

取組の現状

内分泌攪乱化学物質に関する試験法および評価についての最近の取組と進捗

ハーマン B.W.M. クーター

経済協力開発機構(OECD)

OECDは1998年に「内分泌攪乱化学物質の試験と評価に関する特別活動」を開始した。この活動は、各国が取り組む内分泌攪乱化学物質の試験と評価に大きな差異が生じないようにする目的で、OECD加盟国経済産業諮問委員会(BIAC)がOECDに対して行った要請に基づいて始められた。特別活動を運営するために、「内分泌攪乱化学物質の試験と評価(EDTA)に関するワーキンググループ」が同年に設立された。

当初は、新しい試験法の開発及び既存の試験法の更新を中心に作業していた。これらの試験法の妥当性評価は、OECD試験ガイドラインとして選ばれた試験法の開発の中で行われた。哺乳類試験と環境毒性試験の各々の目的に合わせて、「妥当性評価管理グループ(VMG)」「哺乳類の妥当性評価グループVMG-Mammalian及び生態系の妥当性評価グループVMG-eco)が設立された。EDTAは、2002年6月に、*in vitro*(生体外)および動物を用いない試験の妥当性評価を実施するための新しい(第3の)グループ(VMG-*in vitro*)の要請を承認された。現時点での試験法開発及び妥当性評価に関する活動には次のようなものがある：子宮肥大試験、前立腺肥大試験、改訂試験ガイドライン407、魚類に対するスクリーニング及びフルライフサイクル試験、鳥類に対する繁殖試験(エストロゲン作用、抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用のスクリーニングと試験を含む)、両生類変態試験(甲状腺ホルモン機能の攪乱が対象)、無脊椎動物試験。

内分泌攪乱化学物質の試験法及び評価法としての適合が確認された、新たな試験を枠組みに取り込むことを目的で、1998年に概念的な枠組みが作成された。これは、新規および既存の物質の両方に適用し、製薬、工業化学、農業などさまざまな化学分野を対象にすることを意図したものである。

2002年6月の東京で行われた会議において、この概念的な枠組みは、EDTAによって大幅に改訂された。この枠組みは、試験のスキームではなく、内分泌攪乱作用に関する有害性を検出するための情報収集に資する各種の試験法を包含するツールボックスであることが確認された。

内分泌攪乱化学物質に関する作業量が極めて膨大であること考慮すると、作業(少なくともその一部)を国際的に分担する方策を見つけることが適切だと言える。2001年6月にOECD加盟国は、既存物質についての内分泌攪乱作用の有無を調べるための試験分担を調整し、被験物質の評価を分担する方法を見出すことに着手すべきであることを同意した。さらに作業分担については、まずは小さく取組をはじめ、成功の見通しがついた場合に漸次拡大することが加盟国間で同意された。対象となる化学物質のグループ分け、ハイ・スループット・スクリーニング知見と試験結果の共有、動物試験の実施状況の交換が最優先事項とされた。特定物質の評価報告書の共有についてもきわめて有用であるとされた。この作業は現在始まったばかりであり、この先の数年にわたって継続される予定である。



内分泌攪乱化学物質の科学的現状の国際的評価(グローバル・アセスメント)

ティム メレディス

世界保健機関(WHO)

