

令和元・2年度化学物質の内分泌かく乱作用に関する第2段階生物試験(17 α -エチニルエストラジオール)の試験結果について(概要版)

1. 令和元年度及び令和2年度に実施した試験結果について

第2段階生物試験として、17 α -エチニルエストラジオール(CAS No. 57-63-6、17エチル-13-メチル-7, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 16-オクタヒドロ-6H-シクロペンタ[a]フェナントレン-3, 17-ジオール)について、メダカ拡張1世代繁殖試験(MEOGRT:OECD TG240)を実施した。

メダカ(*Oryzias latipes*)を用い、0.698、2.36、7.48、24.6、75.5ng/L(実測値)のばく露濃度で試験(全ばく露期間：19週間)を行った。

テストガイドラインが規定する試験有効性基準をすべて満たしていた。

(1) F0世代(ばく露期間：4週間)

生存個体数、雌の全長、雌の体重、受精率、雄の肝臓体指数、雄の二次性徴に有意な変化は認められなかった。

た。

24.6ng/L以上のばく露群において、雄の肝臓中ビテロゲニン濃度の統計学的に有意な高値が認められ、雌の肝臓体指数、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度の統計学的に有意な低値が認められた。

75.5ng/Lのばく露群において、総産卵数、受精卵数、雌雄の生殖腺体指数の統計学的に有意な低値が認められ、雄の全長、雄の体重の統計学的に有意な高値が認められた。

(2) F1世代(ばく露期間：16週間)

ふ化率、ふ化日数、生存率(14日目、21日目、9週齢、成熟個体)、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度(成熟個体)に統計学的に有意な変化は認められなかった。

7.48ng/Lのばく露群において、雄の全長(成熟個体)の統計学的に有意な高値が認められた。

雄の肝臓中ビテロゲニン濃度(10週齢)は、ばく露濃度の上昇と共に増加し、2.36ng/L以上のばく露群において、統計学的に有意な高値が認められた。

2.36ng/L以上のばく露群において、雄の全長(10週齢)、雄の生殖腺体指数(10週齢)の統計学的に有意な高値が認められた。

雄の肝臓中ビテロゲニン濃度(成熟個体)は、ばく露濃度の上昇と共に増加し、7.48ng/L以上のばく露群において、統計学的に有意な高値が認められた。

7.48ng/L以上のばく露群において、雌の全長(10週齢)、雌雄の体重(10週齢)、雄の肝

臓体指数(10 週齢)、雄の体重(成熟個体)、雄の肝臓体指数((成熟個体)の統計学的に有意な高値が認められ、雄の二次性徴(10 週齢)、雌の生殖腺体指数(10 週齢)、雌の全長(成熟個体)、雌の体重(成熟個体)、総産卵数、受精卵数、受精率、雌の肝臓体指数(成熟個体)、雄の二次性徴(成熟個体)の統計学的に有意な低値が認められた。

24.6ng/L 以上のばく露群において、雌の生殖腺体指数(成熟個体)の統計学的に有意な高値が認められた。

75.5ng/L のばく露群において、雌の肝臓体指数(10 週齢)、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度(10 週齢)、雄の生殖腺体指数(成熟個体)の統計学的に有意な高値が認められた。

(3) F2 世代(ばく露期間：2 週間)

ふ化率、ふ化日数、ふ化後生存率、生存率(受精 16 日後)に統計学的に有意な変化は認められなかった。

24.6ng/L 以上のばく露群において、F2 世代は得られなかった。

2. 試験結果のまとめ

17 α -エチニルエストラジオールについては、既存知見及び試験管内試験の結果(平成 29 年度に実施したメダカエストロゲン受容体 α レポーター遺伝子試験の結果として EC₅₀ 値は、 5.1×10^{-11} M で、17 β -エストラジオールに対する相対活性比は、3.1 であった)から、エストロゲン作用を持つことが想定された。

今回の試験結果において、死亡が認められなかった濃度範囲(75.5ng/L 以下)において、エストロゲン作用を示す雄の肝臓中ビテロゲニン濃度の統計学的に有意な高値が認められ、エストロゲン作用を持つことが確認された。

また、7.48ng/L 以上のばく露群において総産卵数、受精卵数及び受精率並びに雌の全長と体重の統計学的に有意な低値が認められたことから、メダカの繁殖及び成長に対する有害性を示すことが認められた。

なお、過年度に第 1 段階生物試験として実施したメダカを用いた魚類短期繁殖試験(OECD TG229)では、184.9ng/L 以上のばく露群において総産卵数の統計学的に有意な低値が認められていた。

