

化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応 —EXTEND2022— (案)

これまでの取組み及び国際的な主な動向

# 化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応

— EXTEND 2022 —

(案)

令和4年〇月

環 境 省

注：本プログラムのサブタイトルは、EXTEND 2022 とした。従来の EXTEND2010 及び EXTEND2016 の基本的枠組みを引き継ぐことから類似の名称を採用しつつ、行政的な課題により積極的に取り組むようプログラムを発展させることを意図している。

EXTEND: Extended Tasks on Endocrine Disruption

# 目次

はじめに	1
<b>I これまでの取組み</b>	<b>2</b>
1. 評価の枠組みの確立	3
1.1 評価の枠組みの概要	3
1.2 試験対象物質選定のための母集団の設定	4
1.3 既存知見の信頼性評価による対象物質の絞り込み	6
1.4 2段階の試験・評価の枠組みの構築	6
2. 実施状況	10
2.1 試験法の開発	10
2.2 信頼性評価	14
2.3 試験の実施と作用・影響評価	14
2.4 環境中濃度の実態把握及びばく露の評価	20
2.5 化学物質の内分泌かく乱作用に関する知見収集	21
2.6 リスク評価及びリスク管理	21
2.7 情報提供等の推進	22
2.8 国際協力の推進	22
2.9 推進体制	24
3. まとめ	24
<b>II 国際的な主な動向</b>	<b>26</b>
1. 世界保健機関 (WHO)等による科学的レビュー	26
2. 経済協力開発機構 (OECD)における試験評価手法の開発	27
3. 国際的な化学物質管理のための戦略的アプローチ(SAICM)による対応	28
4. 欧州における対応状況	28
5. 米国	32
6. アジア	34
<b>III 今後の方向性</b>	<b>35</b>
1. 基本的な考え方	35
2. 具体的方針	36
2.1 作用・影響評価及び試験法の開発について	36

2.2 環境中濃度の実態把握及びばく露の評価について .....	39
2.3 リスク評価及びリスク管理について.....	40
2.4 化学物質の内分泌かく乱作用に関する知見収集について.....	41
2.5 国際協力及び情報発信の推進について.....	41
3. 推進体制 .....	43
おわりに .....	44
付 属 資 料 .....	45

はじめに

## I これまでの取組み

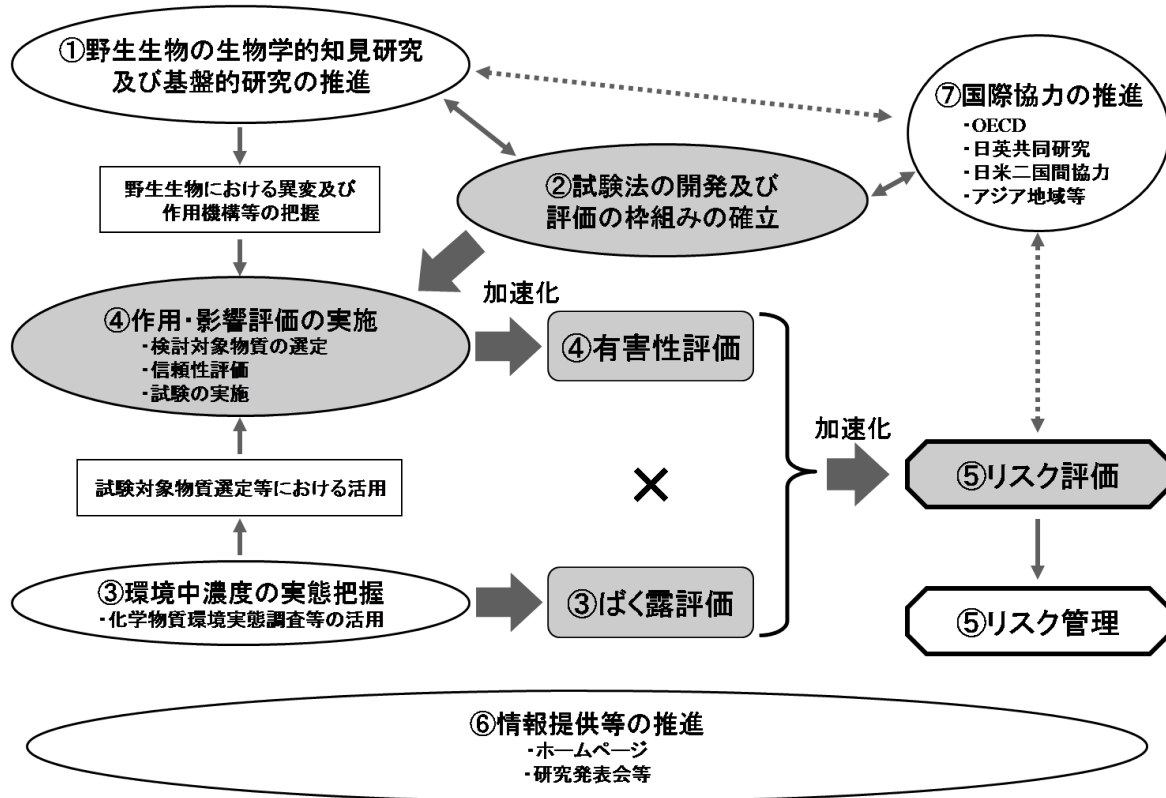
環境省では、平成 22 年 7 月に「化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応 – EXTEND2010–」を策定した。

ExTEND2005 の枠組みのうち踏襲すべきものは引き続き採用しつつ、所要の改善を加えた上で、向こう 5 年間程度を見据えた新たなプログラムとして構築したもので、化学物質の内分泌かく乱作用に伴う環境リスクを適切に評価し、必要に応じ管理していくことを目標として、評価手法の確立と評価の実施を加速化することをねらいとした。

EXTEND2010 は以下の構成で進めた（図 1）。

- ① 野生生物の生物学的知見研究及び基盤的研究の推進
- ② 試験法の開発及び評価の枠組みの確立
- ③ 環境中濃度の実態把握及びばく露の評価
- ④ 作用・影響評価の実施
- ⑤ リスク評価及びリスク管理
- ⑥ 情報提供等の推進
- ⑦ 国際協力の推進

図 1 EXTEND2010 における取組みの概念図

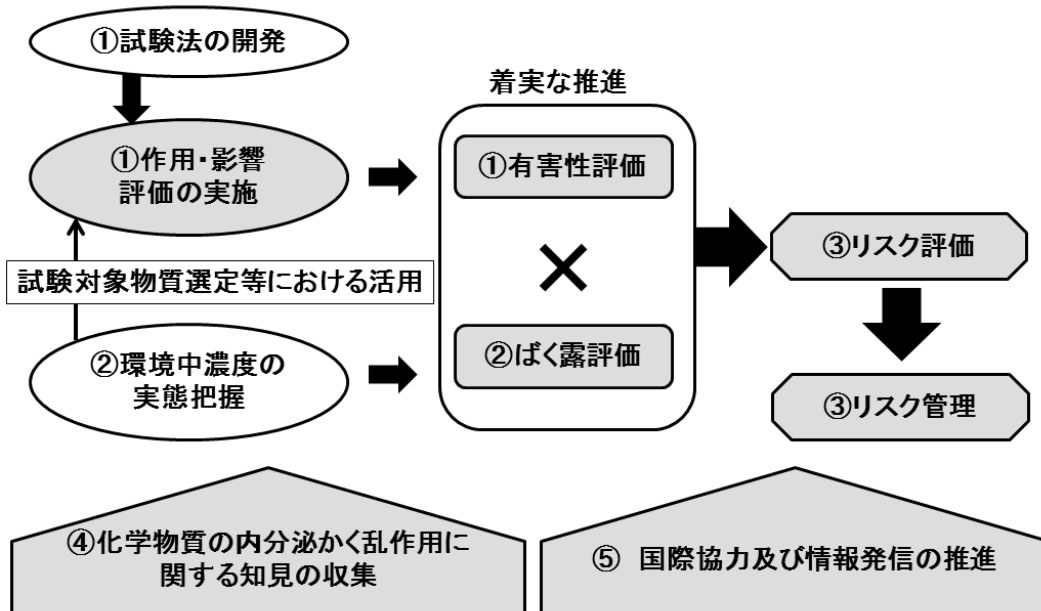


環境省では、平成 28 年 6 月に「化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応 – EXTEND2016–」を策定した。

