

## 化学物質の内分泌かく乱作用に関する日米二国間協力について

### 1. 経緯

平成 16 年 1 月に開催された第 12 回日米合同企画調整委員会において、化学物質の内分泌かく乱作用問題に関して日米二国間の協力を進めることが合意され、この合意に基づき、化学物質の内分泌かく乱作用に関する日米実務者会議が開催されることとなった。平成 16 年度及び平成 17 年度には、化学物質の内分泌かく乱作用による生態影響評価に関する情報交換を目的として、それぞれ第 1 回（平成 16 年 9 月、東京）及び第 2 回（平成 17 年 6 月、ハワイ）の日米実務者会議を開催した。平成 18 年度以降は、化学物質の内分泌かく乱作用に関する生態影響評価に関する情報交換に加え、魚類等を用いて繁殖影響を評価する試験法について、日米二国間で協力して、技術的な課題等を明らかにして開発を進めることを目的としている。

### 2. 日米二国間協力における取り組み

化学物質の内分泌かく乱作用に関する試験法が OECD においてテストガイドラインとして承認されるためには、各国共同で試験法の方法論や客観性、再現性を評価する必要がある。そのため日米二国間協力では、毎年、日米共同実務者会議を開催し、主に魚類、両生類及び無脊椎動物の生殖・繁殖影響を評価する試験法について、技術的な課題等についての検討を行い、さらに共同研究や検証試験等を実施することにより、知見や情報等の共有を図りつつ、日米共同での OECD への提案に向けて試験法開発を進めている。

#### （1）魚類の試験

魚類の試験については、OECD において確定試験に位置づけられているフルライフサイクル試験（SPEED'98 において 6 物質について実施した試験）と多世代試験（米国提案の試験）のメダカを用いた試験法プロトコルの比較検証と標準化を日米共同で進めている。平成 21 年 4 月には、日米共同で OECD に提案した Medaka Life Cycle (MLC)/Multi-generation Test (MMT) のテストガイドライン化のための新たなプロジェクトの提案書（SPSF）が了承されており、OECD テストガイドラインプログラムのもとで、これら試験法のテストガイドライン化に向けた取り組みを日米が協力して進めている。具体的には、平成 22 年度までに、強エストロゲン、弱エストロゲン、抗エストロゲン、アンドロゲン様物質及びアロマトーゼ阻害作用物質での検証試験を実施し、試験条件や試験法プロトコルに関する技術的な課題等について整理するとともに、その標準化に向けた検討を行って

いる。また、平成 21 年 9 月に OECD においてテストガイドラインとして採択された魚類短期繁殖試験 (TG229) について、平成 22 年度からメダカを用いた試験での試験条件の妥当性や試験法の技術的課題等の検討を行っている。

## (2) 両生類の試験

両生類の試験については、日米で進められてきたニシツメガエル等を用いた研究において、変態完了時 (ステージ 66) までのエストロゲン物質へのばく露により、生殖腺の変化や雄でのビテロジェニン誘導等が見出されており、これらをエンドポイントとするライフサイクル試験法プロトコルの検証と標準化を日米共同で進めている。

平成 21 年 3 月に、ニシツメガエルを用いる両生類の発達、成長及び生殖への影響を評価するライフサイクル試験法の開発についての提案書を日米共同で OECD に提出し、承認されている。これを受けて平成 21 年 7 月に Amphibian Development, Growth and Reproduction Assay (ADGRA) の試験プロトコル案が作成され、日米共同で検証試験を実施し、試験条件や試験法に関わる技術的課題や妥当性等に関する検証を行った。平成 22 年 4 月には、ADGRA を一部修正した Larval Amphibian Growth and Development Assay (LAGDA) の試験プロトコル案が米国から提案され、日米共同で技術的な課題等の整理及び標準化に向けた検討を行っている。

