

## 平成 14 年度及び平成 15 年度選定物質を対象とした

### 生態系への内分泌かく乱作用による影響に関する

#### 魚類を用いた試験結果と今後の方針（案）

##### ・平成 14 年度優先物質の試験結果について

##### 1．試験結果の評価を保留した項目と対応

平成 14 年度優先物質の試験結果については平成 16 年度第 1 回内分泌攪乱化学物質問題検討会(平成 16 年 7 月 27 日開催)において、*o,p'*-DDT について、弱いながらもメダカエストロジェン受容体(ER<sub>α</sub> 及び ER<sub>β</sub>)との結合性が認められるとともに、用量相関的な肝臓中ビテロジェニン濃度及び精巣卵出現率の統計学的に有意な高値が認められたため、今後、確定試験として環境中濃度を考慮したフルライフサイクル試験を実施し、その結果を踏まえて評価を行うこととしていた。

今般、メダカを用いた試験(ビテロジェニンアッセイ、パーシャルライフサイクル試験及びフルライフサイクル試験)及び試験管内(*in vitro*)試験の結果を踏まえて、*o,p'*-DDT の試験結果の評価を行った。

##### 2．*o,p'*-DDT の試験結果

##### (1)メダカを用いた試験

##### ビテロジェニンアッセイ

0.373、0.800、1.50、3.20、6.55 μg/L(実測値)の曝露濃度において肝臓中ビテロジェニン濃度は曝露濃度の上昇と共に増加し、曝露 14 日後の 3.20 μg/L 以上の曝露群及び曝露 21 日後の 1.50 μg/L 以上の曝露群において統計学的に有意な高値が認められた。

なお、曝露 21 日後の 6.55 μg/L の曝露群において肝指数の統計学的に有意な高値が認められた。

##### パーシャルライフサイクル試験

0.195、0.366、0.830、1.69、3.36 μg/L(実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、死亡率及び体重に統計学的に有意な変化は認められなかった。

3.36 μg/L の曝露群において、生殖腺を観察した結果、性染色体では雄と判定された個体(20 尾中 9 尾)において精巣を有する個体が多かったため、雄の生殖腺指数、精巣卵出現率、肝指数及び肝臓中ビテロジェニン濃度は測定できな

かった。

1.69 µg/L 以下の曝露群の雄において、生殖腺指数、肝指数及び肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

生殖腺の組織学的検査では、0.195 µg/L 及び 0.830 µg/L 以上の曝露群において精巣卵の個体がみられ、曝露濃度の上昇と共に増加した精巣卵出現率に統計学的に有意な高値が認められた。

雌の肝臓中ビテロジェニン濃度は曝露濃度の上昇と共に増加し、0.830 µg/L 以上の曝露群において統計学的に有意な高値が認められた。

1.69 µg/L 以上の曝露群の雌において、生殖腺指数の統計学的に有意な低値が認められた。

0.830 µg/L の曝露群において、孵化日数の統計学的に有意な高値(遅延)が認められた。

0.830 µg/L の曝露群において、全長の統計学的に有意な高値及び 3.36 µg/L の曝露群において、全長の統計学的に有意な低値が認められた。

3.36 µg/L の曝露群の雌において、肝指数の統計学的に有意な高値が認められた。

#### フルライフサイクル試験

0.0153、0.0474、0.145、0.522、1.94 µg/L(実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、F<sub>0</sub> 世代の孵化率、孵化日数、死亡率、全長、体重、産卵数、生殖腺指数及び肝指数、F<sub>1</sub> 世代の孵化率、死亡率、体重、雌の肝指数及び雌雄の肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

1.94 µg/L の曝露群において、二次性徴を示す雄が存在しなかったため、F<sub>0</sub> 世代の繁殖に関する産卵数、受精率、生殖腺指数、肝指数及び肝臓中ビテロジェニン濃度、F<sub>1</sub> 世代の孵化率、孵化日数、死亡率、全長、体重、生殖腺の組織学的検査、肝指数及び肝臓中ビテロジェニン濃度は測定できなかった。

F<sub>0</sub> 世代の受精率には、0.522 µg/L の曝露群において統計学的に有意な低値が認められた。

雌雄の肝臓中ビテロジェニン濃度については、0.522 µg/L の曝露群において統計学的に有意な高値が認められた。

生殖腺の組織学的検査では、0.522 µg/L 以上の曝露群において精巣卵の個体がみられ、曝露濃度の上昇と共に増加した精巣卵出現率に統計学的に有意な高値が認められた。

F<sub>1</sub> 世代の孵化日数は、0.0474 µg/L 以上の曝露群において統計学的に有意な高値(遅延)が認められた。

0.0474 µg/L 曝露群において、全長の統計学的に有意な高値が認められた。

0.0474 µg/L 曝露群の雄において、肝指数の統計学的に有意な低値が認められた。

生殖腺の組織学的検査では、0.522 µg/L の曝露群において精巣卵の個体がみ

られ、精巣卵出現率に統計学的に有意な高値が認められた。

### (2) 試験管内 (*in vitro*) 試験

メダカエストロジェン受容体(ER $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体(ER $\alpha$  及び ER $\beta$ ) レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験を行った。

その結果、メダカエストロジェン受容体(ER $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 結合競合阻害試験では、エストラジオールに対する相対結合強度は約 1/190(ER $\alpha$ ) 及び約 1/590(ER $\beta$ ) であった。メダカエストロジェン受容体(ER $\alpha$ ) レポータージーン試験では、ER $\alpha$  に対する活性は認められたが、IC<sub>50</sub> 値は得られなかった。メダカエストロジェン受容体(ER $\beta$ ) レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験においては、有意な反応は認められなかった。

### (3) 現時点での有害性評価と今後の方針

以上のとおり、*o,p'*-DDT については、ビテロジェニンアッセイ及びパーシャルライフサイクル試験結果において、雌雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の上昇、雄に精巣卵の出現、孵化日数の遅延が統計学的に有意に認められていた。今回実施した環境中濃度を考慮したフルライフサイクル試験結果においては、雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の上昇、雄に精巣卵の出現、受精率の低値、孵化日数の遅延が統計学的に有意に認められた。

試験管内 (*in vitro*) 試験において、メダカエストロジェンレセプター $\alpha$  との結合強度はビスフェノールAの1.1倍、4-ノニルフェノール(分岐型)の約1/15、4-t-オクチルフェノールの約1/30、17 $\beta$ -エストラジオールの約1/190(0.54%)であった(ビスフェノールAの相対結合強度は、17 $\beta$ -エストラジオールの約1/210(0.48%)で、4-ノニルフェノール(分岐型)の相対結合強度は、17 $\beta$ -エストラジオールの約1/12(8.1%)で、4-t-オクチルフェノールの相対結合強度は、17 $\beta$ -エストラジオールの約1/6(16%))。メダカエストロジェンレセプター $\beta$  との結合強度はビスフェノールAの約1/2、4-ノニルフェノール(分岐型)及び4-t-オクチルフェノールの約1/5程度、17 $\beta$ -エストラジオールの約1/590(0.17%)であった(ビスフェノールAの相対結合強度は、17 $\beta$ -エストラジオールの約1/320(0.31%)で、4-ノニルフェノール(分岐型)及び4-t-オクチルフェノールの相対結合強度は、17 $\beta$ -エストラジオールの約1/120(0.83%))。

これらの結果より、本物質が魚類に対して内分泌かく乱作用を有することが推察された。

精巣卵の出現が統計学的に有意に認められた曝露濃度は、パーシャルライフサイクル試験においては0.195  $\mu$ g/L 及び0.830  $\mu$ g/L 以上、フルライフサイクル試験においては0.522  $\mu$ g/L 以上であった。

曝露群ごとの精巣卵が認められた個体のみの生殖腺スコアの平均値では、パーシャルライフサイクル試験の0.195  $\mu$ g/L で1.4、0.830  $\mu$ g/L で1.6、1.69  $\mu$ g/L

で 3.7、フルライフサイクル試験の  $F_0$  世代の  $0.522 \mu\text{g/L}$  で 1.8、 $1.94 \mu\text{g/L}$  で 3.9、 $F_1$  世代の  $0.522 \mu\text{g/L}$  で 1.8 であった。

生殖腺スコア 2 以上において受精率への影響が認められた知見から(別添 1 参照)、最小作用濃度 LOEC は  $1.69 \mu\text{g/L}$ 、最大無作用濃度 NOEC はパーシャルライフサイクル試験の結果からは  $0.366 \mu\text{g/L}$ 、フルライフサイクル試験の結果からは  $0.145 \mu\text{g/L}$  と考えられた。

本物質については、既に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている。

<参考> 環境中濃度と本試験結果から推定された無影響濃度との比較

#### (1) 環境実態調査

環境省(庁)が実施した「平成10年度環境ホルモン緊急全国一斉調査」、「平成12年度環境ホルモン全国一斉調査」、「平成13年度、平成14年度及び平成15年度環境実態調査」において、全国のべ1,383地点について水質、底質、土壌、水生生物、野生生物の環境中濃度を測定した。

##### 水質調査結果

水質調査では6年間でのべ247地点で測定が行われ、全地点で未検出であった。なお、検出下限値は、 $0.025 \sim 0.05 \mu\text{g/L}$ であった。

##### 底質調査結果

底質調査では6年間でのべ114地点で測定が行われ、全地点で未検出であった。なお、検出下限値は、 $5 \mu\text{g/kg}$ であった。

##### 土壌調査結果

平成10年度に実施された土壌調査では101地点中3地点で検出され(検出率3%)、濃度範囲:ND( $< 5 \sim 10$ ) $\sim 125 \mu\text{g/kg-dry}$ であった。

##### 水生生物調査結果

平成10年度に実施された水生生物調査では48地点で測定が行われ、全地点で未検出であった。なお、検出下限値は、 $5 \mu\text{g/kg}$ であった。

#### (2) POPsモニタリング調査

環境省が実施した「平成14年度及び平成15年度 POPsモニタリング調査」において、全国のべ348地点について水質、底質、生物、大気的环境中濃度を測定した。

##### 水質調査結果

水質調査では2年間でのべ74地点、150検体中74地点、150検体で検出

され(検出率100%)、濃度範囲は、0.19 ~ 100p g /L(0.00000019 ~ 0.0001 μ g /L)であった。

#### 底質調査結果

底質調査では2年間でのべ125地点、375検体中124地点、368検体で検出され(検出率98%)、濃度範囲は、ND ~ 27 μ g/kg-dryであった。

#### 大気調査結果

大気調査では2年間でのべ68地点、136検体中68地点、136検体で検出され(検出率100%)、濃度範囲:0.00041 ~ 0.04ng/m<sup>3</sup>であった。

#### 生物調査結果

生物調査では2年間でのべ46地点、228検体中46地点、226検体で検出され(検出率99%)、濃度範囲はND ~ 2.3 μ g/kg-wet であった。

### (3) 環境中濃度の最高値と本試験結果から推定された無影響濃度との比較

環境実態調査及びPOPsモニタリング調査において測定された最高値は0.0001 μ g/Lである。

ノニルフェノール等のリスク評価結果を参考とし、最大無作用濃度NOECの1/10に当たる0.0145 μ g/Lを本試験結果から推定された無影響濃度と想定した。

環境中濃度の最高値0.0001 μ g/Lは、本試験結果から推定された無影響濃度0.0145 μ g/Lを下回っており(1/145)、現実的なリスクは低いと考えられた。

## 2. まとめ

*o,p'*-DDT について行った「メダカを用いた試験」及び「試験管内(*in vitro*)試験」の結果等について取りまとめを行った。

その結果として、*o,p'*-DDT については、魚類に対して内分泌かく乱作用を有することが推察された。なお、*o,p'*-DDT の環境中濃度の最高値は、本試験結果から推定された無影響濃度を下回っており、現実的なリスクは低いと考えられた。*o,p'*-DDT については、既に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs条約)の対象物質となっている\*。

\*詳細については、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約に基づく国内実施計画」(平成17年6月)を参照。

## ・平成 15 年度優先物質の試験結果について

### 1. アルドリン

#### (1) メダカを用いた試験

##### ビテロジェニンアッセイ

2.02、3.28、7.34、15.1、28.6  $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度において肝指数には統計学的な有意な差は認められなかった。肝臓中ビテロジェニン濃度は曝露 21 日後の 15.1  $\mu\text{g/L}$  曝露群において統計学的に有意な高値が認められた。

