

平成 28 年度第 2 回 EXTEND2016 化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会
17.03.22

参考資料 5

平成 13 年度第 1 回内分泌攪乱化学物質問題検討会
01.08.03.

資料 2

ノニルフェノールが魚類に与える内分泌攪乱作用の 試験結果に関する報告（案）

平成 13 年 8 月

環境省総合環境政策局環境保健部

目 次

1. 背景と経緯	1
2. 物性、用途、製造量等	2
(1) 化学構造、物性等	2
(2) 用途、製造量等	2
3. 環境への排出	4
(1) ノニルフェノールエトキシレート	4
(2) ノニルフェノール	4
4. 環境中挙動	4
(1) 環境中分布に関するモデル計算	4
(2) 文献情報等	5
(3) 環境中挙動にかかる実験・調査結果	6
5. 体内動態	7
(1) 文献情報等	7
(2) 体内動態にかかる実験・調査結果	7
6. ノニルフェノールの環境中濃度調査結果	8
(1) 我が国における環境実態調査結果	8
(2) 諸外国における環境中濃度状況	10
7. 一般毒性	10
(1) 急性毒性	10
(2) 慢性毒性	11
(3) 繁殖毒性	12
(4) その他の毒性	14
8. 内分泌攪乱作用が疑われる魚類影響等にかかる文献調査・信頼性評価	15
(1) 魚類への影響	15
(2) その他の水生生物への影響	17
(3) 哺乳類への影響	17
9. 魚類を用いたスクリーニング・試験等	18
(1) 魚類を用いた試験管内試験 (<i>in vitro</i> 試験)	18
(2) メダカを用いた動物実験 (<i>in vivo</i> 試験)	20
10. 海外のリスク評価の動向	26
(1) カナダ	26
(2) 欧州連合：EU	26
11. 総合評価	27
(1) リスク評価の方法	27
(2) ノニルフェノールの曝露評価	27
(3) ノニルフェノールが魚類に及ぼす内分泌攪乱作用に関する有害性評価	28
(4) ノニルフェノールに関するその他の生物影響	29
(5) その他（環境中動態・代謝、体内動態・代謝等）	30

(6) ノニルフェノールが魚類に与える影響のリスク評価	30
12. リスク低減に向けての取組	30
(1) リスク評価の精度向上のための取組	30
(2) リスク低減のための取組	31
 (参考1) その他のアルキルフェノール類	
1. 4- <i>t</i> -オクチルフェノール	32
(1) 環境実態調査結果のまとめ	32
(2) 内分泌攪乱作用が疑われる生態影響にかかる文献調査・信頼性評価結果	32
(3) 内分泌攪乱作用に関する有害性評価についての考察	32
2. その他のアルキルフェノール類	33
(1) 環境実態調査結果のまとめ	33
(2) 内分泌攪乱作用が疑われる生態影響にかかる文献調査・信頼性評価結果	33
(3) 内分泌攪乱作用に関する有害性評価についての考察	33
 (参考2) 国内外の規制等	
(1) 国内の規制	34
(2) 諸外国の規制	34
(3) 業界の自主的な取組	35
(4) 代替の状況	36
 参考文献	 37

ノニルフェノールが魚類に与える内分泌攪乱作用の試験結果に関する報告（案）

1 背景と経緯

平成10年5月に公表した「環境ホルモン戦略計画SPEED'98」¹⁾において、環境庁は内分泌攪乱作用が疑われる物質として67のリストアップを行った。その後、これらの物質について全国の環境実態調査を行うとともに、平成11年10月に開催された「内分泌攪乱化学物質問題検討会（座長：鈴木継美東京大学名誉教授）」において、「環境実態調査結果や文献調査から優先してリスク評価等に取り組む物質として分類された4物質^{*}をはじめとし、専門家の意見を伺いつつ、リスク評価に着手すること」となった。

※トリブチルスズ、ノニルフェノール、4-オクチルフェノール、フタル酸ジ-*n*-ブチル

また、平成11年12月の内閣総理大臣決定において、政府のミレニアム・プロジェクトとして、内分泌攪乱作用が疑われる物質について、平成12年度から3年計画で40物質以上のリスク評価を行うこととなり、平成12年7月、10月、13年3月に開催された「内分泌攪乱化学物質問題検討会」において、平成12年度に優先してリスク評価に取り組む物質として選定した上記4物質を含む12物質について、人の健康影響及び生態影響にかかるスクリーニング・試験法を検討するとともに、順次試験研究を進めてきた。

このような取組のなか、アルキルフェノール類のうち、ノニルフェノールについては、魚類への影響評価試験の結果が今般得られたので、これまでの文献調査・信頼性評価の結果や環境実態調査の結果等とあわせた魚類等へのリスク評価結果をここに取りまとめ報告する。

なお、人の健康影響については、有害性評価手法として現在、げっ歯類を用いた試験を実施中であり、今後実施する予定の食事調査等をもとに行う曝露評価とあわせて、別途、リスク評価を行う予定である。

ノニルフェノールには *n*-（直鎖型）と *branched*（分岐型）の構造異性体があるが、環境中から主に検出され、化学構造や文献調査等から内分泌攪乱作用が比較的強いのは 4（又は *p*）-ノニルフェノール、*branched*（分岐型）であるとされていることから、本調査の試験では、工業用の混合物（分岐型）からデシルフェノール等を除いて精製した関東化学株式会社の4-ノニルフェノール標準品（異性体混合物、分岐型）を用い、また文献調査や環境実態調査も、分岐型を対象として実施した。

内分泌攪乱作用が疑われたエピソード

ノニルフェノールの内分泌攪乱作用が注目されるようになった契機としては、次の2つのエピソードが有名である。

(1) 試験器具から溶出したノニルフェノールによる乳がん細胞の異常増殖

平成3年に米国のアナ・ソト²⁾が行った乳がん細胞を増殖させる実験中に、エストロジェンを投与しない試料にも異常増殖がみられ、その原因として、弱いエストロゲン様作用を有するノニルフェノールが試験器具から溶出したためと指摘された。

(2) 魚の雌雄両性個体の出現と河川水中のノニルフェノール

イングランド南部にあるLea川において魚の雌雄両性個体がみられた。その原因を究明するため、サンプターとジョブリング³⁾は、複数の河川の下水処理場下流域を中心に、ニジマス中のビテロジェニン濃度と河川水中のノニルフェノール濃度を測定した。その結果、織物工場で羊毛の洗浄に用いられる洗剤に起因するアルキルフェノール類のうち、特にノニルフェノールが原因の一つである可能性を指摘している。

2 物性、用途、製造量等

(1) 化学構造、物性等

ア. 化学構造

アルキルフェノールはフェノール (C_6H_5OH) とオレフィン (C_nH_{2n} : 二重結合を一つ持つ不飽和鎖式炭化水素) とのフリーデルクラフト反応により合成されている。アルキル鎖 (C_nH_{2n+1}) の長い場合、パラ(*p*または4-)異性体(熱安定性大)が多くなるが、オルト(*o*または2-)異性体、*o,p*-ジアルキル異性体も生成する。メタ(*m*または3-)異性体が最も熱安定性は高いので、熱処理で少量のメタ異性体も生成する。

ノニルフェノールの原料としては5種類のプロピレン ($CH_3CH=CH_2$) 3量体の混合物が、オクチルフェノールの原料としては2種類のイソブテン ($(CH_3)_2C=CH_2$) 2量体の混合物が用いられる。 α -オレフィンや直鎖誘導体を用いてアルキル鎖を合成することは容易であるが、需要は少ない⁴⁾。

ノニルフェノールの異性体は理論上170種あり、GC-MS上では22種以上にも上る混合物である^{5,6)}。ノニルフェノールの各異性体について Chemical Abstracts Service(CAS:米国化学工業会 American Chemical Society に所属)によりそれぞれ番号(CAS RN または CAS No.)が与えられているが、番号の引用について混乱があるようである^{7,8)}。CAS 事務局⁹⁾によれば、CAS No.25154-52-3 は各種異性体を含むノニルフェノールを、CAS No.104-40-5 は直鎖型ノニルフェノール(*p-n*ノニルフェノール)を、CAS No.84852-15-3 は分岐型ノニルフェノール(*p*-ノニルフェノール, branched)を示す。

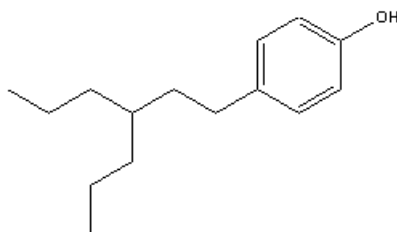


図 1 4 (又は*p*) -ノニルフェノール ,branched (分岐型) の構造式の一例¹⁰⁾

イ. ノニルフェノールの主な物性⁷⁾

分子式	: $C_{15}H_{24}O$
分子量	: 220.34g/mole
外観	: 透明～淡黄色で粘性の高い液体、僅かに石炭酸臭
比重	: 0.95 (20°C)
融点	: 約-8°C
蒸気圧	: 0.3Pa 以下 (25°C)
水溶解度	: 6mg/L (20°C)
Log Kow	: 4.48

(2) 用途、製造量等

ア. アルキルフェノール類

我が国において工業的に生産されているアルキルフェノール類はノニルフェノール、オクチルフェノール、ブチルフェノール及びドデシルフェノールの4種類である。このうち、ノニルフェノール及びオクチルフェノールの生産量が特に多い¹¹⁾。

アルキルフェノール類は、非イオン系界面活性剤であるアルキルフェノールエトキシレートの原料として用いられる¹¹⁾。なお、アルキルフェノールエトキシレート

は、環境中において分解され、アルキルフェノール類を生成する。

界面活性剤用にはノニルフェノール及びオクチルフェノールが約4：1の割合で使用されている¹²⁾。

イ. ノニルフェノール

ノニルフェノールは、アルキルフェノール類の一種であり、数多くの異性体を有する。我が国では、2社が生産しており、平成10年、平成11年及び平成12年の生産量は各々16,800トン¹³⁾、17,400トン¹⁴⁾及び16,500トン（経済産業省調べ）である。

ノニルフェノールは、原料として、界面活性剤（アニオン活性剤、非イオン界面活性剤）、エチルセルロースの安定剤、油溶性フェノール樹脂、エステル類などに用いられる。また、加工品として、洗剤、油性ワニス、ゴム助剤及び加硫促進剤、石油系製品の酸化防止剤及び腐食防止剤、石油類のスラッジ生成防止剤などに利用される¹⁵⁾。

欧州委員会の報告⁷⁾によれば、平成9年には欧州連合内でノニルフェノールは73,500トン生産され、その中の3,500トンが輸出され、また、8,500トンが輸入されている。使用量合計78,500トンのうち、47,000トン（約60%）はノニルフェノールエトキシレートの原料となり、29,000トン（約37%）はプラスチック、樹脂及び安定剤の原料となり、2,500トン（約3%）は芳香族オキシムの原料となっている。

ウ. アルキルフェノールエトキシレート

我が国では昭和27年に生産が開始された。現在では約30社が生産している^{11,15)}。平成10年の生産量は約46,850トン（ただし配合品が含まれる。日本界面活性剤工業会の調査ではアルキルフェノールエトキシレートに100%換算すると約34,600トン）にのぼる。このうち、約85%がノニルフェノールエトキシレートで、その他がオクチルフェノールエトキシレートなどである¹¹⁾。

なお、アルキルフェノールエトキシレートの原料として使用されるアルキルフェノールの量は、平成12年に約8,240トンであり、ノニルフェノール生産量の1/2に相当する¹⁶⁾。残りの半量はアルキルフェノールフォスファイト等の界面活性剤以外の用途の原料として使用される。

平成10年の国内における使用量は約23,900トンで、その内訳は、表1のとおりである¹¹⁾。

表 1 国内におけるアルキルフェノールエトキシレートの使用量（平成10年）

合成ゴム・プラスチック産業	4 2 0 0 トン（1 7 . 6 %）
繊維産業	4 0 0 0 トン（1 6 . 7 %）
金属加工	3 3 0 0 トン（1 3 . 8 %）
業務用洗浄	2 3 0 0 トン（ 9 . 6 %）
クリーニング	1 4 0 0 トン（ 5 . 9 %）
染料・顔料・塗料・インク	1 1 0 0 トン（ 4 . 6 %）
食品加工業	9 0 0 トン（ 3 . 8 %）
農業	8 0 0 トン（ 3 . 4 %）
紙パルプ工業	7 0 0 トン（ 2 . 9 %）
石油・燃料工業	6 0 0 トン（ 2 . 5 %）
建設・土木工学	6 0 0 トン（ 2 . 5 %）
薬・化粧品	5 0 0 トン（ 2 . 1 %）
皮革加工業	1 0 0 トン（ 0 . 4 %）
その他	3 4 0 0 トン（1 4 . 2 %）

3 環境への排出

(1) ノニルフェノールエトキシレートの排出

- ノニルフェノールエトキシレートの自然界での発生は知られておらず、全て人為発生源からのものである。
- 我が国では、主に繊維産業、金属加工業、工業洗浄、クリーニング業等から排出されているものと想定される（2 物性、用途、製造量等参照）が、排出量に関するデータはない。
- カナダ環境省及び厚生省^{注)}の調査¹⁷⁾では、平成8年の工業生産及び使用でのノニルフェノール及びノニルフェノールエトキシレートの排出量は96.5トンである。主な排出源は、界面活性剤の製造業からの河川への排出（25～60トン/年）と洗剤等の工業的利用者からの大気あるいは陸上や地下への排出（25～60トン/年）の二者と考えられており、その他では、塗料製造業（5～9.999トン/年）、工業用及び家庭用洗剤の製造業者（0.1～4.999トン/年）、紙パルプ工業（0.1～4.999トン/年）等があげられている（排出量はいずれもノニルフェノールとノニルフェノールエトキシレートの合計値）。ただし、調査には含まれていなかったが、一般家庭からの排出も多量であるものと考えられている。
- 一方、欧州委員会の調査⁷⁾では、大陸レベルでの排出量は約108トン/日で、全体の約25%を占める不明部分からの排出以外では、全体の約50%弱が洗剤等の工業的利用者からの排出であり、次いで繊維産業（約15%）及び皮革加工業（約7%）からの排出量が多いとされおり、この四者（不明分を含む）による水域へ排出量が全体の約95%を占めると推定されている。また、ほとんどが廃水処理施設を通じて水域に排出されるものと推定されている。なお、家庭から水域への排出量については、欧州連合内での家庭用洗剤への使用の自主規制により、生産過程からの排出に含まれるとしている（生産過程からのノニルフェノールエトキシレートの排出量は全体の約1%と推定されている）。

注) カナダ環境省Environment Canada 及びカナダ厚生省Health Canada

(2) ノニルフェノールの排出

- ノニルフェノールの自然界での直接的な発生は知られておらず、全て人為発生源からのものである。
- 我が国では、主に繊維産業、金属加工業、工業洗浄、クリーニング業等から排出されたノニルフェノールエトキシレートの分解によって生じているものと想定される（2 物性、用途、製造量等参照）が、排出量に関するデータはない。
- 欧州委員会の調査⁷⁾では、大陸レベルでの排出量は約3.0トン/日で、全体の約95%が廃水処理施設に排出されたノニルフェノールエトキシレートから発生すると推定されている。それ以外では、ノニルフェノールエトキシレートの製造過程で環境中に排出される（全体の約5%）と推定されている。また、ほとんどが水域への排出と推定されている。

4 環境中挙動

(1) 環境中分布に関するモデル計算

- 国内外の文献情報を踏まえ、環境省が行った検討¹⁸⁾によると、我が国全体を含むメッシュデータから水域や陸域面積を設定し（陸域： $3.63 \times 10^{11} \text{m}^2$ 、水域： $1.23 \times 10^{11} \text{m}^2$ ）、水、底泥、懸濁物質、水生生物等の各媒体間での分配が、ノニルフェノールの物性値（例えば、底泥中と水中との濃度の比率を表わす分配係数や水中濃度と水生生物中の濃度の比率を表わす生物濃縮係数等）に対応しているとするフガシティーモデル（レベルI）で各媒体の相対濃度（予測分配率）を求めた結果、底質及び懸濁物質のノニルフェノール濃度が他の媒体（水、生物）よりも、 $10^2 \sim 10^4$ 倍高い傾向が推測された。

(2) 文献情報等

JICSTで得られた文献情報とカナダ環境省及び厚生省が報告した環境中挙動に関する報告について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。

ア. 環境中での分布

- カナダ環境省及び厚生省¹⁷⁾が行ったモデル計算によると、水域に排出されたノニルフェノールの58～73%が水中に、27～41%が底泥中に分布し、大気及び土壌中での存在量はごく僅か（1%以下）とされている。
- 津田ら^{19,20)}が琵琶湖周辺の8河川で行った複数の魚種に関する調査では、オイカワやアユといった雑食性（主に草食性）魚類のノニルフェノールの濃縮係数BAFは21～31であったが、魚食性のブラックバスの濃縮係数BAFは21で、栄養段階の上位の種に高濃度に濃縮される傾向は認められなかった。
- アヘルら²¹⁾がスイスのグラット川で行った調査では、3種類の魚類（雑食性、動物食性、魚食性）のノニルフェノール体内濃度はND(<0.03)～1.6mg/kg（乾重量）であり、同一水域に生息する野生の鴨（草食性）の体内濃度はND(<0.03)～1.2mg/kg（乾重量）であった。
- なお、排出直後の希釈については、カナダ環境省及び厚生省はノニルフェノール及びノニルフェノールエトキシレートの複数の排出源について、排出濃度に希釈率として10で除して予測環境濃度（EEV）を算出している¹⁷⁾。10という希釈率は不確実であるが、排出源のごく近傍では適用できるとしている。また、欧州委員会は希釈率と懸濁物質の分配率を考慮して、複数の排出源の下流での予測環境濃度（PEC）を算出しているが、その際に用いる希釈率もやはり10である⁷⁾。

イ. 環境中等での分解性

- アルキルフェノールエトキシレートは下水処理場の好気性汚泥処理等によりエトキシ基の短縮が起りノニルフェノールジエトキシレートやノニルフェノールモノエトキシレート、エトキシ基の末端がカルボキシ化したノニルフェノールジカルボキシレート、ノニルフェノールモノカルボキシレートといった中間体が生成し、その後、嫌気性汚泥処理を経てノニルフェノールを生成することが報告されている。例えばノニルフェノールエトキシレートは図2のような経路を経てノニルフェノールに分解される⁸⁾。