また、この試験結果から、17 α -エチニルエストラジオールはメダカに対してエストロゲン作用を示すことが確認されたとともに、本物質がメダカの繁殖及び成長に及ぼす影響に関する最低影響濃度(LOEC)として、7.48ng/L が得られた。

メダカの繁殖及び成長に対する有害性が示唆されたばく露濃度 7.48ng/L は、平成 17 年度に実施された化学物質環境実態調査において未検出であったが、その検出下限値 0.11ng/L の 68 倍であった。

また、メダカの繁殖及び成長に対する有害性が示唆されなかったばく露濃度 2.36ng/L は、平成 17 年度に実施された化学物質環境実態調査における検出下限値 0.11ng/L の約 21 倍であった。

(別添)

メダカ拡張1世代繁殖試験結果(MEOGRT: OECD TG240)

17 α -エチニルエストラジオール

実施機関：国立環境研究所

1. F0世代

表 1-A 試験結果

平均濃度実測値 (ng/L)	試験個体数		生存個体数		全長(mm)		体重(mg)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	12	12	10	12	36.3 ± 1.1	36.2 ± 1.2	482 ± 42	569 ± 49
0.698	6	6	6	6	35.6 ± 0.3	35.9 ± 1.6	464 ± 15	598 ± 55
2.36	6	6	6	6	35.8 ± 1.7	36.0 ± 0.8	486 ± 83	582 ± 44
7.48	6	6	5	6	37.1 ± 0.6	35.9 ± 1.5	512 ± 19	578 ± 48
24.6	6	6	6	6	36.5 ± 1.5	36.7 ± 1.5	511 ± 85	608 ± 61
75.5	6	6	6	6	37.2 ± 1.3*	35.9 ± 1.7	523 ± 62*	555 ± 70

表 1-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	総産卵数 (eggs/day/pair)	受精卵数 (eggs/day/pair)	受精率 (%)	生殖腺体指数 (%)	
				雄	雌
対照区	35.8 ± 2.4	35.2 ± 2.2	98.4 ± 1.1	1.0 ± 0.2	10.0 ± 0.9
0.698	37.5 ± 1.5	37.3 ± 1.5	99.4 ± 0.4	1.1 ± 0.2	9.4 ± 1.5
2.36	35.5 ± 2.5	34.8 ± 2.6	98.2 ± 2.4	1.2 ± 0.2	9.5 ± 0.9
7.48	34.7 ± 3.4	34.4 ± 3.2	99.0 ± 0.7	0.9 ± 0.1	10.0 ± 1.2
24.6	34.0 ± 6.2	33.5 ± 6.1	98.5 ± 0.3	0.8 ± 0.2	9.2 ± 2.4
75.5	32.9 ± 3.9*	32.4 ± 4.0*	98.5 ± 0.9	0.5 ± 0.1**	8.4 ± 1.2*

表 1-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	肝臓体指数 (%)		ビテロゲン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	1.8 ± 0.3	5.1 ± 0.8	25.5 ± 7.4	788 ± 199	112 ± 20	0
0.698	1.6 ± 0.2	5.1 ± 0.7	28.4 ± 9.0	897 ± 247	108 ± 30	0
2.36	1.6 ± 0.2	5.2 ± 0.7	28.5 ± 5.9	863 ± 213	108 ± 12	0
7.48	1.2 ± 0.7	4.1 ± 1.0	22.9 ± 11.9	541 ± 240	109 ± 10	0
24.6	1.6 ± 0.4	4.2 ± 1.1*	550 ± 127**	595 ± 197*	109 ± 12	0
75.5	2.3 ± 0.3	4.7 ± 0.4*	619 ± 193**	591 ± 116**	102 ± 17	0

2. 1. F1世代(胚～稚魚期)

表 2-A 試験結果

平均濃度実測値 (ng/L)	ふ化率 (%)	ふ化日数 (day)	ふ化後生存率 (%) (14日目)
対照区	98.8 ± 2.3	7.1 ± 0.1	98.8 ± 2.3
0.698	100 ± 0	7.0 ± 0.0	100 ± 0
2.36	100 ± 0	7.0 ± 0.0	100 ± 0
7.48	99.2 ± 2.0	7.0 ± 0.0	99.2 ± 2.0
24.6	98.3 ± 4.1	7.1 ± 0.1	98.3 ± 4.1
75.5	99.2 ± 2.0	7.6 ± 0.2	99.2 ± 2.0