EXTEND2010 における取組みの成果と課題を踏まえ、EXTEND2016 は以下の構成で進めた。(図 2)

- ① 作用・影響の評価及び試験法の開発
- ② 環境中濃度の実態把握及びばく露の評価
- ③ リスク評価及びリスク管理
- ④ 化学物質の内分泌かく乱作用に関する知見収集
- ⑤ 国際協力及び情報発信の推進

図 2 EXTEND2016 における取組みの概念図



## 1. 評価の枠組みの確立

EXTEND2010 では、環境行政の中で化学物質の内分泌かく乱作用に伴う環境リスクを適切に評価し、必要に応じて管理していくことを目標として、化学物質の内分泌かく乱作用の評価手法の確立と評価の実施を加速化することを基本理念としており、ExTEND2005 で進めてきた試験法開発等の成果を引き継ぎ、生態影響に対する取組みに注力した。

EXTEND2016 においても、上記の評価の枠組みを継承した。

### 1.1 評価の枠組みの概要

OECD テストガイドラインプログラムなどで試験・評価手法の確立が進んでいるものとして、試験・評価の対象生物種は水生生物（魚類、両生類及び無脊椎動物）とし、内分泌

かく乱作用に伴う以下の影響を評価対象とした。

- ・ 生殖に及ぼす影響：エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用及び抗アンドロゲン様作用
- ・ 発達（変態等）に及ぼす影響：甲状腺ホルモン様作用及び抗甲状腺ホルモン様作用
- ・ 成長に及ぼす影響：幼若ホルモン様作用及び脱皮ホルモン様作用

内分泌かく乱化学物質の環境リスクの評価に向けて、内分泌系に対する作用の有無及び有害な影響の有無や程度の両面についての確認を行うこととし、これらの確認に必要な生態影響試験を含む２段階の試験・評価の体系を構築した。

試験及び評価の対象物質の選定に当たっては、環境リスク評価を行う観点から、化学物質のばく露と作用の双方に着目することとした。我が国の環境中で存在が確認された物質等を試験・評価のための母集団とし、既存知見をもとに内分泌かく乱作用との関連性が考えられる物質を試験及び評価の対象とした。

試験に使用する動物数を減らしつつ、限られた資源の下で効率的に評価を進めるため、既存知見を踏まえて試験項目を絞り込むとともに、試験管内試験（*in vitro* 試験）を先に実施し、その結果等を踏まえて生物試験を優先的に実施すべき物質を抽出することとした。

EXTEND2016 における内分泌かく乱作用に関する試験及び評価の基本的な流れを図 3 に示した。

## 1.2 評価対象物質選定のための母集団の設定

EXTEND2010 では、ExTEND2005 の考え方を引き継ぎ、我が国の環境中において存在が確認された物質を、試験・評価の実施のための母集団とすることとした。

当初より対象としていた化学物質環境実態調査に加え、平成 23 年度より公共用水域水質測定及び要調査項目存在状況調査、平成 25 年度より農薬残留対策総合調査等の環境調査により検出された物質を母集団に加えた。更に、平成 27 年度からは化学物質排出把握管理促進法（化管法）の第一種指定化学物質の PRTR データも参照した。このほか、過去に環境省において化学物質の内分泌かく乱作用に関する動物実験を実施した物質も母集団に加えた。

EXTEND2016 においては、環境リスクが懸念される物質を効果的に抽出することを目的とし、国内の環境調査で検出された物質に加え、PRTR 対象物質（群）や諸外国の公的機関で検討されている物質等を母集団とした。有害性に着目して既存知見を整理し、内分泌かく乱作用との関連性が認められる物質を抽出した。

以下の（１）～（７）に該当する物質を、化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告の信頼性評価の対象物質を選定するための母集団とした。

- （１）化学物質環境実態調査（平成 8 年度以降の調査結果を対象とする）において検出された物質（群）



- (2) 公共用水域水質測定「環境基準項目」(平成 12 年度以降を対象とする) 及び「要監視項目」(平成 6 年度以降を対象とする) として検出された項目
- (3) 要調査項目等存在状況調査 (平成 11 年度以降の調査結果を対象とする) において検出された物質 (群)
- (4) 農薬残留対策総合調査 (平成 15 年度以降の調査結果を対象とする) において検出された物質 (群)
- (5) PRTR 対象物質 (群)
- (6) 米国環境保護庁 (US EPA) の EDSP (Endocrine Disruptor Screening Program)、欧州化学品庁 (European Chemicals Agency: ECHA) の内分泌かく乱特性 (Endocrine disrupting properties) を根拠とする高懸念物質 (Substances of Very High Concern: SVHC) 等での検討対象であったが EXTEND2010 及び EXTEND2016 では検討対象となっていなかった物質 (群)
- (7) 専門家から提案された物質 (群)  
ただし、①～③の物質を除く。
  - ①現時点で使用実態が認められない物質
  - ②対象物質が特定できない物質
  - ③EXTEND2005、EXTEND2010、EXTEND2016 において令和元年度までに信頼性評価の対象とした物質

物質選定の考え方は EXTEND2010 を踏襲したが、EXTEND2016 では次の点に留意した。

- ・米国との協力事業の中で、米国 EDSP の下で検討が進められている動物試験によらない試験評価手法の検討状況について情報収集した。これまでのところ、EXTEND2016 の物質選定において具体的に活用すべきとの判断には至らなかった。
- ・米国 EDSP の下で試験評価が進められている物質についても、EXTEND2016 における評価対象に加えることとした。これにより、ジクロベニル、シペルメトリン、フルトラニル等が評価対象に加わった。
- ・欧州 REACH の下で内分泌かく乱特性を根拠に高懸念物質(SVHC)とされた 16 物質のうち 3 物質 (4-*t*-ブチルフェノール、3-ベンジリデン=カンファー、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)) が評価対象に加わった。
- ・専門家から注視すべきことが提案された 4 物質 (メフェナム酸、アミオダロン、メチルセルロース、4-メチルベンジリデン=カンファー) が評価対象に加わった。

化学物質環境実態調査の検出物質を中心に据えたため、主として工業化学物質が選出された。

### 1.3 既存知見の信頼性評価による対象物質の絞り込み

EXTEND2010 及び EXTEND2016 では、キーワードを設定して文献検索を行い、当該物質を対象とした動物試験、試験管内試験及び疫学調査に関する文献、報告等を入手した。

得られた知見の信頼性評価においては、内分泌かく乱化学物質を「内分泌系に影響を及ぼすことにより、生体に障害や有害な影響を引き起こす外因性の化学物質」とする見解を前提とした。

「報告結果 (Results) を検証するために必要である『材料と方法 (Materials and Methods)』に関する記載の有無及びその評価」及び「内分泌かく乱作用との関連の有無」に基づき、内分泌かく乱作用に関する試験対象物質として選定する根拠としての評価を行い、「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る物質」とするか否かについてとりまとめた。

EXTEND2016 では、文献検索と信頼性評価は、本プログラムを通じて確立してきた方法を踏襲した。試験実施に先立つスクリーニング段階であることを前提として、見落としを回避する視点で安全側評価を行ってきた。

### 1.4 2段階の試験・評価の枠組みの構築

#### (1) 2段階の枠組みの基本的な考え方

内分泌かく乱作用に関する作用・影響評価の実施のため、「内分泌かく乱物質の試験・評価のための OECD Conceptual Framework」及び米国の内分泌かく乱物質スクリーニングプログラム (EDSP) の双方を参考としながら、以下に示す2段階の試験・評価の枠組みを構築した。