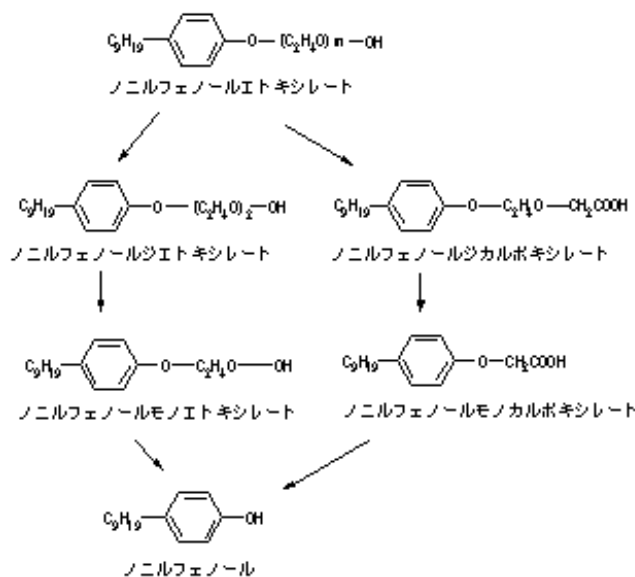


図2 ノニルフェノールエトキシレートの分解過程⁸⁾

(ア) ノニルフェノールエトキシレートの分解性

- ノニルフェノールエトキシレート（鎖長 9）の生分解性について、易分解性試験（OECD301D（Closed Bottle 試験）及び301E（修正OECDスクリーニング試験））及び好氣的汚水処理シミュレーションテスト（Coupled Units 試験）の結果によると、初期の分解は認められるものの、完全に分解されず、分解され難い物質が生じるとされている。
- アヘル²²⁾が行った生分解試験では、下水排水処理水中のノニルフェノールエトキシレート（鎖長 1）濃度の時間変化から得られた半減期は、4℃で約47日、20℃で 11 日であった。また、同様の試験を河川水について行った結果では、20℃で約 3 日の半減期であった。なお、これら試験では、主にノニルフェノールカルボキシレートの生成が認められている。

(イ) ノニルフェノールの分解性

- OECDガイドラインに準拠した易分解性試験結果（OECD301B（CO₂発生試験）、OECD301F（Manometric Respirometry試験））から判定されたノニルフェノールの生分解性は、易分解性ではないが本質的生分解性ありとされている。
- ノニルフェノールの完全分解をCO₂発生量で測定した事例では、32日後でもほとんど分解は確認されなかった。
- サンドラムとゼト²³⁾が行ったカナダの湖水を用いた16℃でのノニルフェノールの分解試験では、容器に蓋をした場合の半減期は16.3～16.5日であり、蓋をしない場合には2.5日であった。
- 同様に、アヘル²²⁾がスイスの河川水を用いて行ったノニルフェノールの分解試験では、20℃での半減期は12日であった。
- なお、大気中でのノニルフェノールの分解速度については、計算によって0.3日とされている。

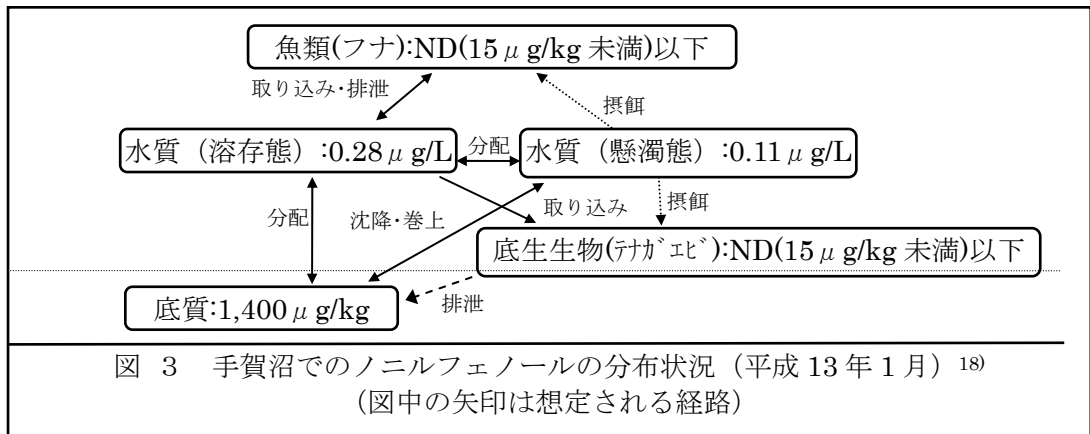
(3) 環境中挙動にかかる実験・調査結果

環境省が行った調査¹⁸⁾によると、手賀沼に流入する河川水、湖沼水及び湖沼の底質中のノニルフェノールエトキシレート及びノニルフェノールの濃度を調査した結果、ノニルフェノールエトキシレート（鎖長 1～17）とノニルフェノールのモル濃度の比率は、流入水中では 4～7：1であったが、湖沼水中では 2～4：1とノニルフェノールエトキシレートの比率が減少するとともに鎖長の減少（鎖長 1～13）がみられ、湖沼の底質中では 2/3：1とノニルフェノールのモル濃度の方がむしろ多くなるとともに、ノニルフェノールエトキシレートの鎖長はより短くなること（鎖長 1、2）が認められた。

以上のことから、水域に排出されたノニルフェノールエトキシレートは水中で徐々に分解され、鎖長が短くなるにつれて疎水性が増し、懸濁物質や底質中の有機物に吸着する傾向が強くなるものと推測された。

手賀沼におけるノニルフェノールの分布状況は図 3 に示すとおりである。

水中ではノニルフェノールは溶存態あるいは懸濁物質に吸着した懸濁態として存在する。懸濁態濃度は水中の懸濁物質量に依存するため、今回の調査においては溶存態濃度が懸濁態濃度を上回っていた。



5 体内動態

(1) 文献情報等

JICSTで得られた文献情報と欧州委員会またはカナダ環境省及び厚生省が報告した体内動態に関する報告について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。

ア. 魚類

- ルイスとレク²⁴⁾によって、ニジマスを用いてノニルフェノール（異性体の種類は不明）の体内半減期について検討されている。その結果として、¹⁴C標識されたノニルフェノール $18 \mu\text{g/L}$ に8時間曝露された場合の体内半減期は19～20時間であった。代謝経路は未詳であるが、おそらくはフェノール類の一般例に従って主として硫酸抱合を受けて尿中に排泄されると推定される。
- 化学物質の生物濃縮係数BCF（体内濃度/水中濃度）は、一般に実験室において一定濃度の水中で水生生物を飼育して得られる。ノニルフェノールの濃縮係数としては、ニジマス：88～116²⁵⁾、コイ：90～330²⁶⁾、ヒメダカ：167²⁰⁾、ブルーギル：191～253²⁷⁾、ファットヘッドミノー：271～984^{27,28)}の報告値がある。
- 津田ら^{19,20)}が琵琶湖での野外調査から得た濃縮係数BAF（体内濃度/水中濃度）は、フナ：2以下、ブルーギル：15、コイ：15～22、アユ：21、ブラックバス：21、カワムツ：25、オイカワ：31と実験から得られた値よりも一桁低いものであった。

イ. 哺乳類

- ナークら²⁹⁾によって、体重150gの雄ラットに1mg経口投与または腹腔内投与されたノニルフェノール（異性体の種類は不明）の代謝について検討されている。その結果として、いずれの投与方法においても約90～95%のノニルフェノールは7日間以内に糞尿（糞中に約70～75%、尿中に約20%）として排泄された。尿中の代謝物はグルクロン酸抱合体である。

(2) 体内動態にかかる実験・調査結果

環境省が行った調査¹⁸⁾によると、餌から取り込まれて体内に蓄積される4-ノニルフェノール（分岐型）に関して、4-ノニルフェノール（分岐型）の水中濃度 $2.8 \mu\text{g/L}$ の条件下で $89 \mu\text{g/kg}$ の4-ノニルフェノール（分岐型）を混入した餌を与えた場合、コイの生物濃縮係数BAFは124（体内濃度/水中濃度）であったが、同じ水中濃度で餌に4-ノニルフェノール（分岐型）を加えなかった実験区の濃縮係数BCF（113）とは有意な差($p < 0.05$)は認められなかった。また、コイに関する既存の報告値（90～330）に類似する値であった。

一方、体内濃度の変化量を表す計算式($dCb/dt = k1 \cdot Cw + \alpha \cdot F \cdot Cf - k2 \cdot Cb$)でOECDの基本式($dCb/dt = k1 \cdot Cw - k2 \cdot Cb$)³⁰⁾に餌からの取り込み量に関する項($\alpha \cdot F \cdot Cf$)を追加した^{注)}に、コイの換水量や摂餌量及びノニルフェノールの取込速度や排泄速度を

あてはめて、水中及び餌からの取り込み量を推定した結果、餌から取り込まれる量は水中から取り込まれる量に比較して数%以下であると推定され、水生生物の体内に取り込まれるノニルフェノールはほとんどが水中から鰓あるいは体表を通して体内に取り込まれるものと考えられた。

また、体内に取り込まれたノニルフェノールの排泄速度について室内実験から得られた体内半減期はコイで0.55日とされた。この値はニジマスの19~20時間(約0.8日)²⁴⁾、ヒメダカの0.41日²⁰⁾と類似したものであった。

以上のことから、環境中でのノニルフェノールは主に水から鰓や体表を通して魚類に取り込まれ、魚類の体内濃度は最大で水中濃度の数百倍になるものの、水中濃度が低下した場合に2~3日で体外に排泄されるものと推測された。

注) Cb: 体内濃度(μ g/kgw)、Cw: 溶存態の化学物質水中濃度(μ g/L)、k1: 取込み速度定数(L/kgw/day)、k2: 排泄率(1/day)、 α : 餌からの化学物質の吸収率(%/100)、Cf: 餌中の化学物質濃度(μ g/kg)、F: 1日当りの摂餌量(kg/kgw/day)

6 ノニルフェノールの環境中濃度調査結果

(1) 我が国における環境実態調査結果

環境庁が実施した「平成10年度環境ホルモン緊急全国一斉調査」、「平成11年度環境ホルモン全国一斉調査」、建設省が実施した「平成10年度水環境における内分泌攪乱化学物質に関する実態調査」及び「平成11年度水環境における内分泌攪乱化学物質に関する実態調査」において、全国のべ2,330地点について水質、底質、土壌、水生生物、野生生物に含まれるノニルフェノールの濃度を測定した。その結果(表2)、水質調査では2年間で1,574地点中617地点で検出され(検出率39%)、濃度範囲ND(<0.03~0.1)~21 μ g/L、算術平均0.17 μ g/L(NDを0で換算)、75パーセンタイル^{注)}0.10 μ g/L、90パーセンタイル^{注)}0.30 μ g/L、95パーセンタイル^{注)}0.59 μ g/Lであった。また、NDを1/2とした場合の算術平均は0.19 μ g/L、NDを検出限界値とした場合の算術平均は0.22 μ g/Lであった。なお、図4のような検出濃度ごとの検出数の分布をみるとおおむね95パーセンタイルを境に異なる性格を有する2つのグループからなることが明らかになった。

底質調査では2年間で293地点中146地点で検出され(検出率50%)、濃度範囲ND(<3~87)~12,000 μ g/kg、算術平均282 μ g/kg(NDを0で換算)、75パーセンタイル79 μ g/kg、90パーセンタイル470 μ g/kg、95パーセンタイル2,000 μ g/kgであった。なお、NDを1/2とした場合の算術平均は293 μ g/kg、NDを検出限界値とした場合の算術平均は304 μ g/kgであった。

水生生物調査では141地点中42地点で検出され(検出率30%)、濃度範囲はND(<15)~780 μ g/kg、算術平均23 μ g/kg(NDを0で換算)、75パーセンタイル17 μ g/kg、90パーセンタイル42 μ g/kg、95パーセンタイル99 μ g/kgであった。なお、NDを1/2とした場合の算術平均は29 μ g/kg、NDを検出限界値とした場合の算術平均は34 μ g/kgであった。

注) 75パーセンタイル: 測定値を小さい方から並べた時の全体の3/4番目の値
90パーセンタイル: 測定値を小さい方から並べた時の全体の9/10番目の値
95パーセンタイル: 測定値を小さい方から並べた時の全体の95/100番目の値

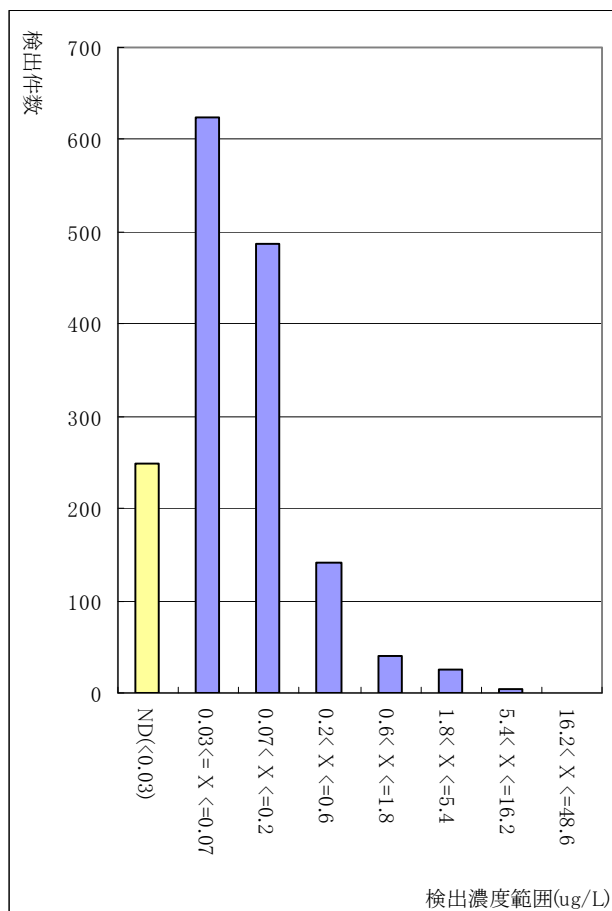


図 4 検出濃度ごとの検出数の分布

注) 濃度範囲については0.6 μ g/Lを中心とした公比3で分配した。なお、検出限界値(ND)については便宜的に0.1 μ g/L未満を均等に分配した。

表 2 ノニルフェノールの環境中実態調査結果

調査区分	検出状況	濃度範囲	平均値			75パーセンタイル	90パーセンタイル	95パーセンタイル
			NDを0とした	NDを1/2とした	NDを検出限界値とした			
水質調査 μ g/L	617/1,574	ND(<0.03 ~0.1) ~21	0.17	0.19	0.22	0.10	0.30	0.59
底質調査 μ g/kg	146/293	ND (<3~87) ~12,000	282	293	304	79	470	2,000
水生生物調査 μ g/kg	42/141	ND(<15) ~780	23	29	34	17	42	99

(2) 諸外国における環境中濃度状況

カナダ環境省及び厚生省の報告¹⁷⁾によると、カナダ環境省が行ったカナダの河川における調査（42地点、126検体）では、ノニルフェノールの濃度はND(<0.02)~4.25 $\mu\text{g/L}$ 、平均0.20 $\mu\text{g/L}$ で、湖沼ではND(<0.02)~0.06 $\mu\text{g/L}$ であった。繊維工場からの未処理の排水中濃度は2.68~13.3 $\mu\text{g/L}$ で、現場処理した排水中濃度は0.09~3.56 $\mu\text{g/L}$ であった。地方自治体の下水処理施設へ放出される繊維工場排水中の濃度は0.23~25.6 $\mu\text{g/L}$ であった。製紙工場からの排水中濃度は、平成10年以前はND(<0.02)~26.2 $\mu\text{g/L}$ であったが、平成10年以降はND(<0.10)~4.3 $\mu\text{g/L}$ であった。これは、製造工程におけるノニルフェノールエトキシレートの使用削減によるものとしている。地方自治体の排水処理場の最終排水中濃度は、一次処理の場合ND(<0.02)~62.1 $\mu\text{g/L}$ 、二次処理の場合0.12~4.79 $\mu\text{g/L}$ 、三次処理の場合ND(<0.02)~3.20 $\mu\text{g/L}$ であった。未処理の下水中の濃度は0.69~156 $\mu\text{g/L}$ であった。

欧州委員会の報告⁷⁾によると、スイスの河川水中の濃度は、平成8年以前はND(≤ 0.3)~45 $\mu\text{g/L}$ であったが、平成10年以降はND~0.3 $\mu\text{g/L}$ であった。英国の河川水中の濃度は、ND(<0.2)~180 $\mu\text{g/L}$ であった。欧州委員会は、種々の調査結果からして、欧州でのノニルフェノールの表層水のバックグラウンド濃度は0.2 $\mu\text{g/L}$ としている。

また、洗車場排水中の濃度は10~4,000 $\mu\text{g/L}$ 、下水中の濃度は21 $\mu\text{g/L}$ 、一次処理した排水処理場の排水中濃度は6.7 $\mu\text{g/L}$ （英国）、二次処理した排水処理場の排水中濃度は13~63 $\mu\text{g/L}$ （スイス）、0.2~2.9 $\mu\text{g/L}$ （英国）であった。

平成4年に実施された米国の30河川に関する調査では、ノニルフェノールの濃度はND(<0.11)~0.64 $\mu\text{g/L}$ の範囲にあり、平均値は0.12 $\mu\text{g/L}$ であった。排水処理場排水中の濃度は1~5 $\mu\text{g/L}$ であった。

7 一般毒性

(1) 急性毒性

欧州委員会またはカナダ環境省及び厚生省が報告した急性毒性に関する報告について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。

ア. 魚類

- 欧州委員会は、ブルック^{27,31)}、ハロコムら³²⁾、ワードとボーリ³³⁾によるファットヘッドミノー、ブルーギル、ニジマス、シーブスヘッドミノーを試験生物とした急性毒性試験について報告している⁷⁾。その結果として、96時間半数致死濃度LC₅₀は128~310 $\mu\text{g/L}$ の範囲にあり、最も低濃度で反応がみられたのはファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)であった³¹⁾。最小作用濃度LOECの最小値はノニルフェノール（純度91%、異性体の種類は不明）を被験物質とし、ファットヘッドミノーを試験生物とした平衡感覚の喪失に関する98 $\mu\text{g/L}$ であった³²⁾。無作用濃度NOECの最小値はノニルフェノール（異性体の種類は不明）を被験物質とし、ファットヘッドミノーを試験生物とした生存に関する83.1 $\mu\text{g/L}$ であった²⁷⁾。
- カナダ環境省及び厚生省は、18種類の魚類の半数致死濃度LC₅₀が17~1,400 $\mu\text{g/L}$ の範囲にあることを報告しているが、その大部分は100~300 $\mu\text{g/L}$ にあるとしている¹⁷⁾。

イ. 水生無脊椎動物

- 欧州委員会は、ワードとボーリ³⁴⁾、ブルック³¹⁾、イングランド³⁵⁾、イングランドとバッサード³⁶⁾、フェールス³⁷⁾、コンバーら³⁸⁾によるミジンコ類、アミ類、ヨコエビ類、ゴカイ類、巻貝類、トンボ類を試験生物とした急性毒性試験について報告している⁷⁾。その結果として、96時間半数致死濃度LC₅₀は43~774 $\mu\text{g/L}$ の範囲にあり、最も低濃度で反応がみられたのはアミ類(*Mysidopsis bahia*)であった³⁴⁾。無作用濃度NOECの最小値は4-ノニルフェノール（分岐型）を被験物質とし、アミ類を試験生物とした18 $\mu\text{g/L}$ であった³⁴⁾。
- カナダ環境省及び厚生省は、水生無脊椎動物の半数致死濃度LC₅₀として20~

3,000 μ g/L を報告している¹⁷⁾。

ウ. 藻類

- 欧州委員会は、コプフ³⁹⁾、ワードとボーリ^{40,41)}、フェールス⁴²⁾、ブルック³¹⁾による植物プランクトン3種、オオウキクサ類を試験生物とした急性毒性試験について報告している⁷⁾。その結果として、72時間または96時間半数影響濃度 EC₅₀は27～1,300 μ g/L の範囲にあり、最も低濃度で反応がみられたのは海産珪藻類 (*Skeletonema costatum*)であった⁴⁰⁾。無作用濃度 NOEC の最小値としてノニルフェノール (異性体の種類は不明) を被験物質とし、淡水性緑藻類のイカダモ (*Scenedesmus subspicatus*)を試験生物とした増殖に関する72時間10%影響値 EC₁₀=3.3 μ g/L³⁹⁾を採用していた。
- カナダ環境省及び厚生省は、藻類の半数致死濃度 LC₅₀として27～2,500 μ g/L を報告している¹⁷⁾。