表 2-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	生存率 (%)		全長(mm)(10週齢)		体重(mg)(10週齢)	
	(21日目)	(9週目)	雄	雌	雄	雌
対照区	100 ± 0	100 ± 0	28.1 ± 2.3	29.9 ± 0.7	229 ± 50	303 ± 22
0.698	100 ± 0	100 ± 0	28.9 ± 0.7	30.4 ± 0.7	252 ± 16	345 ± 20
2.36	100 ± 0	100 ± 0	29.7 ± 0.6*	29.9 ± 1.0	255 ± 22	312 ± 26
7.48	100 ± 0	100 ± 0	31.3 ± 0.6**	30.8 ± 0.4**	323 ± 22**	340 ± 18*
24.6	100 ± 0	100 ± 0	30.4 ± 0.9**	30.4 ± 0.6**	304 ± 24**	342 ± 12**
75.5	100 ± 0	98.6 ± 3.4	30.0 ± 0.8**	30.9 ± 1.3**	291 ± 15**	330 ± 52**

表 2-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	肝臓体指数 (%)		ビテロゲン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	1.8 ± 0.3	4.5 ± 0.5	1.31 ± 0.04	268 ± 116	73 ± 24	0
0.698	1.8 ± 0.3	4.8 ± 0.6	1.31 ± 0.07	247 ± 68	88 ± 7	0
2.36	2.2 ± 0.2	5.1 ± 0.4	7.58 ± 1.18**	427 ± 138	83 ± 6	0
7.48	2.8 ± 0.3**	4.7 ± 0.6	5.09 ± 4.45**	271 ± 38	23 ± 9**	0
24.6	4.0 ± 0.4**	4.8 ± 0.4	289 ± 95**	282 ± 89	0 ± 0**	0
75.5	5.6 ± 0.4**	5.7 ± 0.7**	1,520 ± 372**	1,200 ± 53**	0 ± 0**	0

表 2-D 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	生殖腺体指数 (%)	
	雄	雌
対照区	0.9 ± 0.3	8.3 ± 0.6
0.698	1.1 ± 0.1	9.6 ± 1.2
2.36	1.3 ± 0.2**	8.1 ± 0.7
7.48	1.5 ± 1.0**	6.9 ± 1.4*
24.6	3.9 ± 2.8**	10.2 ± 1.4
75.5	3.7 ± 1.6**	4.7 ± 2.5**

2. 2. F1世代(成熟個体)

表 2-E 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	生存率 (%)		全長(mm)		体重(mg)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	100	100	35.6 ± 1.2	36.5 ± 1.1	421 ± 50	577 ± 58
0.698	100	100	36.0 ± 1.4	36.0 ± 1.3	471 ± 59	582 ± 46
2.36	100	100	35.6 ± 1.3	36.0 ± 0.9	424 ± 42	568 ± 61
7.48	100	100	41.2 ± 1.5**	35.3 ± 1.2**	732 ± 87**	497 ± 53**
24.6	100	100	36.6 ± 2.8	33.7 ± 0.8**	625 ± 78**	513 ± 49**
75.5	100	100	35.2 ± 0.9	35.1 ± 1.2**	556 ± 64**	559 ± 59**

表 2-F 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	総産卵数 (eggs/day/pair)	受精卵数 (eggs/day/pair)	受精率 (%)	生殖腺体指数 (%)	
				雄	雌
対照区	40.0 ± 4.2	38.8 ± 4.8	96.8 ± 5.5	1.1 ± 0.3	10 ± 1.6
0.698	40.2 ± 3.6	39.3 ± 3.8	97.7 ± 2.5	1.3 ± 0.3	9.0 ± 1.1
2.36	38.5 ± 11.6	38.0 ± 11.4	98.6 ± 0.8	1.3 ± 0.3	12 ± 3
7.48	22.8 ± 15.6**	19.6 ± 15.1**	64.0 ± 37.6**	0.8 ± 0.2	9.1 ± 1.7
24.6	0.2 ± 0.3**	0 ± 0**	0.0 ± 0.0**	12 ± 93	21 ± 6**
75.5	0.3 ± 0.4**	0 ± 0**	0.0 ± 0.0**	18 ± 10**	19 ± 4**