##### ① 第1段階

- ・ 化学物質の内分泌系に対する作用の有無を確認するため、試験管内試験と、比較的簡易かつ短期間で実施可能な生物試験により、第1段階試験群を構成した。
- ・ 信頼性評価において、「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る物質」とされた物質を、試験対象の候補とした。
- ・ 既存の知見及び第1段階試験群の結果より、第1段階評価を実施することとした。

##### ② 第2段階

- ・ 内分泌かく乱作用による有害性を確認するため、長期間のばく露による生物試験により、第2段階試験群を構成した。
- ・ 第1段階評価において「内分泌系に対する作用がある」と認められた物質を、第2段階試験群を実施する候補とすることとした。

#### (2) 試験法の選定

本枠組みでは、OECD においてテストガイドライン化された試験法を優先して採用することとし、未確立の試験法については EXTEND2010 及び EXTEND2016 の下で開発を進め

た。

本枠組みの下で一貫した評価を実施するため、同一の生物種を用いて試験を実施することとし、生物試験と基本的には同じ生物種の受容体を試験管内試験で用いることとした(試験動物は、魚類(メダカ(*Oryzias latipes*))、無脊椎動物類(オオミジンコ(*Daphnia magna*))及び両生類(アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)又はニシツメガエル(ネッタイツメガエル:*Silurana tropicalis*)) )。

第1段階における試験管内試験としては、受容体結合のみならずその後の転写活性化が確認できるレポータージーン試験を採用した。

第1段階における生物試験としては、エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用等の検出のため、メダカを用いた魚類短期繁殖試験(OECD TG229)を用いることとした(メダカを用いた魚類21日間スクリーニング試験(OECD TG230)に関する既存知見が得られた場合は、参照することとする)。

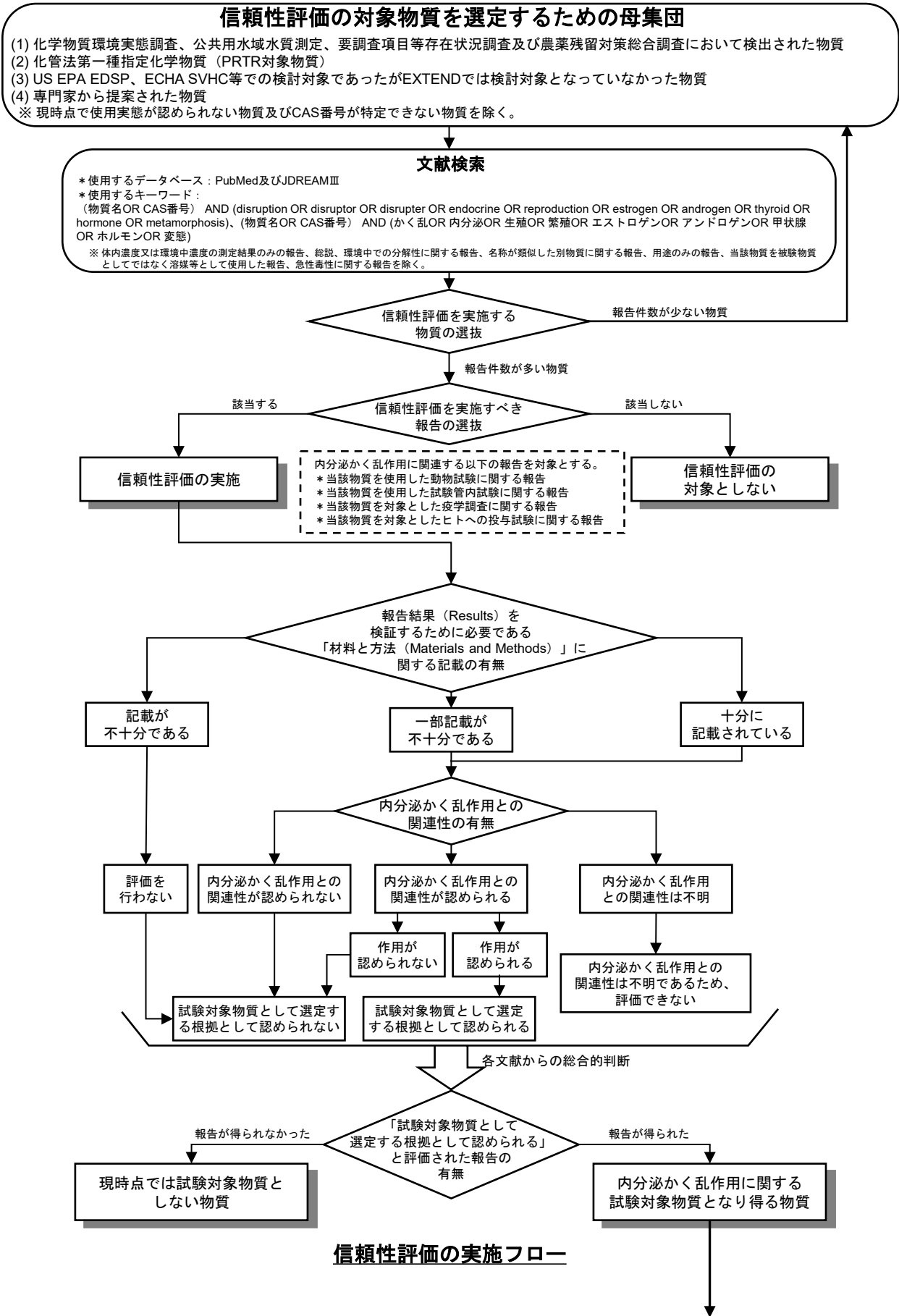
### (3) 試験及び評価の実施手順

第1段階における試験及び評価については、画一的にデータを取得して網羅的な評価を行うのではなく、既存知見を活用しつつ効率的に評価を進めるため、信頼性評価によって得られた既存知見を活用しながら、以下の手順で実施することとした。

