

魚類を用いた試験法の概要 (1)

Fish Screening Assay (FSA)

メダカ (*Oryzias latipes*)、ファットヘッドミノウ、ゼブラフィッシュ



繁殖可能な性成熟した雌雄個体



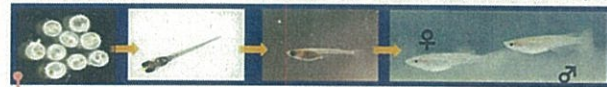
- ・試験方法: 流水式試験装置
- ・試験濃度: 3濃度+対照区
- ・試験魚数: 雌雄10個体/試験濃度
繰返し数: 2 (雌雄各5個体/試験濃度)
- ・観察項目:
試験液のpH、D0、水温 $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ (2回/週)
試験濃度の実測 (1回/週)
- ・給餌: アルテミアふ化幼生 2回/日 (飽食量)

- 試料採取: ばく露21日後
- ・測定項目:
- 個体の生存及び症状
- 二次性徴
- 肝臓中VTG濃度 (ELISA)
- ・データ解析:
ANOVAによる測定値解析

魚類を用いた試験法の概要 (2)

Fish Sexual Development Assay

メダカ (*Oryzias latipes*)、ファットヘッドミノウ、ゼブラフィッシュ



試験生物: 受精後数時間した受精卵



- ・試験方法: 流水式試験装置
- ・試験濃度: 3濃度+対照区
- ・試験魚数: 45個体/試験濃度
- ・観察項目:
- 試験液のpH、D0、水温 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$
- 試験濃度の実測
- ふ化率、ふ化日数、個体の死亡、症状、体重、体長

- ・測定項目:
- 肝臓中VTG濃度 (ELISA)
- 生殖腺組織 (GSI、精巢卵など)
- ・データ解析:
ANOVAによる測定値解析

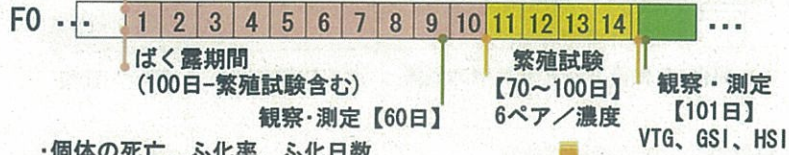
魚類を用いた試験法の概要 (3)

Full Life Cycle Test (FLCT)

メダカ (*Oryzias latipes*)

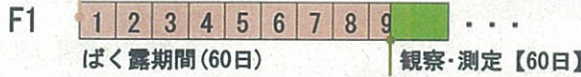


試験生物：受精後数時間内に採取した受精卵



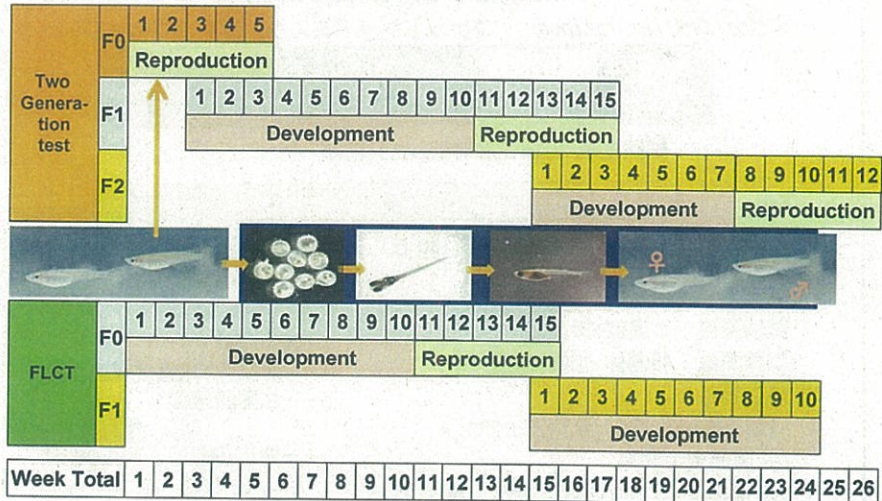
- ・個体の死亡、ふ化率、ふ化日数
- ・性比、生殖腺組織
- ・その他の項目

ばく露96-98日後に採取した新たな受精卵



- ・個体の死亡 ・測定項目：-肝臓中VTG濃度 (ELISA) -性比 (DMY)
- ・ふ化率 -生殖腺組織 (GSI、精巣卵など)
- ・ふ化日数 ・データ解析: ANOVAによる測定値解析