エ. 哺乳類

欧州委員会またはカナダ環境省及び厚生省の報告によると人の急性毒性値は得られなかった。

- 欧州委員会は、ベロール ケミ⁴³⁾、フェールス⁴⁴⁾、ICI⁴⁵⁾によるラットを試験生物とした経口急性毒性試験について報告している⁷⁾。その結果として、半数致死量 LD₅₀は1,200～2,400mg/kg の範囲にあった。また、ガウォルスキ⁴⁶⁾によるマウスを試験生物とした経口急性毒性試験について報告している。その結果として、半数致死量 LD₅₀は307mg/kgであった。
- なお、スマイスら⁴⁷⁾による雄ウサギを試験生物とした経皮急性毒性試験についても報告している。その結果として、半数致死量 LD₅₀は2,031mg/kgであった。
- カナダ環境省及び厚生省は、ラットの半数致死量 LD₅₀として580～1,620mg/kg を報告している¹⁷⁾。

(2) 慢性毒性

欧州委員会またはカナダ環境省及び厚生省が報告した慢性毒性に関する報告について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。

ア. 魚類

- 欧州委員会は、ワードとボーリ⁴⁸⁾、ブルック²⁷⁾によるファットヘッドミノーを試験生物とした28日間または33日間の慢性毒性試験について報告している⁷⁾。その結果として、最小作用濃度 LOEC の最小値は4-ノニルフェノール (分岐型) を被験物質とし、ファットヘッドミノーを試験生物とした生存に関する14 μ g/L⁴⁸⁾であった。無作用濃度 NOEC の最小値は4-ノニルフェノール (分岐型) を被験物質とした生存に関する7.4 μ g/Lであった⁴⁸⁾。
- カナダ環境省及び厚生省は、魚類の無作用濃度 NOEC として6 μ g/L を報告している¹⁷⁾。

イ. 水生無脊椎動物

- 欧州委員会は、ワードとボーリ⁴⁹⁾、コンバーら³⁸⁾、イングランド³⁵⁾、イングランドとバッサード⁵⁰⁾によるアミ類、ミジンコ類、ユスリカ類を試験生物とした7～28日間の慢性毒性試験について報告している⁷⁾。その結果として、半数致死濃度 LC₅₀は100～258 μ g/L の範囲にあり、最も低濃度で反応がみられたのはオオミジンコ (*Daphnia magna*)であった³⁸⁾。最小作用濃度 LOEC の最小値は4-ノニルフェノール (分岐型) を被験物質とし、アミ類を試験生物とした成長に関する6.7 μ g/Lであった⁴⁹⁾。無作用濃度 NOEC の最小値は4-ノニルフェノール (分岐型) を被験物質とし、アミ類を試験生物とした成長に関する3.9 μ g/Lであった⁴⁹⁾。
- カナダ環境省及び厚生省は、水生無脊椎動物の無作用濃度 NOEC として3.9 μ g/L を報告している¹⁷⁾。

ウ. 哺乳類（反復投与毒性）

- 欧州委員会は、フェールス⁵¹⁾によるノニルフェノール 25、100、400mg/kg/day を 28 日間混餌投与された雌雄ラットへの影響について報告している⁷⁾。その結果として、25 及び 100mg/kg/day 投与群の雄のみにおいて、腎臓重量、副腎重量及び肝重量の僅かな増加、腎臓尿細管における硝子滴の形成の僅かな痕跡がみられた。400mg/kg/day 投与群において体重増加量の低値がみられ、雄のみで尿素値及びコレステロール値の僅かな増加、グルコース値の僅かな減少、体重に対する相対肝重量及び相対精巣重量の増加、腎臓尿細管における硝子滴の蓄積、門脈周辺の肝細胞の僅かな空胞化がみられた。無毒性量 NOAEL として 100mg/kg/day が考えられた。
- 欧州委員会は、また、カニーら⁵²⁾による 4-ノニルフェノール（分岐型、純度 95.6%）200、650、2,000ppm を含む餌を 90 日間混餌投与された雌雄 SD CrI:CD BR ラットへの影響について報告している⁷⁾。摂取量はそれぞれ 15、50、140mg/kg/day と計算された。その結果として、140mg/kg/day 摂取群において体重増加量の低値がみられ、雄のみで腎臓重量及び体重に対する相対腎臓重量の増加、腎臓尿細管における硝子滴の減少が、雌で卵巣重量の僅かな減少がみられた。無毒性量 NOAEL として 50mg/kg/day が考えられた。
- 米国毒性プログラム NTP⁵³⁾によって、4-ノニルフェノール（分岐型）を被験物質とした混餌投与による SD ラットの 3 世代試験が行われている。4-ノニルフェノール（分岐型）の平均摂取量は 15 mg/kg/day（雄：12～18mg/kg/day、非授乳期間の雌：16～21mg/kg/day、授乳期間の雌：27～30mg/kg/day）、50 mg/kg/day（非繁殖期間の雌雄 43～64mg/kg/day、授乳期間の雌：93～98mg/kg/day）、160mg/kg/day（非繁殖期間の雌雄 131～199mg/kg/day、授乳期間の雌：274～332mg/kg/day）と計算された。その結果として、15mg/kg/day 以上の摂取群の全世代の雄及び F₃ 雌において腎臓尿細管の変性又は肥大の増加がみられた。50mg/kg/day 摂取群の F₁ 雌、F₂ 雄及び F₃ 雌において体重増加量の低値がみられた。50mg/kg/day 以上の摂取群の F₀ 雄及び F₂ 雄において体重に対する相対腎臓重量の増加がみられた。160mg/kg/day 摂取群の全世代において体重増加量の低値がみられ、F₁ 雌雄で体重に対する相対腎臓重量の増加が、F₁ 雌、F₂ 雌及び F₃ 雌で腎臓尿細管の変性又は肥大の増加がみられた。最小毒性量 LOAEL として 15mg/kg/day（12～18mg/kg/day）が考えられた。
- カナダ環境省及び厚生省は、リチャーズ⁵⁴⁾によるノニルフェノールを 28 日間混餌投与されたラットへの影響についても報告している¹⁷⁾。その結果として、25mg/kg/day 投与群の雄において体重に対する相対肝重量の増加がみられた。

（3）繁殖毒性

ア. 魚類

JICST で得られた魚類の繁殖毒性に関する報告について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。

- 塩田と若林⁵⁵⁾によって、4-ノニルフェノール（90%*p*-NP と 10%*o*-NP の混合物、分岐型）6.6、22、66 μ g/L（設定値）に 2 週間曝露された雌雄メダカへの影響が検討されている。その結果として、6.6 μ g/L 以上の曝露群の雌と未曝露の雄を交配させたところ、産卵数の有意な減少がみられた。

イ. 水生無脊椎動物

欧州委員会が報告した水生無脊椎動物の繁殖毒性に関する報告について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。

- 欧州委員会は、イングランド³⁵⁾、フェールス^{56,57)}によるミジンコ類を試験生物とした 7 日間又は 21 日間の繁殖毒性試験について報告している⁷⁾。その結果として、最小作用濃度 LOEC の最小値はノニルフェノール（異性体混合物）を被験物質とし、オオミジンコ (*Daphnia magna*) を試験生物とした 140 μ g/L であった⁵⁷⁾。無作用濃度 NOEC の最小値は 4-ノニルフェノール（分岐型）を被験物質とし、ミジンコ類

(*Ceriodaphnia dubia*)を試験生物とした 88.7 μ g/L であった³⁵⁾。

ウ. 哺乳類

MEDLINE 等で得られた昭和 41 年～平成 12 年の文献情報と欧州委員会またはカナダ環境省及び厚生省が報告した哺乳類の繁殖毒性に関する報告について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。なお、これらの報告は、内分泌攪乱作用としても疑われる評価項目(エンドポイント)を採用し、反応がみられているが、設定投与量が極めて高いことなどから、内分泌攪乱作用の有無・程度をみるための試験とは考えにくく、繁殖毒性として取り扱った。

- 前記した米国毒性プログラム NTP⁵³⁾によって行われた SD ラットの 3 世代試験においては繁殖毒性についても検討されている。その結果として、50mg/kg/day 以上の摂取群の全世代の雌において膈開口の早期化、F₁ 雌において体重に対する相対子宮重量の増加、F₂ 雌において卵巣重量の減少、F₂ 雄において精巣上体の精子濃度の減少がみられた。160mg/kg/day 摂取群の F₁ 雌及び F₂ 雌で発情周期の延長、全世代の雌において卵巣重量の減少、F₂ 雄において精巣の精子細胞数の減少がみられた。無毒性量 NOAEL として 15mg/kg/day が考えられた。
- オダムらによって、*p*-ノニルフェノール(異性体混合物、分岐型) 45、75、150、225mg/kg/day を 3 日間または 53、150mg/kg/day を 11 日間経口投与された卵巣切除した Noble 雌ラットへの影響⁵⁸⁾及び 100mg/kg/day を 11 日間経口投与された卵巣切除した Alpk 雌ラットへの影響⁵⁹⁾が検討されている。その結果として、Noble 雌ラットの 3 日間投与では 75mg/kg/day 以上の投与群において、用量依存的に子宮重量の増加がみられ、11 日間投与では 150mg/kg/day 投与群において子宮重量の増加がみられた。Alpk 雌ラットでも子宮重量の増加がみられた。
- オダムら⁵⁹⁾によって、*p*-ノニルフェノール(異性体混合物、分岐型) 37.5、75、150、225、250mg/kg/day を 3 日間経口投与された Alpk 雌ラットへの影響及び 250mg/kg/day を 3 日間経口投与された SD 雌ラットへの影響が検討されている。その結果として、Alpk 雌ラットの 75mg/kg/day 以上の投与群において、用量依存的に子宮重量の増加がみられた。SD 雌ラットでも子宮重量の増加がみられた。
- デ ジェイガーら⁶⁰⁾によって、*p*-ノニルフェノール 100、250、400mg/kg/day を 10 週間経口投与された SD ラットへの影響が検討されている。その結果として、100mg/kg/day 以上の投与群において、精細管直径の減少、250mg/kg/day 以上の投与群において、精巣上体重量及び体重に対する相対精巣上体重量の減少、400mg/kg/day 投与群において、精巣重量、体重に対する相対精巣重量及び精子数の減少がみられた。最小毒性量 LOAEL として 100mg/kg/day が考えられた。
- オダムら⁶¹⁾によって、*p*-ノニルフェノール(異性体混合物、分岐型) 47.5、95、190、285mg/kg/day または *p-n*-ノニルフェノール(異性体混合物、直鎖型) 285mg/kg/day を 3 日間経口投与された Alpk:AP 雌ラットへの影響が検討されている。その結果として、*p*-ノニルフェノール(異性体混合物、分岐型) 190mg/kg/day 以上の投与群において子宮重量の増加がみられた。*p-n*-ノニルフェノール(異性体混合物、直鎖型) 投与群においては子宮重量の増加はみられなかった。
- カニーら⁵²⁾によって、4-ノニルフェノール(分岐型、純度 95.6%) 200、650、2,000ppm を含む餌を 90 日間混餌投与された雌雄 SD CrI:CD BR ラットへの影響が検討されている。摂取量はそれぞれ 15、50、140mg/kg/day と計算された。その結果として、雌において性周期への影響はみられなかった。雌雄において、生殖器重量及び形態学的変化はみられなかった。
- コールダムら⁶²⁾によって、4-ノニルフェノール(technical grade) 0.5、1、5、20mg を 3 日間皮下投与された CFLP 雌マウスへの影響が検討されている。その結果として、5 mg 以上の投与群において子宮重量の増加がみられた。
- シェルビーら⁶³⁾によって、*p*-ノニルフェノール(異性体混合物、分岐型) 0.001、0.01、0.1、1、10、100、1,000mg/kg/day を 3 日間皮下投与された CrI:CD-1(ICR)雌マウスへの影響が検討されている。その結果として、10mg/kg/day 以上の投与群にお

いて子宮重量の増加がみられた。

- オダムらによって、*p*-ノニルフェノール（異性体混合物、分岐型）0.073、53.2mg/kg/dayを11日間腹腔内投与された卵巣切除したNoble雌ラットへの影響⁵⁸⁾、0.037、27.2mg/kg/dayを11日間腹腔内投与された卵巣切除したAlpk雌ラットへの影響及び0.052、37.4mg/kg/dayを11日間腹腔内投与されたAlpk雌ラットへの影響⁵⁹⁾が検討されている。その結果として、子宮重量の増加または乳腺の増殖・分化への影響はみられなかった。
- リー⁶⁴⁾によって、ノニルフェノール（異性体の種類は不明）0.08、0.8、8 mg/kg/dayを14日間腹腔内投与された生後1日目のSD雄ラットへの影響が検討されている。その結果として、0.8mg/kg/day以上の投与群において開始31日後に体重に対する相対生殖器官（精巣、精巣上体、精嚢、前立腺）重量の減少がみられた。
- ミリガンら⁶⁵⁾によって、4-ノニルフェノール（異性体の種類は不明） 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} Mを皮下投与された卵巣除去したスイスアルビノマウスへの影響が検討されている。その結果として、 10^{-5} 以上の投与群において子宮の血管透過性に亢進がみられた。
- 長尾ら⁶⁶⁾によって、ノニルフェノール（異性体混合物、純度99.0%以上）2、10、50mg/kg/dayを経口投与したCrj:CD(SD)IGSラットの2世代試験が行われている。その結果として、50mg/kg/day投与群のF₀世代の雄において腎臓重量、体重に対する相対肝・腎臓・甲状腺・脳下垂体・肺重量及び血清中甲状腺刺激ホルモン値の増加、胸腺重量及び体重に対する相対胸腺重量の減少、肝及び腎臓の組織学的変化、雌において卵巣重量及び体重に対する相対卵巣重量の減少がみられた。精子の性状、性周期、卵巣組織には影響がみられなかった。50mg/kg/day投与群のF₁世代の雄において血清中卵巣刺激ホルモン値の増加（生後22日）、血清中甲状腺ホルモンT₃値の減少（生後22日）、体重に対する相対肝・腎臓重量及び精子濃度の増加、肝及び腎臓の組織学的変化、雌において血清中黄体形成ホルモンの減少（生後22日）、陰開口日の早期化、着床部位数、一腹当たりの生存児数、卵巣重量及び体重に対する相対卵巣重量の減少、肝の組織学的変化、成体体重の低値がみられた。卵巣組織、生殖能力、行動、学習能力には影響がみられなかった。生殖能力に関する無毒性量NOAELとして50mg/kg/day、一般毒性及び次世代への影響に関する無毒性量NOAELとして10mg/kg/dayが考えられた。

(4) その他の毒性

欧州委員会またはカナダ環境省及び厚生省が報告したその他の毒性に関する報告について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。

ア. 変異原性

- 欧州委員会は、フェールス⁶⁷⁾、清水ら⁶⁸⁾によるノニルフェノールを被験物質とした変異原性試験について報告している⁷⁾。その結果として、代謝活性化の有無に係わらずノニルフェノールは陰性であった。

イ. 発癌性

ノニルフェノールを被験物質とした発癌性試験に関する報告は得られなかった^{7,17)}。

ウ. 刺激性

- 欧州委員会は、ノニルフェノールは皮膚腐蝕性、眼刺激性及び呼吸器刺激性を持つと報告している⁷⁾。

エ. 過敏性

- 欧州委員会は、ノニルフェノールは皮膚過敏性は持たないと報告している⁷⁾。

オ. 人由来の細胞への影響

- カナダ環境省及び厚生省は、ノニルフェノールが人由来の細胞へ与える影響とし

て、精子、リンパ球及びMCF-7乳がん細胞のDNAに損傷を与えることを報告している¹⁷⁾。

8 内分泌攪乱作用が疑われる魚類影響等にかかる文献調査・信頼性評価

(1) 魚類への影響

ア. 試験管内試験 (*in vitro*試験)

TOXLINE等で得られた昭和47年～平成12年の文献情報と欧州委員会またはカナダ環境省及び厚生省が報告した魚類の内分泌攪乱作用に関する試験管内試験結果について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。

なお、ノニルフェノールによるエストロゲン様作用に関する試験管内試験の報告は得られたが、アンドロゲン様作用に関する報告は得られなかった。

- ルーミスとトーマス⁶⁹⁾によって、4-ノニルフェノール（メーカーによれば97%、4-NP、分岐型） 10^{-6} ～ 10^{-4} Mの濃度におけるニベ類(Atlantic croaker)の精巣及び肝由来のエストロゲン受容体による結合親和性試験が行われている。その結果として、精巣由来のエストロゲン受容体は $EC_{50}=1.3 \times 10^{-6}$ Mで4-ノニルフェノールと結合した。親和性は 17β -エストラジオールの約1/3,000であった。肝由来のエストロゲン受容体は $EC_{50}=1.5 \times 10^{-5}$ Mで4-ノニルフェノールと結合した。親和性は 17β -エストラジオールの約1/2,000であった。
- ホワイトら⁷⁰⁾によって、4-ノニルフェノール（原著者に確認したところ4-NP、分岐型） 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} Mに曝露された雄ニジマス初代培養肝細胞の反応及び肝細胞由来のエストロゲン受容体と 17β -エストラジオールとの結合置換量が検討されている。その結果として、 10^{-6} M以上で培養肝細胞にビテロジェニンの発現が認められ、 $Kd=5 \times 10^{-5}$ Mで受容体結合阻害が認められた。
- ミリガンら⁷¹⁾によって、4-ノニルフェノール（technical grade、メーカーカタログによれば97%、4-NP、分岐型） 10^{-6} ～ 3×10^{-3} Mの濃度におけるニジマス血漿に含まれる性ステロイド結合蛋白と 17β -エストラジオールの結合結合置換量が検討されている。その結果として、結合が認められ、活性は 17β -エストラジオールの1/10,000以下であった。
- フラリオットら⁷²⁾によって、ノニルフェノール（異性体の種類は不明） 10^{-7} Mに24時間曝露された雄ニジマス初代培養肝細胞の反応が検討されている。その結果として、培養肝細胞にビテロジェニンmRNA及びエストロゲン受容体mRNAの発現が認められた。活性は 17β -エストラジオールの1/5,000～1/500であった。
- イズリンガーら⁷³⁾によって、technical ノニルフェノール（メーカーカタログによれば4-NP、分岐型） 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} Mに96時間曝露されたニジマス初代培養肝細胞の反応が検討されている。その結果として、 10^{-6} M以上で培養肝細胞にビテロジェニン mRNA の発現が認められた。活性は 17β -エストラジオールの 1/3,000～1/2,000 であった。
- セリウスら⁷⁴⁾によって、4-ノニルフェノール（純度85%、*p*-異性体混合物でメーカーカタログによれば4-NP、分岐型）1、5、10 μ M に曝露された大西洋サケ初代培養肝細胞の反応が検討されている。その結果として、48時間曝露された培養肝細胞に5 μ M以上で卵膜蛋白（ゾナ ラディアータ蛋白）の発現が認められ、96時間曝露された培養肝細胞に10 μ M以上でビテロジェニンの発現が認められた。
- ジョブリングとサンプター⁷⁵⁾によって、4-ノニルフェノール（原著者に確認したところ4-NP、分岐型）1、10、50、100 μ M に2日間または4日間曝露された雄ニジマス初代培養肝細胞の反応が検討されている。その結果として、10 μ M以上で培養肝細胞から培地中に放出されたビテロジェニンが認められ、 $ED_{50}=16.15 \mu$ Mであった。活性は 17β -エストラジオールの約 1/111,000 であった。
- アルクウェら⁷⁶⁾によって、4-ノニルフェノール（純度85%、異性体混合物）1、5、25、125mg/kgを腹腔内投与された太平洋サケの肝顆粒体の反応が検討されている。その結果として、顆粒体中の 6β -水酸化酵素活性は1mg/kg投与群で増加