28.6  $\mu\text{g/L}$  の曝露群において、曝露 14 日までに 93%の個体が死亡し、生残個体の剖検を実施したため、曝露 21 日後の肝臓中ビテロジェニン濃度及び肝指数は測定できなかった。

##### パーシャルライフサイクル試験

0.069、0.225、0.686、2.23、7.10  $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、体重、雌の肝指数及び雌の肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

0.069  $\mu\text{g/L}$  以上の曝露群の雄において肝指数の統計学的に有意な低値が認められた。

0.069、0.225、2.23 及び 7.10  $\mu\text{g/L}$  曝露群の雌において生殖腺指数の統計学的に有意な高値が認められた。

0.069、0.686 及び 2.23  $\mu\text{g/L}$  曝露群の雄において、肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値が認められた。

0.225  $\mu\text{g/L}$  以上の曝露群において死亡率の統計学的に有意な高値が認められた。

0.225 及び 0.686  $\mu\text{g/L}$  曝露群の雄において生殖腺指数の統計学的に有意な高値が認められた。

0.225 及び 2.23  $\mu\text{g/L}$  曝露群において、全長の統計学的に有意な高値が認められた。

0.686  $\mu\text{g/L}$  曝露群において、孵化日数の統計学的に有意な高値(遅延)が認められた。

生殖腺の組織学的検査では、助剤対照区及び 0.225  $\mu\text{g/L}$  の曝露群において統計学的な有意差は認められなかったが、精巣卵の個体が僅かに認められた。

#### (2) 試験管内(*in vitro*)試験

メダカエストロジェン受容体(ER )結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体(ER 及び ER )レポーター遺伝子試験及びメダカアンドロジェン受容体レポーター遺伝子試験を行った。

その結果、メダカエストロジェン受容体(ER 及び ER )結合競合阻害試験では、エストラジオールに対する相対結合強度は 1/340(ER )及び 1/4,000(ER )

であった。メダカエストロゲン受容体(ER<sub>α</sub> 及び ER<sub>β</sub>)レポーター遺伝子試験及びメダカアンドロゲン受容体レポーター遺伝子試験においては、有意な反応は認められなかった。

### (3) 試験結果のまとめと今後の方針

以上のとおり、アルドリンについては、ビテロジェニンアッセイにおいて雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値(1.8ng/mg liver)が認められるとともにパーシャルライフサイクル試験において雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値(11ng/mg liver)が認められたが、平成 14 年度に行った追加試験の結果(別添 3 参照)を踏まえると、受精率に明らかな悪影響を与えるとは考えられなかった。また、助剤対照区及び曝露群において用量相関性もなく、低頻度で統計学的な有意差は認められない精巣卵(曝露群ごとの精巣卵が認められた個体のみ)の生殖腺スコアの平均値 1.7 及び 1.1)がみられたが、平成 14 年度に行った追加試験の結果(別添 1 参照)を踏まえると、受精率に悪影響を与えるとは考えられず、今回の試験結果において、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

アルドリンについては、「化学物質の環境リスク評価 第 1 巻」の中で行われた生態リスク初期評価において、「予測環境中濃度(PEC)と予測無影響濃度(PNEC)との比は、淡水域では 0.08 未満となるため、現時点では作業は必要ないと考えられる。海水域ではこの比が 42 未満となるため、現時点では生態リスクの判定はできない」と評価されている。アルドリンについては、既に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている\*。

\*詳細については、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約に基づく国内実施計画」(平成 17 年 6 月)を参照。

## 2. エンドリン

### (1) メダカを用いた試験

#### ビテロジェニンアッセイ

0.037、0.075、0.144、0.309、0.648 µg/L(実測値)の曝露濃度において肝臓中ビテロジェニン濃度及び肝指数には統計学的に有意な変化は認められなかった。

0.648 µg/L の曝露群において、曝露 14 日までに 83%の個体が死亡し、生残個体の剖検を実施したため、曝露 21 日後の肝臓中ビテロジェニン濃度及び肝指数は測定できなかった。

#### パーシャルライフサイクル試験

0.00188、0.0058、0.0178、0.0562、0.19 µg/L(実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、孵化日数、死亡率、体重、生殖腺指数、生殖腺の組織

学的検査、肝指数及び雌の肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

0.0058 µg/L 以上の曝露群の雄において肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値が認められた。

0.0178 µg/L の曝露群において全長の統計学的に有意な低値が認められた。

## (2) 試験管内 (*in vitro*) 試験

メダカエストロジェン受容体(ER )結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体(ER 及び ER )レポーター遺伝子試験及びメダカアンドロジェン受容体レポーター遺伝子試験を行った。

その結果、メダカエストロジェン受容体(ER 及び ER )結合競合阻害試験では、エストラジオールに対する相対結合強度は 1/480(ER )及び 1/5,300(ER )であった。メダカエストロジェン受容体(ER 及び ER )レポーター遺伝子試験及びメダカアンドロジェン受容体レポーター遺伝子試験においては、有意な反応は認められなかった。

## (3) 試験結果のまとめと今後の方針

以上のとおり、エンドリンについては、パーシャルライフサイクル試験において雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値(9.1ng/mg liver)が認められたが、追加試験の結果(別添 3 参照)を踏まえると、受精率に明らかな悪影響を与えるとは考えられず、今回の試験結果において、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

エンドリンについては、「化学物質の環境リスク評価 第1巻」の中で行われた生態リスク初期評価において、「予測環境中濃度(PEC)と予測無影響濃度(PNEC)との比は、淡水域では 0.35 となるため、情報収集に努める必要があると考えられる。海水域における PEC/PNEC 比は 50 未満となるため、現時点では生態リスクの判定はできない」と評価されている。エンドリンについては、既に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている\*。

\*詳細については、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約に基づく国内実施計画」(平成 17 年 6 月)を参照。

## 3. デルドリン

### (1) メダカを用いた試験

#### ビテロジェニンアッセイ

0.27、0.70、2.26、7.23、24.2 µg/L(実測値)の曝露濃度において肝指数には統計学的な有意な差は認められなかった。肝臓中ビテロジェニン濃度は曝露 14 日後の 7.23 µg/L 曝露群、曝露 21 日後の 0.27、0.70、2.26 µg/L 曝露群において統計学的に有意な高値が認められた。



24.2 µg/L の曝露群において、曝露 9 日目までに全個体が死亡したため、肝臓中ビテロジェニン濃度及び肝指数は測定できなかった。

#### パーシャルライフサイクル試験

0.023、0.073、0.230、0.754、2.33 µg/L(実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、全長、体重、雌の生殖腺指数及び雌の肝指数に統計学的に有意な変化は認められなかった。

0.023 µg/L 曝露群の雄において肝指数の統計学的に有意な低値が認められた。

0.073 µg/L の曝露群の雄において、生殖腺指数の高値が認められた。

0.073 及び 0.230 µg/L の曝露群において、孵化日数の高値(遅延)が認められた。

0.073 及び 2.33 µg/L の曝露群において、死亡率の高値が認められた。

0.073 及び 2.33 µg/L の曝露群の雄において、肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値が認められた。

0.754 µg/L の曝露群の雌において、肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値が認められた。

生殖腺の組織学的検査では、0.023 及び 0.074 µg/L の曝露群において統計学的な有意差は認められなかったが、精巣卵の個体が僅かに認められた。

#### (2) 試験管内(*in vitro*)試験

メダカエストロジェン受容体(ER<sub>α</sub>)結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体(ER<sub>α</sub> 及び ER<sub>β</sub>)レポーター遺伝子試験及びメダカアンドロジェン受容体レポーター遺伝子試験を行った。

その結果、メダカエストロジェン受容体(ER<sub>α</sub> 及び ER<sub>β</sub>)結合競合阻害試験では、エストラジオールに対する相対結合強度は 1/330(ER<sub>α</sub>)及び 1/12,700(ER<sub>β</sub>)であった。メダカエストロジェン受容体(ER<sub>α</sub> 及び ER<sub>β</sub>)レポーター遺伝子試験及びメダカアンドロジェン受容体レポーター遺伝子試験においては、有意な反応は認められなかった。

#### (3) 試験結果のまとめと今後の方針

以上のとおり、ディルドリンについては、ビテロジェニンアッセイにおいて雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値(3.1ng/mg liver)が認められるとともにパーシャルライフサイクル試験において雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値(2.5ng/mg liver)が認められたが、平成 14 年度に行った追加試験の結果(別添 3 参照)を踏まえると、受精率に明らかな悪影響を与えるとは考えられなかった。また、用量相関性もなく、低頻度で統計学的な有意差は認められない精巣卵(曝露群ごとの精巣卵が認められた個体のみの生殖腺スコアの平均値 1.1)がみられたが、平成 14 年度に行った追加試験

の結果(別添 1 参照)を踏まえると、受精率に悪影響を与えるとは考えられず、今回の試験結果において、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

ディルドリンについては、「化学物質の環境リスク評価 第1巻」の中で行われた生態リスク初期評価において、「予測環境中濃度(PEC)と予測無影響濃度(PNEC)との比は、淡水域では3.7となるため、詳細な評価を行う候補と考えられる。海水域ではこの比が3.8未満となるため、現時点では生態リスクの判定はできない」と評価されている。ディルドリンについては、既に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs条約)の対象物質となっている\*。

\*詳細については、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約に基づく国内実施計画」(平成17年6月)を参照。

## 4. ヘプタクロル

### (1) メダカを用いた試験

#### ビテロジェニンアッセイ

0.674、1.29、2.52、5.66、11.4 µg/L(実測値)の曝露濃度において肝臓中ビテロジェニン濃度には統計学的に有意な変化は認められなかった。

なお、曝露14日後の0.674 µg/Lの曝露群において肝指数の統計学的に有意な低値が認められた。

#### パーシャルライフサイクル試験

0.0649、0.120、0.252、0.538、1.04 µg/L(実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、死亡率、全長、体重、生殖腺指数、生殖腺の組織学的検査、肝指数及び肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

0.252 µg/L 曝露群において、孵化日数の統計学的に有意な高値(遅延)が認められた。

### (2) 試験管内(*in vitro*)試験

メダカエストロジェン受容体(ER $\alpha$ )結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体(ER $\alpha$ 及びER $\beta$ )レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験を行った。

その結果、メダカエストロジェン受容体(ER $\alpha$ 及びER $\beta$ )結合競合阻害試験では、エストラジオールに対する相対結合強度は1/630(ER $\alpha$ )及び1/6,700(ER $\beta$ )であった。メダカエストロジェン受容体(ER $\alpha$ 及びER $\beta$ )レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験においては、有意な反応は認められなかった。

### (3) 試験結果のまとめと今後の方針

以上のとおり、ヘプタクロルについては、今回の試験結果において、明らかな

内分泌かく乱作用は認められなかった。

ヘプタクロルについては、「化学物質の環境リスク評価 第1巻」の中で行われた生態リスク初期評価において、「予測環境中濃度(PEC)と予測無影響濃度(PNEC)との比は、淡水域では 0.13 未満、海水域では 1,667 未満となるため、現時点では生態リスクの判定はできない」と評価されている。ヘプタクロルについては、既に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている\*。

\*詳細については、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約に基づく国内実施計画」(平成 17 年 6 月)を参照。

## 5. マイレックス

### (1) メダカを用いた試験

#### ビテロジェニンアッセイ

1.07、2.99、8.36、23.8、65.6  $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度において肝臓中ビテロジェニン濃度及び肝指数には統計学的に有意な変化は認められなかった。

#### パーシャルライフサイクル試験

0.0809、0.222、0.549、1.61、4.05  $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、孵化日数、死亡率、全長、体重、生殖腺指数、肝指数及び肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

0.252  $\mu\text{g/L}$  曝露群において、孵化日数の統計学的に有意な高値(遅延)が認められた。

生殖腺の組織学的検査では、0.222 及び 0.549  $\mu\text{g/L}$  の曝露群において統計学的な有意差は認められなかったが、精巣卵の個体が僅かに認められた。

### (2) 試験管内(*in vitro*)試験

メダカエストロジェン受容体(ER $\alpha$  及び ER $\beta$ )結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体(ER $\alpha$  及び ER $\beta$ )レポーター遺伝子試験及びメダカアンドロジェン受容体レポーター遺伝子試験を行った。