表 2-G 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	肝臓体指数 (%)		ビテロゲニン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	1.7 ± 0.2	5.1 ± 0.8	2.24 ± 2.50	315 ± 111	103 ± 15	0
0.698	1.6 ± 0.2	4.9 ± 0.7	1.59 ± 0.73	243 ± 60	108 ± 8	0
2.36	1.6 ± 0.2	5.6 ± 0.8	2.37 ± 1.91	208 ± 48	100 ± 9	0
7.48	2.3 ± 0.5**	3.9 ± 0.8*	2.72 ± 3.15*	291 ± 279	58 ± 43**	0
24.6	2.9 ± 0.4**	2.8 ± 0.7**	374 ± 334**	293 ± 115	0 ± 0**	0
75.5	3.1 ± 0.7**	2.7 ± 0.4**	417 ± 212**	389 ± 181	0 ± 0**	0

3. F2世代(胚、仔魚期)

表 3-A 試験結果

平均濃度実測値 (ng/L)	ふ化率 (%)	ふ化日数 (day)	ふ化後生存率 (%)	生存率 (%) (受精16日後)
対照区	96.7 ± 3.9	7.6 ± 0.2		
0.698	99.2 ± 2.0	7.4 ± 0.2		
2.36	100 ± 0	7.6 ± 0.3		
7.48	97.5 ± 2.7	0.0 ± 1.0		
24.6	NA	NA	NA	NA
75.5	NA	NA	NA	NA

NA: 継代なし

結果は平均値±標準偏差.

有意差水準 (* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$).

ビテロゲニン濃度のND は未検出 (< 1 ng/mg liver).

NA: not available

二次性徴：乳頭状小突起を有する節板数

有効数字は測定精度を考慮して、

- ・ふ化率・ふ化後生存率・生存率は2桁（ただし1の位までとする）
- ・肝臓体指数および生殖腺体指数は、1未満は1桁、1以上は2桁
- ・それ以外のエンドポイントは3桁（ただし二次性徴は1の位まで、ビテロゲニンは小数点以下2桁までとする）
- ・標準偏差の桁数は平均値の位に合わせる

メダカTG229の試験結果

試験結果のまとめ(エチニルエストラジオール)

暴露濃度 (ng/L)	供試個体数		死亡個体数(死亡率)	
	オス	メス	オス	メス
Control	12	12	0 (0.0%)	0 (0.0%)
17.8	12	12	0 (0.0%)	0 (0.0%)
84.9	12	12	0 (0.0%)	0 (0.0%)
424	12	12	4 (33%)	1 (8.3%)

暴露濃度 (ng/L)	全長 (mm)		体重 (mg)	
	オス	メス	オス	メス
Control	36.5 ± 0.6	36.2 ± 1.1	542 ± 31	523 ± 10
17.8	35.9 ± 1.6	35.4 ± 0.8	531 ± 61	516 ± 44
84.9	36.3 ± 0.6	35.8 ± 0.8	548 ± 4.5	498 ± 38
424	35.1 ± 0.9	35.4 ± 0.8	527 ± 76	506 ± 47

暴露濃度 (ng/L)	肝臓体指数 (%)		生殖腺体指数 (%)	
	オス	メス	オス	メス
Control	2.5 ± 0.23	3.8 ± 0.51	0.62 ± 0.10	9.6 ± 0.3
17.8	2.3 ± 0.21	4.2 ± 0.48	0.75 ± 0.23	10 ± 0.7
84.9	2.7 ± 0.22	3.7 ± 0.19	0.60 ± 0.13	9.5 ± 0.4
424	3.4 ± 0.44 *	3.7 ± 0.49	0.36 ± 0.19	10 ± 4.3

暴露濃度 (ng/L)	ビテロゲニン (ng/mg liver)		二次性徴(腎臓 乳頭状突起)	
	オス	メス	オス	メス
Control	0.50 ± 0.00	2,290 ± 1040	91 ± 19	0 ± 0
17.8	68.3 ± 80.4 *	2,170 ± 223	90 ± 8.1	0 ± 0
84.9	10,900 ± 3840 *	3,840 ± 1370	88 ± 5.7	0 ± 0
424	23,900 ± 3760 *	15,100 ± 4290 *	86 ± 6.7	0 ± 0

暴露濃度 (ng/L)	産卵数	受精卵数	受精率
	(eggs/day/female)	(eggs/day/female)	(%)
Control	23 ± 0.9	21 ± 2.4	91 ± 7.9
17.8	18 ± 2.3	15 ± 2.4	84 ± 5.4
84.9	17 ± 4.9 *	15 ± 5.0	88 ± 6.1
424	10 ± 2.8 *	8 ± 2.0 *	73 ± 3.6 *

注)データは、容器平均値を基に算出した各測定濃度における平均±標準偏差を示す。

「*」は統計学的に対照区と有意差(p<0.05)が認められたことを示す(全長及び体重については検定を行っていない)。