し、25mg/kg以上の投与群で減少した。16 α -及び17 α -水酸化酵素活性と7-エトキシシレゾルフィン- σ -デエチラーゼ活性は125mg/kg投与群で減少した。CYP1A蛋白質量は1 mg/kg以上の投与群で用量依存的に減少し、CYP2K様蛋白質量及びCYP3A様蛋白質量は125mg/kg投与群で減少した。結論として4-ノニルフェノールは低濃度においてはステロイド代謝酵素を増加させ、高濃度では低下させるとしている。

イ. 動物実験 (*in vivo*試験)

- ◎ TOXLINE等で得られた昭和47年～平成12年の文献情報のうち、魚類への内分泌攪乱作用を示すと疑われた結果より、作用がみられ、環境省が行った信頼性評価において信頼性が認められた報告について以下に記載する。
 - マイルス-リチャードソンら⁷⁷⁾によって、4-*p*-ノニルフェノール（メーカーに確認したところ4-NP、分岐型）0.05、0.16、0.4、1.6、3.4 μ g/L（実測値）に42日間曝露された雌雄ファットヘッドミノーへの影響が検討されている。その結果として、1.6 μ g/L以上の曝露群の雄において、電子顕微鏡を用いた組織検査で精巣組織に異常がみられた。
 - レンら⁷⁸⁾によって、ノニルフェノール（異性体の種類は不明）10、20、50、100、150 μ g/L（設定値）に72時間曝露された未成熟ニジマスへの影響が検討されている。その結果として、10 μ g/L以上の曝露群において、肝にビテロジェニンmRNAの発現がみられた。
 - ジョブリングら⁷⁹⁾によって、4-ノニルフェノール（原著者に確認したところ4-NP、分岐型）0.24、1.06、1.85、5.02、20.3、54.3 μ g/L（実測値）に3週間曝露された成熟雄ニジマスへの影響が検討されている。その結果として、20.3 μ g/L以上の曝露群において、血漿中にビテロジェニンの誘導がみられた。ビテロジェニン誘導の閾値は10 μ g/Lと考えられた。
 - グレイとメトカーフ⁸⁰⁾によって、tech-4-ノニルフェノール10、50、100 μ g/Lに3カ月間曝露された雄メダカへの影響が検討されている。その結果として、50 μ g/L以上の曝露群において、精巣内に卵細胞の形成がみられた。
 - ペデルセンら⁸¹⁾によって、tech-ノニルフェノール（4-NP、分岐型の含有率90%）76 μ g/L（実測値）に9日間曝露された未成熟ニジマスへの影響が検討されている。その結果として、血漿中のビテロジェニン濃度の増加がみられた。また、tech-ノニルフェノールまたは4-*n*-ノニルフェノール50mg/kgを2回腹腔内投与された未成熟ニジマスへの影響が検討されている。その結果として、tech-ノニルフェノール投与群では有意に血漿中にビテロジェニンの誘導がみられたが、4-*n*-ノニルフェノールではみられなかった。
 - コルスガードとペデルセン⁸²⁾によって、tech-4-*t*-ノニルフェノール（分岐型）10、50、100、250、500、1,000 μ g/L（設定値）に3週間曝露されたゲンゲ類への影響が検討されている。その結果として、100 μ g/L以上の曝露群において、血清中のビテロジェニン濃度の増加がみられた。
- ◎ 欧州委員会またはカナダ環境省及び厚生省が報告した内容について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。
 - フェントら⁸³⁾によって、ノニルフェノール（異性体の種類は不明）1、10 μ g/Lに受精20日後の卵期から12ヶ月間曝露された幼若ニジマスへの影響が検討されている。その結果として、1、10 μ g/Lに曝露された雄ニジマスの肝においてビテロジェニンmRNA量及びビテロジェニン量の増加がみられた。本報告は、カナダ環境省及び厚生省により引用されている¹⁷⁾が、講演要旨で詳細が不明であるため、欧州委員会は採用していない。
 - 欧州委員会は、アシュフィールドら⁸⁴⁾による4-*tertiary*-ノニルフェノール（分岐型）1、10、30 μ g/Lに431日間曝露された雌ニジマスへの影響について報告し

- ている⁷⁾。その結果として、 $30 \mu\text{g/kg}$ 投与群において体重に対する相対卵巣重量の増加がみられた。
- 欧州委員会は、クリステンセンら⁸⁵⁾によるノニルフェノールを2週間腹腔内投与された雄カレイ類への影響について報告している⁷⁾。その結果として、 10mg/kg 投与群において血漿中にビテロジェニンがみられた。
 - 欧州委員会は、ニムロッドとベンソン⁸⁶⁾によるノニルフェノールを腹腔内投与されたナマズ類への影響について報告している⁷⁾。その結果として、 237mg/kg 投与群において血清中ビテロジェニン量の有意な増加がみられた。活性は 17β -エストラジオールの $1/5,000$ であった。

ウ. 国内のフィールド調査結果

JICST で得られた国内のフィールド調査に関する文献情報について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。

- 中村と井口⁸⁷⁾によって、下水処理場から多摩川本流に流れ込むまでの間の下水処理水と本流水の混合する場所に生息するコイの生殖腺等の組織学的検査、ビテロジェニン発現の有無、河川水中のノニルフェノール量等の測定が行われている。5回の調査の結果、体長は約 $45\sim 65\text{cm}$ 、推定6～9歳、雌66匹、雄38匹、雌雄同体1匹であり、雄の約30%は精巣が異常に小さく精子形成が極めて悪かった。ビテロジェニンを発現している雄は約57%であった。コイを採集した場所の河川水中のノニルフェノール濃度は $0.25 \mu\text{g/L}$ 及び $0.47 \mu\text{g/L}$ であった。異常の原因は現在のところ不明である。

(2) その他の水生生物への影響

TOXLINE 等で得られた昭和47年～平成12年の文献情報のうち、魚類以外の水生生物への内分泌攪乱作用を示すと疑われた結果より、作用がみられ、環境省が行った信頼性評価において信頼性が認められた報告について以下に記載する。

ア. 動物実験 (*in vivo* 試験)

- カールら⁸⁸⁾によって、4-ノニルフェノール（メーカーに確認したところ4-NP、分岐型）8、18、36、84、 $138 \mu\text{g/L}$ （実測値）に20日間曝露されたユスリカ類の卵塊への影響が検討されている。その結果として、 $36 \mu\text{g/L}$ 以上の曝露群において、形態異常がみられた。

(3) 哺乳類への影響

MEDLINE 等で得られた昭和41年～平成12年の文献情報、経済産業省の報告並びに欧州委員会またはカナダ環境省及び厚生省が報告した哺乳類の内分泌攪乱作用に関する試験管内試験結果について以下に記載する。信頼性評価は行っていない。

ア. 試験管内試験 (*in vitro* 試験)

- 西原ら⁸⁹⁾によって、4-ノニルフェノール（technical grade、異性体混合物、分岐型）及び4-*n*-ノニルフェノール（直鎖型）を被験物質とした酵母ツーハイブリッド試験が行われている。その結果として、4-ノニルフェノール（分岐型）は陽性（ $\text{REC}_{10}=2 \times 10^{-7}\text{M}$ ）、4-*n*-ノニルフェノールは陰性（ $\text{REC}_{10} \Rightarrow 10^{-3}\text{M}$ ）であった。
- ブレアら⁹⁰⁾によって、メーカーの異なる5種類の4-ノニルフェノール（異性体混合物、分岐型）及び4-*n*-ノニルフェノール（直鎖型）を被験物質としたラット子宮細胞質由来エストロジェン受容体結合試験が行われている。その結果として、4-ノニルフェノール（分岐型）の $\text{IC}_{50}=2.4\sim 4.74 \times 10^{-6}\text{M}$ 、4-*n*-ノニルフェノールの $\text{IC}_{50}=2.80 \times 10^{-5}\text{M}$ であった。
- 田平ら⁹¹⁾によって、ノニルフェノール（異性体混合物、分岐型）及び4-*n*-ノニルフェノール（直鎖型）を被験物質としたヒトエストロジェン受容体を発現させた Sf9 細胞の反応が検討されている。その結果として、ノニルフェノール（異性体混合物、分岐型）の $\text{IC}_{50}=3.7 \times 10^{-6}\text{M}$ 、4-*n*-ノニルフェノールの $\text{IC}_{50}=4.2 \times 10^{-6}\text{M}$ であった。
- ホワイトら⁷⁰⁾によって、4-ノニルフェノール（原著者に確認したところ4-NP、分

岐型) 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5}M に曝露されたヒト乳がん細胞由来の MCF-7 細胞への影響が検討されている。その結果として、 10^{-5}M で増殖がみられた。

- レグラーら⁹²⁾によって、4-ノニルフェノール (純度 92.7%、メーカーカタログによれば 4-NP、分岐型) を被験物質としたヒト乳がん細胞 T47D 由来のエストロジェン受容体を介するレポーター遺伝子試験が行われている。その結果として、活性がみられ、 $\text{EC}_{50}=2.6 \times 10^{-7}\text{M}$ であった。
- バラグエールら⁹³⁾によって、ノニルフェノール (純度 90%、異性体混合物、分岐型) 及び 4-*nr*-ノニルフェノール (直鎖型) を被験物質としたエストロジェン受容体を介するレポーター遺伝子を導入されたヒト乳がん細胞由来の MCF-7 細胞並びに HeLa 細胞の反応が検討されている。その結果として、ノニルフェノール (異性体混合物、分岐型) 及び 4-*nr*-ノニルフェノールともにエストロジェン様活性を示した。
- ヨルゲンセンら⁹⁴⁾によって、ノニルフェノール (technical grade) を被験物質としたヒト乳がん細胞由来の MCF-7 細胞の内因性エストロジェン応答遺伝子の発現について検討されている。その結果として、ノニルフェノールは植物エストロジェンであるゲニスタインとほぼ同程度の遺伝子誘導を示した。

9 魚類を用いたスクリーニング・試験等

(1) 魚類を用いた試験管内試験 (*in vitro*試験)

ー魚類へのエストロジェン様作用についての検討ー

ア. メダカエストロジェンレセプターを用いた試験管内試験

大腸菌を用いて発現したメダカ及びヒトエストロジェンレセプター (α) リガンド結合ドメインに対するノニルフェノール (混合物)、4-*t*-オクチルフェノール、4-*t*-ペンチルフェノール、4-*t*-ブチルフェノールの結合能を ^3H エストラジオールとの競争結合試験によって測定した。試験は ^3H エストラジオール及びメダカ又はヒトエストロジェンレセプター (α) の混合溶液に、上記アルキルフェノールを添加した際に生じる ^3H エストラジオールのエストロジェンレセプター (α) からの脱離度を、添加したアルキルフェノール濃度の増加にともなう脱離曲線として求め、各アルキルフェノールの結合強度は、エストロジェンレセプターに結合している ^3H エストラジオールの二分の一を脱離させるために必要な化合物濃度 (IC_{50} 値) として算出した。

本試験において得られた脱離曲線を図 5 に、エストラジオールに対する相対結合強度を表 3 に示した。その結果、ノニルフェノール (混合物) 及び 4-*t*-オクチルフェノールはいずれも濃度依存的にメダカエストロジェンレセプター (α) との結合性を示し、その相対結合強度はそれぞれエストラジオールの約 1/10、1/5 であり、ヒトエストロジェンレセプター (α) に対する強度 (いずれもエストラジオールの約 1/2,000~1/3,000 で、文献上も同様の結果が得られている) と比較して強い結合性が示唆された。

また、その他のアルキルフェノール類については、ヒトに比べると数百~数千倍の結合性がみられるものの、最も結合性の強い 4-*t*-ペンチルフェノールでも 1/100、4-*t*-ブチルフェノールで 1/500 であり、直鎖型のノルマル異性体ではいずれも数千分の 1 と弱い相対結合強度であった。なお、 β 受容体についても同様の試験を行った結果、エストラジオールに比較して、ノニルフェノールは約 1/110 とヒトに比べて約 30 倍の相対結合強度を示した。

また、他魚種についても α 及び β 受容体についてレセプターバインディングアッセイを行った。その結果、マミチョグ (汽水域に棲息するアメリカ産メダカ科の魚種) α 受容体 (リガンド結合ドメイン) では約 1/200 の相対結合強度を示した。コイ α 受容体 (リガンド結合ドメイン) では、約 1/1,000 であった。一方、アルキル鎖長の異なる種々の 4-アルキルフェノール類について同様の試験を行ったところ、表 3 に示すように同じ鎖長では直鎖型と比べて分岐型の方がエストロジェンレセプターへの結合性は強かった。また、この結合性は鎖長依存的であり、エストロジェン

レセプター結合において至適アルキル鎖長が存在することがわかった。

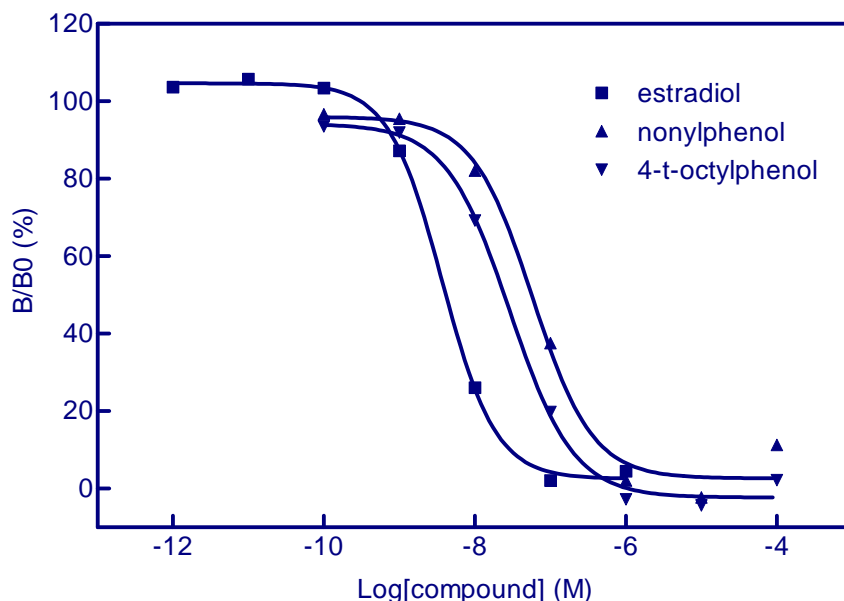


図 5 $[^3\text{H}]$ エストラジオールのメダカエストロジェンレセプターからの脱離曲線

表 3 メダカ及びヒトエストロジェンレセプターに対するアルキルフェノール類の平均 IC_{50} 値と相対結合強度 (%)

化学物質	メダカ#1		ヒト#2	
	IC_{50} 値 (M)	相対結合強度 (%)	IC_{50} 値 (M)	相対結合強度 (%)
エストラジオール	4.8×10^{-9}	100	2.1×10^{-9}	100
ノニルフェノール (混合物)	7.9×10^{-8}	8.1	3.4×10^{-6}	0.061
4- <i>t</i> -オクチルフェノール	3.2×10^{-8}	16	6.6×10^{-6}	0.032
4- <i>t</i> -ペンチルフェノール	3.9×10^{-7}	1.1	4.1×10^{-5}	0.0051
4- <i>t</i> -ブチルフェノール	3.0×10^{-6}	0.15	1.6×10^{-4}	0.0013
4- <i>n</i> -ノニルフェノール	1.1×10^{-6}	0.038	4.2×10^{-6}	0.050
4- <i>n</i> -オクチルフェノール	5.3×10^{-6}	0.077	1.1×10^{-5}	0.020
4- <i>n</i> -ペンチルフェノール	5.5×10^{-6}	0.084	—	—
4- <i>n</i> -ブチルフェノール	6.5×10^{-6}	0.066	8.8×10^{-5}	0.0024

#1 ノニルフェノール (混合物) 及び 4-*t*-オクチルフェノールは 4 回測定、その他は 3 回測定

#2 すべて 3 回測定

イ. レポータージーンアッセイ

ヒト子宮頸ガン由来HeLa細胞を用いて、ノニルフェノールのレポーター遺伝子 (ルシフェラーゼ) 転写活性化能を測定した。その結果、エストラジオールに対して数百倍の濃度でエストラジオールと同様の転写活性化能を示すことが明らかとなった (図 6)。

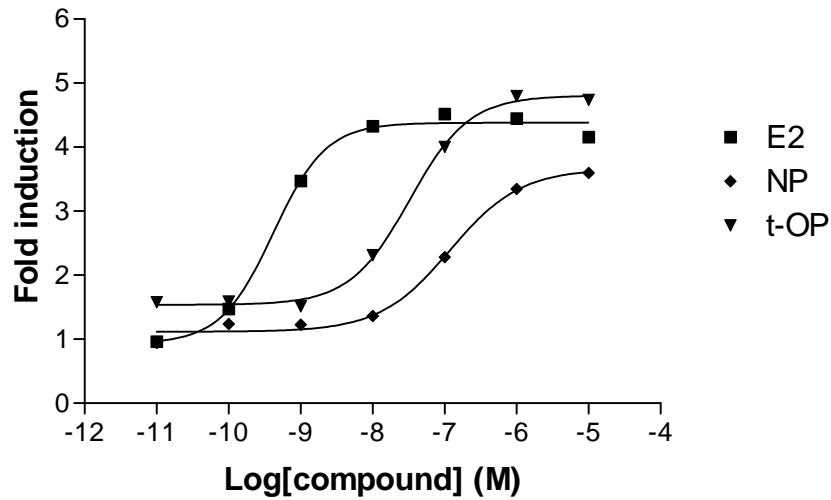


図 6 メダカエストロジェンレセプターを用いたレポーター遺伝子アッセイ

(2) メダカを用いた動物実験 (*in vivo*試験)

ア. スクリーニング

(ア)メダカビテロジェニンアッセイ

ノニルフェノール(混合物: NP)及び4-*t*オクチルフェノール(4-*t*OP)のメダカビテロジェニン (卵黄タンパク前駆体) 産生作用を評価するために、約3ヶ月令のメダカ(雌雄各8個体/濃度)を段階的なNP濃度(7.40、12.8、22.5、56.2及び118 μ g/L; 平均測定濃度)及び4-*t*OP濃度(12.7、27.8、64.1、129及び296 μ g/L; 平均測定濃度)の試験液に流水条件下で21日間曝露した。エストロジェン陽性対照物質としては17 β -エストラジオール(E₂, 100ng/L)を用いた。曝露期間中は死亡及び症状について毎日観察を行った。曝露終了時に各個体の肝臓を摘出し、肝臓中のビテロジェニン濃度を測定した。