その結果、いずれの試験においても有意な反応は認められなかった。

### (3) 試験結果のまとめと今後の方針

以上のとおり、マイレックスについては、用量相関性もなく、低頻度で統計学的な有意差は認められない精巣卵(曝露群ごとの精巣卵が認められた個体のみの生殖腺スコアの平均値 1.2)がみられたが、平成 14 年度に行った追加試験の結果(別添 1 参照)を踏まえると、受精率に悪影響を与えるとは考えられず、今回の試験結果において、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

マイレックスについては、既に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている\*。

\* 詳細については、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約に基づく国内実施計画」(平成 17 年 6 月)を参照。

## 6. ケルセン

### (1) メダカを用いた試験

#### ビテロジェニンアッセイ

3.03、4.48、6.68、10.4、14.6  $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度において肝指数には統計学的な有意な差は認められなかった。肝臓中ビテロジェニン濃度は曝露 21 日後の 14.6  $\mu\text{g/L}$  曝露群において統計学的に有意な高値が認められた。

#### パーシャルライフサイクル試験

0.275、0.550、1.10、2.18、4.52  $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、死亡率、全長、体重、生殖腺指数、生殖腺の組織学的検査、肝指数及び肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

4.52  $\mu\text{g/L}$  曝露群において、孵化日数の統計学的に有意な高値(遅延)が認められた。

### (2) 試験管内(*in vitro*)試験

メダカエストロジェン受容体(ER 及び ER )結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体(ER 及び ER )レポーター遺伝子試験及びメダカアンドロジェン受容体レポーター遺伝子試験を実施中。

### (3) 今後の方針

以上のとおり、ケルセンについては、ビテロジェニンアッセイにおいて雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値(8.1ng/mg liver)が認められたが、追加試験の結果(別添 3 参照)を踏まえると、受精率に明らかな悪影響を与えとは考えられず、今回の試験結果において、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

ケルセンについては、既に農薬登録は失効しており(平成 16 年 3 月)、化学物質の審査及び製造の規則に関する法律(化審法)の第一種特定化学物質に指定されている(平成 17 年 4 月)。

## 7. ペルメトリン

### (1) メダカを用いた試験

#### ビテロジェニンアッセイ

0.279、0.632、1.29、2.19、5.49  $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度において肝臓中ビテロジェニン濃度及び肝指数には統計学的に有意な変化は認められなかった。

#### パーシャルライフサイクル試験

0.177、0.279、0.424、0.636、0.907  $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、孵化日数、死亡率、全長、体重、雌の生殖腺指数、肝指数及び肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

0.424  $\mu\text{g/L}$  曝露群の雄において、生殖腺指数の統計学的に有意な高値が認められた。

生殖腺の組織学的検査では、0.279 及び 0.424  $\mu\text{g/L}$  の曝露群において統計学的な有意差は認められなかったが、精巣卵の個体が僅かに認められた。

#### (2) 試験管内(*in vitro*)試験

メダカエストロジェン受容体(ER 及び ER )結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体(ER 及び ER )レポーター遺伝子試験及びメダカアンドロジェン受容体レポーター遺伝子試験を実施中。

#### (3) 試験結果のまとめと今後の方針

以上のとおり、ペルメトリンについては、用量相関性もなく、低頻度で統計学的な有意差は認められない精巣卵(曝露群ごとの精巣卵が認められた個体のみの生殖腺スコアの平均値 1.2)がみられたが、平成 14 年度に行った追加試験の結果(別添 1 参照)を踏まえると、受精率に悪影響を与えるとは考えられず、今回の試験結果において、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

ペルメトリンについては、今後、生態リスク初期評価を行う際に、今回の試験結果も参照する予定である。

## 8. マラチオン

#### (1) メダカを用いた試験

##### ビテロジェニンアッセイ

1.49、4.57、15.1、45.6、148  $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度において肝臓中ビテロジェニン濃度には統計学的に有意な変化は認められなかった。

なお、曝露 14 日後の 4.57、15.1  $\mu\text{g/L}$  の曝露群において肝指数の統計学的に有意な低値が認められた。

#### パーシャルライフサイクル試験

0.375、0.781、1.62、2.77、6.26  $\mu\text{g/L}$ (実測値)の曝露濃度で試験を行ったところ、孵化率、孵化日数、死亡率、全長、体重、生殖腺指数、生殖腺の組織学的検査、肝指数及び雄の肝臓中ビテロジェニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

6.26  $\mu\text{g/L}$  曝露群の雌において、肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な低値が認められた。

## (2) 試験管内 (*in vitro*) 試験

メダカエストロジェン受容体(ER 及び ER )結合競合阻害試験、メダカエストロジェン受容体(ER 及び ER )レポータージーン試験及びメダカアンドロジェン受容体レポータージーン試験を実施中。

## (3) 試験結果のまとめと今後の方針

以上のとおり、マラチオンについては、今回の試験結果において、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

マラチオンについては、今後、生態リスク初期評価を行う際に、今回の試験結果も参照する予定である。

### ・まとめ

平成 14 年度優先物質である *o,p'*-DDT について行った「メダカを用いた試験」及び「試験管内 (*in vitro*) 試験」の結果等について取りまとめを行った。

その結果として、*o,p'*-DDT については、魚類に対して内分泌かく乱作用を有することが推察された。なお、*o,p'*-DDT の環境中濃度の最高値は、本試験結果から推定された無影響濃度を下回っており、現実的なリスクは低いと考えられた。*o,p'*-DDT については、既に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている。

平成 15 年度優先物質であるアルドリン、エンドリン、ディルドリン、ヘプタクロル、マイレックス、ケルセン、ペルメトリン及びマラチオンについて行った「メダカを用いた試験」及び「試験管内 (*in vitro*) 試験」の結果等について取りまとめを行った。

アルドリン及びディルドリンについては、雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値及び用量相関性もなく、低頻度で統計学上の有意差は認められない精巣卵がみられたが、受精率に悪影響を与えとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

アルドリンについては、「化学物質の環境リスク評価 第 1 巻」の中で行われた生態リスク初期評価において、「予測環境中濃度(PEC)と予測無影響濃度(PNEC)との比は、淡水域では 0.08 未満となるため、現時点では作業は必要ないと考えられる。海水域ではこの比が 42 未満となるため、現時点では生態リスクの判定はできない」と評価されている。アルドリンについては、既に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている\*。

ディルドリンについては、「化学物質の環境リスク評価 第 1 巻」の中で行われた生態リスク初期評価において、「予測環境中濃度(PEC)と予測無影響濃度(PNEC)との比は、淡水域では 3.7 となるため、詳細な評価を行う候補と考えられる。海水域ではこの比が 3.8 未満となるため、現時点では生態リスクの判定はできない」と評価されている。ディルドリンについては、既に「残留性有機汚

染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている\*。

エンドリン及びケルセンについては、雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の統計学的に有意な高値が認められたが、受精率に明らかな悪影響を与えるとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

エンドリンについては、「化学物質の環境リスク評価 第1巻」の中で行われた生態リスク初期評価において、「予測環境中濃度(PEC)と予測無影響濃度(PNEC)との比は、淡水域では 0.35 となるため、情報収集に努める必要があると考えられる。海水域における PEC/PNEC 比は 50 未満となるため、現時点では生態リスクの判定はできない」と評価されている。エンドリンについては、既に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている\*。

ケルセンについては、既に農薬登録は失効しており(平成 16 年 3 月)、化学物質の審査及び製造の規則に関する法律(化審法)の第一種特定化学物質に指定されている(平成 17 年 4 月)。

マイレックス及びペルメトリンについては、用量相関性もなく、低頻度で統計学的な有意差は認められない精巣卵がみられたが、受精率に悪影響を与えるとは考えられず、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

マイレックスについては、既に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている\*。

ペルメトリンについては、今後、生態リスク初期評価を行う際に、今回の試験結果も参照する予定である。

ヘプタクロル及びマラチオンについては、明らかな内分泌かく乱作用は認められなかった。

ヘプタクロルについては、「化学物質の環境リスク評価 第1巻」の中で行われた生態リスク初期評価において、「予測環境中濃度(PEC)と予測無影響濃度(PNEC)との比は、淡水域では 0.13 未満、海水域では 1,667 未満となるため、現時点では生態リスクの判定はできない」と評価されている。ヘプタクロルについては、既に「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」(POPs 条約)の対象物質となっている\*。

マラチオンについては、今後、生態リスク初期評価を行う際に、今回の試験結果も参照する予定である。

\*詳細については、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約に基づく国内実施計画」(平成 17 年 6 月)を参照。

## メダカを用いた 17 $\beta$ -エストラジオール曝露による 精巢卵の程度と受精率の関係に関する検討

### 1. 経緯

現在までの魚類内分泌かく乱試験法開発において、精巢組織中における卵母細胞(精巢卵)の出現はエストロゲン作用を示すパラメータであると考えられており、最も高感度なエンドポイントの一つとなりうることを示されている。しかし、精巢卵出現の生態毒性学的な定義は十分なされておらず、繁殖パラメータ(産卵数及び受精率)との関連性も十分議論されているとはいえない。そこで、17 $\beta$ -エストラジオール(E2)によるメダカライフサイクル試験での繁殖検討<sup>\*1</sup>に用いた雄個体の生殖腺組織を5段階にスコアリングし(下表参照)、受精率との相関性について検討した。

\*1) 繁殖検討：フルライフサイクル試験のふ化後70日令の時点で各試験濃度(区)の生存個体の雌雄を外観の形態から判別しペアリングを行ない、ペア毎にふ化後100日令まで、毎日、産卵数及び受精率を観察

表 メダカ精巢の分類基準(案)

スコア	定義
1	成熟した雄にみられる精巢構造を有する。組織中には精原細胞、精母細胞及び精細胞といった種々の発達段階の生殖細胞が観察され、活発な精子形成が認められる。卵母細胞は発現していない。
2	全体に精巢の構造であり、精子形成も観察される。しかし、組織中に卵母細胞の発現が認められる。このレベルでの精巢卵の程度は低く、卵母細胞は組織中に散在した状態で1~10細胞が観察されるに過ぎない。
3	レベル2よりも卵母細胞の発現率が高く、組織中に10~50細胞が観察される。卵母細胞の一部は塊として観察される場合もある。しかしながら、全体としてはレベル1及び2と同様に精巢構造を呈しており、精子形成も観察される。
4	さらに精巢卵が発達し、組織の約50%までを卵母細胞によって構成される。精子形成は観察されるが、レベル1~3と比較すると精子形成に関与する生殖細胞が占めている部分が小さい。
5	組織の約50%~ほぼ全般を卵母細胞によって構成され、精原細胞、精母細胞等はわずかに散在する程度である。活発な精子形成は観察されていない。また、結合組織の異常な発達が認められる場合もある。

### 2. 方法

17 $\beta$ -エストラジオールによるメダカフルライフサイクル試験で繁殖検討に用いた雄個体の生殖腺の切片を1個体当たり10枚作成し、メダカ精巢の分類基準(案)に基づいてスコアリングを行なった。各個体10枚の切片についてそれぞれスコアを求め、その平均値を各個体の生殖腺スコアとした。

なお、繁殖検討においてペアリングした雌個体についても生殖腺の組織学的観察を行った。



### 3. 結果

下図に生殖腺スコアと受精率<sup>\*2</sup>との相関を示す。

生殖腺スコアと受精率の関係は、生殖腺スコアが約 4 の個体で受精率の顕著な低下が観察された。生殖腺スコアが 2～3 の個体では、個体により反応の違いが認められた。生殖腺スコアが 1.9 未満においては、受精率の顕著な低下は認められなかった。

\* 2 ) 受精率：繁殖試験期間中に雌が産卵した卵数に対する受精卵数の比率の平均 (%)