## (3) 無脊椎動物の試験

無脊椎動物の試験については、日本ではミジンコを用いた多世代繁殖試験法の検討、米国ではケンミジンコ及びアミを用いたフルライフサイクル試験/二世世代繁殖試験の検討を行い、日米共同でこれらの試験結果の比較検証を進めている。平成 22 年度までに有機フッ素系界面活性剤、除草剤、殺虫剤を用いてミジンコ多世代繁殖試験法の検証試験を実施し、米国での同一物質を用いたケンミジンコ及びアミでの試験結果との比較検討等を進めている。

# 3. 平成23年度の実施内容

## (1) 魚類の試験

平成 23 年度は、メダカ多世代試験について、これまでに実施した検証試験のデータを整理し、繁殖に関わるエンドポイント等について統計学的検出力等に関する解析を行い、それらを踏まえて第 6 回日米実務者会議 (平成 21 年 1 月、ワシントン D.C.) において日米共同で作成した試験プロトコル案について、テストガイドライン化に向けて技術的課題等の整理及び検討を行った。また、メダカの短期繁殖試験について、エストロゲン、アンドロゲン及び抗アンドロゲン様物質、ステロイド合成阻害作用物質等での検証試験を実施し、ファットヘッドミノーでの試験結果との比較検証を行い、主に繁殖に関するエンドポイント (産卵数等) に関わる試験条件等についての検討を行った。なお、この検討の成果を踏まえ、平成 24 年 4 月の OECD WNT 会合において、魚類短期繁殖試験 (TG229) に

ついてメダカを用いた試験での試験条件の修正提案を行い、合意された。

## （２）両生類の試験

平成 23 年度は、第 7 回日米実務者会議（平成 23 年 2 月、東京）において日米間で合意した LAGDA の試験プロトコル案に従い弱エストロゲン様物質による検証試験を実施し、主に変態及び生殖に関するエンドポイントに関して技術的課題や試験プロトコルの妥当性の検討を行った。

## （３）無脊椎動物の試験

平成 23 年度は、これまでに検討しているニセネコゼミジンコ及びオオミジンコを用いた多世代繁殖試験の試験法プロトコルに従い、抗アンドロゲン様物質、脱皮阻害作用物質及び幼若ホルモン様作用物質を用いた検証試験を実施し、米国で実施しているケンミジンコ及びアミでの試験結果との比較検証や試験法の技術的課題等の検討を行った。

## （４）日米共同実務者会議の開催

平成 23 年度は、平成 24 年 2 月に第 8 回日米実務者会議をワシントン D.C.で開催し、日米両国の担当者による魚類、両生類及び無脊椎動物での試験法開発に関する検討成果等の報告及び行政官による取組状況等の報告を行い、それらを踏まえて、今後、日米二国間で対応すべき課題等についての協議を行った。

# 4. 平成 24 年度の実施内容について

## （１）魚類の試験

Medaka Life Cycle (MLC)/Multi-generation Test (MMT)について、第 8 回日米実務者会議において日米間で合意した試験プロトコルの検証試験を実施し、繁殖に関わるエンドポイント（産卵数等）の測定結果等から試験条件等の妥当性等の検討を行う。また、メダカを用いた短期繁殖試験（TG229）について、OECD に修正提案した試験プロトコルに従い陰性対照物質及び陽性対照物質等での検証試験を実施し、作用モードが異なる化学物質でのデータの蓄積を図るとともに、ファットヘッドミノーでの試験結果との比較検証等を行う。

## （２）両生類の試験

第 7 回日米実務者会議において日米間で合意した LAGDA の試験プロトコル（案）に従い抗エストロゲン様作用物質を用いた検証試験を実施し、試験プロトコルの妥当性の検討等を行う。

## （３）無脊椎動物の試験

平成 23 年度までに検討した試験法プロトコルに従い、米国でケンミジンコやアミでの

フルライフサイクル試験/二世世代繁殖試験が実施されている物質を用いてニセネコゼミジンコ及びオオミジンコの多世代繁殖試験を実施し、感受性の種間差や試験プロトコルの標準化に向けた検討等を行う。

#### **(4) 日米共同実務者会議の開催**

検討成果の報告、今後対応すべき課題に関する協議等のため、第9回日米実務者会議を開催する予定である（開催時期及び場所は未定）。