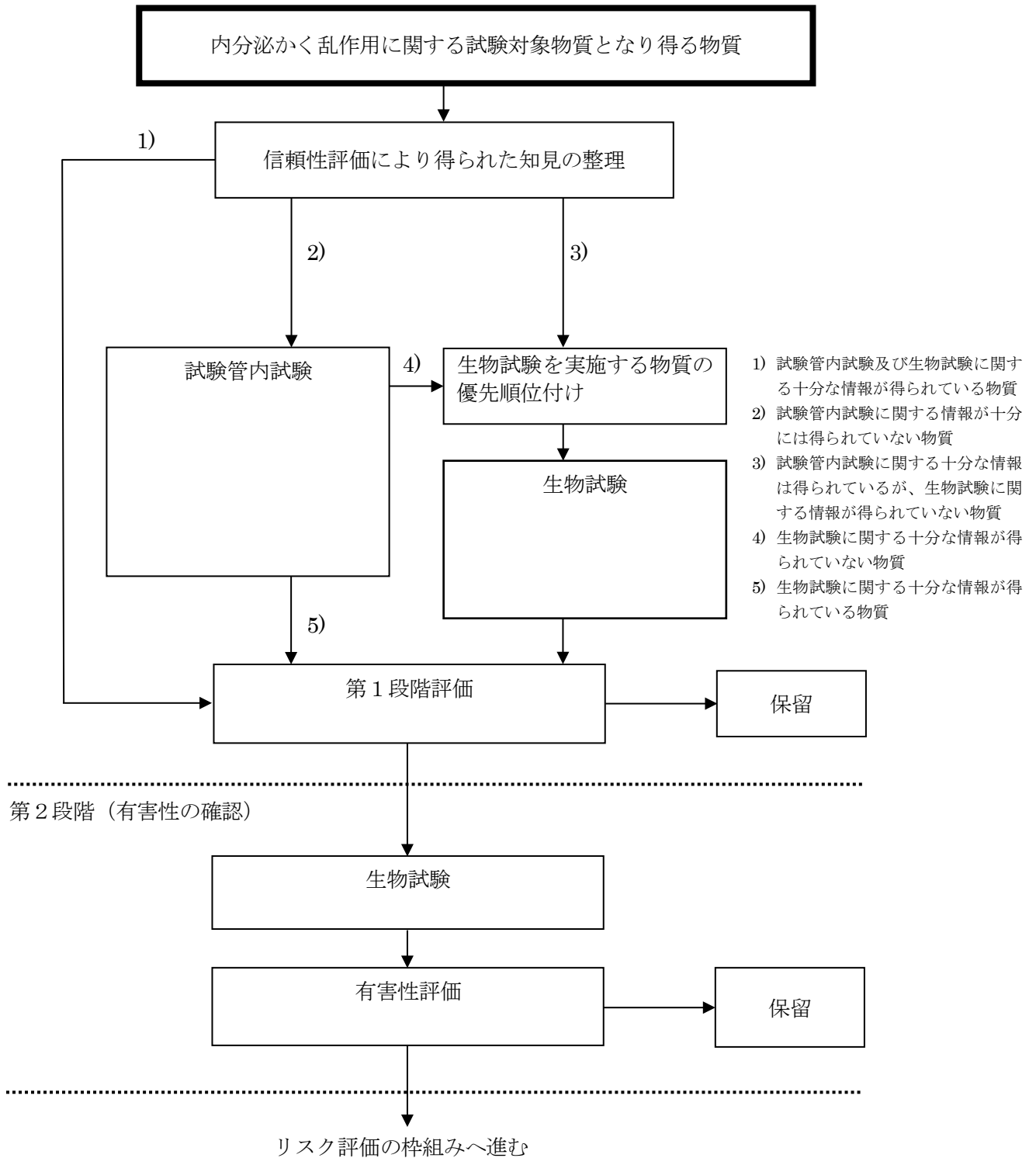
- ① 信頼性評価において確認された既存知見を以下の観点から整理し、第1段階評価を実施するに当たり、必要な情報がどの程度既に得られているかを確認する。
  - ・ 内分泌かく乱作用の可能性が疑われている内分泌系の項目は何か
  - ・ 第1段階で採用する試験管内試験に相当する情報はるか
  - ・ 第1段階で採用する生物試験に相当する情報はるか
- ② 上記の既存知見の整理結果に基づき、次のように試験を行う。
  - (i) 評価すべき内分泌系の項目を選定
  - (ii) 選定された項目について、十分な試験管内試験の情報が得られていない物質については、試験管内試験を実施
  - (iii) 選定された項目について、十分な生物試験の情報が得られていない物質については、既存の知見、試験管内試験の結果、環境中での検出状況等の情報を勘案し、優先順位が高いと考えられる物質から生物試験を実施
- ③ 必要な試験管内試験及び生物試験の情報が得られた物質について、第1段階評価を実施する。

第2段階における試験及び評価の実施手順については、活用すべき試験法の開発の状況、第1段階の試験・評価における知見の集積の状況等を踏まえて、具体的に検討することとした。

図3 EXTEND2016における内分泌かく乱作用に関する試験及び評価の基本的な流れ



第1段階（内分泌系に対する作用の有無を確認）



## 2. 実施状況

### 2.1 試験法の開発

EXTEND2016 では、EXTEND2010 で構築した試験・評価の枠組みを踏襲し、これに基づき試験法の開発を進めた（表 1 及び付属資料 1 参照）。

幼若メダカ抗アンドロゲン様作用検出試験 (JMASA) 及びミジンコ幼若ホルモン短期スクリーニング試験 (JHASA) は日本の提案により OECD プロジェクト化し、試験法の開発を進めた。

MEOGRT 試験法については、米国の協力を得ながら改善すべき点について検討を行い、試験法の改定を OECD に提案した。

両生類変態アッセイ (AMA) 及び幼生期両生類成長発達試験 (LAGDA) については、試験法の実用化に向けて影響既知物質を用いた検証作業を進めた。

これにより試験に着手できる段階に至っている。

ミジンコを用いた無脊椎試験法の開発を継続した。ミジンコ多世代試験は、さまざまな困難が確認されたので、開発から手を引いた。

#### (1) 魚類の試験法開発

##### ① 魚類短期繁殖試験 (OECD TG229)

本試験は、ファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)を試験生物として用いる化学物質のエストロゲン様作用、アンドロゲン様作用、抗エストロゲン様作用及びアロマトラーゼ阻害作用に加えて、視床下部—下垂体—生殖腺軸への影響、化学物質の内分泌かく乱作用による繁殖行動、卵質や精子形成への影響等を検出する試験として開発された。

EXTEND2005 では魚類 21 日間スクリーニング試験 (OECD TG230) の開発に貢献したが、繁殖に対する影響も検出しうることから、EXTEND2010 では第 1 段階において基本的には OECD TG229 を実施することとし、メダカを用いる場合の試験条件の検討を行った。

OECD では、平成 24 年に我が国の提案に基づきメダカの試験条件を盛り込む形で、OECD TG229 の改定が行われた。

##### ② 幼若メダカ抗アンドロゲン作用検出試験 (Juvenile Medaka Anti-Androgen Screening Assay, JMASA) (開発中)

JMASA は、受精後 42 日齢 (6 週齢) 前後の二次性徴 (尻びれの乳頭状小突起) が発現前の幼若期メダカを試験生物とする。

試験では、各水槽に 7 個体を収容し、28 日間 (4 週間) にわたり試験物質 (化学物質) によるばく露を行う。ばく露終了時に、エンドポイントとして二次性徴の発現状況 (乳頭状小突起を発現している節板数) を調べる。エンドポイントの解析は、性決定遺伝子

(*dmy* 遺伝子) に基づき決定する遺伝的雌雄ごとに行う。

化学物質の抗アンドロゲン作用については、遺伝的オスにおける二次性徴発現の低下から評価する。遺伝的メスにおける二次性徴の発現から試験物質のアンドロゲン作用も検出できる。また、必須のエンドポイントではないが、肝臓中のビテロゲニン濃度を測定した場合には、試験物質のエストロゲン作用、抗エストロゲン作用及びアロマターゼ阻害作用を検出することも可能である。

OECD に対して日本がガイダンス文書策定に関するプロジェクトを提案し、2016年(平成28年)に採択された。ガイダンス文書策定に向けて、試験法の検証及び精緻化を目的として抗アンドロゲン作用の陽性物質、エストロゲン作用の陽性物質、陰性物質等を用いて検証試験を実施している。

### ③ メダカ拡張1世代繁殖試験 (OECD TG240)

本試験は、化学物質の母体から卵への移行等に伴う次世代あるいは次世代から次々世代への影響を調べることを目的として、メダカを親世代 (F0) から孫世代 (F2) のふ化まで複数の世代を通して化学物質にばく露し、各ステージ (発育段階) において、生存、成長、発達及び繁殖に対する有害性を調べることにより、内分泌かく乱作用 (エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用、抗アンドロゲン様作用、アロマターゼ阻害作用及び視床下部—下垂体—生殖腺軸への影響等) を含む化学物質の魚類に対する影響 (潜在的な個体群レベルの影響) を評価するものである。

OECD に日米共同で「メダカライフサイクル試験/多世代試験」の検討としてプロジェクト化され、EXTEND2010 の第2段階生物試験として用いることを想定して米国との協力の下で開発を進めた。開発の過程でメダカ拡張1世代繁殖試験 (Medaka Extended One Generation Reproduction Test (MEOGRT)) と整理されたが、これは平成27年に OECD により採択され、テストガイドライン 240 (OECD TG 240) として公開された。

これにより、メダカを用いたエストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用及びアンドロゲン様作用を検出するための第1段階及び第2段階の試験法が揃ったことになる。