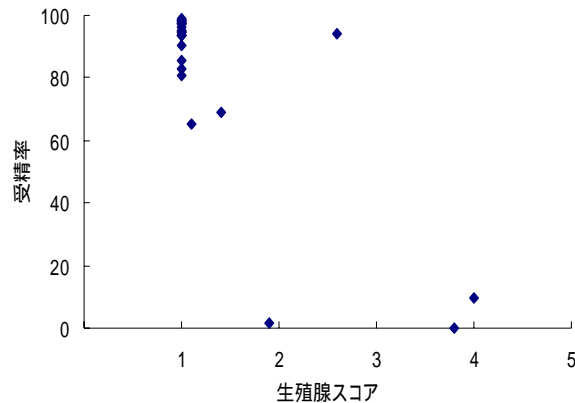


図 生殖腺スコアと受精率(%)との関係

### 4. 考察

今回の検討においては、雌の卵巣に何ら異常が認められなかったことから、本試験における受精率の低下は雄に起因したものであることが推測された。

生殖腺スコアが 1.9 の個体(31.3 ng/L 区)は、受精率の低下が認められたが、生殖腺スコアが 2.6 の個体では受精率の低下は認められなかった。生殖腺組織観察では、生殖腺スコア 1.9 及び 2.6 の個体ともに組織全般にわたる精子形成が観察された。受精率が低下したスコア 1.9 の個体においては生殖腺指数 GSI の顕著な低下(対照区の約 1/3)が認められ、精子形成の量的障害が推測された。また、この個体では肝臓中ビテロジェニンの誘導及び乳頭状小突起数の低下も認められた。一方、受精率が低下しなかったスコア 2.6 の個体においては、GSI 及びその他の項目において変化は認められなかった。

なお、今後、試験例数を増やし、生殖腺スコアと受精率との関係について、詳細な検討を実施する予定である。

## ジメチルスルホキシドのパーシャルライフサイクル試験結果

## 1. 方法

ジメチルスルホキシド(DMSO)のメダカに及ぼす内分泌かく乱作用を評価するために、メダカ(*Oryzias latipes*)を段階的な濃度(100、320 及び 1,000 mg/L ; 設定濃度)の試験液に受精卵からふ化後 60 日令まで流水条件下で曝露した。

曝露方法については、通常のパーシャルライフサイクル試験と同様の方法で実施した。ふ化後 60 日の時点で、外観的二次性徴から判別して雌雄それぞれ 10 尾ずつを取り上げ、生殖腺組織学及び肝臓中ビテロジェニン濃度の測定を実施した。摘出した生殖腺はブアン液に固定後、常法に従い、雄個体については連続切片を、雌個体については 1 検体当たり 5 切片のパラフィン切片を作成し、組織学的観察を行った。

## 2. 結果

生殖腺組織学において雌雄共に異常は認められなかった。また、肝臓中ビテロジェニン濃度においては、雌雄共に統計学的な有意差及び濃度依存的な反応は認められなかった(下表参照)。

これらの結果から DMSO は本試験濃度範囲においてメダカの性分化及びビテロジェニン産生に影響を及ぼさないことが示された。

表 各試験濃度区における雌雄の肝臓中ビテロジェニン濃度

DMSO 濃度 mg/L	肝臓中ビテロジェニン濃度(ng/mg liver)	
	雄	雌
対照区	ND	1,700 ± 560
100	1.8 ± 1.9	1,800 ± 1,800
320	1.4 ± 2.1	1,400 ± 570
1,000	ND	2,100 ± 500

## メダカを用いた 17 $\beta$ -エストラジオール曝露による 肝臓中ビテロジェニン濃度と受精率の関係に関する検討

### 1. 経緯

現在までの内分泌かく乱化学物質の魚類に関する試験法開発において、雄個体におけるビテロジェニン誘導はエストロゲン作用を示す直接的なパラメータであり、性分化異常と並び最も高感度なエンドポイントの一つとなりうることを示されている。しかし、ビテロジェニン誘導の生態毒性学的な定義は十分なされておらず、繁殖パラメータ(産卵数及び受精率)との関連性も十分議論されているとはいえない。そこで、17 $\beta$ -エストラジオール(E2)によるメダカフルライフサイクル試験を実施し、繁殖検討<sup>\*1</sup>に用いた雄個体の肝臓中ビテロジェニン濃度を測定し、受精率との相関性について検討した。

\*1) 繁殖検討：フルライフサイクル試験のふ化後 70 日令の時点で各試験濃度(区)の生存個体の雌雄を外観的形態から判別しペアリングを行ない、ペア毎にふ化後 100 日令まで、毎日、産卵数及び受精率を観察

### 2. 方法

17 $\beta$ -エストラジオールによるメダカフルライフサイクル試験において、繁殖検討に用いた雄個体の肝臓中ビテロジェニン濃度を測定した。

### 3. 結果

下図に肝臓中ビテロジェニン濃度(対数値)と受精率<sup>\*2</sup>との相関を示す。

ビテロジェニン濃度が 1,000ng/mg liver 以上の雄個体では受精率の顕著な低下が認められた。ビテロジェニン濃度が 10 ~ 1,000 ng/mg liver の雄個体では受精率の低下を示す個体が認められた。ビテロジェニン濃度が 10 ng/mg liver 未満の雄個体においては受精率の顕著な低下は認められなかった。

\*2) 受精率：繁殖試験期間中に雌が産卵した卵数に対する受精卵数の比率の平均(%)

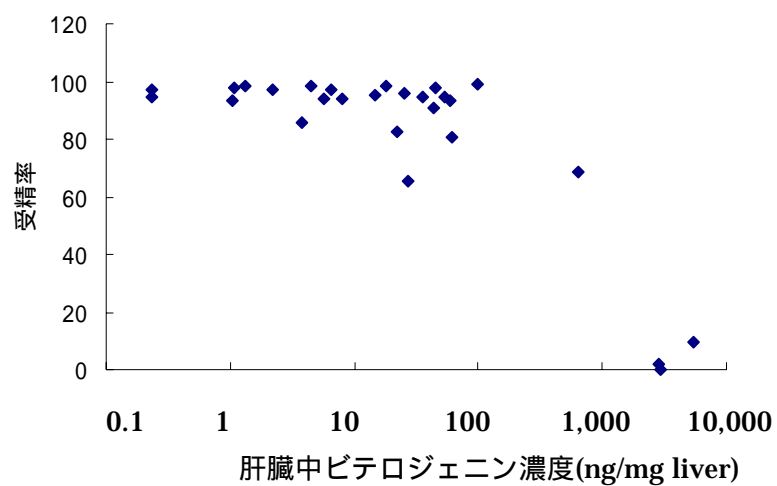


図 肝臓中ピテロジェニン濃度と受精率(%)との関係

#### 4. 考察

雄のピテロジェニン濃度の増加と受精率低下のメカニズムについては不明であるが、ピテロジェニン濃度が増加している個体は同時に精巢卵の程度も著しいため、その結果、受精率低下が生じている可能性が推測される。

## o,p'-DDT のメダカによる試験結果

### 1. ビテロジェニン産生試験 (試験機関:(財)化学物質評価研究機構)

表 1 試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	0	2.4 ± 0.34	2.1 ± 0.56	ND	ND
助剤対照区	3.3	2.1 ± 0.59	1.9 ± 0.41	ND	ND
0.373	0	2.0 ± 0.60	2.1 ± 0.71	ND	ND
0.800	0	2.1 ± 0.58	1.9 ± 0.73	ND	ND
1.50	0	2.2 ± 0.59	1.8 ± 0.52	2.1 ± 4.8	260 ± 560**
3.20	0	2.5 ± 0.89	2.2 ± 0.40	510 ± 1,800**	1,700 ± 2,100**
6.55	0	2.7 ± 0.62	2.7 ± 0.44**	1,800 ± 2,000**	9,300 ± 9,700**

各測定値データの値は、平均 ± 標準偏差、\*\*は  $p < 0.01$  で有意であることを示す。  
ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 ( $< 1\text{ng/mg liver}$ ) を示す。

### 2. パーシャルライフサイクル試験 (試験機関:(財)化学物質評価研究機構)

表 2 - A 試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	100	9.4 ± 0.21	8.3 ± 10	31 ± 2.1	290 ± 50
助剤対照区	100	9.7 ± 0.15	6.7 ± 7.7	30 ± 3.4	280 ± 70
0.195	100	9.8 ± 0.21	5.0 ± 6.4	31 ± 1.3	300 ± 41
0.366	100	10 ± 0.58	5.0 ± 6.4	31 ± 1.7	300 ± 52
0.830	100	10 ± 0.28*	12 ± 6.4	31 ± 1.6**	310 ± 59
1.69	100	9.8 ± 0.11	8.3 ± 6.4	31 ± 2.2	300 ± 58
3.36	98 ± 3.3	9.7 ± 0.091	18 ± 10	28 ± 3.5**	260 ± 81

表 2 - B 試験結果 (続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	尾数	生殖腺指数 (%)		精巣卵出現率(%) (精巣卵/(精巣+精巣卵))	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
対照区	20	0.98±0.37	7.1±2.9	0 (0/13)	1.8±0.48	3.3±1.2	1.7±3.8	1,800±770
助剤対照区	20	1.2±0.26	6.7±3.7	0 (0/11)	2.0±0.45	3.9±1.1	ND	1,700±1,000
0.195	20	1.6±1.3	6.0±3.3	18* (2 <sup>b</sup> /11)	1.9±0.46	3.7±0.75	2.1±4.8	1,700±970
0.366	20	1.2±0.39	8.1±2.6	0 (0/8)	2.0±0.40	3.4±0.50	2.5±2.6	2,300±1,200
0.830	20	1.2±0.50	5.1±3.3	50** (4 <sup>c</sup> /8)	2.0±0.55	3.9±1.1	3.4±3.1	4,200±2,400*
1.69	20	1.2±0.25	4.1±2.5*	100** (2 <sup>d</sup> /2)	2.3±0.28	4.0±0.81	29±36	7,700±4,000**
3.36	20	- <sup>a</sup>	1.9±1.6**	- <sup>a</sup> (0/0)	- <sup>a</sup>	4.5±0.90*	- <sup>a</sup>	7,500±1,200**

各測定値データの値は、平均 ± 標準偏差、\*\*は  $p < 0.01$ 、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。  
ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 ( $< 1\text{ng/mg liver}$ ) を示す。

<sup>a</sup>: 生殖腺を観察した結果、性染色体では雄と判定された個体(20 尾中 9 尾)において精巣を有する個体がなかったため、算出できなかった。<sup>b</sup>: 生殖腺スコアは 1.4 であった。<sup>c</sup>: 生殖腺スコアは 1.6 であった。<sup>d</sup>: 生殖腺スコアは 3.7 であった。

### 3. フルライフサイクル試験（試験機関：(財)化学物質評価研究機構）

表3 - A : 1世代目 (F0) 試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)	尾数	精巢卵出現率(%) (精巢卵/(精巢+精巢卵))
対照区	97 $\pm$ 3.8	9.9 $\pm$ 0.060	0	30 $\pm$ 1.3	280 $\pm$ 49	20	0 (0/8)
助剤対照区	95 $\pm$ 3.3	10 $\pm$ 0.033	7.0 $\pm$ 0.24	31 $\pm$ 1.0	290 $\pm$ 43	20	0 (0/11)
0.0153	97 $\pm$ 6.7	9.9 $\pm$ 0.13	1.7 $\pm$ 3.3	31 $\pm$ 1.3	300 $\pm$ 38	20	0 (0/11)
0.0474	98 $\pm$ 3.3	9.9 $\pm$ 0.054	3.3 $\pm$ 3.8	31 $\pm$ 0.94	300 $\pm$ 26	20	0 (0/8)
0.145	100	10 $\pm$ 0.19	5.0 $\pm$ 6.4	31 $\pm$ 1.7	290 $\pm$ 49	20	0 (0/10)
0.522	98 $\pm$ 3.3	9.8 $\pm$ 0.20	5.1 $\pm$ 6.4	31 $\pm$ 1.0	300 $\pm$ 34	20	55 (6 <sup>a</sup> /11)**
1.94	95 $\pm$ 6.4	9.8 $\pm$ 0.10	7.3 $\pm$ 6.3	30 $\pm$ 1.5	290 $\pm$ 45	20	100 (2 <sup>b</sup> /2)**

