	6	34.1 ± 0.9	35.4 ± 0.9	437 ± 56	622 ± 25
25.7	6	6	6	6	35.3 ± 1.3	34.8 ± 1.1	498 ± 54	598 ± 51
84.4	6	6	6	6	35.6 ± 1.5	33.5 ± 0.9	493 ± 59	513 ± 30*

表 1-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	総産卵数 (eggs/day/pair)	受精卵数 (eggs/day/pair)	受精率 (%)	生殖腺体指数 (%)	
				雄	雌
対照区	35.4 ± 5.3	34.9 ± 5.4	98.5 ± 1.0	1.0 ± 0.3	10.6 ± 1.5
1.07	34.9 ± 5.2	34.5 ± 5.1	98.9 ± 0.4	1.2 ± 0.3	9.6 ± 1.1
3.22	36.1 ± 11.0	34.7 ± 12.8	93.0 ± 14.1	1.1 ± 0.2	11.0 ± 2.6
8.21	40.4 ± 2.0	39.0 ± 2.5	96.9 ± 2.7	1.1 ± 0.3	11.3 ± 1.0
25.7	37.4 ± 2.9	36.6 ± 2.9	97.9 ± 0.8*	1.1 ± 0.2	9.5 ± 0.7
84.4	36.3 ± 3.9	35.6 ± 4.1	97.9 ± 1.3*	0.7 ± 0.2	9.2 ± 1.7

表 1-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	肝臓体指数 (%)		ビテログニン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	2.2 ± 0.6	5.2 ± 1.2	8.7 ± 20.9	228 ± 75	109 ± 14	0
1.07	2.1 ± 0.8	5.5 ± 0.4	8.0 ± 12.1	237 ± 46	117 ± 9	0
3.22	2.0 ± 0.5	5.3 ± 0.3	38.4 ± 88.0	270 ± 110	112 ± 17	0
8.21	1.8 ± 0.3	5.3 ± 1.3	61.1 ± 69.9	250 ± 67	110 ± 9	0
25.7	2.2 ± 1.0	4.7 ± 1.0	293 ± 248**	1,330 ± 2,410*	104 ± 11	0
84.4	2.6 ± 0.7	5.8 ± 2.0	3,110 ± 995**	4,580 ± 6,780**	121 ± 12	0

2. 1. F1世代(胚～稚魚期)

表 2-A 試験結果

平均濃度実測値 (ng/L)	ふ化率 (%)	ふ化日数 (day)	ふ化後生存率 (%) (14日目)
対照区	98.3 ± 3.3	7.2 ± 0.1	98.3 ± 3.3
1.07	99.2 ± 2.0	7.1 ± 0.1	99.2 ± 2.0
3.22	99.2 ± 2.0	7.3 ± 0.1	99.2 ± 2.0
8.21	98.3 ± 2.6	7.0 ± 0.0	98.3 ± 2.6
25.7	97.5 ± 2.8	7.2 ± 0.2	97.5 ± 2.7
84.4	95.8 ± 3.8*	7.3 ± 0.2	95.8 ± 3.8*

表 2-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	生存率 (%)		全長(mm)(10週齢)		体重(mg)(10週齢)	
	(21日目)	(9週目)	雄	雌	雄	雌
対照区	100 ± 0	100 ± 0	28.3 ± 0.6	29.0 ± 0.4	269 ± 25	347 ± 14
1.07	100 ± 0	98.6 ± 3.4	28.6 ± 0.5	29.5 ± 0.4	271 ± 22	365 ± 12
3.22	100 ± 0	100 ± 0	28.8 ± 0.4	29.6 ± 0.6	265 ± 17	351 ± 24
8.21	100 ± 0	100 ± 0	28.8 ± 1.0**	29.2 ± 0.3	281 ± 24	338 ± 18
25.7	100 ± 0	100 ± 0	29.7 ± 0.4**	28.3 ± 0.3	338 ± 34**	322 ± 17**
84.4	100 ± 0	100 ± 0	28.6 ± 0.7**	27.9 ± 1.5*	305 ± 18**	313 ± 51**

表 2-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	肝臓体指数 (%)		ビテロゲン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	2.2 ± 0.3	5.4 ± 0.5	1.52 ± 0.27	571 ± 175	90 ± 10	0
1.07	2.2 ± 0.2	5.1 ± 0.6	2.18 ± 0.46*	603 ± 195	84 ± 6	0
3.22	2.1 ± 0.3	5.0 ± 0.4	2.58 ± 1.09**	962 ± 374*	95 ± 6	0
8.21	2.6 ± 0.3	5.1 ± 0.8	62.2 ± 48.7**	754 ± 62**	85 ± 14	0
25.7	4.7 ± 0.4**	5.3 ± 0.6	1,290 ± 62**	701 ± 208*	0 ± 0**	0
84.4	5.3 ± 0.4**	5.1 ± 0.9	2,740 ± 1,068**	2,320 ± 1,510**	0 ± 0**	0

