

## ExTEND2005 における両生類試験法開発について

## 1. 変態アッセイ

## (1) 経緯

2001年のOECD会合において、両生類を用いた内分泌かく乱作用のスクリーニング・試験法の開発が開始された。2004年からは、両生類変態アッセイの標準化を目的としたリングテストが実施され、試験法の有用性や妥当性等が検証された。フェーズ1からフェーズ3までの検証作業の結果、アフリカツメガエル幼生を用いた3週間の試験としてプロトコルが作成された。現在、OECD事務局及び関係各国の協力のもとテストガイドライン案が改定され、2009年3月のWNTにおいて審議され、承認された(添付資料1)。

## ○フェーズ1：2004年～2005年

試験物質 テトラヨードチロニン：甲状腺ホルモン作用(変態促進)  
プロピルチオウラシル(PTU)：抗甲状腺ホルモン作用(変態抑制)

## ○フェーズ2：2005年～2007年

試験物質 テトラヨードチロニン：甲状腺ホルモン作用(変態促進)  
イオパノ酸：脱ヨード化酵素阻害作用(発生異常・甲状腺異常)  
パークロレート：ヨード取り込み阻害作用(甲状腺異常)

## ○フェーズ3：2007年～2008年

試験物質 ベンゾフェノン2：弱い抗甲状腺ホルモン作用(甲状腺異常)

## (2) 変態アッセイ試験法について

「変態アッセイ」とは、甲状腺ホルモンによって制御されているカエルの“変態”に着目し、尾の退縮や肢の形成等に代表される、形態変化をエンドポイントとして、甲状腺ホルモンかく乱作用を評価する21日間の試験である(添付資料2)。

## 2. 両生類パーシャルライフサイクルテスト

## (1) 経緯

OECDにおける両生類を用いた試験法開発は、これまで変態アッセイの開発が優

先的に進められてきた。変態アッセイの開発が収束しつつある現在、「両生類のための試験法を開発すべき段階に入った」との認識の下、OECD 第4回両生類専門家会合及び、日米二国間協力事業における第5回実務者会議において、日米を軸に、両生類パーシャルライフサイクルテストの開発を検討することが確認され、2009年3月のWNT会議にて、SPSFが受理された(添付資料1)。今後、日米の二カ国を軸に試験プロトコルを調整し、リングテストを実施する。

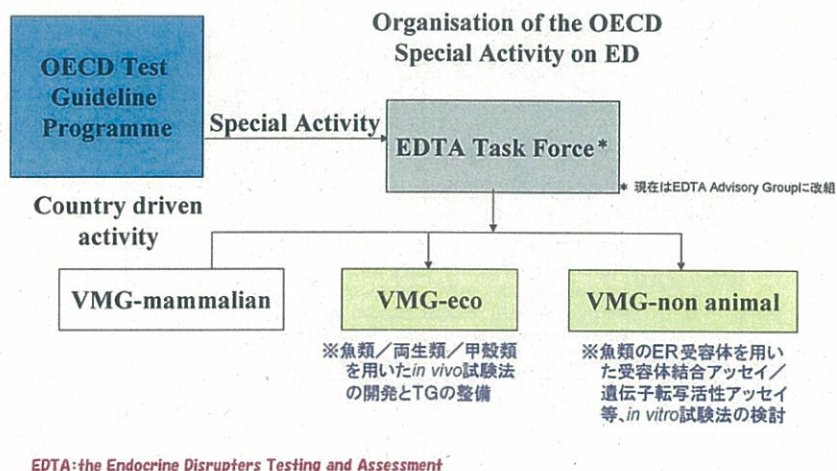
## (2) パーシャルライフサイクルテスト試験法について

「両生類パーシャルライフサイクルテスト」とは、孵化から性成熟までばく露し、両生類の発生・成長・繁殖への影響について調べることを目的とした、42週間程度の長期ばくろ試験である(添付資料2)。試験動物であるニシツメガエルは、アフリカツメガエルと比べて性成熟の期間が短く、また、染色体が2倍体であり、遺伝子解析も進んでいることから、本試験において使用されている。なお、プロトコルの詳細については、現在、米国と調整中である。

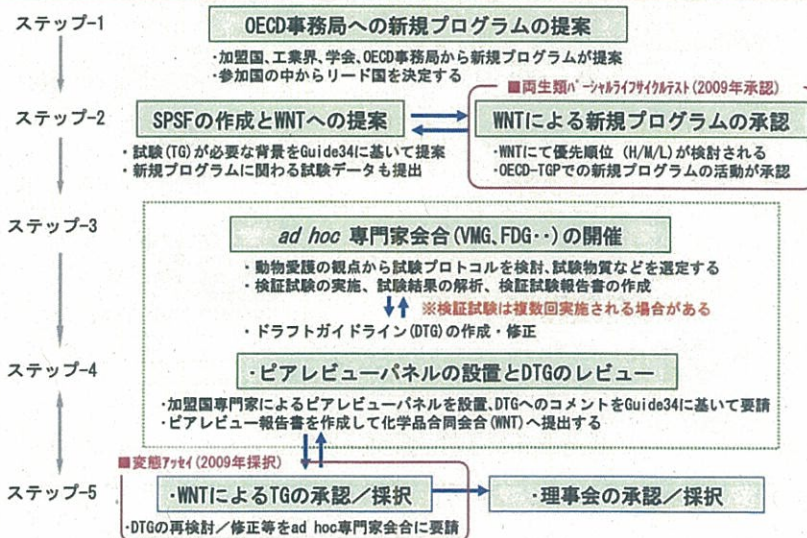


(添付資料1)

## The OECD Work on ED: A Special Activity of the Test Guideline Programme



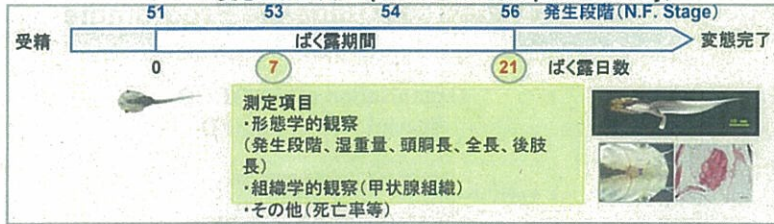
### ■OECDテストガイドラインプログラムにおける両生類試験法の進捗状況



(添付資料2)

## 両生類を用いた試験法の概要(1)

### 変態アッセイ(Amphibian Metamorphosis Assay)



試験動物	アフリカツメガエル( <i>Xenopus laevis</i> )
ばく露期間	発生段階51から21日間
試験物質及び濃度	対照区及び試験物質 4濃度 (各4連) Thyroxine (T <sub>4</sub> ): 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 µg/L Iopanoic acid (IOP): 0.75, 1.5, 3.0, 6.0 mg/L Perchlorate (PER): 65, 125, 250, 500 µg/L Benzophenone-2 (BP-2): 0.75, 1.5, 3.5, 6.0 mg/L
使用個体数	20匹/4L/tank (但し7日目で5匹を測定のためサンプリング)

## 両生類を用いた試験法の概要(2)

### 両生類パーシャルライフサイクルテスト



試験動物	ニシツメガエル <i>Xenopus (Silurana) tropicalis</i> (USより供与)
被検物質	エチニルエストラジオール 3濃度 (各5連)
ばく露期間	約42週間(受精後48時間から成熟まで)
使用個体数	25-30匹/7L/tank (変態完了まで) 8匹/7L/tank (変態後から試験終了まで)