表3 - B : (続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	産卵数	受精率 (%)	生殖腺指数 (%)		肝指数 (%)		ピテロジェニン濃度 (ng/mg liver)	
対照区	1,200 $\pm$ 130	98 $\pm$ 1.0	0.95 $\pm$ 0.25	9.9 $\pm$ 1.2	1.4 $\pm$ 0.33	4.6 $\pm$ 1.3	ND	1,200 $\pm$ 340
助剤対照区	1,100 $\pm$ 140	99 $\pm$ 0.27	1.0 $\pm$ 0.32	11 $\pm$ 2.3	1.7 $\pm$ 0.53	4.1 $\pm$ 0.83	ND	1,300 $\pm$ 250
0.0153	1,200 $\pm$ 160	98 $\pm$ 1.4	1.0 $\pm$ 0.25	10 $\pm$ 1.7	1.4 $\pm$ 0.41	3.7 $\pm$ 0.98	ND	1,300 $\pm$ 240
0.0474	1,100 $\pm$ 170	98 $\pm$ 2.5	1.0 $\pm$ 0.37	9.5 $\pm$ 1.2	1.4 $\pm$ 0.48	3.9 $\pm$ 0.88	ND	1,300 $\pm$ 350
0.145	1,000 $\pm$ 210	98 $\pm$ 0.77	1.2 $\pm$ 0.32	9.8 $\pm$ 2.0	1.5 $\pm$ 0.33	3.9 $\pm$ 1.6	1.5 $\pm$ 2.5	1,400 $\pm$ 230
0.522	1,000 $\pm$ 380	80 $\pm$ 33 <sup>*</sup>	1.2 $\pm$ 0.41	10 $\pm$ 2.1	1.9 $\pm$ 0.54	4.2 $\pm$ 1.5	110 $\pm$ 220**	1,700 $\pm$ 390**
1.94	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>	- <sup>c</sup>

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\*は  $p < 0.01$ 、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。  
ピテロジェニンの ND は、定量下限未満 (<1ng/mg liver) を示す。

<sup>a</sup> 生殖腺スコアは 1.8 であった。

<sup>b</sup> 生殖腺スコアは 3.9 であった。

<sup>c</sup> オスの二次性徴を示す個体が存在しなかったため繁殖検討を実施できず、値を算出できなかった。

表3 - C : 2 世代目 ( F 1 ) 試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)	尾数	精巢卵出現率(%) (精巢卵/(精巢+精巢卵))
対照区	99 $\pm$ 2.4	9.7 $\pm$ 0.26	3.3 $\pm$ 3.8	29 $\pm$ 1.2	260 $\pm$ 38	20	0 (0/12)
助剤対照区	99 $\pm$ 1.4	9.5 $\pm$ 0.26	0	30 $\pm$ 1.4	260 $\pm$ 37	20	0 (0/7)
0.0153	91 $\pm$ 12	9.7 $\pm$ 0.43	3.3 $\pm$ 3.8	30 $\pm$ 1.7	260 $\pm$ 52	20	0 (0/9)
0.0474	98 $\pm$ 2.6	9.9 $\pm$ 0.27**	3.3 $\pm$ 6.7	30 $\pm$ 1.4**	270 $\pm$ 40	20	0 (0/12)
0.145	97 $\pm$ 2.9	10 $\pm$ 0.27**	0	30 $\pm$ 1.7	270 $\pm$ 35	20	0 (0/7)
0.522	96 $\pm$ 5.5	9.9 $\pm$ 0.24**	1.7 $\pm$ 3.3	30 $\pm$ 1.7	260 $\pm$ 45	20	25 (2 <sup>a</sup> /8)*
1.94	_b	_b	_b	_b	_b	_b	_b

表3 - D :( 続き )

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度(ng/mg liver)	
	対照区	1.8 $\pm$ 0.40	3.2 $\pm$ 0.87	ND
助剤対照区	1.9 $\pm$ 0.30	3.4 $\pm$ 0.70	11 $\pm$ 34	1,200 $\pm$ 590
0.0153	1.9 $\pm$ 0.51	3.3 $\pm$ 0.63	ND	1,100 $\pm$ 620
0.0474	1.4 $\pm$ 0.33**	3.0 $\pm$ 0.55	1.0 $\pm$ 1.6	1,200 $\pm$ 570
0.145	1.7 $\pm$ 0.36	2.9 $\pm$ 0.71	1.2 $\pm$ 1.2	1,800 $\pm$ 1,500
0.522	1.8 $\pm$ 0.26	3.3 $\pm$ 0.58	1.4 $\pm$ 1.9	1,900 $\pm$ 690
1.94	_b	_b	_b	_b

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\*は  $p < 0.01$ 、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。  
ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 ( $< 1\text{ng/mg liver}$ ) を示す。

<sup>a</sup> 生殖腺スコアは 1.8 であった。

<sup>b</sup> 1 世代目においてオスの二次性徴を示す個体が存在しなかったため、次世代を得ることができなかった。

## アルドリンのメダカによる試験結果

### 1. ビテロジェニン産生試験（試験機関：独）国立環境研究所）

表 1：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	0	2.0 $\pm$ 0.38	2.0 $\pm$ 0.44	1.3 $\pm$ 1.3	ND
助剤対照区	0	2.1 $\pm$ 0.59	2.2 $\pm$ 0.48	ND	ND
2.02	3.3	2.2 $\pm$ 0.36	1.9 $\pm$ 0.32	ND	ND
3.28	3.3	2.2 $\pm$ 0.53	1.9 $\pm$ 0.31	ND	ND
7.34	0	1.8 $\pm$ 0.47	2.1 $\pm$ 0.60	ND	ND
15.1	33	1.9 $\pm$ 0.62	2.4 $\pm$ 0.73 <sup>b</sup>	ND	1.8 $\pm$ 0.94 <sup>b**</sup>
28.6	93	1.9 $\pm$ 0.70 <sup>a</sup>	-	2.6 $\pm$ 3.6 <sup>a</sup>	-

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\*は  $p < 0.01$ 、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。  
ビテロジェニンの定量下限は 1 $\text{ng/mg liver}$

a: N=2, b: N=5

### 2. パーシャルライフサイクル試験（試験機関：独）国立環境研究所）

表 2 - A：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	83 $\pm$ 5.8	11 $\pm$ 0.092	3.9 $\pm$ 3.4	29 $\pm$ 2.1	340 $\pm$ 82
助剤対照区	82 $\pm$ 2.9	11 $\pm$ 0.59	8.2 $\pm$ 3.7	28 $\pm$ 2.1	320 $\pm$ 70
0.069	92 $\pm$ 7.6	11 $\pm$ 1.0	14 $\pm$ 5.0	30 $\pm$ 2.5	350 $\pm$ 93
0.225	87 $\pm$ 7.6	12 $\pm$ 1.4	18 $\pm$ 6.6*	30 $\pm$ 2.1*	360 $\pm$ 89
0.686	83 $\pm$ 14	13 $\pm$ 0.42*	22 $\pm$ 2.9**	30 $\pm$ 2.0	360 $\pm$ 85
2.23	77 $\pm$ 14	12 $\pm$ 0.69	18 $\pm$ 6.6*	30 $\pm$ 1.8*	360 $\pm$ 87
7.10	92 $\pm$ 2.9	10 $\pm$ 0.73	64 $\pm$ 7.0**	30 $\pm$ 1.4	360 $\pm$ 65

表 2 - B：(続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	生殖腺指数 (%)		尾数	精巣卵出現率(%) (精巣卵/精巣+精巣卵)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
対照区	0.91 $\pm$ 0.11	7.9 $\pm$ 2.2	20	0(0/9)	2.2 $\pm$ 0.55	5.5 $\pm$ 0.57	ND	2,000 $\pm$ 750
助剤対照区	0.88 $\pm$ 0.27	3.7 $\pm$ 2.2 <sup>c</sup>	20	25(2/8) <sup>d</sup>	3.5 $\pm$ 0.78 <sup>c</sup>	5.1 $\pm$ 0.93	ND	1,300 $\pm$ 1,000
0.069	1.0 $\pm$ 0.20	8.9 $\pm$ 3.1**	20	0(0/11)	2.0 $\pm$ 0.41**	5.1 $\pm$ 1.1	11 $\pm$ 16**	1,700 $\pm$ 730
0.225	1.2 $\pm$ 0.13**	8.7 $\pm$ 2.0**	20	14(1/7) <sup>e</sup>	2.3 $\pm$ 0.44**	5.3 $\pm$ 1.1	3.1 $\pm$ 5.4	1,800 $\pm$ 920
0.686	1.1 $\pm$ 0.24*	6.7 $\pm$ 4.3	20	0(0/10)	2.6 $\pm$ 0.66**	4.9 $\pm$ 1.2	2.6 $\pm$ 3.7*	1,100 $\pm$ 850
2.23	0.84 $\pm$ 0.17	8.8 $\pm$ 2.3**	20	0(0/7)	2.1 $\pm$ 0.47**	5.3 $\pm$ 1.0	6.9 $\pm$ 8.6**	1,500 $\pm$ 750
7.10	0.80 $\pm$ 0.14	8.5 $\pm$ 1.4**	20	0(0/10)	2.1 $\pm$ 0.47**	4.7 $\pm$ 1.7	ND	1,800 $\pm$ 650

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\*は  $p < 0.01$ 、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。  
ビテロジェニンの定量下限は 1 $\text{ng/mg liver}$

c) 対照区と助剤対照区の間で有意差。曝露区との検定は助剤対照区に対して実施。

d) 精巣卵スコアは、1.7 $\pm$ 0.78。

e) 精巣卵個体のスコアは、1.1。



## エンドリンのメダカによる試験結果

### 1. ビテロジェニン産生試験（試験機関：独）国立環境研究所）

表 1：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	0	1.9 $\pm$ 0.27	1.9 $\pm$ 0.27	1.6 $\pm$ 0.85	ND
助剤対照区	0	2.0 $\pm$ 0.36	2.2 $\pm$ 0.42* <sup>a</sup>	1.9 $\pm$ 0.76	ND
0.037	10	2.0 $\pm$ 0.35	2.0 $\pm$ 0.30	2.3 $\pm$ 1.25	ND
0.075	3.3	1.8 $\pm$ 0.24	2.0 $\pm$ 0.32	1.8 $\pm$ 0.72	ND
0.144	3.3	1.8 $\pm$ 0.34	2.0 $\pm$ 0.37	1.6 $\pm$ 0.67	ND
0.309	13.3	2.0 $\pm$ 0.52	2.0 $\pm$ 0.41	2.0 $\pm$ 0.80	ND
0.648	83.3	1.8 $\pm$ 0.34	- <sup>b</sup>	2.1 $\pm$ 0.39	- <sup>b</sup>

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\*は  $p < 0.01$ 、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。

ビテロジェニンの定量下限は  $1\text{ng/mg liver}$ 。

a: 対照区と助剤対照区の間で有意差。曝露区との検定は助剤対照区に対して実施。

b: 14 日目に生残個体をすべて解剖したため(N=5)、サンプルはなし。

### 2. パーシャルライフサイクル試験（試験機関：独）国立環境研究所）

表 2 - A：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	83 $\pm$ 7.6	9.3 $\pm$ 1.2	7.8 $\pm$ 8.4	29 $\pm$ 2.6	310 $\pm$ 99
助剤対照区	72 $\pm$ 10	12 $\pm$ 2.4	15 $\pm$ 14	29 $\pm$ 2.0	300 $\pm$ 80
0.00188	88 $\pm$ 5.8	10 $\pm$ 1.0	23 $\pm$ 11	29 $\pm$ 2.2	300 $\pm$ 82
0.0058	88 $\pm$ 2.9	12 $\pm$ 2.0	17 $\pm$ 9.4	29 $\pm$ 2.3	300 $\pm$ 82
0.0178	83 $\pm$ 7.6	14 $\pm$ 3.7	24 $\pm$ 2.3	28 $\pm$ 2.6*	280 $\pm$ 87
0.0562	73 $\pm$ 7.6	12 $\pm$ 1.0	22 $\pm$ 22	29 $\pm$ 2.2	300 $\pm$ 85
0.19	80 $\pm$ 15	12 $\pm$ 2.4	28 $\pm$ 7.5	28 $\pm$ 2.9	280 $\pm$ 90