さらに、OECD に対して MEOGRT の統計解析手法の改定について米国と共同で提案し、令和4年に新たなプロジェクトとして採択された。

## (2) 両生類の試験法開発

### ① 幼生期両生類成長発達試験 (OECD TG 241)

本試験は、アフリカツメガエルを主たる試験生物として、両生類の変態 (視床下部—下垂体—甲状腺軸)、生殖及び成長等への影響を評価する試験であり、EXTEND2010 では、甲状腺ホルモン作用によって生ずる有害な影響を確認するための第2段階試験として位置付けている。

当初は日米共同で両生類のライフサイクル試験の確立を目指した開発を進めたが、開発の過程で幼生期両生類成長発達試験（Larval Amphibian Growth and Development Assay（LAGDA））と整理された。これは平成 27 年に OECD により採択され、テストガイドライン 241（OECD TG 241）として公開された。

### （3）無脊椎動物の試験法開発

#### ① ミジンコ幼若ホルモン簡易スクリーニング試験（Short-term Juvenile Hormone Activity Screening Assay using *Daphnia magna*, JHASA）（開発中）

JHASA は、オオミジンコの抱卵個体を試験生物として、約 1 週間にわたり化学物質にばく露する。ばく露後、2 回目に産まれた仔虫について性比を観察し、オスの出現率をエンドポイントとして化学物質の幼若ホルモン様作用を検出（スクリーニング）する。

OECD に対して日本がテストガイドライン策定に関するプロジェクトを提案し、2016 年(平成 28 年)に採択された。平成 23 年度から、試験法の有効性及び再現性等の検証を目的に、農薬や精油成分等でミジンコに対する幼若ホルモン作用が疑われる化学物質を用いた検証試験を実施している。さらに OECD プロジェクトとしての検証の一環として、国内及び国際的なリングテストを実施している。

#### ② ミジンコ脱皮ホルモン作用検出試験（開発中）

EXTEND2010/2016 の枠組みで、成長に対する影響の第 1 段階生物試験に適用できる試験法が必要であることから、平成 26 年度より試験法の検討に着手し、ミジンコの脱皮回数をエンドポイントとする評価法等の検討が進められている。

#### ③ ミジンコ多世代試験（Daphnids Multi-generation Test）（不採用）

ミジンコ多世代試験は、平成 22 年度から平成 25 年度まで、日米二国間協力の下で、欧米を中心に OECD で TG 化が検討されていたカイアシ類（コペポッド）を用いたフルライフサイクル試験及びアミ（ミシッド）を用いた 2 世代繁殖試験との比較検証を行いつつ試験デザインの検討を進めてきた。その後は、OECD への TG 化の提案も視野に試験法の開発を進めてきたが、平成 29 年度までに実施した検証試験の結果、ミジンコ類に対して多世代（経世代）影響を示す化学物質が見つからなかったことから、試験法開発については保留（中断）することとされた。



表 1 EXTEND2010 及び EXTEND2016 における試験法開発の進捗状況

区分 検出可能な作用	第 1 段階試験管内試験 (スクリーニング試験)	第 1 段階生物試験 (スクリーニング試験)	第 2 段階生物試験 (確定試験)
エストロゲン様作用 抗エストロゲン様作用	◎メダカエストロゲン受容体 $\alpha$ レポーター遺伝子試験	◎メダカでの魚類短期繁殖試験(OECD TG229)	◎メダカ拡張 1 世代繁殖試験 (OECD TG240, MEOGRT)
アンドロゲン様作用	◎メダカアンドロゲン受容体 $\beta$ レポーター遺伝子試験	◎メダカでの短期繁殖試験(OECD TG229) ◎メダカを用いた魚類 21 日間スクリーニング試験(OECD TG230)の試験結果が既存の報告等により得られた場合には、その試験結果を参照する。	◎メダカ拡張 1 世代繁殖試験 (OECD TG240, MEOGRT)
抗アンドロゲン様作用	◎メダカアンドロゲン受容体 $\beta$ レポーター遺伝子試験	○幼若メダカ抗アンドロゲン作用検出試験	◎メダカ拡張 1 世代繁殖試験 (OECD TG240, MEOGRT)
甲状腺ホルモン様作用 抗甲状腺ホルモン様作用	◎ニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体 $\beta$ レポーター遺伝子試験	◎両生類変態試験(OECD TG231, AMA)	◎幼生期両生類成長発達試験 (OECD TG241, LAGDA)
幼若ホルモン様作用 抗幼若ホルモン様作用	◎ミジンコ幼若ホルモン受容体レポーター遺伝子試験	○ミジンコ幼若ホルモン作用短期検出試験	◎オオミジンコ繁殖試験(OECD TG211 ANNEX7) ▽ミジンコ多世代試験
脱皮ホルモン様作用 抗脱皮ホルモン様作用	◎ミジンコ脱皮ホルモン受容体レポーター遺伝子試験	△ミジンコ脱皮ホルモン作用検出試験	◎オオミジンコ繁殖試験(OECD TG211)検証中 ▽ミジンコ多世代試験

注：◎開発済み、○開発中（完成間近）、△開発中、▽不採用

## 2.2 信頼性評価

EXTEND2010 では、「5年間で100物質程度を目途として検討対象物質の選定を行う」という目標を設定していたが、132物質を信頼性評価の対象物質として選定し、この目標を超過達成した。そのうち、122物質については信頼性評価を完了させ、うち85物質について「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る物質」とし、37物質について「現時点では試験対象物質としない物質」とした。

EXTEND2016 では、EXTEND2010 から継続して、現時点（2022年3月）までに、母集団\*から信頼性評価の対象物質として219物質を選定し、211物質について信頼性評価が完了し、そのうち157物質（E2及びEE2を含む\*\*）を「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る物質」とし、54物質について「現時点では試験対象物質としない物質」とした（付属資料2、付表1-1参照）。

\*化学物質環境実態調査、公共用水域測定、要調査項目等存在状況調査及び農薬残留対策総合調査において検出された物質、化管法第一種指定化学物質（PRTR対象物質）、USEPA EDSP、ECHA SVHC等の検討物質、専門家から提案された物質

\*\* E2(17 $\beta$ -エストラジオール)及びEE2(17 $\alpha$ -エチニルエストラジオール)については、内分泌かく乱作用に関する報告においてエストロゲン作用の陽性対照物質とされており、作用を有することは明らかなたため、信頼性評価は実施していない。

## 2.3 試験の実施と作用・影響評価

EXTEND2010 において確立した試験・評価の枠組み（図4～図7）を踏襲し、試験法が確立した作用（エストロゲン作用、抗エストロゲン作用及びアンドロゲン作用）を中心に試験、評価を進めた。これ以外の作用は、試験評価法の確立を待って対象に加えることとした。

第1段階生物試験（魚類短期繁殖試験：FSTRA、OECD TG229）に加え、第2段階生物試験（メダカ拡張1代繁殖試験：MEOGRT、OECD TG240）を順次実施した。

評価において欧米の試験・評価の結果を活用した例：

- ・ EU において内分泌かく乱活性の確認を踏まえ、試験対象に加えた3物質（4-*t*-ブチルフェノール、3-ベンジリデン=カンファー、フタル酸ジ 2-エチルヘキシル）
- ・ 米国 EDSP において得られた知見を、EXTEND2016 における試験実施の是非の判断に活用した8物質（カルボフラン、ダイアジノン、2,4-D、メソミル、アトラジン、シマジン、グリホサート、メトラクロール）

図4 内分泌かく乱作用の有害性評価の枠組み

生殖に及ぼす影響

(エストロゲン様作用、抗エストロゲン様作用、アンドロゲン様作用、等)

第1段階(内分泌系に対する作用の有無を確認)