二世世代繁殖試験とFLCTの試験期間



※各試験プロトコルともに最適化を検討中である

＜魚類試験に関するOECDの動きと日本の取組＞

年月	OECD の動き	日本の取組
1998年10月	第1回魚類 Expert Consultation ・3段階の試験体系 (Tiered testing approach) 提案	日本の取組を紹介 ・SPEED' 98 の概要説明 ・d-rR メダカを用いた性転換試験の結果
2000年11月	第2回魚類 Expert Consultation ・Tier 1~3 における試験法の結果報告	日本の取組を紹介 ・メダカ繁殖試験 ・sr-R メダカを用いた性転換アッセイ ・メダカフルライフサイクル試験を用いた試験結果
2002年6月	第6回 EDTA (Endocrine Disrupter Testing and Assessment) 東京会議 ・5段階の試験体系 (Conceptual framework) 提案	試験体系のスキームを提案 日本の取組を紹介 ・ノニルフェノール及びトリブチルスズについてのリスク評価結果を提出し加盟国の専門家の意見を聴取していることを発表
2002年9月	第1回魚類生殖腺組織学に関するテクニカルワークショップ-FDG (Fish Drafting Group) /オランダ ・魚類内分泌かく乱評価において生殖腺組織学がエンドポイントになりうるとの共通認識確認	日本における取組を紹介 ・魚類生殖腺組織学の切片作製法 ・メダカ正常発生における生殖腺組織学基礎データ及び内分泌攪乱化学物質にばく露されたメダカ生殖腺病理組織学
2003年3月	VMG-eco (Validation Management group for ecotoxicity testing) 電話会議 ・Fish Screening Assay for the Detection of Endocrine Active Substances Phase 1 検証作業の承認 ・Phase 1A 検証作業の開始	Phase 1A 検証作業の実施 参加機関 (日本) ・財団法人化学物質評価研究機構 (リードラボ)、 独立行政法人国立環境研究所、国土環境株式会社
2003年5月	第2回 VMG-eco ・Phase 1A 検証作業の進捗確認 ・高次試験法についての議論	魚類スクリーニング試験の Phase 1A 検証作業における初期結果報告 日本の取組を紹介 ・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開発状況 ・PLCT 及び FLCT プロトコル提出 (2-genT との比較 DS)
2003年10月	第1回魚類生殖腺-FDG 会議 (パリ) ・生殖腺評価の標準化 FDG (Fish Drafting Group) 会議 (パリ) ・Phase 1B 検証作業に向けた取組の提案/承認 ・Phase 1B の検証作業の開始	魚類スクリーニング試験の Phase 1A 検証作業の結果報告 フルライフサイクル試験と二世代試験の比較に関する文献調査の進捗状況報告
2004年3月		Phase 1B 検証作業の実施 参加機関 (日本) ・財団法人化学物質評価研究機構 (リードラボ)、 独立行政法人国立環境研究所、国土環境株式会社
2004年11月	第2回魚類生殖腺 FDG 会議 (ドイツ) ・魚類生殖腺評価の標準化と重要な測定項目のリストアップ	魚類スクリーニング試験の Phase 1B 検証作業のうち生殖腺関連の結果報告
2004年12月	第3回 VMG-eco ・魚類スクリーニング試験 Phase 1B 検証作業のまとめと今後の取組の整理 ・高次試験法についての議論	魚類スクリーニング試験の Phase 1B 検証作業の結果報告
2005年5月	FDG 電話会議 ・Phase 2 検証作業に向けた取組の提案/承認 ・Phase 2 の検証作業の開始	Phase 2 検証作業における物質選定のため <i>in vitro</i> 試験の結果報告
2005年7月		Phase 2 検証作業の実施 参加機関 (日本) ・財団法人化学物質評価研究機構 (リードラボ)