表 2 - B：(続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	生殖腺指数 (%)		尾数	精巣卵出現率(%) (精巣卵/精巣+精巣卵)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
対照区	0.98 $\pm$ 0.18	6.9 $\pm$ 3.2	20	0(0/11)	3.3 $\pm$ 0.46	6.1 $\pm$ 1.2	ND	3,200 $\pm$ 2,300
助剤対照区	1.0 $\pm$ 0.27	6.5 $\pm$ 4.2	20	0(0/9)	2.8 $\pm$ 0.55* <sup>c</sup>	5.8 $\pm$ 1.5	ND	3,200 $\pm$ 2,300
0.00188	0.95 $\pm$ 0.27	8.6 $\pm$ 2.8	20	0(0/13)	2.9 $\pm$ 0.86	5.5 $\pm$ 0.56	ND	2,800 $\pm$ 1,700
0.0058	0.82 $\pm$ 0.33	7.8 $\pm$ 3.1	20	0(0/10)	3.3 $\pm$ 0.69	6.4 $\pm$ 1.0	3.4 $\pm$ 5.1**	2,300 $\pm$ 1,100
0.0178	1.1 $\pm$ 0.34	5.8 $\pm$ 3.4	20	0(0/9)	2.8 $\pm$ 0.82	5.4 $\pm$ 0.76	9.1 $\pm$ 21**	2,400 $\pm$ 1,700
0.0562	1.0 $\pm$ 0.22	5.6 $\pm$ 4.0	20	0(0/13)	2.9 $\pm$ 0.57	5.8 $\pm$ 0.98	2.0 $\pm$ 0.70**	3,200 $\pm$ 2,800
0.19	0.82 $\pm$ 0.26	7.3 $\pm$ 4.2	20	0(0/12)	2.8 $\pm$ 1.0	5.1 $\pm$ 0.97	1.5 $\pm$ 0.31**	2,200 $\pm$ 1,600

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\*は  $p < 0.01$ 、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。

ビテロジェニンの定量下限は  $1\text{ng/mg liver}$ 。

c: 対照区と助剤対照区の間で有意差。曝露区との検定は助剤対照区に対して実施。

## ディルドリンのメダカによる試験結果

### 1. ビテロジェニン産生試験（試験機関：独）国立環境研究所）

表 1：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	3.3	2.0 $\pm$ 0.40	2.3 $\pm$ 0.44	1.6 $\pm$ 0.47	1.6 $\pm$ 0.80
助剤対照区	6.7	2.0 $\pm$ 0.40	2.5 $\pm$ 0.43	1.4 $\pm$ 0.65	1.8 $\pm$ 0.65
0.27	0	2.0 $\pm$ 0.47	2.2 $\pm$ 0.37	1.8 $\pm$ 0.58	3.1 $\pm$ 1.7**
0.70	3.3	2.0 $\pm$ 0.47	2.2 $\pm$ 0.40	1.7 $\pm$ 0.49	2.7 $\pm$ 1.3*
2.26	0	2.2 $\pm$ 0.36	2.2 $\pm$ 0.26	1.6 $\pm$ 0.73	2.4 $\pm$ 1.1*
7.23	16.7	2.2 $\pm$ 0.52	2.2 $\pm$ 0.33	2.0 $\pm$ 0.79*	2.6 $\pm$ 1.4
24.2	100 <sup>a</sup>	-	-	-	-

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\*は  $p < 0.01$ 、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。  
ビテロジェニンの定量下限は  $1\text{ng/mg liver}$ 。

a: 曝露開始後 9 日目までにすべて死亡。

### 2. パーシャルライフサイクル試験（試験機関：独）国立環境研究所）

表 2 - A：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	93 $\pm$ 7.6	13 $\pm$ 1.1	13 $\pm$ 3.0	29 $\pm$ 2.0	290 $\pm$ 61
助剤対照区	88 $\pm$ 16	11 $\pm$ 0.95	13 $\pm$ 4.8	29 $\pm$ 1.8	280 $\pm$ 55
0.023	93 $\pm$ 7.6	13 $\pm$ 0.77	16 $\pm$ 1.4	29 $\pm$ 2.4	300 $\pm$ 75
0.073	85 $\pm$ 5.0	16 $\pm$ 1.5**	31 $\pm$ 12**	29 $\pm$ 2.2	280 $\pm$ 69
0.230	83 $\pm$ 12	16 $\pm$ 1.9**	17 $\pm$ 10	29 $\pm$ 2.6	290 $\pm$ 82
0.754	80 $\pm$ 8.7	14 $\pm$ 1.8	4.3 $\pm$ 3.8	30 $\pm$ 2.0	300 $\pm$ 69
2.33	87 $\pm$ 7.6	14 $\pm$ 1.0	29 $\pm$ 4.6*	29 $\pm$ 1.6	290 $\pm$ 53

表 2 - B：(続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	生殖腺指数 (%)		尾数	精巢卵出現率 (%) (精巢卵/(精巢+精巢卵))	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
	生殖腺	卵巣			14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	0.74 $\pm$ 0.23	7.7 $\pm$ 1.1	20	0(0/12)	3.0 $\pm$ 0.44	5.4 $\pm$ 0.66	ND	1,500 $\pm$ 320
助剤対照区	0.83 $\pm$ 0.22	6.4 $\pm$ 2.1	20	0(0/9)	2.9 $\pm$ 0.52	5.8 $\pm$ 0.58	ND	1,700 $\pm$ 580
0.023	0.92 $\pm$ 0.17	7.8 $\pm$ 3.3	20	13(1/8) <sup>b</sup>	2.4 $\pm$ 0.47*	5.3 $\pm$ 0.68	ND	2,000 $\pm$ 700
0.073	1.1 $\pm$ 0.32**	6.1 $\pm$ 3.8	20	7.7(1/13) <sup>c</sup>	2.6 $\pm$ 0.56	5.4 $\pm$ 0.84	1.5 $\pm$ 1.9*	1,900 $\pm$ 550
0.230	0.84 $\pm$ 0.32	6.2 $\pm$ 3.6	20	0(0/9)	3.0 $\pm$ 0.58	5.7 $\pm$ 0.68	ND	2,000 $\pm$ 1,300
0.754	0.76 $\pm$ 0.27	8.2 $\pm$ 2.7	20	0(0/11)	2.7 $\pm$ 0.56	5.8 $\pm$ 1.2	ND	2,100 $\pm$ 720*
2.33	0.80 $\pm$ 0.19	6.9 $\pm$ 3.2	20	0(0/12)	2.8 $\pm$ 0.42	5.1 $\pm$ 1.1	2.5 $\pm$ 4.0*	2,100 $\pm$ 790

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\*は  $p < 0.01$ 、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。  
ビテロジェニンの定量下限は  $1\text{ng/mg liver}$ 。

b, c: 精巢卵スコアはそれぞれ 1.1。

## ヘプタクロルのメダカによる試験結果

### 1. ビテロジェニン産生試験（試験機関：国土環境(株)）

表 1：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	0	1.8 $\pm$ 0.42	1.9 $\pm$ 0.39	ND	ND
助剤対照区	0	1.8 $\pm$ 0.43	1.7 $\pm$ 0.33	ND	ND
0.674	0	1.4 $\pm$ 0.28*	2.0 $\pm$ 0.39	ND	ND
1.29	0	1.8 $\pm$ 0.37	1.9 $\pm$ 0.36	ND	ND
2.52	0	1.6 $\pm$ 0.20	1.9 $\pm$ 0.40	1.5 $\pm$ 2.5	1.1 $\pm$ 2.2
5.66	0	2.0 $\pm$ 0.49	2.0 $\pm$ 0.50	ND	ND
11.4	23	1.8 $\pm$ 0.23	1.9 $\pm$ 0.35	ND	ND

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\* は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。

ビテロジェニン濃度の ND は、定量下限未満 ( $< 1 \text{ ng/mg liver}$ ) を示す。

### 2. パーシャルライフサイクル試験（試験機関：財）化学物質評価研究機構）

表 2 - A：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	98 $\pm$ 3.3	10 $\pm$ 0.16	1.8 $\pm$ 3.6	30 $\pm$ 1.8	290 $\pm$ 49
助剤対照区	100	9.9 $\pm$ 0.054	3.3 $\pm$ 3.8	30 $\pm$ 1.6	280 $\pm$ 46
0.0649	100	10 $\pm$ 0.11	1.7 $\pm$ 3.3	30 $\pm$ 1.3	280 $\pm$ 41
0.120	100	10 $\pm$ 0.19	1.7 $\pm$ 3.3	30 $\pm$ 1.5	280 $\pm$ 42
0.252	100	10 $\pm$ 0.11*	1.7 $\pm$ 3.3	30 $\pm$ 1.6	290 $\pm$ 45
0.538	95 $\pm$ 6.4	10 $\pm$ 0.064	3.7 $\pm$ 4.3	30 $\pm$ 3.1	290 $\pm$ 64
1.04	98 $\pm$ 3.3	10 $\pm$ 0.18	1.8 $\pm$ 3.6	30 $\pm$ 1.4	280 $\pm$ 33

表 2 - B：(続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	生殖腺指数 (%)		尾数	精巢卵出現率(%) (精巢卵/(精巢+精巢卵))	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
	精巣	卵巣			精巣	卵巣	精巣	卵巣
対照区	1.0 $\pm$ 0.17	5.2 $\pm$ 3.6	20	0 (0/9)	2.0 $\pm$ 0.45	3.2 $\pm$ 0.66	ND	1,700 $\pm$ 1,100
助剤対照区	1.0 $\pm$ 0.36	6.0 $\pm$ 2.8	20	0 (0/10)	1.9 $\pm$ 0.40	4.3 $\pm$ 2.1	ND	1,800 $\pm$ 1,200
0.0649	0.91 $\pm$ 0.29	6.9 $\pm$ 3.3	20	0 (0/8)	2.0 $\pm$ 0.27	3.7 $\pm$ 1.0	ND	1,500 $\pm$ 800
0.120	1.0 $\pm$ 0.44	7.1 $\pm$ 2.4	20	0 (0/10)	1.7 $\pm$ 0.34	3.5 $\pm$ 0.72	ND	1,500 $\pm$ 770
0.252	1.0 $\pm$ 0.21	5.1 $\pm$ 3.2	20	0 (0/7)	1.9 $\pm$ 0.66	3.4 $\pm$ 0.89	2.7 $\pm$ 1.7	2,200 $\pm$ 1,000
0.538	1.2 $\pm$ 0.35	6.2 $\pm$ 3.8	20	0 (0/10)	1.9 $\pm$ 0.44	3.6 $\pm$ 0.50	1.0 $\pm$ 0.74	2,200 $\pm$ 1,400
1.04	0.87 $\pm$ 0.29	7.1 $\pm$ 3.8	20	0 (0/10)	1.6 $\pm$ 0.33	3.6 $\pm$ 0.69	ND	1,600 $\pm$ 1,000

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\* は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。

ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 ( $< 1 \text{ ng/mg liver}$ ) を示す。

## マイレックスのメダカによる試験結果

### 1. ビテロジェニン産生試験 (試験機関: 国土環境(株))

表 1 : 試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	3.3	1.8 $\pm$ 0.41	1.9 $\pm$ 0.23	ND	ND
助剤対照区	0	1.7 $\pm$ 0.36	1.9 $\pm$ 0.28	ND	ND
1.07	0	1.7 $\pm$ 0.28	2.0 $\pm$ 0.26	ND	ND
2.99	0	1.7 $\pm$ 0.28	2.0 $\pm$ 0.27	ND	ND
8.36	0	1.8 $\pm$ 0.39	1.7 $\pm$ 0.25	ND	ND
23.8	0	1.9 $\pm$ 0.37	1.9 $\pm$ 0.30	ND	ND
65.6	0	1.7 $\pm$ 0.31	1.8 $\pm$ 0.29	ND	ND

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差として示した。

ビテロジェニン濃度の ND は、定量下限未満 (< 1  $\text{ng/mg liver}$ ) を示す。

### 2. パーシャルライフサイクル試験 (試験機関: (財) 化学物質評価研究機構)

表 2 - A : 試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	100	9.7 $\pm$ 0.16	0	30 $\pm$ 1.7	280 $\pm$ 48
助剤対照区	100	9.8 $\pm$ 0.14	6.7 $\pm$ 5.4	30 $\pm$ 1.2	270 $\pm$ 37
0.0809	100	9.7 $\pm$ 0.054	5.0 $\pm$ 10	30 $\pm$ 1.9	270 $\pm$ 46
0.222	98 $\pm$ 3.3	9.7 $\pm$ 0.16	3.3 $\pm$ 3.8	30 $\pm$ 1.4	280 $\pm$ 45
0.549	100	9.5 $\pm$ 0.24	5.0 $\pm$ 6.4	30 $\pm$ 1.1	270 $\pm$ 41
1.61	100	9.5 $\pm$ 0.42	3.3 $\pm$ 3.8	30 $\pm$ 1.5	270 $\pm$ 42
4.05	97 $\pm$ 3.8	9.5 $\pm$ 0.22	5.0 $\pm$ 10	30 $\pm$ 0.92	260 $\pm$ 29