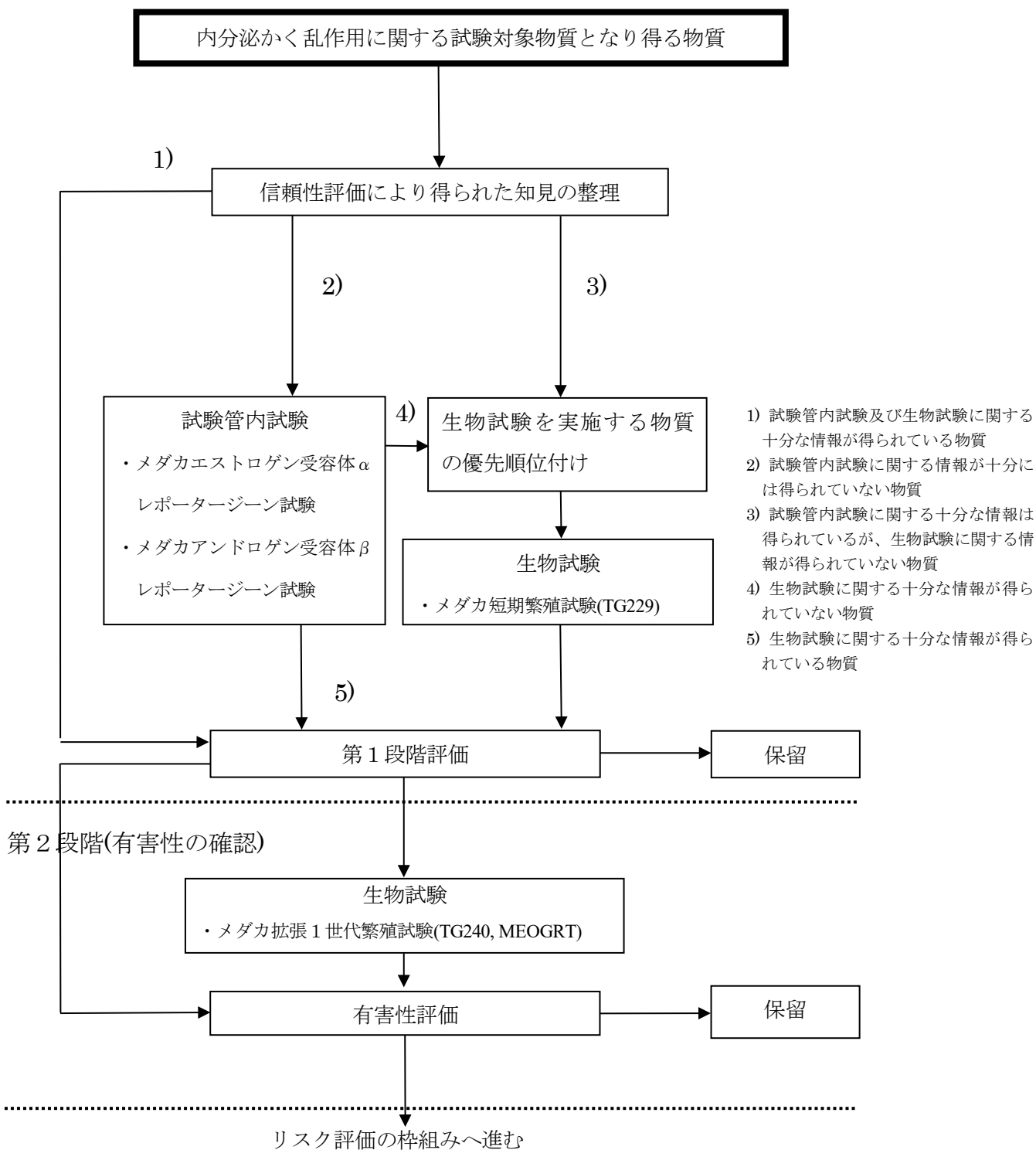


図5 内分泌かく乱作用の有害性評価の枠組み  
 生殖に及ぼす影響  
 (抗アンドロゲン様作用、等)

第1段階(内分泌系に対する作用の有無を確認)

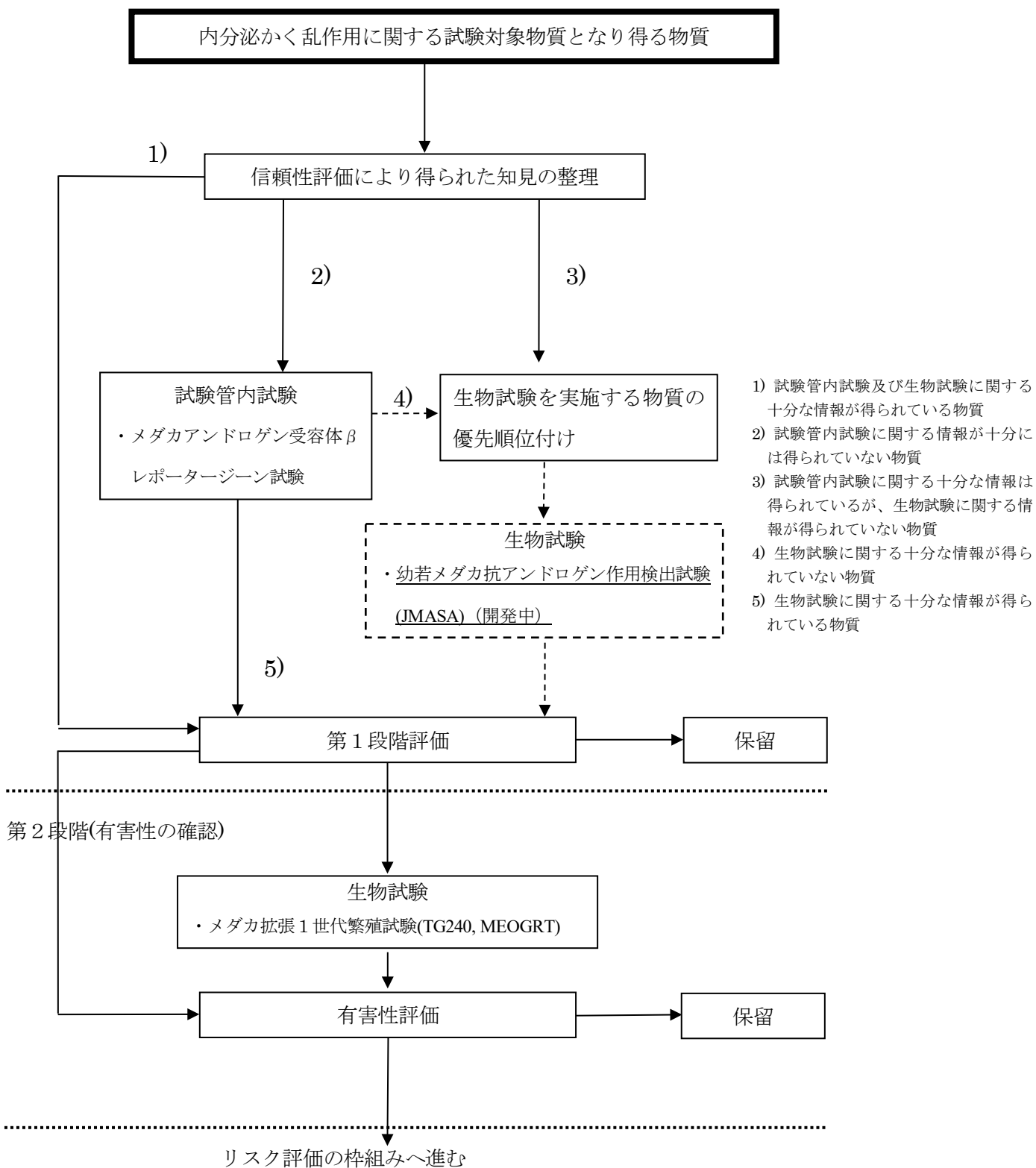


図6 内分泌かく乱作用の有害性評価の枠組み

甲状腺に及ぼす影響

(甲状腺ホルモン様作用、抗甲状腺ホルモン様作用、等)