表 2-D 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	生殖腺体指数 (%)	
	雄	雌
対照区	1.1 ± 0.3	8.8 ± 1.7
1.07	1.3 ± 0.3	10.8 ± 1.4
3.22	1.3 ± 0.1	10.3 ± 1.3
8.21	1.3 ± 0.2	11.2 ± 2.2
25.7	0.8 ± 0.2	11.6 ± 2.6
84.4	4.3 ± 1.9**	5.9 ± 2.8**

2. 2. F1世代(成熟個体)

表 2-E 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	生存率 (%)		全長(mm)		体重(mg)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	92	100	35.8± 1.4	36.7± 1.0	461± 62	618 ± 67
1.07	100	92	36.3± 1.3	37.0 ± 0.6	466± 62	624 ± 87
3.22	100	100	36.3± 1.1	37.4± 1.2	443± 48	593 ± 36
8.21	100	100	37.9± 1.7**	35.7± 1.0	544± 98	539 ± 47**
25.7	100	92	42.3± 2.1**	34.2± 0.9*	864 ± 90**	524 ± 45**
84.4	91	91	36.0± 0.9**	34.6± 1.5*	597 ± 79**	548 ± 72**

表 2-F 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	総産卵数 (eggs/day/pair)	受精卵数 (eggs/day/pair)	受精率 (%)	生殖腺体指数 (%)	
				雄	雌
対照区	44.0 ± 5.9	43.3 ± 5.9	98.3± 1.4	NA	NA
1.07	43.7 ± 5.6	42.5 ± 5.6	97.4± 2.4	NA	NA
3.22	49.1 ± 3.7	47.7 ± 4.4	97.0± 3.0	NA	NA
8.21	37.2 ± 10.4**	35.8 ± 10.9**	94.2± 8.1*	NA	NA
25.7	0.0 ± 0.0**	0.0 ± 0.0**	0.0 ± 0.0**	NA	NA
84.4	0.6 ± 1.1**	0.0 ± 0.0**	0.0 ± 0.0**	NA	NA

表 2-G 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	肝臓体指数 (%)		ビテロゲン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	1.8± 0.5	4.8 ± 1.0	4.64 ± 7.59	389 ± 96	121 ± 21	0
1.07	1.7 ± 0.3	4.9 ± 0.4	5.82 ± 8.04	398 ± 258	128 ± 20	0
3.22	1.7 ± 0.3	5.1 ± 0.5	47.9 ± 106*	282 ± 73	120 ± 15	0
8.21	2.1 ± 0.4*	5.3 ± 0.7	100 ± 78**	309 ± 60	102 ± 16**	0
25.7	3.4 ± 0.9**	3.4 ± 0.8*	948 ± 490**	390 ± 142	0 ± 0**	0
84.4	3.5 ± 0.6**	3.5 ± 0.3**	401 ± 171**	349 ± 187*	0 ± 0**	0

3. F2世代(胚、仔魚期)

表 3-A 試験結果

平均濃度実測値 (ng/L)	ふ化率 (%)	ふ化日数 (day)	ふ化後生存率 (%)	生存率 (%) (受精16日後)
対照区	96.7 ± 4.4	7.1 ± 0.1	NA	NA
1.07	98.3 ± 2.6	7.1 ± 0.1	NA	NA
3.22	91.7 ± 9.8	7.1 ± 0.1	NA	NA
8.21	96.7 ± 4.1	7.2 ± 0.2	NA	NA
25.7	NA	NA	NA	NA
84.4	NA	NA	NA	NA

結果は平均値±標準偏差。

有意差水準 (* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$)。

ビテロゲン濃度のND は未検出 (< 1 ng/mg liver)。

NA: not available

二次性徴：尻びれに形成される乳頭状小突起を有する節板数

有効数字は測定精度を考慮して、

- ・ふ化率・ふ化後生存率・生存率は2桁（ただし1の位までとする）
- ・肝臓体指数及び生殖腺体指数は、1未満は1桁、1以上は2桁
- ・それ以外のエンドポイントは3桁（ただし二次性徴は1の位まで、ビテロゲンは小数点以下2桁までとする）
- ・標準偏差の桁数は平均値の位に合わせる