表 2 - B : (続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	生殖腺指数 (%)		尾数	精巢卵出現率(%) (精巢卵/(精巢+精巢卵))	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
	精巣	卵巣			精巣	卵巣	精巣	卵巣
対照区	0.98 $\pm$ 0.32	6.4 $\pm$ 3.3	20	0 (0/8)	1.7 $\pm$ 0.45	3.2 $\pm$ 1.1	ND	1,500 $\pm$ 740
助剤対照区	0.89 $\pm$ 0.19	6.7 $\pm$ 2.4	20	0 (0/9)	1.6 $\pm$ 0.64	4.0 $\pm$ 2.1	ND	1,900 $\pm$ 690
0.0809	1.2 $\pm$ 0.27	7.4 $\pm$ 2.2	20	0 (0/10)	1.6 $\pm$ 0.71	3.2 $\pm$ 0.56	1.3 $\pm$ 2.5	1,600 $\pm$ 620
0.222	1.0 $\pm$ 0.25	6.1 $\pm$ 3.1	20	10 (1 <sup>a</sup> /10)	1.8 $\pm$ 0.27	3.2 $\pm$ 0.63	ND	1,600 $\pm$ 870
0.549	0.99 $\pm$ 0.23	7.7 $\pm$ 1.1	20	8.3 (1 <sup>a</sup> /12)	2.1 $\pm$ 0.59	3.9 $\pm$ 1.0	ND	1,800 $\pm$ 500
1.61	1.1 $\pm$ 0.20	7.5 $\pm$ 3.0	20	0 (0/9)	1.8 $\pm$ 0.29	3.4 $\pm$ 0.85	1.3 $\pm$ 2.5	1,700 $\pm$ 430
4.05	0.76 $\pm$ 0.31	7.5 $\pm$ 2.7	20	0 (0/12)	1.7 $\pm$ 0.26	3.2 $\pm$ 0.98	ND	1,800 $\pm$ 710

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差として示した。

ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 (< 1  $\text{ng/mg liver}$ ) を示す。

<sup>a</sup> 生殖腺スコアは 1.2 であった。

## ケルセンのメダカによる試験結果

### 1. ビテロジェニン産生試験（試験機関：(財)化学物質評価研究機構）

表 1：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	0	$2.6 \pm 0.60$	$2.4 \pm 0.35$	ND	ND
助剤対照区	0	$2.2 \pm 0.55$	$2.0 \pm 0.38$	ND	ND
3.03	0	$2.4 \pm 0.67$	$2.2 \pm 0.53$	ND	ND
4.48	0	$2.3 \pm 0.37$	$2.2 \pm 0.43$	ND	ND
6.68	0	$2.3 \pm 0.38$	$2.1 \pm 0.41$	ND	ND
10.4	0	$2.3 \pm 0.44$	$2.5 \pm 0.53$	ND	ND
14.6	6.7	$2.0 \pm 0.48$	$2.1 \pm 0.31$	ND	$8.1 \pm 7.7^{**}$

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\* は  $p < 0.01$  で有意であることを示す。

ビテロジェニン濃度の ND は、定量下限未満 ( $< 1 \text{ ng/mg liver}$ ) を示す。

### 2. パーシャルライフサイクル試験（試験機関：(財)化学物質評価研究機構）

表 2 - A：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	$93 \pm 5.4$	$9.6 \pm 0.14$	$11 \pm 12$	$30 \pm 1.6$	$270 \pm 43$
助剤対照区	$97 \pm 3.8$	$9.1 \pm 0.10$	$14 \pm 11$	$30 \pm 1.4$	$280 \pm 42$
0.275	$98 \pm 3.3$	$9.3 \pm 0.18$	$10 \pm 4.1$	$30 \pm 1.8$	$290 \pm 58$
0.550	$98 \pm 3.3$	$9.2 \pm 0.12$	$10 \pm 8.6$	$30 \pm 1.4$	$280 \pm 37$
1.10	100	$9.4 \pm 0.084$	$6.7 \pm 9.4$	$30 \pm 1.9$	$280 \pm 53$
2.18	$95 \pm 6.4$	$9.2 \pm 0.20$	$17 \pm 6.4$	$30 \pm 2.5$	$280 \pm 54$
4.52	$97 \pm 6.7$	$9.5 \pm 0.15^{**}$	$8.8 \pm 4.4$	$30 \pm 1.3$	$280 \pm 33$

表 2 - B：(続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	生殖腺指数 (%)		尾数	精巢卵出現率(%) (精巢卵/(精巢+精巢卵))	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
	生殖腺指数 (%)	生殖腺指数 (%)			肝指数 (%)	肝指数 (%)	ビテロジェニン濃度	ビテロジェニン濃度
対照区	$0.87 \pm 0.23$	$5.0 \pm 3.0$	20	0 (0/8)	$1.7 \pm 0.35$	$3.2 \pm 0.77$	ND	$1,200 \pm 660$
助剤対照区	$1.0 \pm 0.43$	$7.5 \pm 2.7$	20	0 (0/11)	$1.8 \pm 0.79$	$4.0 \pm 0.57$	ND	$1,400 \pm 410$
0.275	$1.1 \pm 0.34$	$5.4 \pm 4.0$	20	0 (0/10)	$1.9 \pm 0.50$	$3.7 \pm 0.50$	ND	$1,200 \pm 760$
0.550	$1.1 \pm 0.39$	$3.7 \pm 3.3$	20	0 (0/12)	$2.2 \pm 0.76$	$3.6 \pm 0.61$	ND	$620 \pm 890$
1.10	$1.1 \pm 0.17$	$5.1 \pm 3.4$	20	0 (0/7)	$1.7 \pm 0.31$	$3.4 \pm 1.3$	ND	$1,100 \pm 810$
2.18	$0.93 \pm 0.36$	$2.8 \pm 3.1$	20	0 (0/12)	$1.7 \pm 0.80$	$3.2 \pm 0.60$	$1.1 \pm 1.8$	$570 \pm 830$
4.52	$1.0 \pm 0.54$	$6.5 \pm 1.1$	20	0 (0/12)	$2.1 \pm 0.58$	$4.0 \pm 0.62$	$1.3 \pm 1.8$	$1,600 \pm 340$

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*\* は  $p < 0.01$  で有意であることを示す。

ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 ( $< 1 \text{ ng/mg liver}$ ) を示す。

## ペルメトリンのメダカによる試験結果

### 1. ビテロジェニン産生試験 (試験機関:(財)化学物質評価研究機構)

表 1 : 試験結果

平均濃度 <sup>a</sup> ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	0	2.2 ± 0.59	2.1 ± 0.40	ND	ND
助剤対照区	0	2.4 ± 0.53	2.0 ± 0.45	ND	ND
0.279	0	2.0 ± 0.52	1.9 ± 0.49	ND	ND
0.632	0	2.2 ± 0.63	2.1 ± 0.45	ND	ND
1.29	0	2.3 ± 0.52	2.2 ± 0.55	ND	ND
2.19	0	2.1 ± 0.46	2.1 ± 0.47	ND	ND
5.49	3.3	2.2 ± 0.65	2.0 ± 0.49	ND	ND

各測定値データの値は、平均±標準偏差として示した。

ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 (< 1  $\text{ng/mg liver}$ ) を示す。

### 2. パーシャルライフサイクル試験 (試験機関:(財)化学物質評価研究機構)

表 2 - A : 試験結果

平均濃度 <sup>a</sup> ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	100	9.8 ± 0.14	3.3 ± 3.8	30 ± 1.5	270 ± 41
助剤対照区	100	9.5 ± 0.15	3.3 ± 3.8	30 ± 1.4	260 ± 46
0.177	98 ± 3.3	9.5 ± 0.32	3.5 ± 4.0	30 ± 2.0	250 ± 40
0.279	98 ± 3.3	9.4 ± 0.22	1.8 ± 3.6	29 ± 1.9	260 ± 45
0.424	100	9.1 ± 0.23	5.0 ± 3.3	30 ± 1.5	270 ± 41
0.636	100	9.6 ± 0.12	1.7 ± 3.3	30 ± 1.5	270 ± 41
0.907	95 ± 6.4	9.6 ± 0.27	3.6 ± 7.1	30 ± 1.4	260 ± 43

表 2 - B : (続き)

平均濃度 <sup>a</sup> ( $\mu\text{g/L}$ )	生殖腺指数 (%)		尾 数	精巢卵出現率(%) (精巢卵/(精巢+精巢卵))	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
対照区	0.97±0.23	7.9±1.2	20	0 (0/11)	2.2±0.43	3.5±0.76	ND	1,100±530
助剤対照区	0.90±0.30	7.6±3.3	20	0 (0/11)	2.2±0.49	3.8±1.3	ND	1,300±740
0.177	0.93±0.24	7.8±1.7	19 <sup>b</sup>	0 (0/9)	1.8±0.67	3.6±0.73	ND	1,800±930
0.279	0.98±0.19	9.6±1.5	20	9.1 (1 <sup>c</sup> /11)	2.0±0.58	3.6±0.81	ND	1,400±320
0.424	1.2±0.33 <sup>*</sup>	6.1±3.2	20	7.7 (1 <sup>c</sup> /13)	2.0±0.73	3.2±1.3	ND	1,700±660
0.636	1.2±0.22	6.2±2.4	20	0 (0/7)	1.8±0.33	3.2±1.2	ND	1,500±320
0.907	1.2±0.30	8.9±2.4	20	0 (0/10)	2.0±0.70	3.6±0.85	ND	1,700±540

各測定値データの値は、平均±標準偏差、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。

ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 (< 1  $\text{ng/mg liver}$ ) を示す。

<sup>a</sup> 平均測定濃度は *cis* 体と *trans* 体のそれぞれの平均濃度の合計とした。

<sup>b</sup> 固定作業における操作ミスのため N=19 とした。

<sup>c</sup> 生殖腺スコアは 1.2 であった。

## マラチオンのメダカによる試験結果

### 1. ビテロジェニン産生試験（試験機関：国土環境株式会社）

表 1：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	死亡率 (%)	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度( $\text{ng/mg liver}$ )	
		14 日	21 日	14 日	21 日
対照区	0	$2.1 \pm 0.26$	$2.4 \pm 0.29$	ND	ND
助剤対照区	0	$2.1 \pm 0.33$	$2.3 \pm 0.33$	ND	ND
1.49	0	$2.2 \pm 0.40$	$2.0 \pm 0.27$	ND	ND
4.57	0	$1.8 \pm 0.31^*$	$2.2 \pm 0.39$	ND	ND
15.1	0	$1.9 \pm 0.27^*$	$2.2 \pm 0.55$	ND	ND
45.6	0	$1.9 \pm 0.14$	$2.2 \pm 0.29$	ND	ND
148	0	$2.0 \pm 0.34$	$2.2 \pm 0.36$	ND	ND

### 2. パーシャルライフサイクル試験（試験機関：(財)化学物質評価研究機構）

表 2 - A：試験結果

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	孵化率 (%)	孵化日数 (日)	死亡率 (%)	全長 (mm)	体重 (mg)
対照区	100	$9.9 \pm 0.18$	$1.7 \pm 3.3$	$29 \pm 1.7$	$260 \pm 43$
助剤対照区	100	$10 \pm 0.033$	0	$30 \pm 2.3$	$270 \pm 63$
0.375	100	$9.9 \pm 0.094$	0	$29 \pm 1.6$	$260 \pm 47$
0.781	$98 \pm 3.3$	$10 \pm 0.16$	$1.7 \pm 3.3$	$30 \pm 2.0$	$270 \pm 52$
1.62	100	$10 \pm 0.064$	0	$30 \pm 1.0$	$270 \pm 31$
2.77	$98 \pm 3.3$	$10 \pm 0.11$	$5.0 \pm 6.4$	$30 \pm 2.7$	$280 \pm 54$
6.26	100	10	$3.3 \pm 3.8$	$30 \pm 1.5$	$270 \pm 48$

表 2 - B：(続き)