第1段階(内分泌系に対する作用の有無を確認)

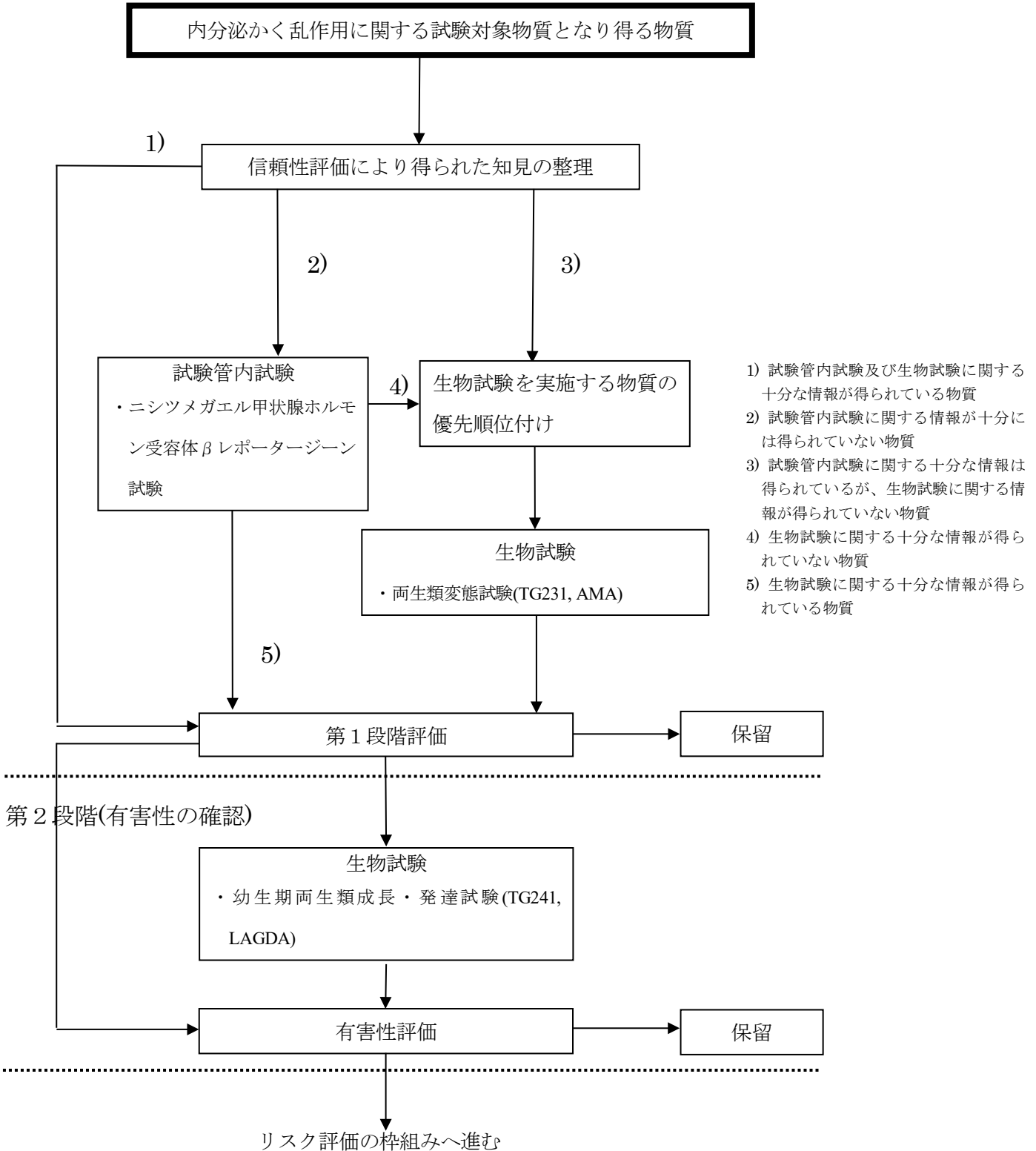
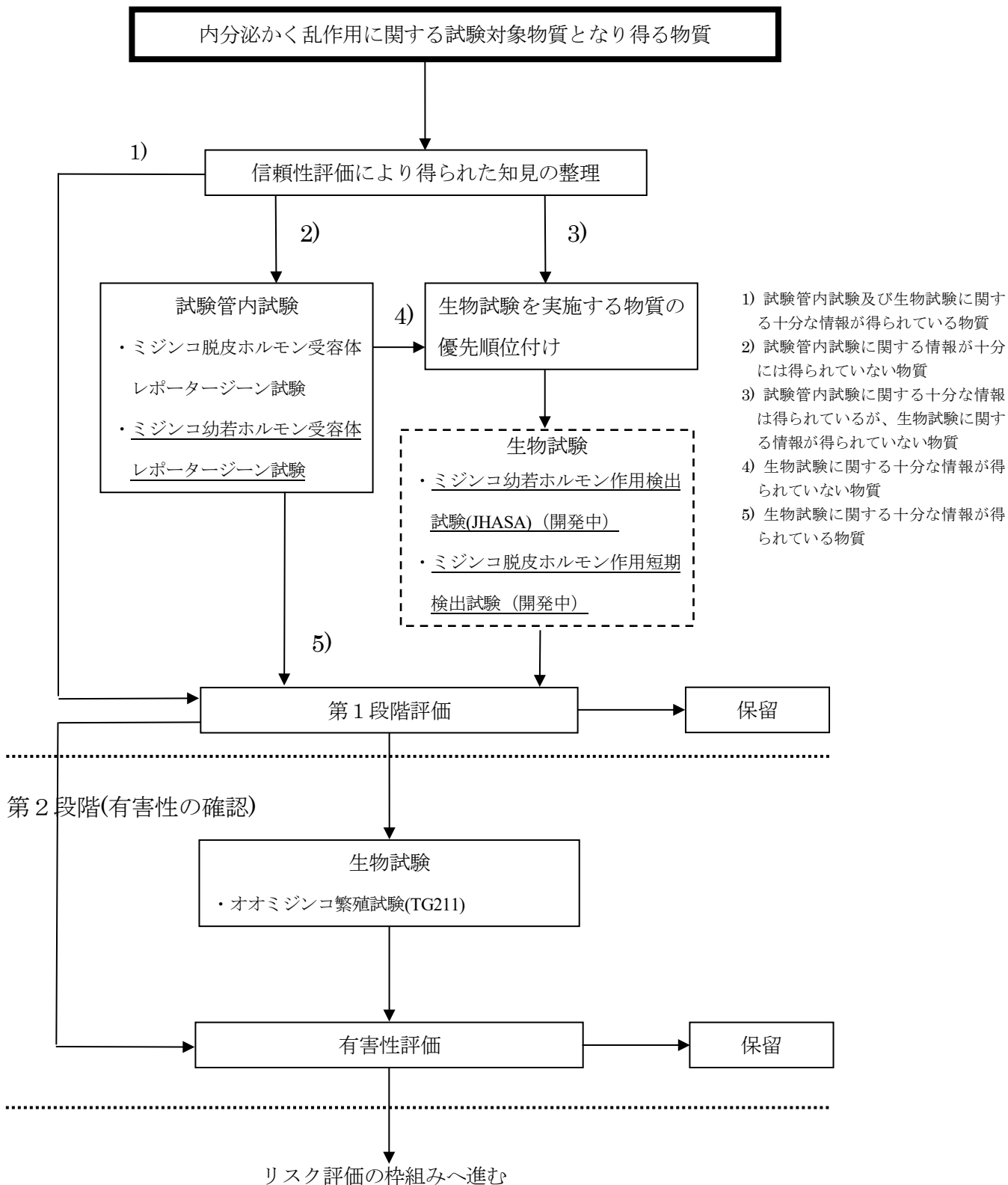


図7 内分泌かく乱作用の有害性評価の枠組み  
成長に及ぼす影響

(幼若ホルモン様作用、脱皮ホルモン様作用、等)