NP及び4-*t*OPの試験共に、曝露期間中、死亡及び特段の症状は観察されなかった。オス個体の肝臓中ビテロジェニン濃度は曝露濃度の上昇と共に増加し、NPでは22.5 μ g/L以上、4-*t*OPでは64.1 μ g/L以上で統計学的に有意な上昇が認められた(図 7)。

以上の結果から、NP及び4-*t*OPはいずれもそのエストロジェン様作用によりオスのメダカ肝臓中においてビテロジェニンの産生を引き起こすことが示唆された。

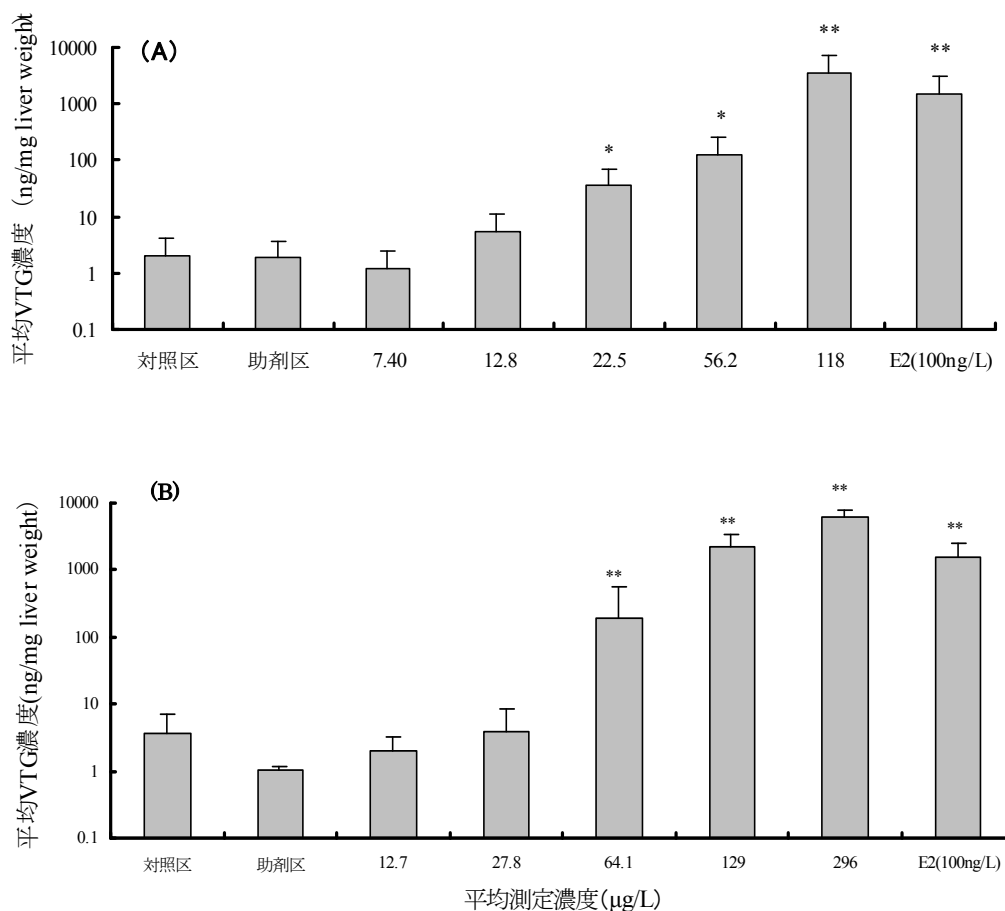


図 7 NP試験(A)及び4-*t*-OP試験(B)におけるオス個体の肝臓中ビテロジェニン濃度. データは平均±標準偏差として示した.*及び**はそれぞれ $p < 0.05$ 、 $p < 0.01$ で有意であることを示す。

(イ)メダカパーシャルライフ試験

ノニルフェノール(混合物: NP)及び4-*t*-オクチルフェノール(4-*t*-OP)のメダカの性分化に及ぼす内分泌攪乱作用を評価するために、メダカ(60個体/濃度)を段階的なNP濃度(44.7、23.5、11.6、6.08及び3.30 μg/L; 平均測定濃度)及び4-*t*-OP濃度(94.0、48.1、23.7、11.4及び6.94 μg/L; 平均測定濃度)の試験液に受精卵からふ化後60日令まで流水条件下で曝露した。曝露期間中はふ化、ふ化後の死亡及び症状について毎日観察を行った。曝露終了時(ふ化後60日令)に全生存個体の全長及び体重を測定し、外観的二次性徴から雌雄を判断した。また、各濃度区から無作為に抽出した20個体については生殖腺の組織学的観察を行うと共に肝臓中のビテロジェニン濃度を測定した。

NP及び4-*t*-OPの試験共に、受精卵のふ化及びふ化後の死亡については上記濃度範囲で特段の影響は観察されなかった。しかし、NPの試験におけるふ化後60日令の成長に関しては、44.7 μg/L区で全長及び体重が、23.5 μg/L区で体重がそれぞれ有意に減少し、NPによる成長阻害が示唆された。4-*t*-OPの試験では上記濃度範囲で成長阻害は観察されなかった。ふ化後60日令における生存個体の外観的二次性徴から判定した性比は、NPの試験では23.5 μg/L以上、4-*t*-OPの試験では48.1 μg/L以上で有意にメスに偏っていた(表 4 及び 5)。さらに、生殖腺の組織学的観察結果からは、

NP及び4-*t*-OP試験それぞれ11.6 μ g/L及び11.4 μ g/L以上で精巣中に卵母細胞が出現する精巣卵（以下、精巣卵とする）の個体が観察された(表 4及び5)。オス個体の肝臓中ビテロジェニン濃度についても、NP及び4-*t*-OP試験それぞれ11.6 μ g/L及び11.4 μ g/L以上で統計学的に有意に上昇した(図 8)。

以上の結果から、NP及び4-*t*-OPはいずれもそのエストロゲン様作用によりオスメダカの性分化に影響を及ぼし、外観的二次性徴をメス化させる最小作用濃度はNPが23.5 μ g/L、4-*t*-OPが48.1 μ g/Lであり、精巣卵を出現させ、ビテロジェニン産生を引き起こす最小作用濃度はNPが11.6 μ g/L、4-*t*-OPが11.4 μ g/Lであることが示唆された。

表 4 NP試験におけるふ化後60日令個体の二次性徴及び生殖腺組織学から判断した性比

NP濃度(μ g/L)	二次性徴 N: 尾数 性比 (♂:♀)	生殖腺組織学 N: 尾数			
		精巣	卵巢	精巣卵	
対照区	55 25:30	20	8	12	0
助剤対照区	57 27:30	20	10	10	0
3.30	59 27:32	20	9	11	0
6.08	59 25:34	20	10	10	0
11.6	57 28:29	20	9	7	4*
23.5	58 11:47**	20	2	9	9**
44.7	60 1:59**	20	1	15	4**

*及び**はそれぞれ有意水準 $p < 0.05$ 、 $p < 0.01$ で有意であることを示す。

表 5 4-*t*-OP試験におけるふ化後60日令個体の二次性徴及び生殖腺組織学から判断した性比

4- <i>t</i> -OP濃度 (μ g/L)	二次性徴 N: 尾数 性比 (♂:♀)	生殖腺組織学 N: 尾数			
		精巣	卵巢	精巣卵	
対照区	55 25:30	20	10	10	0
助剤対照区	56 21:35	20	9	11	0
6.94	55 26:29	20	10	10	0
11.4	56 25:31	20	8	11	1
23.7	48 13:35	20	8	10	2
48.1	56 13:43**	20	7	10	3*
94.0	54 0:54**	20	1	15	5*

*及び**はそれぞれ $p < 0.05$ 、 $p < 0.01$ で有意であることを示す。

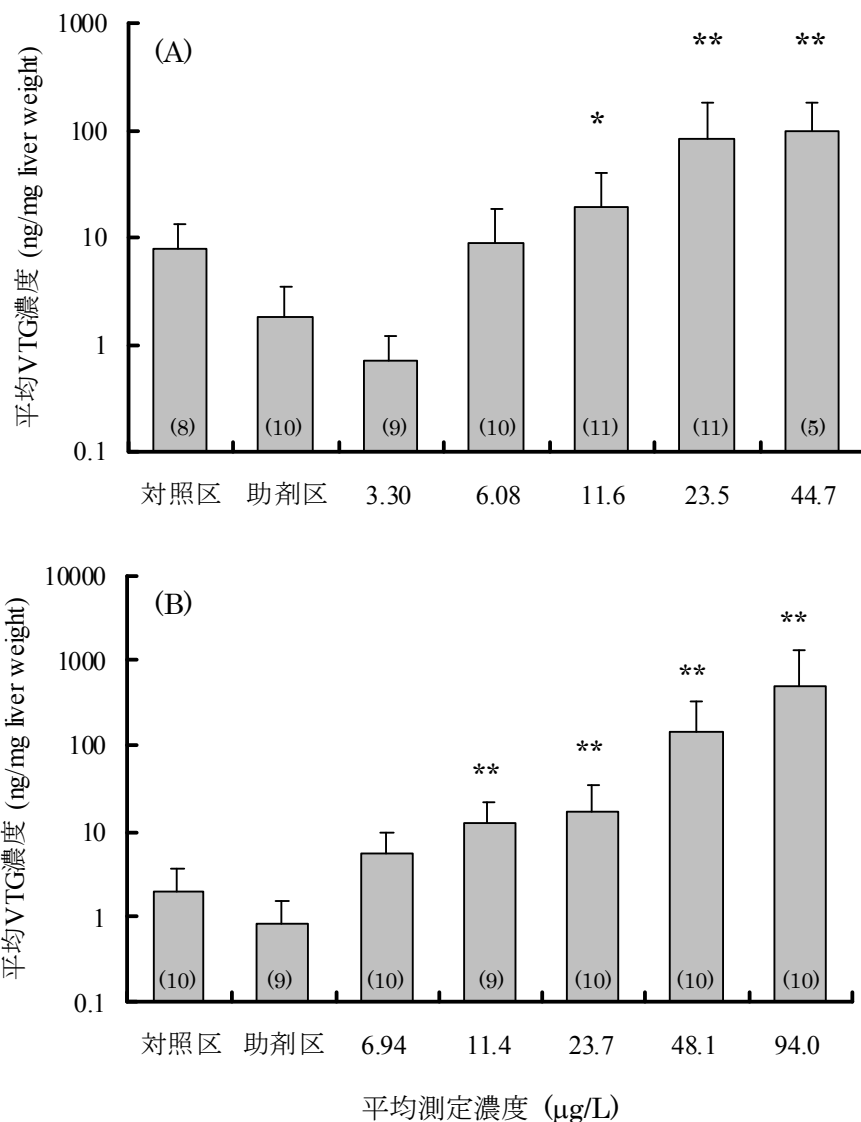


図 8 NP試験(A)及び4-*t*-OP試験(B)におけるふ化後60日令のオス個体の肝臓中VTG濃度. データは平均±標準偏差として示した. カッコ内は個体数を示す. *及び**はそれぞれ $p < 0.05$, $p < 0.01$ で有意であることを示す.

イ. 確定試験 (メダカフルライフサイクル試験)

ノニルフェノール(混合物: NP)のメダカの全生涯を通じた慢性毒性並びに内分泌攪乱作用を評価するために、メダカ(60個体/濃度)を段階的な濃度(4.2、8.2、17.7、51.5及び183 μg/L; 平均測定濃度)の試験液に受精卵からふ化後104日令まで流水条件下で曝露した。曝露期間中はふ化、ふ化後の死亡及び症状を毎日観察し、ふ化後60日令の時点では外観的二次性徴から表現型性を判定すると共に各濃度区20個体について生殖腺の組織学的観察を行った。さらに、ふ化後70日令でオス個体が出現していた17.7 μg/L以下の濃度区についてはペアリング(6ペア/濃度、ただし17.7 μg/L区は3ペア)を行い、ふ化後104日令まで毎日産卵数及び受精率を調査した。1世代目のふ化後102日及び103日令に得られた受精卵も同様にふ化後60日令まで曝露を実施し、影響を調べた。

183 μg/L区ではF₀メダカの受精卵の生存及びふ化後の遊泳開始(swim-up)が有意に低下し、swim-upからふ化後60日令までの累積死亡率は51.5及び17.7 μg/L区で有

意に増加した。ふ化後60日令個体の成長については影響はみられなかったが、外観的二次性徴から性比を判定した結果、51.5 μ g/L区ではオスの二次性徴を呈する個体は観察されなかった(表 6)。さらに、生殖腺の組織学的観察結果からは17.7 μ g/L以上で精巣卵の個体が観察された(表 6)。オスの特徴を呈する個体が出現した17.7 μ g/L以下の濃度区については、ふ化後70日令でペアリングを行い、ふ化後 103日令まで毎日産卵数及び受精率を調査した。その結果、総産卵数については影響は観察されなかったが、平均受精率は統計学的な有意差は認められなかったものの、対照区のものと比較して76%に低下した(図 9)。以上の結果から、NPのメダカ全生涯を通した最小作用濃度LOEC、無作用濃度NOECはそれぞれ17.7 μ g/L及び8.2 μ g/Lであることが示唆された。次世代(F₁)のふ化、ふ化後の死亡、成長については17.7~4.2 μ g/Lの濃度範囲で特段の影響は観察されなかった。しかし、ふ化後60日令個体の生殖腺における精巣卵の出現は、17.7 μ g/Lだけでなく8.2 μ g/Lにおいても観察され(表 7)、NPは17.7 μ g/Lより低濃度で次世代のメダカの繁殖能力に影響を及ぼす可能性のあることが推測された。

表 6 F₀メダカのふ化後60日令個体の二次性徴及び生殖腺の組織学的観察結果から判断した性比

NP 濃度 (μ g/L)	N : 尾数	性比 (♂:♀)	生殖腺組織学		
			N: 尾数 精巣	卵巣	精巣卵
対照区	20	9:11	9	11	0
助剤対照区	20	8:12	8	12	0
4.2	20	12:8	12	8	0
8.2	20	13:7	14	6	0
17.7	20	9:11	5	11	4
51.5 a	20	0:20	0	12	8

a: 生殖腺組織学の結果から得られた性比は助剤対照区と比較して $p < 0.001$ で有意であった。

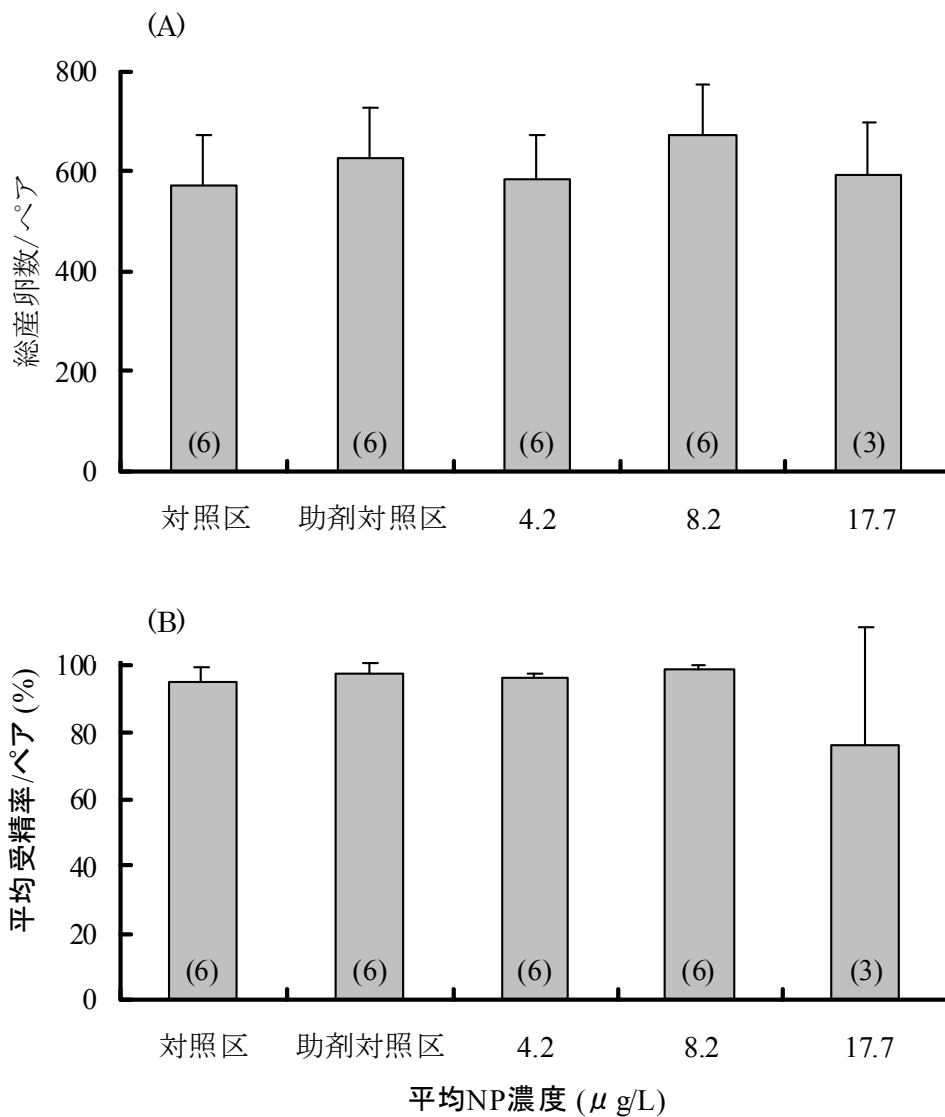


図 9 ふ化後71日令から104日令の間のペア個体の総産卵数(A)及び平均受精率(B)。データは平均±標準偏差として示した。カッコ内は個体数を示す。

表 7 F₁メダカのみ化後60日令個体の二次性徴及び生殖腺の組織学的観察結果から判断した性比

NP 濃度 (μg/L)	N : 尾数	性比 (♂:♀)	生殖腺組織学 N: 尾数			
			精巣	卵巢	精巣卵	
対照区	59	28 : 31	20	7	13	0
助剤対照区	54	26 : 28	20	11	9	0
4.2	54	25 : 29	20	9	11	0
8.2	49	24 : 25	20	10	8	2
17.7a	28	9 : 19	20	4	11	5

a生殖腺組織学の結果から得られた性比は $p < 0.01$ で有意であった。

10 海外のリスク評価の動向

(1) カナダ

カナダ環境省及び厚生省の連名で、平成12年3月に「ノニルフェノール及びノニルフェノールエトキシレートに関するアセスメント報告書”Assessment Report Nonylphenol and its ethoxylates”」の公衆意見聴取用草稿(Draft for public comment)が公表された¹⁷⁾。

草稿にはノニルフェノール及びノニルフェノールエトキシレートの物性、用途、生産状況、市場傾向、発生源、環境中運命、環境中分布、環境中濃度、一般毒性、内分泌攪乱作用、生体濃縮等について記載され、予測曝露量と予測無影響量との比較による人への影響及び生態への影響に関するリスクアセスメントを行っている。

人へのリスクアセスメント結果では、米国毒性プログラムNTPによるラット3世代試験の報告から予測無影響量を12mg/kg/dayとし、食物からの予測曝露量0.017mg/kg/dayとの比が700程度としている。