平均濃度 ( $\mu\text{g/L}$ )	生殖腺指数 (%)		尾 数	精巢卵出現率(%) (精巢卵/(精巢+精巢卵))	肝指数 (%)		ビテロジェニン濃度 ( $\text{ng/mg liver}$ )	
	生	殖			1	2	1	2
対照区	$1.0 \pm 0.32$	$6.2 \pm 3.5$	20	0 (0/11)	$2.3 \pm 0.73$	$3.3 \pm 0.67$	ND	$1,500 \pm 860$
助剤対照区	$1.0 \pm 0.23$	$7.2 \pm 3.1$	20	0 (0/9)	$1.9 \pm 0.54$	$3.7 \pm 0.33$	ND	$1,600 \pm 720$
0.375	$1.1 \pm 0.20$	$8.0 \pm 1.7$	20	0 (0/9)	$1.7 \pm 0.36$	$3.5 \pm 0.81$	ND	$1,800 \pm 550$
0.781	$0.96 \pm 0.25$	$8.5 \pm 2.6$	20	0 (0/9)	$1.4 \pm 0.56$	$3.8 \pm 0.76$	ND	$1,900 \pm 510$
1.62	$1.2 \pm 0.40$	$9.4 \pm 1.6$	20	0 (0/11)	$1.9 \pm 0.70$	$3.8 \pm 0.75$	ND	$1,400 \pm 310$
2.77	$1.2 \pm 0.30$	$7.4 \pm 3.4$	20	0 (0/11)	$1.9 \pm 0.42$	$3.9 \pm 1.0$	ND	$1,300 \pm 440$
6.26	$1.1 \pm 0.22$	$8.7 \pm 2.1$	20	0 (0/9)	$2.1 \pm 0.67$	$3.7 \pm 0.57$	ND	$1,100 \pm 290^*$

各測定値データの値は、平均 $\pm$ 標準偏差、\*は  $p < 0.05$  で有意であることを示す。  
ビテロジェニンの ND は、定量下限未満 ( $< 1 \text{ ng/mg liver}$ ) を示す。

表 選定物質のメダカエストロゲン受容体（、）結合競合阻害試験、  
メダカエストロゲン受容体（、）レポータージーン試験及び  
メダカアンドロゲン受容体レポータージーン試験の結果

	エストロゲン受容体 (%)		エストロゲン受容体 (%)		アンドロゲン受容体 (%)	
	結合競合阻害試験	レポータージーン試験	結合競合阻害試験	レポータージーン試験	レポータージーン試験	レポータージーン試験
アルドリン	0.29	-	0.025	-	-	-
エンドリン	0.21	-	0.019	-	-	-
イルドリン	0.30	-	0.0079	-	-	-
ヘプタクロル	0.16	-	0.015	-	-	-
マイレックス	-	-	-	-	-	-
マラチオン						
ケルセン						
ペルメトリン						
op'-DDT	0.54	n. d.	0.17	-	-	-

結合競合阻害試験では陽性対象物質の活性を 100 とした際の相対結合親和性 (%) を、レポータージーン試験では相対遺伝子転写活性 (%) を示した。マラチオン、ケルセン、ペルメトリンについては各試験を実施中。- : 試験した濃度範囲で活性が認められなかった。  
n. d.: 活性が認められなかったが IC<sub>50</sub> 値は得られず、相対活性が計算できなかった。



## SPEED'98における生態系への内分泌かく乱作用による影響に関する 魚類を用いた試験体系の概況

### 1. 評価体制

平成16年度までは、「内分泌攪乱化学物質問題検討会」のもとに設置された「内分泌攪乱作用が疑われる物質のリスク評価検討会」のなかに生態系の専門家からなる「内分泌攪乱化学物質の生態影響に関する試験法開発検討会」を設置し(鳥類、両生類、無脊椎動物についてはそれぞれ担当グループを更に設置)

物質ごとのプロトコール及びそのプロトコールに則った実施状況や試験結果について助言評価を行った。

平成17年度からは、「化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会」のもとに設置された「作用・影響評価検討会」のなかに生態系の専門家からなる「魚類試験実務者会議」を設置し(両生類、無脊椎動物についてはそれぞれ試験法開発研究班を更に設置) 物質ごとのプロトコール及びそのプロトコールに則った実施状況や試験結果について助言評価を行った。

### 2. 有害性評価の対象とした化学物質

環境省においては、内分泌攪乱化学物質の生態系への影響評価のため、スクリーニング・試験法について、OECD(経済協力開発機構)の国際的取組に協調しつつ開発を進めるとともに、わが国において開発した方法(メダカのビテロジェニンアッセイ・パーシャルライフサイクル試験・フルライフサイクル試験・レセプターバインディングアッセイ・レポータージーンアッセイ)を用いて、有害性評価を進めた。対象とした化学物質は、平成12年度に選定した12物質<sup>1)</sup>、平成13年度に選定した8物質<sup>2)</sup>、平成14年度に選定した8物質<sup>3)</sup>及び平成15年度に選定した8物質<sup>4)</sup>である。

1)トリブチルスズ、4-オクチルフェノール、ノニルフェノール、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジシクロヘキシル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、オクタクロロスチレン、ベンゾフェノン、トリフェニルスズ、フタル酸ジエチル、フタル酸ブチルベンジル及びアジピン酸ジ-2-エチルヘキシル

2)ペンタクロロフェノール、アミトロール、ビスフェノールA、2,4-ジクロロフェノール、4-ニトロトルエン、フタル酸ジペンチル、フタル酸ジヘキシル及びフタル酸ジプロピル

3)ヘキサクロロベンゼン、ヘキサクロロシクロヘキサン、クロルデン、オキシクロルデン、trans-ノナクロル、DDT、DDE及びDDD

4)アルドリノ、エンドリン、ディルドリン、ヘプタクロル、マイレックス、ケルセン、馬拉チオン及びペルメトリン

### 3. 魚類

メダカを試験動物とし、スクリーニングの位置付けで、ビテロジェニンアッセイ、パーシャルライフサイクル試験、FLF・d-rRメダカ試験等を実施するとともに、確定試験の位置付けでフルライフサイクル試験を実施した。また、必要に応じて、物質ごとに試験を追加するとともに、これらの試

験結果を補完する目的で試験管内 (*in vitro*) 試験を実施した。なお、OECDにおいて、魚類のビテロジェニン産生試験の標準化を目的としたリングテスト(試験法の有用性や妥当性等を検証する目的で、同一試験を同一条件で複数の機関により実施するテスト)が平成15年3月より開始され、日本がリーダーボ(取りまとめ試験機関)として結果を取りまとめている。

## (1) スクリーニング試験

### ビテロジェニンアッセイ

雄メダカを化学物質に21日間曝露し、ビテロジェニン産生能力を測定することにより、化学物質のエストロジェン様作用の有無・程度を把握した。曝露濃度は、環境実態調査結果により得られた魚類の推定曝露濃度を参考に、被験物質の水溶解度、一般毒性値、内分泌攪乱作用を示すと疑われた試験結果(信頼性評価済み)及び水中での検出限界値等を考慮して、5群設定した。本アッセイについては、36物質<sup>5)</sup>について試験を実施した。

5)ヘキサクロロベンゼン、ヘキサクロロシクロヘキサン、cis-クロルデン、trans-ノナクロル、p,p'-DDT、o,p'-DDT、p,p'-DDE、p,p'-DDD、トリブチルスズ、4-オクチルフェノール、ノニルフェノール、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジシクロヘキシル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、オクタクロロスチレン、ベンゾフェノン、トリフェニルスズ、フタル酸ジエチル、フタル酸ブチルベンジル、アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル、ペンタクロロフェノール、アミトロール、ビスフェノールA、2,4-ジクロロフェノール、4-ニトロトルエン、フタル酸ジペンチル、フタル酸ジヘキシル、フタル酸ジプロピル、アルドリン、エンドリン、ディルドリン、ヘプタクロル、マイレックス、ケルセン、マラチオン及びペルメトリン

### パーシャルライフサイクル試験

化学物質をメダカに受精卵から成熟期を通して約70日間曝露することにより、主に性分化への影響を把握する試験であり、孵化、孵化後の生存、成長、二次性徴、生殖腺組織、ビテロジェニン産生等をエンドポイントとした。曝露濃度は、原則としてビテロジェニンアッセイの結果を参考に、5群設定した。本試験については、36物質<sup>5)</sup>について試験を実施した。

### FLF・d-rRメダカ試験

胚の白色色素の有無により遺伝的な性別が判別できるFLFメダカや体色により遺伝的な性別が判別できるd-rRメダカなどの試験生物の開発を進めており、アーリーライフステージでの影響を把握する試験へ応用できる系統を確立した。

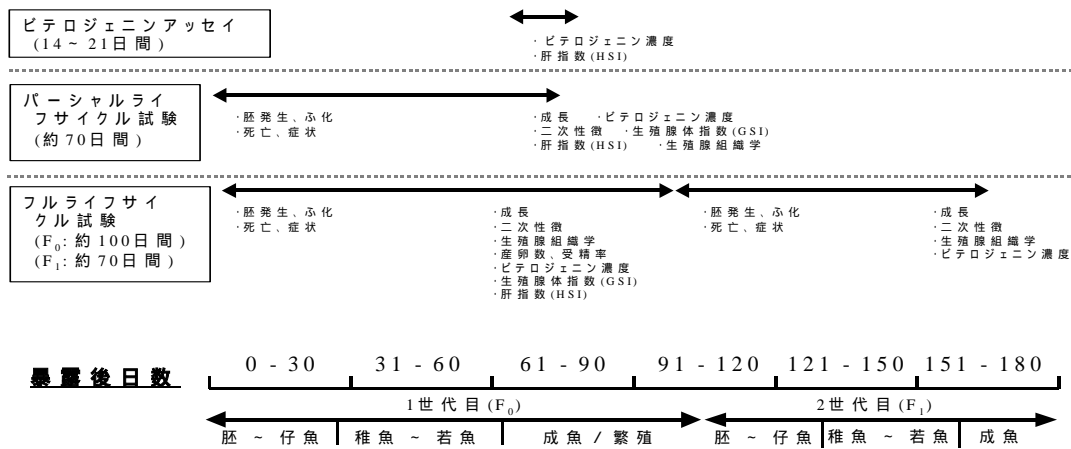
## (2) 確定試験

### フルライフサイクル試験

化学物質をメダカに少なくとも2世代(約180日間)にわたり曝露するこ

とにより、発達、成熟、繁殖期を含む全生涯を通しての影響を把握する試験であり、孵化、孵化後の生存、成長、二次性徴、生殖腺組織、ビテロジェニン産生、産卵数、受精率等をエンドポイントとした。曝露濃度は、パーシャルライフサイクル試験結果を参考に、原則として5群設定した。本試験については、5物質<sup>6)</sup>及び陽性対照物質(17-エストラジオール、エチニルエストラジオール、メチルテストステロン、フルタミド)について試験を実施した。

6)4-オクチルフェノール、ノニルフェノール、フタル酸ジ-n-ブチル、ビスフェノールA及びo,p'-DDT



ビテロジェニンアッセイでは雄メダカに21日間、パーシャルライフサイクル試験では受精卵から成熟期を通して約70日間、フルライフサイクル試験では少なくとも2世代(約180日間)にわたり試験物質を曝露する。なおメダカが孵化して産卵する期間は、約90日から120日程度である。

図1 メダカ試験の概要

(3) 試験管内 (in vitro) 試験

レセプターバインディングアッセイ

化学物質のメダカエストロジェンレセプター (ER<sub>1</sub> 及び ER<sub>2</sub>) への結合能力を測定するアッセイを開発し、33物質<sup>7)</sup>について試験を実施した。

7)ヘキサクロロベンゼン、ヘキサクロロシクロヘキサン、cis-クロルデン、trans-ノナクロル、p,p'-DDT、o,p'-DDT、p,p'-DDE、p,p'-DDD、トリブチルスズ、4-オクチルフェノール、ノニルフェノール、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジシクロヘキシル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、オクタクロロスチレン、ベンゾフェノン、トリフェニルスズ、フタル酸ジエチル、フタル酸ブチルベンジル、アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル、ペンタクロロフェノール、アミトロール、ビスフェノールA、2,4-ジクロロフェノール、4-ニトロトルエン、フタル酸ジペンチル、フタル酸ジヘキシル、フタル酸ジプロピル、アルドリン、エンドリン、ディルドリン、ヘプタクロル

及びマイレックス

#### レポーター遺伝子アッセイ

レセプター遺伝子及びレポーター遺伝子を導入したヒト子宮頸がん由来 HeLa 細胞を用いることにより、化学物質のメダカエストロジェンレセプター (ER $\alpha$  及び ER $\beta$ ) 及びアンドロジェンレセプター (AR) への結合後の転写活性能力を測定するアッセイを開発し、33 物質<sup>7)</sup>について試験を実施した。

### 内分泌攪乱化学物質の魚類への影響評価のための試験体系について

必要に応じて、物質ごとに試験を追加する。