1997年に国際化学物質安全性計画(IPCS)に対し、環境中の内分泌攪乱化学物質に関する科学的知見の現状について国際的評価を実施することを、「政府間化学物質安全性フォーラム」及び「環境リーダー 8ヶ国(G8)による子供の環境衛生に関する1997年宣言」より求められた。この要求は、1997年の第50回世界保健総会で支持された。そして内分泌攪乱化学物質関連の公表されている文献を全世界的・包括的に総覧した成果である「内分泌攪乱化学物質の科学的現状の国際的評価(グローバル・アセスメント)」と題する報告書が2002年8月に公表された。この作業は、IPCSが主催し、世界保健機関(WHO)、国連環境計画(UNEP)、国際労働機関(ILO)三者の協力プログラムであった。IPCS運営委員、各章の主著者や著者、レビュー担当者に名を連ねる全世界からの専門家の数は、60人を超えた。その評価内容は、内分泌攪乱化学物質問題に関する国際的な展望を提供し、生物への悪影響と内分泌攪乱化学物質による曝露との間に因果関係が存在するか否か判定するための証拠力の強い分析方法を実行する際の枠組みとなる、という点で類を見ないものである。この報告書の結論としては、一部の野生生物種においては内分泌攪乱化学物質による曝露の結果として悪影響が発生していることについては十分な証拠があるが、ヒトの健康が有害な影響を受けていることを示す証拠は概して弱かったということである。従って、懸念と科学的不確定性が改称されないからには、これらの化学物質が引き起しうる影響についての研究については、依然として全世界規模で優先順位を高くしておき、国際的な研究戦略への協力と強化を進める必要がある。特に、発育期間中の感受期に曝露すると不可逆的な影響が起こることがあるので、影響を受けやすい個体群、なかでも小児を対象とした研究が緊急に必要である。このプロジェクトは、オーストラリア政府、カナダ保健省、欧州委員会、ドイツ環境省、日本厚生労働省、ノルウェー衛生研究所、スウェーデン化学物質監察局、スウェーデン環境保護庁、スウェーデンの戦略的環境調査基金、英国の環境・食糧・農村地域省、英国保健省、米国環境保護庁、米国国立環境衛生科学研究所から資金的協力を得ている。

廃水の内分泌攪乱作用に関する試験方法

ベン エリック ベングットソン

スウェーデン スtockホルム大学

欧州連合(EU)

魚類や無脊椎動物の生殖・繁殖に対して、家庭廃水や産業廃水が悪影響を及ぼすことがある。さまざまな発生源から出される排水の中には、天然由来の物質ばかりでなく人工由来の物質も含まれており、それらの物質は水生生物の内分泌代謝に影響を及ぼしている。そうした内分泌攪乱化学物質の多くはステロイドホルモンに類似しており、魚類がそうした物質に曝露した場合、性の発達が攪乱される可能性がある。

数種の魚類については、性比の偏りや一個体の生殖腺に精巣組織と卵巣組織の両者が発現する中間的な性が観察されている。これまでの魚類の内分泌攪乱に関するスクリーニング試験法の開発では、熱帯魚が重要視されてきた。スウェーデンのプロジェクトでは、モデル動物としてイトヨ(*Gasterosteus aculeatus*)を用いている。イトヨは小型の硬骨魚で、北半球温帯地方の水圏における代表種で、海洋から淡水に及ぶ全ての水域で繁殖している。実験室内でも産卵することから、実験および野外のいずれの条件においても、(発生から死に至る)一生涯のあらゆる段階を研究することが可能である。今回の研究の目的は、水中に存在するステロイド類が有する内分泌攪乱作用を確認するためのバイオマーカーとして、イトヨの早期の性発達と性分化が利用できるのか、判定することである。発育の早期のうち、どの時期が最も感度がよいかを見極めるために、時期をずらして、性ホルモン及びパルプ工場の廃水に曝露する研究を実施した。

甲殻類はおよそ3万5000種いるが、これまで甲殻類に対する明らかな内分泌攪乱作用が示された例は、実験および野外のいずれにおいてもない。甲殻類については、内分泌に関する知見が少ないため、その研究のほとんどは、既に脊椎動物に対する明らかな内分泌攪乱作用が認められた環境汚染物質を用いて行なわれている。一部の甲殻類においては、脊椎動物型エストロゲン類が見つかったが、甲殻類におけるその機能は明らかになっていない。だからといって、内分泌攪乱は、甲殻類には無関係であることにはならない。むしろこのことは、研究を深める必要があり、特に甲殻類の内分泌や甲殻類に対して特異的に作用する内分泌攪乱化学物質に関する研究を行なう必要があることを示している。

我々の研究所では、1種類の物質および混合排水の内分泌攪乱作用を試験する方法として、汽水域のハルパクチルス類であるケンミジンコ(*Nitocra spinipes*)のフルライフサイクル(2世代試験など)を開発した。生物学的なエンドポイント(評価の指標)としては、一生涯のうちの早期における生存と発達および有性生殖の様相(性比、中間的な性、初回卵嚢の時期、児個体数、個体数の増加など)を含めた。これまでに、人工麝香(香料)、臭素化難燃剤(BFR)、パルプ工場排水、ごみ処分場排水の調査を行った。