生態へのリスクアセスメント結果では、最も安全側に立った予測無影響濃度をカレイ類(winter flounder)の急性毒性値96hLC₅₀=17 μg/Lにアセスメント係数1/100を乗じた0.17 μg/Lとし、次いで安全側に立った予測無影響濃度をアミ類(mysid shrimp)の慢性毒性の最大無作用濃度 (NOEC) 3.9 μg/Lにアセスメント係数1/10を乗じた0.39 μg/Lとし、また、内分泌攪乱作用の予測無影響濃度を雄ニジマスの血漿中にビテロジェニンが誘導される閾値=10 μg/Lにアセスメント係数1/10を乗じた1 μg/Lとし、各予測無影響濃度と予測環境濃度との比較を行っている。その結果として、河川水、工場排水、下水処理場排水の濃度には予測無影響濃度を上回る例があるとしている。

総括として、「適切な情報を基にした批判的アセスメントを根拠とし、ノニルフェノール及びノニルフェノールエトキシレートはカナダ環境保護法第64条で定義されている“有毒(toxic)”に該当すると提案する。」と述べられている。

(2) 欧州連合：EU

欧州委員会より、平成13年4月に「4-ノニルフェノール（分岐型）及びノニルフェノールに関するリスクアセスメント報告書”European Union Risk Assessment Report 4-Nonylphenol(branched) and nonylphenol”」の最終報告書が欧州連合に提出された⁷⁾。

報告書には4-ノニルフェノール（分岐型）及びノニルフェノールの物性、分類、製造状況、用途（ノニルフェノールエトキシレートを含む）、市場傾向、規制、発生源、環境中での分解、環境中分布、環境中濃度、一般毒性、内分泌攪乱作用等について記載され、予測曝露量と予測無影響量との比較による人への影響及び生態への影響に関するリスクアセスメントを行っている。

人へのリスクアセスメント結果では、米国毒性プログラムNTPによるラット3世代試験の報告から生殖に関する予測無毒性量 (NOAEL) 15mg/kg/dayにアセスメント係数1/10を乗じた1.5mg/kg/dayと消費者を対象とした予測曝露量0.6 μg/kg/dayとの比較を行っており、両者の比(margins of safety)が2,500であり、人への実質的なリスクはないとしている。なお、消費者を対象とした予測曝露量は、室内での防衛剤散布を想定した吸入曝露量 (SCIESモデル：米国環境保護庁) と経皮曝露量 (DERMALモデル：米国環境保護庁) の予測計算値、毛染めを想定した経皮曝露量の予測計算値及び食品包装材からの溶出を想定した経口曝露量の予測計算値の合計値である。

生態へのリスクアセスメント結果では、水中の予測無影響濃度^{注)} (PNEC_{water})を淡水性緑藻類のイカダモ(*Scenedesmus subspicatus*)の10%影響値72hEC₁₀(Biomass)=3.3 μg/Lにアセスメント係数1/10を乗じた0.33 μg/Lとし、また、水中の予測環境濃度^{注)} (PEC_{surface water})として、EUSES(欧州連合化学物質評価体系：the European Union System for the Evaluation of Substances)モデル (フガシティーモデル レベル

Ⅲ) による計算結果から $4 \times 10^4 \text{km}^2$ の範囲を対象とし、一般的な複数の河川の汚染状況をみる $\text{PEC}_{\text{regional}} = 0.6 \mu \text{g/L}$ 及びより広い $3.56 \times 10^6 \text{km}^2$ を対象とした $\text{PEC}_{\text{continental}} = 0.066 \mu \text{g/L}$ を得て、予測無影響濃度(PNEC)と各予測環境濃度(PEC)との比較を行っており、 $\text{PEC}_{\text{regional}}/\text{PNEC}$ 値が約1.8と1を超えているとともに排水濃度に希釈率を乗じて排出源近傍の濃度を予測した $\text{PEC}_{\text{local}} = < 0.6 \sim 350 \mu \text{g/L}$ のリスクが高いことも受け、水環境におけるリスク低減策の策定が必要であるとしている。

注) 予測無影響濃度(PNEC)：影響が出ないと予測される濃度

予測環境濃度(PEC)：予測される水中濃度

PEC/PNEC 値：予測環境濃度(PEC)が予測無影響濃度(PNEC)を超える場合(すなわち、 PEC/PNEC 値 > 1) には、欧州連合ではリスク低減策が必要とされている。

11 総合評価

ノニルフェノールが魚類に与える影響について、これまで得られた内分泌攪乱作用に関する文献調査及びスクリーニング・試験を中心とした有害性評価の結果並びに環境実態調査や環境中挙動を取りまとめ、リスク評価を行った結果を、以下に記載する。

(1) リスク評価の方法

魚類への影響にかかるリスク評価については、餌からの曝露量や体内での負荷・濃度を考慮した評価法の開発が進んでいるが、ノニルフェノールの場合には餌による曝露の割合が少ないと考えられること等から、ここでは、国内外で一般的に用いられている手法として、予測環境濃度(PEC)と予測無影響濃度(PNEC)を求めて両者を比較するリスク評価手法を用いる。

(2) ノニルフェノールの曝露評価

ア. 環境実態調査結果のまとめ

環境庁及び建設省が実施した平成10年度～11年度の環境実態調査によると、水質調査における検出濃度範囲は、ND ($< 0.03 \sim 0.1$) $\sim 21 \mu \text{g/L}$ であった。その平均値は、NDを0とした場合 $0.17 \mu \text{g/L}$ 、検出限界値の1/2とした場合 $0.19 \mu \text{g/L}$ 、検出限界値とした場合 $0.22 \mu \text{g/L}$ であり、75パーセンタイルは $0.10 \mu \text{g/L}$ 、90パーセンタイルは $0.30 \mu \text{g/L}$ 、95パーセンタイルは $0.59 \mu \text{g/L}$ であった。なお、全地点の濃度分布をみると、おおむね95パーセンタイルを境にして異なる性格を有する2つのグループからなることが明らかになった。

イ. 環境中挙動と生態系

魚類に対するノニルフェノールの主たる曝露経路は、水から鰓や体表を經由して取り込まれるものが主体で、餌からの曝露量は全体の数%以下である。

また、魚類の体内濃度は水中濃度の数十～数百倍になるが、既に述べたように体内半減期が19～20時間と短いことから、水中濃度が低下した場合には数日で体外にほとんど排泄されると推測され、魚類の体内濃度は水中濃度の変化によく対応すると考えられる。

したがって、ノニルフェノールの魚類への曝露評価においては、水中濃度を用いることが適していると考えられる。

なお、スイス及び琵琶湖周辺の河川で行われた調査では、栄養段階の異なる生物の体内濃度に顕著な差は認められず、食物連鎖を通じてノニルフェノールが生物に濃縮されている事実はみられなかった。

ウ. 予測環境濃度(PEC)

予測環境濃度については、カナダ環境省及び厚生省では、文献情報より得られた排水濃度の最高値に希釈率を乗じて算出し、欧州委員会では、産業界から提供され

た数箇所の排出源の年間排出量データをもとにしたモデル計算により排出源近傍の濃度を予測したPEClocal、一般的な複数の河川の汚染状況をみるPECregional及びより広範囲を対象としたPECcontinentalを算出している。

我が国においては、排水濃度または排出源の年間排出量データが得られていないため、カナダ環境省及び厚生省が行った計算または欧州委員会が行ったPEClocal等の算出は行えない。このため、欧州委員会が算出したPECregionalに近い概念として、環境実態調査結果からreasonable worst case（リーズナブルワーストケース）における値を推定し、これを代表値とすることとする。具体的には、調査結果の分布の形状に基づき、測定点を一般水域と排出源からの直接的な影響を受けている可能性が高い水域とに区分し、一般水域における最高値として推定された95パーセントイルである0.59 µg/Lを暫定的に予測環境濃度（PEC）とすることを提案する。

なお、今後、国内において把握可能な排出源からの排水量及び排水濃度に関するデータや新たに構築したノニルフェノールの水環境挙動モデルを用いた予測環境濃度（PEC）の算出について検討する必要がある。

(3) ノニルフェノールが魚類に及ぼす内分泌攪乱作用に関する有害性評価

TOXLINE等で得られた昭和47年～平成12年の文献情報のうち、魚類への内分泌攪乱作用を示すと疑われた結果の信頼性が確認された水中濃度は、電子顕微鏡検査によりファットヘッドミノアの精巣組織に異常が認められた1.6 µg/L、未成熟なニジマスの肝臓にビテロジェニンmRNAが誘導された10 µg/L、成熟した雄ニジマスの血漿中にビテロジェニンが合成された20.3 µg/L（同報告において、その閾値を10 µg/Lと想定している）等が挙げられる。

今回の試験管内試験結果のうち、メダカのレセプターバインディングアッセイによると、E₂と比較したエストロジェンレセプターへの相対結合強度は1/10、マミチヨグでは1/200、メダカのレポータージーンアッセイによるとE₂に対して数百分の1の転写活性を示していた。なお、アトランティッククローカーでみられたエストロジェンレセプターとの結合性において、E₂と比較して1/2,000～1/3,000の親和性が報告されているが、当該手法はレセプターのみではなく周辺細胞もあわせてそのサイトゾルを抽出した細胞での反応をみており、今回、環境省で実施したレセプターとの純粋な結合性をみる試験系と比較するとデータの信頼性が乏しいと考える。

今回のスクリーニングの結果のうち、雄メダカのビテロジェニンアッセイでは、水中濃度22.5 µg/Lで有意な産生が認められ（注：≤12.8 µg/Lではみられなかった）、メダカのパーシャルライフサイクル試験では、雄について水中濃度23.5 µg/Lで二次性徴の雌化、11.6 µg/Lで精巣卵の出現及びビテロジェニン産生が有意に認められた（注：≤6.08 µg/Lではみられなかった）。

さらに、メダカのフルライフサイクル試験では、雄について水中濃度17.7 µg/Lで性分化異常、受精率低下等がみられ、次世代においては1世代目ではみられなかった精巣卵が8.2 µg/Lで観察された（注：4.2 µg/Lではみられなかった）。

ノニ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疑わせる所見として、これまで低濃度でビテロジェニンが誘導されるという報告はあった。しかし、ビテロジェニンについては、雌固有と考えられながらも曝露を受けていない雄にもみられるなど未解明な点も多く、バイオマーカーとしてスクリーニング手法に用いられるにとどまり、内分泌攪乱作用の有無・程度として判断するまでの指標にはなり得なかった。このような状況のもと、今回の試験結果は、環境の変化によって性比が変化しにくいメダカを使い、低濃度で精巣卵がみられたという内分泌攪乱作用を十分に疑わせる形態的異常がみられた世界で初めての報告と言えよう。また、これを裏付けるように、試験管内試験によって、魚種によるばらつきはあるものの、魚類についてはエストロジェンレセプターとの結合性やエストロジェン様活性が強いことが世界で初めて証明された。以上、ノニルフェノールは、魚類に対して強い内分泌攪乱作用を有することが強く推察された。

ア. 最大無作用濃度 (NOEC) の設定

これまでの文献調査やスクリーニング試験結果をまとめると、

①ファットヘッドミノーにみられた精巢の異常は電頭上の変化であり、また、統計学的に有意な所見ではないこと、②メダカのフルライフサイクル試験において水中濃度 $8.2 \mu\text{g/L}$ でみられた精巢卵の出現率については有意差が認められなかったこと、③さらに、 $10 \mu\text{g/L}$ でみられたニジマスのビテロジェニンmRNA誘導は直接生体に有意な変化を及ぼしているとは考えにくいことや、その濃度が実験の最低濃度であって最大無作用濃度 (NOEC) が求められないことから、これらの結果は参考にとどめる。

一方、メダカのフルライフサイクル試験で水中濃度 $17.7 \mu\text{g/L}$ にみられた性分化異常や受精率の減少といった種の保存に影響を与えるほどの濃度でないものの、メダカのパーシャルライフサイクル試験で精巢卵、ビテロジェニン産生が有意にみられた水中濃度 $11.6 \mu\text{g/L}$ であっても性分化に関する影響を与えると考えられることから、 $11.6 \mu\text{g/L}$ を最小作用濃度とする。なお、この値は、ニジマスのビテロジェニンmRNAが誘導された濃度に近いものである。

この場合の最大無作用濃度NOECは $6.08 \mu\text{g/L}$ となる。なお、この値は、魚類における慢性毒性として欧州委員会でのファットヘッドミノーを試験生物とした生存に関する最大無作用濃度NOEC $7.4 \mu\text{g/L}$ ⁷⁾、カナダ環境省及び厚生省が魚類の最大無作用濃度NOECとして提示した $6 \mu\text{g/L}$ ¹⁷⁾ に近いものである。

イ. 予測無影響濃度 (PNEC) の設定

予測無影響濃度 (PNEC) については、試験対象とした生物種が限られていることから、より安全側に立つとOECD諸国で利用されているアセスメント係数として100~1,000が想定できるが、急性毒性、慢性毒性の分類に該当しない影響であること、生死に直接かわる現象ではないこと等に鑑み、最大無作用濃度 (NOEC) に安全係数1/10を乗じ、予測無影響濃度 (PNEC) を $0.608 \mu\text{g/L}$ とすることを提案する。この値であれば、ファットヘッドミノーにみられた精巢異常の濃度 ($1.6 \mu\text{g/L}$) もカバーされる。

また、今回安全係数として採用した1/10は、今回、内分泌攪乱作用が疑われた最大無作用濃度 (NOEC) でみられた影響を仮に広義の慢性毒性ととらえた場合、慢性毒性として既述のように藻類、甲殻類での影響濃度が求められており、こうしたケースでの慢性毒性に係るアセスメント係数としてOECD諸国では1/10を採用していることから妥当と考えられる。

なお、人の健康影響については、現在環境省が各種試験を実施中であるが、ヒト細胞を用いた試験管内 (*in vitro*) 試験では、エストロジェンレセプター (α) との結合性が極めて弱く、また、これまでの文献調査におけるげっ歯類を用いた動物実験でも極低濃度での反応がこれまで報告されていないことから、魚類での結果がそのまま人にはあてはまらないと考えられることに留意する必要がある。

(4) ノニルフェノールに関するその他の生物影響

内分泌攪乱作用として評価した最大無作用濃度 (NOEC) $6.08 \mu\text{g/L}$ より低濃度で一般毒性としての影響がみられた報告として、①急性毒性では、淡水性緑藻類のイカダモ (*Scenedesmus subspicatus*) を試験生物とした増殖に関する10%影響値 (EC_{10}) $3.3 \mu\text{g/L}$ が存在するが、生態系に対する影響の程度の観点などから、この値を予測無影響濃度 (PNEC) として採用するか否かは国際的にも議論のあるところであり、また、②慢性毒性では、海産無脊椎動物であるアミ類を試験生物とした成長に関する最大無作用濃度 (NOEC) $3.9 \mu\text{g/L}$ が存在するが、ノニルフェノールについては主に河川で検出されており、その影響についても淡水性生物を指標とすべきと考えられることから、今回のリスク評価に使用する有害性の指標としては採用しないこととする。なお、これらの値は、いずれにせよ今回の予測無影響濃度 (PNEC) によってカバー

される濃度域である。

(5) その他（環境中動態・代謝、体内動態・代謝等）

魚類体内でのノニルフェノールの挙動等に関しては科学的知見が乏しく、体内濃度によるリスク評価の実施は現状では困難と考えられる。

また、我が国の実態に即したリスク評価を実施するには、現時点では、個々の高濃度排出源の近傍の水中濃度に関する知見が乏しいと考えられる。

なお、カナダ環境省及び厚生省はノニルフェノール及びノニルフェノールエトキシレートが排出源からの排水中に高濃度で存在するが、変動が大きく、より高濃度で存在する可能性も指摘されていることから、定期的な排水のモニタリングが必要としている¹⁷⁾。

(6) ノニルフェノールが魚類に与える影響のリスク評価

有害性評価によりノニルフェノールの予測無影響濃度（PNEC）は、最大無作用濃度（NOEC） $6.08 \mu\text{g/L}$ に安全係数1/10を乗じた $0.608 \mu\text{g/L}$ であり、これは曝露評価手法として採用した予測環境濃度（PEC）である $0.59 \mu\text{g/L}$ に近似している。また、環境実態調査で得られた国内の環境水中の濃度はND（ $<0.03\sim 0.1$ ） $\sim 21 \mu\text{g/L}$ の範囲内であり、同調査を行った1,574地点中4.5%に当たる71地点が予測無影響濃度（PNEC）の値を超過している。

以上から、我が国の環境水中でみられるノニルフェノールは、魚類の内分泌攪乱作用を通じ、生態系に影響を及ぼしている可能性があるとして評価される。

なお、予測環境濃度（PEC）の算出については、一般的な複数の河川の汚染状況として欧州委員会が算出したPEC_{regional}に近い概念である環境実態調査結果の代表値を暫定的に採用したが、今回の環境実態調査は広域的に実施されたものであり、排出源の周辺水域の状況を代表するものではないこと、これらの分解物や天然及び合成エストロジェンなど環境中で同様のエストロジェン様作用を示す物質が既に環境中に存在しており、作用の程度と検出状況から単独では影響を及ぼす程度ではないと想定できるが、複合的な影響が懸念されること等に留意する必要がある。

12 リスク低減に向けての取組

以上、ノニルフェノールによる魚類への影響に係るリスク評価結果をとりまとめたが、その結果に基づき以下のような取組を進める必要があると考えられる。

(1) リスク評価の精度向上のための取組

今回のリスク評価は、*in vitro*、*in vivo*ともに内分泌攪乱作用を有することが強く推察された化学物質について、初めてのケースとして有害性を評価したものである。これら有害性評価は、極めて信頼性の高いデータをもとに行われてはいるものの、内分泌攪乱作用を評価するスクリーニング・試験法は、未確立であり、現在もOECDを中心に先進各国による取組が進められているところである。このような状況のもと、今回の評価は、既存の有害性評価手法を活用しながら暫定的にとりまとめたものであり、より精度を上げるためにも今後一層の科学的知見の集積が求められる。

また、曝露状況についても、これまで環境省が実施してきた環境実態調査の測定地点は、都道府県を代表する河川等を中心として地点を選定していることから、今後は総合的な曝露評価を行うため、排出源近傍の濃度を予測するPEC_{local}を算出する観点から、PRTR制度等を活用して排出源の把握に努めるとともに、その周辺の詳細調査を地元自治体や関係省庁とも連携しつつ実施することにより、環境汚染の実態をより詳細に確認し、曝露評価の継続実施と向上を図りつつ、効果的な対策の早期実施に向けて取り組むことが重要である。

(2) リスク低減のための取組

今回のリスク評価の結果を考慮すると、生態系の保全を図る観点からリスク低減に向けた対策が必要と考えられる。

アルキルフェノール類、特にノニルフェノールについては、主に生態影響に関する一般毒性を中心とした既存の各種データと環境中濃度をもとに、環境汚染を防止するため、国内外で様々な取組がなされている。特に、先進的な取組がなされている諸外国においては、アルキルフェノールエトキシレート（ノニルフェノールエトキシレートを含む）について、種々の規制や使用削減に向けた業界の取組が広く行われている（参考2参照）。また、我が国においても業界独自の取組として、家庭用洗剤にアルキルフェノールエトキシレートを使用しないことや業務用及び工業用洗剤なども代替品へ転換することを推進している。

