

資料 5

## ExTEND2005 における無脊椎動物試験法開発について

### 【これまでの取組】

平成 16 年 4 月に OECD へ提案した Enhanced TG 211\* は、同年 5 月の OECD の WNT 会合において、オオミジンコ (*Daphnia magna*) を用いた無脊椎動物における内分泌かく乱作用に関する試験法提案として正式に認められた。

提案後にバリデーションの予備検討を行ったところ、オスの出現というエンドポイントの感受性に系統差があることが明らかとなった。

そこで、平成 16 年 12 月に開催された第 3 回 VMG-eco において、OECD 加盟 6 カ国からオオミジンコのさまざまな遺伝系統を手に入れて、バリデーション実施前にあらかじめ予備的試験（プレ・バリデーション）を実施することが承認され、（独）国立環境研究所において実施した。

その結果を、平成 17 年 11 月に開催された OECD 第 2 回無脊椎動物専門家会合において報告し、それを踏まえて試験物質の選定、使用系統の選択等、バリデーション・リングテストの実施条件が検討された。

平成 17 年 12 月に国立環境研究所がリングテストのリード・ラボラトリーとして選定され、平成 18 年度には 6 カ国 12 研究機関の参加のもと、バリデーション・リングテストを実施した。一通りのデータ整理と統計解析を行った後、平成 19 年 1 月に開かれた OECD の第 5 回 VMG-eco 及び平成 19 年 6 月開催の第 3 回無脊椎動物専門家会合に於いて結果報告を行った。

\* 従来ミジンコでの毒性試験として使用されてきたテストガイドライン 211 に、オスの出現（仔虫の性比の変化）、脱皮回数の変化という新たなエンドポイントを追加することを Enhanced テストガイドライン（Enhanced TG 211）として提案している。

### 【平成 19 年度事業の成果】

各国からの意見を参考にして、リングテスト報告書案（Draft Validation Report）を作成し、Draft Enhanced TG211 とともに、平成 20 年 1 月に開催された OECD の第 6 回 VMG-eco に提出した。会議の結果、TG211 の改訂を行うのではなく、Annex として仔虫性比を付け加えることによって、必要に応じて使えるようにするという位置付けとなった。

### 【今後の取組方針】

平成 20 年 4 月の第 20 回 WNT では、Draft Validation Report は提案通り承

認められた。また TG211 に関しては、仔虫の雌雄判別を従来の TG に Annex の形で付け加えることとなっていたため、大幅な改訂の必要がないことが合意された。

OECD に提案した Enhanced TG211 試験のバリデーション・リングテストの結果取りまとめ及び各国で出された意見に対する対応等

国際試験法提案リード国として、各国から出された修正意見等に対し、対処すべき事項においては国立環境研究所で今後の対策検討を行う。また、OECD の無脊椎動物試験法に係る専門者会議に出席し、内部検討結果に係る問題点及び今後の予定などを明らかにする。

OECD 及び EPA (米国環境保護庁) との研究協力におけるミジンコ多世代試験の検討及び実施

OECD 及び EPA で提案されている無脊椎動物及び脊椎動物を用いた化学物質の内分泌かく乱作用に関する試験法は全て多世代の影響をエンドポイントとして取り入れている。しかしミジンコを用いた試験については現行の TG211 及び提案中の Enhanced TG211 とともに 1 世代のみの影響を観察している。そこでミジンコについても多世代試験を行う必要があるのか、または行うとしたらどの様な手法が適切であるかについての検討を昨年度に引き続き行う。

アミ類やカイアシ類を用いた多世代試験を米国、ドイツなどでは提案しているが、ミジンコについてはそれらの試験間の比較ができるように、各国共通の化学物質を用いた試験を実施することが必要とされている。さらに、日米二国間協力実務者会議へ出席し、化学物質の内分泌かく乱作用に関する日米二国間協力業務において報告する無脊椎動物に係る試験法開発進捗状況の説明を行い、試験法に関する提案を行う。

ミジンコの性比に影響を及ぼす化学物質の情報収集及びスクリーニング試験  
文献及び学会等における最新の情報を収集し、米国、OECD 等の他国で行われているミジンコ以外の甲殻類試験で用いられている被験物質の中から、ミジンコの仔虫性比及び繁殖に影響を与える物質を選定する。また、選定した物質について、作用・影響評価検討部会に報告する。さらに、作用・影響評価検討部会の意見を踏まえてミジンコを用いたスクリーニング試験を行う。

< 無脊椎動物試験に関する OECD の動きと日本の取組 >

年月	OECD の動き	日本の取組
2003 年 10 月	第 1 回無脊椎動物専門家会合 ・提案された甲殻類における内分泌かく乱化学物質スクリーニング試験法については『Enhanced Test Guideline 211』という呼称を用いることに決定	ミジンコ科数種における、幼若ホルモン様物質によるオス仔虫生産誘導についての基礎データを報告し、甲殻類における化学物質の内分泌かく乱作用のスクリーニング試験法として提案
2004 年 5 月	第 16 回 WNT (Meeting of the National Co-ordinators of the Test Guidelines Programme) ・『Enhanced Test Guideline 211』の優先順位については medium と評価	
2004 年 12 月	第 3 回 VMG-eco ・バリデーション開始に先立ち、日本において、OECD 参加各国で使用されているミジンコ系統の感受性差を評価することを決定	試験に用いるミジンコの系統によって幼若ホルモン様物質に対する感受性が異なることを報告
2005 年 2 月		各国から送付されたミジンコを用いた系統差に関するプレ・バリデーション開始
2005 年 11 月	第 2 回無脊椎動物専門家会合	プレ・バリデーション結果報告及び Enhanced TG 211 リングテスト実施を提案
2005 年 12 月	Invitation Letter 配布	Invitation Letter の作成
2006 年 2 月	バリデーション・リングテスト開始	参加研究機関へのプロトコール、試験物質、試験系統の配布
2007 年 1 月	第 5 回 VMG-eco	バリデーション・リングテスト結果報告
2007 年 3 月	第 19 回 WNT OECD 事務局より、現行の TG211 でも雄仔虫の出現はオプションな項目として挙げられており、本プロジェクトの成果はこの項目に関するガイダンスとして、TG211 の ANNEX ( 附録 ) にできるのではないかと示唆あり。また BIAC より、本試験法の目的、根拠及び規制的な必要性が理解できないとの強い意見あり。	
2007 年 6 月	第 3 回無脊椎動物専門家会合 TG211 に新たなエンドポイントを付加することにより対応することが決定。試験法の意義、必要性について各国の理解を得る。 報告書作成、統計処理の検討について、参加国からのボランティア援助の約束。	バリデーション・リングテスト結果報告
2008 年 1 月	第 6 回 VMG-eco TG211 の改訂ではなく、Annex として仔虫性を付け加えることによって、必要に応じて使えるようにするという位置付け。	BIAC からのコメント、John Green 氏による統計解析結果などを受けて、Finland の Jukka Ahtiainen 氏の協力を得ながら Draft Validation Report を第 20 回 WNT までに準備
2008 年 4 月	第 20 回 WNT Draft Validation Report は提案通り承認された。また、TG211 に関しては、従来の TG にオプションの観察事項として産出された仔虫の雌雄を観察するとの記述があったため、大幅な改訂の必要がないことが合意された。関連する部分に関しては提案の通り承認すべきとされた。	Draft Validation Report に対する日本化学工業協会からのコメントを BIAC として OECD へ提出