我々の*N. spinipes*試験での陽性を受けて、ヨーロッパの研究者たちの協力により、OECD試験ガイドライン(TG)の新草稿が作成された。このガイドラインには、当初の海水域・汽水域ケンミジンコ3種である*N. spinipes*、*Tisbe battagliai*、*Acartia tonsa*を対象とした、慢性的な化学物質の作用を測定する試験方法が述べられている。これらケンミジンコに関する生物学的特性の研究は、すでにある個別の試験プロトコールから、発生、生殖、ライフテーブル分析に関する作用を標準化した測定法に関する共通試験ガイドラインを開発するのに役立っている。

海洋性のケンミジンコについても、潜在的に試験に使用できる種については、試験ガイドラインに取り込むことを検討する予定である。数種のケンミジンコ類については、確定の共通試験ガイドラインを開発する作業として残されているが、そのためには、国際的な協力と同意が不可欠である。その作業においては、国際的な特別諮問委員会を臨時的に設置するが大変に有用であろう。



内分泌攪乱化学物質スクリーニングプログラムにおける試験方法の妥当性確認の現状

ジェームス P. カリヤ

米国 環境保護庁

米国環境保護庁は現在、内分泌攪乱現象に関する化学物質スクリーニングプログラムの中に含める候補となるアッセイ法の標準化、最適化、有効性検討の作業を支援するいくつかの室内研究を行なっている。具体的には、エストロゲン受容体結合アッセイの最適化と有効性検討の試験、アンドロゲン受容体結合アッセイの実証試験、胎盤アロマトラーゼアッセイの実証試験、ステロイド産生アッセイの標準化試験、春機発動期の雄と雌による多段階・多化学物質試験、多化学物質を用いた成体雄プロトコールの評価試験、*in utero*から授乳にわたる実証試験、2世代アッセイにおける第一世代の拡張についての研究、ファットヘッドミノールアッセイの比較評価、メダカおよびゼブラフィッシュを用いたビテロゲニン法の比較評価、ファットヘッドミノールを用いた短期間生殖アッセイ、鳥類2世代アッセイ、鳥類投与試験、鳥類胚子アッセイにおける多化学物質による評価、などである。両生類の変態前期を用いた変態アッセイも開発中である。米国におけるアッセイの有効性検討の状況について簡単に総説する。可能であれば、過去に完了した試験の結果のまとめを行なう。内分泌攪乱現象のスクリーニングに関する重要な科学的問題に対して、USEPAが過去にとってきた立場についても概略を論ずる。

内分泌攪乱化学物質の生体外(試験動物を用いない)試験方法に関する米国の省庁間評価

ウィリアム S. ストークス

米国 国立環境衛生科学研究所

米国 動物実験代替法に関する多省庁の共同検討組織(仮訳) (ICCVAM)

人工および天然の化学物質の中には、エストロゲンやアンドロジェンの受容体に結合し、性ホルモン依存性遺伝子の活性化を引き起こしたり、抑制したりすることで、正常な内分泌の過程を攪乱するものが数多くあることがわかっている。こうした化学物質が潜在的に有している、健康影響に対する有害性が懸念されることを受けて、立法府は米国環境保護庁(EPA)に対して、内分泌攪乱化学物質を同定するスクリーニングと試験プログラムの開発とその妥当性の検討を求めた。*in vivo*(生体内)でのエストロゲン受容体(ER)とアンドロゲン受容体(AR)への結合アッセイおよび転写活性(TA)アッセイは、*in vivo*(生体内)および*in vitro*(生体外)のいずれの試験法からなるスクリーニング群に含まれる手法として提案された。*in vitro*結果は、リスク評価に資するデータを得るために行う*in vivo*多世代確定試験の必要性について、その証拠の重み付けを行う際の判断材料のひとつとして利用される。