今回のリスク評価において、ノニルフェノールは魚類を中心とする生態系に影響を及ぼしている可能性があるとして評価された。我が国の化学物質に関する規制は、人の健康保護が主たる目的とされ、生態系の保全という観点から稀薄であるが、そうしたなかで、生態系に対する影響が懸念されるノニルフェノールの問題にどう対処するかは、我が国の化学物質対策のあり方を考える上で重要な論点を含んでいる。

この点を含めて、次のことに留意すべきであると考えられる。

- ア. 水環境中濃度を極力、予測無影響濃度（PNEC）以下にするための方策を、早急に関係者の間で検討する必要がある。この際には、業界による代替品の利用の促進等の自主的取組にも期待したい。また、今後、PRTR制度の活用により、自主管理がより促進されることが望まれる。

- イ. 代替品の開発・使用に際しては、現時点でその有害性は評価されていなくても、将来、人の健康や生態系に対して深刻な影響に結びつく可能性も考えられることから、慎重な選択が求められる。分解性が高く、有害性が低い、より生態系に配慮した代替品の使用を進めるとともに、よりよい代替品の開発に向けて、産官学が協力してその取組を加速化する必要がある。なお、これまでの文献調査や各種試験結果から考えると（参考1参照）、ノニルフェノールと同程度の毒性や内分泌攪乱作用を有すると考えられる4-*t*-オクチルフェノールを代替品として使用することは不適切と考えられる。また、その他の分岐型のアルキルフェノール類を使用することも、試験管内試験の結果に鑑み、十分な検討が必要と考えられる。

一方、これまでに得られた環境中挙動や体内動態の結果を考慮すると、ノニルフェノールは環境中である程度の分解性があり、また比較的短期間に体外に排泄されることが想定されることから、環境中に存在するノニルフェノールの無害化・除去といった対策の必要性は低いと思われる。

- ウ. 行政においては、人の健康より生態系に重大な影響を与えるような化学物質の管理に関し、①生態系保全の観点からの水質目標の設定及びその達成のための諸施策の検討、②生態系保全の観点からの化学物質審査・規制のあり方の検討等を進めていく必要がある。

(参考1) その他のアルキルフェノール類

1. 4-*t*オクチルフェノール

(1) 環境実態調査結果のまとめ

環境庁が実施した「平成10年度環境ホルモン緊急全国一斉調査」、「平成11年度環境ホルモン全国一斉調査」、建設省が実施した「平成10年度水環境における内分泌攪乱化学物質に関する実態調査」及び「平成11年度水環境における内分泌攪乱化学物質に関する実態調査」において、全国のべ2,331地点について水質、底質、土壌、水生生物、野生生物の環境中濃度を測定した。その結果、水質調査では2年間で1,574地点中328地点で検出され（検出率21%）、濃度範囲 ND (<0.01~0.1) ~13 μ g/L、算術平均 0.02 μ g/L (NDを0で換算)、90パーセンタイル0.03 μ g/L、95パーセンタイル0.06 μ g/Lであった。なお、NDを1/2とした場合の算術平均は0.04 μ g/L、NDを検出限界値とした場合の算術平均は0.05 μ g/Lであった。

底質調査では2年間で294地点中60地点で検出され（検出率20%）、濃度範囲 ND (<1~10.5) ~170 μ g/kg、算術平均3.5 μ g/kg (NDを0で換算)、90パーセンタイル9.0 μ g/kg、95パーセンタイル16 μ g/kgであった。なお、NDを1/2とした場合の算術平均は4.9 μ g/kg、NDを検出限界値とした場合の算術平均は6.4 μ g/kgであった。

水生生物調査では141地点中16地点で検出され（検出率11%）、濃度範囲はND (<1.5) ~30 μ g/kg、算術平均0.9 μ g/kg (NDを0で換算)、90パーセンタイル1.8 μ g/kg、95パーセンタイル4.8 μ g/kgであった。なお、NDを1/2とした場合の算術平均は1.6 μ g/kg、NDを検出限界値とした場合の算術平均は2.3 μ g/kgであった。

(2) 内分泌攪乱作用が疑われる生態影響にかかる文献調査・信頼性評価結果

TOXLINE等で得られた昭和47年~平成12年の文献情報のうち、魚類への内分泌攪乱作用を示すと疑われた結果より、作用がみられ、環境省が行った信頼性評価において信頼性が認められた報告について以下に記載する。

- ジョブリングら⁷⁹⁾によって、4-*t*オクチルフェノール0.3、0.6、1.6、4.8、14.6、43.9 μ g/L(実測値)に3週間曝露された成熟雄ニジマスへの影響が検討されている。その結果として、4.8 μ g/L以上の曝露群において、血漿中にビテロジェニンの誘導がみられた。
- グローネンら⁹⁵⁾によって、4-*t*オクチルフェノール20、41、74、230 μ g/L(実測値)に21日間曝露された雄メダカへの影響が検討されている。その結果として、20 μ g/L以上の曝露群において、血清中にビテロジェニンが合成され、生殖行動に影響がみられた。
- ペデルセンら⁸¹⁾によって、4-*t*オクチルフェノール41 μ g/L(実測値)に9日間曝露された未成熟ニジマスへの影響が検討されている。その結果として、血漿中のビテロジェニン濃度の増加がみられた。
- ベイレイら⁹⁶⁾によって、4-*t*オクチルフェノール150 μ g/Lに4週間曝露された雄グッピーへの影響が検討されている。その結果として、性行動に影響がみられた。

(3) 内分泌攪乱作用に関する有害性評価についての考察

TOXLINE等で得られた昭和47年~平成12年の文献情報のうち、魚類への内分泌攪乱作用を示すと疑われた結果の信頼性が確認された水中濃度は、成熟した雄ニジマスの血漿中にビテロジェニンが合成された4.8 μ g/L⁷⁹⁾、雄メダカの血清中にビテロジェニンが合成され、生殖行動に影響が認められた20 μ g/L⁹⁵⁾等が挙げられる。

今回の試験管内試験結果のうち、メダカのレセプターバインディングアッセイによると、E₂と比較したエストロジェンレセプターへの相対結合強度は1/5、マミチヨグでは約1/150、メダカのレポータージーンアッセイによるとE₂に対して数百倍の濃度で転写活性を示した。

今回のスクリーニングの結果のうち、雄メダカのビテロジェニンアッセイでは、水中濃度64.1 μ g/Lで有意な産生が認められ（注： \leq 27.8 μ g/Lではみられなかった）、

メダカのパーシャルライフサイクル試験では、雄について水中濃度48.1 $\mu\text{g/L}$ で二次性徴の雌化、11.4 $\mu\text{g/L}$ で精巣卵の出現及びビテロジェニン産生が有意に認められた（注：6.94 $\mu\text{g/L}$ ではみられなかった）。

今後は、メダカのフルライフサイクル試験を実施することとなるが、これらの結果を総合すると、魚類については種差を含め、ノニルフェノールと同程度の水中濃度で影響がみられると考えられる。

なお、ノニルフェノールの項でも言及したが、魚類での結果がそのまま人には外挿できないことは留意すべきである。

2. その他のアルキルフェノール類

(1) 環境実態調査結果のまとめ

環境省が実施した平成10年度～11年度の環境実態調査によると、水質調査における4-*t*-ペンチルフェノールの濃度範囲は、ND (<0.01) ～0.02 $\mu\text{g/L}$ 、3/916検体のみの検出であった。

(2) 内分泌攪乱作用が疑われる生態影響にかかる文献調査・信頼性評価結果

他のアルキルフェノール類として4-*t*-ペンチルフェノールについての情報が得られた。魚類への内分泌攪乱作用を示すと疑われた結果の信頼性が確認された水中濃度は、成熟した雄コイで生殖腺体指数が有意に低下した32 $\mu\text{g/L}$ ⁹⁷⁾、雄コイに輸卵管が形成された100 $\mu\text{g/L}$ ⁹⁸⁾等が挙げられる。

(3) 内分泌攪乱作用に関する有害性評価についての考察

TOXLINE等で得られた昭和47年～平成12年の文献情報のうち、その他のアルキルフェノール類として4-*t*-ペンチルフェノールについての情報が得られた。魚類への内分泌攪乱作用を示すと疑われた結果の信頼性が確認された水中濃度は、成熟した雄コイで生殖腺体指数が有意に低下した32 $\mu\text{g/L}$ ⁹⁷⁾、雄コイに輸卵管が形成された100 $\mu\text{g/L}$ ⁹⁸⁾等が挙げられる。

今回の試験管内試験結果のうち、メダカのレセプターバインディングアッセイによると、 E_2 と比較したエストロジェンレセプターへの相対結合強度は4-*t*-ペンチルフェノールで1/100、4-*t*-ブチルフェノールで1/500であった。

今回のスクリーニング・試験としては実施していないが、OECDの基準物質であることから、4-*t*-ペンチルフェノールのフルライフサイクル試験が行われており、これによると雄について水中濃度224 $\mu\text{g/L}$ で性分化異常、受精率低下等がみられたが

(100 $\mu\text{g/L}$ ではみられなかった)、次世代においては1世代目ではみられなかった精巣卵が51.1 $\mu\text{g/L}$ で観察されている。また、化学構造式から、4-*t*-ペンチルフェノールの魚体中への蓄積性は、ノニルフェノールに比べて低いと予想され、試験管内試験での相対結合強度は E_2 の1/100であったことを考慮すると、4-*t*-ペンチルフェノールは魚類に対してエストロジェン様作用を有するが、その影響濃度は少なくとも数十 $\mu\text{g/L}$ 以上であり、ノニルフェノール及び4-*t*-オクチルフェノールに比べて作用は弱いと類推される。

(参考2) 国内外の規制等

(1) 国内の規制

ノニルフェノールは、生態影響の観点から「海洋汚染及び海上災害の防止に関する法律」で規制対象とされているほか「特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律（PRTR法）」の対象となっている。また、水環境に及ぼす影響について優先的に対策を図る物質として選定された「要調査項目」の対象となっている。

また、「消防法」、「船舶安全法」、「航空法」及び「港則法」において、腐食性の観点から規制対象物質に指定されている。

「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」、「労働安全衛生法」、「水質汚濁防止法」及び「大気汚染防止法」では規制対象にはなっていない。

付表 1 ノニルフェノールに関する国内の規制

法律名	規制の種類
特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律	第1種指定化学物質（PRTR制度及びMSDS制度の対象物質）
海洋汚染及び海上災害の防止に関する法律	A類物質（海洋環境の見地から有害である物質）
消防法、船舶安全法（危険物船舶運送及び貯蔵規則）、航空法	腐食性物質

(2) 諸外国の規制

欧州連合では、ノニルフェノールについて、危険な物質の分類、包装、ラベル表示に関する法律、条例及び行政規定の近似化に関する理事会指令67/548/EECに基づく規制の必要性を検討中である。英国が中心となって作成したノニルフェノールに関するリスク評価書が欧州連合で合意されたとの情報があるが、まだ公表されていない⁷⁾。

スイスでは、洗濯用品と洗濯補助物質中のオクチルフェノールエトキシレート及びノニルフェノールエトキシレートの使用を、環境有害物質に関する法令に基づいて、昭和62年に禁止している⁹⁹⁾。

デンマークでは、農業目的（肥料又はスラッジ）に使用される廃棄物に含まれるノニルフェノール及びノニルフェノールエトキシレートについて制限値を規定している。農薬中のノニルフェノールエトキシレートの廃絶計画を実施中である⁹⁹⁾。

ノルウェーでは、政府が、すべてのアルキルフェノールを遅くとも平成12年末までに段階的に廃止するとの決定を平成8年10月に採択したほか、平成12年以降、アルキルフェノール又はアルキルフェノールエトキシレートを含む殺虫剤を認可しない方針であることを明らかにしている。さらに、これらの物質を食物包装に使用することを禁止している⁹⁹⁾。

カナダでは、ノニルフェノール及びノニルフェノールエトキシレートのリスク評価報告書（案）が平成12年3月に公表されている¹⁷⁾。同報告書（案）は、これらの物質を、環境及び生物多様性の観点から、カナダ環境保護法に基づく有害物質に指定することを提案している。同報告書は、平成12年4月から5月にかけてパブリックコメントにかけられており、現在、改訂作業が進められている。

水生生物クライテリアについてみれば、米国環境保護庁がノニルフェノールの水質生物水質クライテリアの策定を検討しているものの、カナダ水生生物ガイドライン、オーストラリア水生生物クライテリアでは対象とされていない。

(3) 業界の自主的な取組

ア. 我が国における取組

我が国では、日本石鹼洗剤工業会、日本石鹼洗剤工業組合、日本界面活性剤工業会がアルキルフェノールエトキシレートの使用削減に向けた自主的な取組を進めている¹⁾。

付表 2 我が国におけるアルキルフェノールエトキシレートの使用削減に向けた自主的な取組

日本石鹼洗剤工業会	平成10年4月に、以下の取組を発表した。 ・アルキルフェノールエトキシレートを家庭用洗剤に使用しないことを平成8年9月の理事会で確認した。 発表の時点で、同工業会の会員各社は、家庭用洗剤にアルキルフェノールエトキシレートを_usingしていない。
日本石鹼洗剤工業組合	平成11年7月の理事会で、組合員会社は家庭用洗剤にアルキルフェノールエトキシレートを_usingしておらず、今後使用しないことを確認した。
日本界面活性剤工業会	平成11年3月の理事会で以下の取組を決定した。 ・需要家の用途を確認し、家庭用洗剤にアルキルフェノールエトキシレートを_usingしていることが判明した場合は、代替品を使用するよう説得する。 ・業務用及び工業用洗剤などについては、直接環境に排出されやすいため、ポリオキシエチレンアルキルエーテルなどに代替を図る。 ・その他の分野でも代替が可能な場合は、代替を推進する。

イ. 欧州の取組

欧州では、工業界が、ノニルフェノール及びノニルフェノールエトキシレートの使用の削減に自主的に取り組んでいる。欧州諸国の取組状況を付表 3 に示す⁹⁹⁾。

付表 3 欧州におけるノニルフェノール及びノニルフェノールエトキシレートの使用削減に向けた自主的な取組

OSPAR COM (オスパーコム)	平成4年に下記を勧告： 目標1：平成7年までに家庭内のクリーニング用途のノニルフェノールエトキシレートの使用を段階的に廃止。 目標2：平成12年までに工業用のクリーニング用品としてのノニルフェノールエトキシレートの使用を段階的に廃止。
デンマーク	エストロゲン作用の観点から、殺虫剤に含まれるアルキルフェノールエトキシレートは平成12年までに段階的に廃止すべきと政府が宣言。
ドイツ	洗剤中のアルキルフェノールの家庭内使用は平成7年までに廃止された。
ノルウェー	政府と洗剤業界の間で、家庭用洗剤については平成7年までに、工業用洗剤については平成12年までに廃絶するという合意がなされている。

スウェーデン	昭和48年に家庭用洗剤中のノニルフェノールエトキシレートは使用されなくなった。また、平成4年までに家庭用のクリーニング製品で使用されなくなった。
ベルギー	政府と製造業者が、ノニルフェノールエトキシレートについて、平成7年までに家庭用（注：達成確認）、平成12年までに工業用について廃止することを合意。
オランダ	平成10年以来、ノニルフェノールエトキシレートの家庭におけるクリーニング薬品としての利用はない。クリーニング用品としてのアルキルフェノールの使用は平成7年以降行われていない。
イギリス	政府とクリーニング用品製造業者の間で家庭使用製品にノニルフェノールエトキシレートを使用しないことに同意し、実質的に完全に廃止した。また、英国環境庁と英国羊毛繊維連盟との間で、平成8年末までに英国北西部の羊毛研磨剤について、アルキルフェノールを他の物質に代替するとの合意がある。

(4) 代替の状況

アルキルフェノール類のほとんどは、直鎖アルコールエトキシレート（ポリオキシエチレンアルキルエーテルなど）、脂肪酸とその誘導体、脂肪アミン又は不飽和炭化水素のような非イオン性界面活性剤に代替可能とされる。

付表4に、我が国におけるアルキルフェノール類の代替の状況（一部推定）について示す^{100,101}。

付表 4 我が国におけるアルキルフェノール類の代替の状況（一部推定）

ゴム、プラスチック	ポリオキシエチレンアルキルエーテル、アルキルジフェニルエーテルジスルホン酸ナトリウムなど
繊維	ポリオキシエチレンアルキルエーテル、 α -オレフィンスルホン酸塩、植物性石鹼など
機械・金属・情報機器・輸送機器	ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロックポリマー、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンアルキルエーテルなど
染料・顔料・塗料・インク	ポリオキシエチレンアルキルエーテル
農薬・防疫・肥料・飼料	ジオクチルスルホコハク酸ナトリウム
土木・建築・窯業	N-アルキルトリメチレンジアミン
医薬・香料	モノステアリン酸グリセリン、ソルビタン脂肪酸エステルポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル
皮革	ポリオキシエチレンアルキルエーテル
(参考) クリーニング、紙・パルプ、石油・鉱業・タール・燃料	使用を継続

参考文献

- 1)環境庁(1998)外因性内分泌化学物質問題への環境庁の対応方針について－環境ホルモン戦略計画 SPEED'98－.
- 2)Soto,A.M.,Justicia,H.,Wray,J.W. and Sonnenschein,C.(1991)*p*-Nonyl-phenol: An estrogenic xenobiotic released from "modified" polystyrene. *Environmental Health Perspective*,92,167-173.
- 3)Sumpter,J.P. and Jobling,S.(1995)Vitellogenesis as a biomarker of estrogenic contamination in the aquatic environment. *Environmental Health Perspective*,103, 173-178.
- 4)日本水環境学会編集(2000)非イオン界面活性剤と水環境 用途,計測技術,生態影響、技報堂出版
- 5)Bhatt,B.D.,Prasad,J.V.,Kalpana,G. and Ali,S.(1992)Separation and characterization of isomers of *p*-nonylphenols by capillary GC/GC-MS/GC-FTIR techniques. *Journal of Chromatographic Science*,30,203-210.
- 6)Wheeler,T.F.,Heim,J.R.,LaTorre,M.R. and Janes,A.B.(1997)Mass spectral characterization of *p*-nonylphenol isomers using high-resolution capillary GC-MS. *Journal of Chromatographic Science*,35,19-30
- 7)European Union (2001)European Union Risk Assessment Report. 4-Nonylphenol (branched) and Nonylphenol.
- 8) Talmage,S.S.(1994)Environmental and human safety of major surfactants. Alcohol ethoxylates and alkylphenol ethoxylates. The Soap and Detergent Association.
- 9)Kutzer,T.(2001)E-mail from CAS Helpdesk,help@cas.org
- 10)ChemFinder.com Search Result Page(2001)4-nonylphenol(branched)[84852-15-3], http://chemfinder.camsoft.com/result.asp?mol_rel_id=84852-15-3
- 11)日本界面活性剤工業会(1999)OECD 専門家会議(Expert Meeting on short-chained chlorinated paraffins and nonylphenol ethoxylates)資料
- 12)東レリサーチセンター調査研究部門編集(1998)内分泌攪乱化学物質 (環境ホルモン) の現状と課題、東レリサーチセンター
- 13)経済産業省(1998)鉍工業動態統計 平成 10 年
- 14)経済産業省(1999)鉍工業動態統計 平成 11 年
- 15)化学工業日報社(2001)13901 の化学商品
- 16)日本界面活性剤工業会(2001)平成 12 年界面活性剤等統計年報
- 17)Environment Canada Health Canada(2000)Canadian Environmental Protection Act, Priority Substances List, Assessment Report, Nonylphenol and its ethoxylates. Draft for Public Comments.

- 18)環境省(2001)平成 12 年度内分泌攪乱化学物質における環境負荷量調査報告書
- 19)Tsuda,T.,Takino,A.,Kojima,M.,Harada,H.,Muraki,K. and Tsuji,M.(2000)
4-nonylphenols and 4-*tert*-octylphenol in water and fish from rivers flowing into Lake Biwa. *Chemosphere*,41,757-762.
- 20) Tsuda,T.,Takino,A.,Muraki,K.,Harada,H. and Kojima,M.(2001)Evaluation of 4-nonylphenols and 4-*tert*-octylphenol contamination of fish in rivers by laboratory accumulation and excretion experiments. *Wat.,Res.*,35,7,1786-1792.
- 21)Ahel,M.,McEvoy,J. and Giger,W.(1993)Bioaccumulation of the lipophilic metabolites of nonionic surfactants in freshwater organisms. *Environmental Pollution*,79,243-248.
- 22)Ahel,M.(1987)Biogeochemical behaviour of alkylphenol polyethoxylates in the aquatic environment. University of Zagreb.
- 23)Sundaram,K.M.S. and Szeto,S.(1981)The dissipation on nonylphenol in stream and pond water under simulated field conditions. *J. Environ,Sci.Health*,B16,6,767-776
- 24)Lewis,S.K. and Lech,J.J.(1996)Uptake, disposition, and persistence of nonylphenol from water in rainbow trout(*Oncorhynchus mykiss*). *Xenobiotica*,26,8,813-819.
- 25)Blackburn,M.A.,Kirby,S.J. and Waldock,M.J.(1999)Concentrations of alkylphenol polyethoxylates entering UK estuaries. *Marine Pollution Bulletin*,38,2,109-118.
- 26)財団法人 化学品検査協会(1992)化審法の既存化学物質安全性点検データ集
- 27)Brooke,L.T.(1993)Accumulation and lethality for two freshwater fishes(fathead minnow and bluegill) to nonylphenol. USEPA Draft Report, EPA Contact No.68-CI-0034
- 28) Ward,T.J. and Boeri,R.L.(1991)Bioconcentration test with nonylphenol and the fathead minnow(*Pimephales promelas*). Report prepared for Chemical Manufactures Association by Resource Analysts. Study No.8975-CMA.
- 29)Knaak,J.B.,Eldridge,J.M. and Sullivan,L.J.(1966)Excretion of certain polyethylene glycol adducts of nonylphenol by the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 9,331-340.
- 30)財団法人 化学品検査協会編集(1997)OECD 化学品テストガイドライン、データ解釈指針
- 31) Brooke,L.T.(1993)Acute and chronic toxicity of nonylphenol to ten species of aquatic organisms. USEPA Draft Report, EPA Contact No.68-CI-0034
- 32)Holcombe,G.W.,Phipps,G.L.,Knuth,M.L. and Felhaber,T.(1984)The acute toxicity of selected substituted phenols, benzenes and benzoic acid esters to fathead minnows *Pimephales promelas*. *Toxicol.Chem.*,18,3,363-381

- 33) Ward, T.J. and Boeri, R.L. (1990) Acute flow toxicity of nonylphenol to the sheepshead minnow (*Cyprinodon variegatus*). Report prepared for Chemical Manufactures Association by Resource Analysts. Study No. 8972-CMA.
- 34) Ward, T.J. and Boeri, R.L. (1990) Acute flow through toxicity of nonylphenol to the mysid (*Mysidopsis capricornutum*). Report prepared for Chemical Manufactures Association by Resource Analysts. Study No. 8974-CMA.
- 35) England, D.E. (1995) Chronic toxicity of nonylphenol to *Ceriodaphnia dubia*. Report prepared for Chemical Manufactures Association by ABC Laboratories Inc. Report #41756.
- 36) England, D.E. and Bussard, J.B. (1994) Toxicity of nonylphenol to the amphipod *Hyalella azteca* (Saussure). Report prepared for Chemical Manufactures Association by ABC Laboratories Inc. Report #41569.
- 37) Huls (1992) Determination of the effects of nonylphenol on the swimming behaviour of *Daphnia magna* (in accordance with EC 84/449) Final report DK-522.
- 38) Comber, M.H.I., Williams, T.D. and Stewart, K.M. (1993) The effects of nonylphenol on *Daphnia magna*. *Water Research*, 27, 2, 273-276.
- 39) Kopf, W. (1997) Wirkung endokriner Stoffe in Biotests mit Wasserorganismen. In Stoffe mit endokriner Wirkung in Wasser. Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, Institut für Wasserforschung München (ed) Oldenbourg.
- 40) Ward, T.J. and Boeri, R.L. (1990) Acute static toxicity of nonylphenol to the marine alga (*Skeletonema costatum*). Report prepared for Chemical Manufactures Association by Resource Analysts. Study No. 8970-CMA.
- 41) Ward, T.J. and Boeri, R.L. (1990) Acute static toxicity of nonylphenol to the freshwater alga (*Selenastrum capricornutum*). Report prepared for Chemical Manufactures Association by Resource Analysts. Study No. 8969-CMA.
- 42) Huls (1996) Determination of the effects of nonylphenol on the growth of *Scenedesmus subspicatus* 86.81. SAG (algal growth inhibition test according to UBA Feb 1984), Report AW-185.
- 43) Berol Kemi AB (1982) Nonylphenol acute oral toxicity in rats. Inveresk Research International project no. 230086, report no. 2379.
- 44) Huls AG (1982) Nonylphenol: An acute toxicity study (LD₅₀) in the rat. Hazleton Laboratories Deutschland project no. 222/8.
- 45) ICI Central Toxicology Laboratory (1984) Nonylphenol (ex-oil works and Rohm and Haas): Comparison of acute oral toxicities. CTL report no. CTL/L/708
- 46) Gaworski, C.L., Kimbead, E.R. and Doyle, R.L. (1979) Acute toxicity of a number of

- chemicals of interest to the Air Force. University of California Extension, Wright Patterson Air Force Base, report ISS AMRL-TR-79-11.
- 47) Smyth, H.F., Carpenter, C.P., Weil, C.S., Pozzani, U., Striegel, J.A. and Nycum, J.S. (1969) Range-finding toxicity data: List VII. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 30, 470-476.
- 48) Ward, T.J. and Boeri, R.L. (1991) Early life stage toxicity of nonylphenol to the fathead minnow (*Pimephales promelas*). Report prepared for Chemical Manufacturers Association by Resource Analysts. Study No. 8979-CMA.
- 49) Ward, T.J. and Boeri, R.L. (1991) Chronic toxicity of nonylphenol to the mysid (*Mysidopsis bahia*). Report prepared for Chemical Manufacturers Association by Resource Analysts. Study No. 8977-CMA.
- 50) England, D.E. and Bussard, J.B. (1993) Toxicity of nonylphenol to the midge *Chironomus tentans*. Report prepared for Chemical Manufacturers Association by ABC Laboratories Inc. Report #40597.
- 51) Huls AG (1989) Nonylphenol: 28 day oral (dietary) sub-acute toxicity study in the rat. Hazleton UK report no. 5917-671/1.
- 52) Cunny, H.C., Mayes, B.A., Rosica, K.A., Trutter, J.A. and Van Miller, J.P. (1997) Subchronic toxicity (90-day) study with *para*-nonylphenol in rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 26, 172-178.
- 53) National Toxicology Program (1997) Final Report on the reproductive toxicity of nonylphenol (CAS #84852-15-3) administered by gavage to Sprague-Dawley rats. *R.O.W. Sciences* 8989-30.
- 54) Richards, J.F. (1989) Nonylphenol: 28 day oral (dietary) sub-acute toxicity study in the rat. Hazleton UK, England, for Huls, AG, West Germany (Report No. 5917-671/1).
- 55) Shioda, T. and Wakabayashi, M. (2000) Evaluation of reproductivity of medaka (*Oryzias latipes*) exposed to chemicals using a 2-week reproduction test. *Water Research and Technology*, 42, 5-6, 53-60.
- 56) Huls (1992) Determination of the effects of nonylphenol on the reproduction of *Daphnia magna* (in accordance with OECD Guideline 202 Part II), Final Report DL-143.
- 57) Huls (1992) Determination of the effects of nonylphenol on the reproduction of *Daphnia magna* (in accordance with OECD Guideline 202 Part II), Final Report DL-143a.

- 58) Odum, J., Pyrah, I.T.G., Foster, J.R., Van Miller, J.P., Joiner, R.L. and Ashby, J. (1999) Comparative Activities of *p*-nonylphenol and diethylstilbestrol in noble rat mammary gland and uterotrophic assays. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 29, 184-195.
- 59) Odum, J., Pyrah, I.T.G., Soames, A.R., Foster, J.R., Van Miller, J.P., Joiner, R.L. and Ashby, J. (1999) Effects of *p*-nonylphenol (NP) and diethylstilbestrol (DES) on the Alderley Park (Alpk) rat. Comparison of mammary gland and uterus sensitivity following oral gavage or implanted mini-pumps. *Journal of Applied Toxicology*, 19, 367-378.
- 60) de Jager, C., Bornman, M.S. and der Horst, G. (1999) 1. The effect of *p*-nonylphenol, an environmental toxicant with oestrogenic properties, on fertility potential in adult male rats. *Andrologia*, 31, 2, 99-106.
- 61) Odum, J., Lefevre, P.A., Tittenson, S., Paton, D., Routledge, E.J., Beresford, N.A., Sumpter, J.P. and Ashby, J. (1997) The rodent uterotrophic assay: Critical protocol features, study with nonylphenols, and comparison with a yeast estrogenicity assay. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 25, 176-188.
- 62) Coldham, N.G., Dave, M., Sivapathasundaram, S., McDonnell, D.P., Connor, C., and Sauer, M.J. (1997) Evaluation of a recombinant yeast cell estrogen screening assay. *Environmental Health Perspective*, 105, 7, 734-742.
- 63) Shelby, M.D., Newbold, R.R., Tully, D.B., Chae, K. and Davis, V.L. (1996) Assessing environmental chemicals for estrogen. Using a combination of *in vitro* and *in vivo* assays. *Environmental Health Perspective*, 104, 12, 1296-1300.
- 64) Lee, P.C. (1998) Disruption of male reproductive tract development by administration of the xenoestrogen, nonylphenol, to male newborn rats. *Endocrine*, 9, 105-111.
- 65) Milligan, S.R., Balasubramanian, A.V. and Kalitam, K.C. (1998) Relative potency of xenobiotic estrogens in an acute *in vivo* mammalian assay. *Environmental Health Perspective*, 106, 1, 23-26.
- 66) Nagao, T., Wada, K., Marumo, H., Yoshimura, S. and Ono, H. (2001) Reproductive effects of nonylphenol in rats after gavage administration: A two-generation study. *Reproductive Toxicology*, 15
- 67) Huls AG (1984) Mutagenitätsuntersuchung von nonylphenol mit hilfe des *Salmonella typhimurium*/Mikrosomen-Mutagenitäts-Test nach Ames. Huls report no.84/19, project X 41.
- 68) Shimizu, H., Suzuki, Y., Takemura, N., Goto, S. and Matsushita, H. (1985) The results of microbial mutation test for forty-three industrial chemicals. *Jpn.J.Ind.Health*, 27, 400-419.

- 69) Loomis, A.K. and Thomas, P. (1999) Binding characteristics of estrogen receptor (ER) in Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*) testis: Different affinity for estrogens and xenobiotics from that of hepatic ER¹. *Biology of Reproduction*, 61, 51-60.
- 70) White, R., Jobling, S., Hoare, S.A., Sumpter, J.P. and Parker, M.G. (1994) Environmentally persistent alkylphenolic compounds are estrogenic. *Endocrinology*, 135, 1, 175-182.
- 71) Milligan, S.R., Khan, O. and Nash, M. (1998) Competitive binding of xenobiotic oestrogens to rat alpha-fetoprotein and to sex steroid binding proteins in human and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) plasma. *General and Comparative Endocrinology*, 112, 89-95.
- 72) Flouriot, G., Pakdel, F., Ducouret, B. and Valotaire, Y. (1995) Influence of xenobiotics on rainbow trout liver estrogen receptor and vitellogenin gene expression. *Journal of Molecular Endocrinology*, 15, 143-151.
- 73) Islinger, M., Pawlowski, S., Hollert, H., Volkl, A. and Braunbeck, T. (1999) Measurement of vitellogenin-mRNA expression in primary cultures of rainbow trout hepatocytes in a non-radioactive dot blot/RNase protein-assay. *The Science of the Total Environment*, 233, 109-122.
- 74) Celius, T., Haugen, T.B., Grotmol, T. and Walther, B.T. (1999) A sensitive zonal genetic assay for rapid *in vitro* assessment for estrogenic potency of xenobiotics and mycotoxins. *Environmental Health Perspective*, 107, 1, 63-68.
- 75) Jobling, S. and Sumpter, J.P. (1993) Detergent components in sewage effluent are weakly oestrogenic to fish: An *in vitro* study using rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes. *Aquatic Toxicology*, 27, 361-372. (206)
- 76) Arukwe, A., Forlin, L. and Goksoyr, A. (1997) Xenobiotics and steroid biotransformation enzymes in Atlantic salmon (*Salmo salar*) liver treated with an estrogenic compound, 4-nonylphenol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16, 12, 2576-2583.
- 77) Miles-Richardson, S.R., Pierens, S.L., Nichola, K.M., Kramer, V.J., Snyder, E.M., Snyder, S.A., Render, J.A., Fitzgerald, S.D. and Giesy, J.P. (1999) Effects of waterborne exposure to 4-nonylphenol and nonylphenol ethoxylate on secondary sex characteristics and gonads of fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Research Section A* 80, S122-S137.
- 78) Ren, L., Lewis, S.K. and Lech, J.J. (1996) Effects of estrogen and nonylphenol on the post-transcriptional regulation of vitellogenin gene expression. *Chemico-Biological Interactions*, 100, 67-76.

- 79) Jobling, S., Sheahan, D., Osborne, J.A., Matthiessen, P. and Sumpter, J. (1996) Inhibition of testicular growth in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to estrogenic alkylphenolic chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15, 2, 194-202.
- 80) Gray, M.A. and Metcalfe, C.D. (1997) Induction of testis-ova in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to *p*-nonylphenol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16, 5, 1082-1086.
- 81) Pedersen, S.N., Christiansen, L.B., Pedersen, K.L., Korsgaard, B. and Bjerregaard, P. (1999) *In vivo* estrogenic activity of branched and linear alkylphenols in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *The Science of the Total Environment*, 233, 89-96.
- 82) Korsgaard, B. and Pedersen, K.L. (1998) Vitellogenin in *Zoarces viviparus*: Purification, quantification by ELISA and induction by estradiol-17 β and 4-nonylphenol. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 120, 159-166.
- 83) Fent, K., Ackermann, G.E. and Schwaiger, J. (1999) Analysis of vitellogenin mRNA by quantitative reverse transcriptional polymerase chain reaction (RT-PCR) in juvenile fish exposed for twelve months to nonylphenol. In *Proceedings of the 10th International Symposium on Pollutant Responses in marine Organisms (PRIMO 10)*, Williamsburg, Virginia.
- 84) Ashfield, L.A., Pottinger, T.G. and Sumpter, J.P. (1998) Exposure of female juvenile rainbow trout to alkylphenolic compounds results in modifications to growth and ovosomatic index. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17, 3, 679-686.
- 85) Christensen *et al.* (1995) As reported in "Chemicals with estrogen-like effects". Tema Nord 1996:580, Nordic Council of Ministers, Copenhagen.
- 86) Nimrod, A.C. and Benson, W.H. (1996) Estrogenic responses to xenobiotics in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Marine Environmental Research*, 42, 155-160.
- 87) 中村将, 井口泰泉 (1998) 多摩川にみる魚類の異変、特集 ■ 環境ホルモンの現在、*科学*, 68, 7, 515-517.
- 88) Kahl, M.D., Makynen, E.A., Kosian, P.A. and Ankley, G.T. (1997) Toxicity of 4-nonylphenol in a life-cycle test with the midge *Chironomus tentans*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 38, 155-160.
- 89) Nishihara, T., Nishikawa, J., Kanayama, T., Dakeyama, F., Saito, K., Imagawa, M., Takatori, S., Kitagawa, Y., Hori, S. and Utsumi, H. (2000) Estrogenic activities of 517 chemicals by yeast two-hybrid assay. *Journal of Health Science*, 46, 4, 282-298.
- 90) Blair, R.M., Fang, H., Branham, W.S., Hass, B.S., Dial, S.L., Moland, C.L., Tong, W., Shi, L., Perkins, R. and Sheehan, D.M. (2000) The estrogen receptor relative binding affinities of 188 natural and xenochemicals: Structural diversity of ligands. *Toxicological Sciences*, 54, 138-153.

- 91) Tabira, Y., Nakai, M., Asai, D., Yakabe, Y., Tahara, Y., Shinmyozu, T., Noguchi, M., Takatsuki, M. and Shimohigashi, Y. (1999) Structural requirements of *para*-alkylphenols to bind to estrogen receptor. *Eur. J. Biochem.*, 262, 240-245.
- 92) Legler, J., van der Brink, C. E., Brouwer, A., Murk, A. J., van der Saag, P. T., Vethaak, A. D. and van der Burg, B. (1999) Development of a stably transfected estrogen receptor-mediated luciferase reporter gene assay in the human T47D breast cancer cell line. *Toxicological Sciences*, 48, 55-66.
- 93) Balaguer, P., Francois, F., Comunale, F., Fenet, H., Boussioux, A.-M., Pons, M., Nicolas, J.-C. and Casellas, C. (1999) Reporter cell lines to study the estrogenic effects of xenoestrogens. *The Science of the Total Environment*, 233, 47-56.
- 94) Jorgensen, M., Vendelbo, B., Skakkebaek, N. E. and Leffers, H. (2000) Assaying estrogenicity by quantitating the expression levels of endogenous estrogen-regulated genes. *Environmental Health Perspectives*, 108, 5, 403-412.
- 95) Gronen, S., Denslow, N., Manning, S., Barnes, S., Barnes, D. and Brouwer, M. (1999) Serum vitellogenin levels and reproductive impairment of male Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 4-*tert*-octylphenol. *Environmental Health Perspective*, 107, 385-390.
- 96) Bayley, M., Nielsen, J. R. and Baatrup, E. (1999) Guppy sexual behavior as an effect biomarker of estrogen mimics. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 43, 68-73.
- 97) Gimeno, S., Komen, H., Jobling, S., Sumpter, J. and Browmer, T. (1998) Demasculinisation of sexually mature male common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to 4-*tert*-pentylphenol during spermatogenesis. *Aquatic Toxicology*, 43, 93-109.
- 98) Gimeno, S., Gerritsen, A., Bowmer, T. and Komen, H. (1996) Feminization of male carp. *Nature*, 384, 221-222.
- 99) OSPAR Commission (1999) Assessment of Implementation of PARCOM Recommendation 92/8 on Nonylphenol-Ethylates (NPEs).
http://www.ospar.org/asp/ospar/dra_spider.asp
- 100) 日本界面活性剤工業会 (1997) 界面活性剤等一覧表 1998 年版
- 101) 日本界面活性剤工業会 (2000) 界面活性剤等一覧表 2001 年版