試験法をEPAのスクリーニングおよび試験プログラムに組み入れる前に、その試験法は適切に妥当性が評価され、推奨される使用法の条件を満たしている必要がある。「米国・動物実験代替法に関する多省庁の共同研究組織(仮訳)(ICCVAM)」は、連邦諸省庁に代わって新規の試験法の評価を行う組織であり、既存の*in vitro*のERおよびAR結合・TAアッセイの妥当性評価の状況について、独立した専門家委員会による審査を実施することを要請された。この評価をサポートするために、「代替法評価に関する毒性学プログラム省庁間センター(NICEATM)」が、既存のプロトコールとデータの包括的な検討を行った。2002年5月には国際的な専門家委員会が招集され、これまでの情報の評価を行い、これらアッセイ法の妥当性評価の現状と将来についていくつかの結論と勧告を出した。

専門家委員会は、*in vitro*のERおよびAR結合・TAアッセイは十分に標準化されており、規制を目的とした試験法としての妥当性は十分であるとの結論を出した。それに基づいて、同委員会は、4種類のアッセイのタイプそれぞれについての標準化試験法プロトコールに組み込むべき標準的手法は最小限にすべきであると勧告し、今後の開発および妥当性評価が行われるべきアッセイのタイプについての優先順位を勧告した。

専門家委員会は、これらのアッセイの妥当性評価の際に用いる化学物質についての勧告を出した。アッセイの特異性を判定するためには、それぞれのアッセイのタイプについて、陰性である化学物質が少なくとも25%を占めるべきであると勧告した。この専門家委員会の会合を受けて、NICEATMとICCVAMのワーキンググループが、妥当性検討試験の対象にすべき78種類の化学物質の共通リストを作成した。このリストは、これらアッセイ法が弱い作用から強い作用のものまで広い範囲にわたる化学物質のクラスに対して十分な信頼性と性能を有していることを確認する目的で作られたものである。専門家委員会とICCVAMによる勧告は、内分泌攪乱作用を潜在的に有する化学物質の同定のためのスクリーニング群に含めることができるERおよびAR結合・TAアッセイの標準化プロトコールの、妥当性評価と承認を促進するものでなければならない。専門家委員会の結論と勧告の最終報告書と、委員会に基づいている総合的検討の文書は、ICCVAM/NICEATMのウェブサイト(<http://iccvam.niehs.nih.gov/methods/endocrine.htm>)で入手できる。

内分泌攪乱化学物質問題に対する環境省の取組

浜中 裕徳

環境省

1. はじめに

内分泌攪乱化学物質については、将来にわたって人の健康や生態系への影響が懸念されている一方、科学的には未解明な点が多く残されており、環境保全上重大な課題と考えています。このため、環境省では環境実態調査や有害性評価等を進めるとともに、国際的な連携の下に諸外国や国際機関等との情報交換を進めています。

この一環として、平成10年度から毎年「内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウム」を開催しており、世界各国から第一線の研究者のご参加を得て、質の高い議論が活発に展開され、国内外から高い評価をいただいております。

2. 内分泌攪乱化学物質問題について環境省の取組

環境省におきましては、1998年5月、内分泌攪乱化学物質問題についての基本的な考え方や今後進めていく方針等を示したものとして「内分泌攪乱化学物質問題への対応方針 - 環境ホルモン戦略計画SPEED '98 - 」(2000年11月に一部追加、修正)を公表しました。

具体的には、以下の4点について取組を進めています。

- (1) 環境中での検出状況、野生生物等への影響に係る実態調査の推進
- (2) 試験研究及び技術開発の推進
- (3) 環境リスク評価、環境リスク管理及び情報提供の推進
- (4) 国際的なネットワーク強化のための努力

SPEED '98(2000年11月版)で内分泌攪乱作用を有すると疑われる化学物質としてリストアップされた化学物質(65物質群)から、優先してリスク評価に取り組む物質(平成12年度:12物質、平成13年度:8物質、平成14年度:8物質)を選定し、順次、人の健康及び生態系への影響に関する有害性評価等を進めており、これまでに平成12年度に選定した12物質に関する有害性評価結果を公表し、このうちノニルフェノール及び4-オクチルフェノールについては、魚類に対する内分泌攪乱作用を確認しました。

3. 今後の取り組み

本年8月には、WHO(世界保健機関)から、内分泌攪乱化学物質に関するグローバルアセスメントが公表されましたが、環境省は、このような世界の最新の動向にも注視した上で、科学的知見の蓄積及び有害性評価を進める等、引き続き内分泌攪乱化学物質問題の解決に向けた積極的な取組を進めていきます。