第1段階(内分泌系に対する作用の有無を確認)



## (1) 第1段階試験の実施状況

EXTEND2016では、EXTEND2010から継続して「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る物質」とした157物質(E2及びEE2を含む)のうち113物質について延べ428のレポータージーンアッセイが第1段階試験管内試験として実施され、44物質について陽性の結果が得られた(付属資料2、付表1-1参照)。

陽性の結果が得られた44物質のうち22物質についてメダカを用いた第1段階生物試験(OECD TG229)が実施され、そのうち13物質について内分泌かく乱作用を持つことが示唆され(エストロゲン作用が示唆された11物質:4-ノニルフェノール(分岐型)、4-*t*-オクチルフェノール、4-*t*-ペンチルフェノール、ビスフェノールA、4-ヒドロキシ安息香酸プロピル、4-ヒドロキシ安息香酸メチル、ベンゾフェノン-2、ペンディメタリン、エストロン、17 $\beta$ -エストラジオール、17 $\alpha$ -エチニルエストラジオール、抗エストロゲン作用が示唆された2物質:りん酸トリフェニル、フタル酸イソブチル)、17物質(4-ノニルフェノール(分岐型)、4-*t*-ペンチルフェノール、ビスフェノールA、4-ヒドロキシ安息香酸プロピル、4-ヒドロキシ安息香酸メチル、ベンゾフェノン-2、ペンディメタリン、エストロン、17 $\beta$ -エストラジオール、17 $\alpha$ -エチニルエストラジオール、りん酸トリフェニル、1-ナフトール、トリクロサン、スルファメトキサゾール、シアナジン、フェニトイン、ダイアジノン)について繁殖等に関する有害性を持つことが示唆された(付属資料2、付表1-2参照)。

なお、3物質(フェンバレート、フルタミド、りん酸トリクレジル)については、メダカを用いた魚類短期繁殖試験(OECD TG229)では内分泌かく乱作用及び繁殖等に関する有害性は確認できなかった。

なお、第1段階試験管内試験及び第1段階生物試験の試験方法及び試験結果については、英語論文化されている。

\* Onishi Y. *et al.* (2021) Summary of reference chemicals evaluated by the fish short-term reproduction assay, OECD TG229, using Japanese Medaka, *Oryzias latipes*. J. Appl. Toxicol. 41(8): 1200-1221.

\* Kawashima Y. *et al.* (2022) Summary of 17 chemicals evaluated by OECD TG229 using Japanese Medaka, *Oryzias latipes* in EXTEND 2016. J. Appl. Toxicol. 42(5): 750-777.

## (2) 第2段階生物試験の実施状況

EXTEND2016では、平成27年(2015年)にOECDテストガイドラインとして採択されたメダカ拡張1世代繁殖試験(MEOGRT、OECD TG240)について、試験法としての検証を続けつつ、EXTEND2016における第2段階試験として試験を実施した(付属資料2、付表1-3参照)。

平成 27 年度 (2015 年度) に 4-ノニルフェノール (分岐型) を対象として MEOGRT 試験を実施した。

これにより、同試験の適用性に関する知見が得られ、当該物質がメダカに対してエストロゲン様作用を示すこと及びメダカの繁殖に対する有害性を示すこと(繁殖に及ぼす最低影響濃度は、1.27 µg/L) を確認した。

以後順次 MEOGRT 試験を実施している。

ビスフェノール A(平成 28 年度に実施)については、メダカに対してエストロゲン様作用を示すこと及びメダカの繁殖に対する有害性を示すこと (繁殖に及ぼす最低影響濃度は、1,000 µg/L) を確認した。

4-*t*-オクチルフェノール(平成 29 年度～平成 30 年度に実施)については、メダカに対してエストロゲン様作用を示すこと及びメダカの繁殖に対する有害性を示すこと (繁殖に及ぼす最低影響濃度は、9.91 µg/L) を確認した。

エストロン(平成 29 年度～平成 30 年度に実施)については、メダカに対してエストロゲン様作用を示すこと及びメダカの繁殖に対する有害性を示すこと(繁殖に及ぼす最低影響濃度は、89.1 ng/L) を確認した。

17 $\alpha$ -エチニルエストラジオール(令和元年度～令和 2 年度に実施)については、メダカに対してエストロゲン様作用を示すこと及びメダカの繁殖に対する有害性を示すこと(繁殖に及ぼす最低影響濃度は、7.48 ng/L) を確認した。

リン酸トリフェニル(令和元年度～令和 2 年度に実施)については、メダカに対して抗エストロゲン様作用又はステロイド合成阻害作用を示すこと及びメダカの繁殖に対する有害性を示すこと (繁殖に及ぼす最低影響濃度は、44.9 µg/L) が示唆された。

なお、4-ノニルフェノール (分岐型) を対象とした第 2 段階生物試験 (OECD TG240)の試験方法及び試験結果については、英語論文化されている。

\* Watanabe H. *et al.* (2017) Medaka extended one-generation reproduction test evaluating 4-nonylphenol. *Environ. Toxicol. Chem.* 36(12): 3254-3266.

## 2.4 環境中濃度の実態把握及びばく露の評価

EXTEND2010 及び EXTEND2016 では、ExTEND2005 に引き続き化学物質環境実態調査等の調査結果を活用し、環境中濃度の実態把握を行った。

平成 22 年度より令和 2 年度までに化学物質環境実態調査に対して 60 物質の調査を要望し、45 物質の調査結果を得た。そのうち 35 物質が水質調査において検出された (付属資料 3 参照)。

EXTEND2016 では、物質選定においても化学物質環境実態調査等の結果を活用した。

同調査に環境調査を依頼し、その結果を活用した例は次のとおり。



- ・第2段階生物試験候補物質の優先順位付けにおいて、同調査結果を活用（エストロン、りん酸トリフェニル）
- ・同調査で検出されたことを踏まえ、試験対象として選定（セルトラリン、パロキセチン、ジクロフェナク）

同調査では農薬の環境調査は行われていないので、農薬について別途行われている調査結果を活用したが、ここで対象とされている農薬は限られていたため、結果として EXTEND2016 において試験評価の対象とされた農薬は限定的であった。

## 2.5 化学物質の内分泌かく乱作用に関する知見収集

基盤的研究及び野生生物における生物学的知見研究は、平成30年度に EXTEND2010 からの継続課題が終了した。

環境研究総合推進費の課題募集に際しては、内分泌かく乱関連の行政ニーズを提示し、令和元年度より3年度間にわたり「5-1952 環境医薬品の魚類次世代生産への影響解析」研究が実施された。

併せて、欧米の検討の状況に関する情報収集を継続した。

行政対応については、欧州では、植物保護材規則及び殺生物剤規則において共通に用いる「内分泌かく乱物質のクライテリア」が策定され、規則が動きつつある。一方、米国の内分泌かく乱物質スクリーニングプログラム(EDSP)では、事業者に対する試験要求から動物代替試験手法の開発に重点が移っている。

研究開発分野については、米国における動物代替試験手法の開発、欧州における内分泌かく乱関連試験法研究開発に関する EURION Cluster、欧米における New Approach Methodologies(NAMs)の開発・活用に関する APCRA イニシアティブ (Accelerating the Pace of Chemical Risk Assessment) の動向等をフォローした。

## 2.6 リスク評価及びリスク管理

EXTEND2010 では、影響評価の進捗に注力し、試験法開発は大きく進展したが、化学物質の内分泌かく乱作用を含むリスク評価を行うには至らず、それを受けたリスク管理の対象とされる化学物質は特定されていない。

EXTEND2016 では、内分泌かく乱作用を有する物質については、OECD において確定試験として合意された MEOGRT 試験の結果等に基づき、繁殖にたいする影響等の有害性に着目してリスク評価を行う前提を採用した。

既にさまざまな目的に即したリスク評価システムが存在すること、リスク評価は目的に応じて異なる態様をとりうるものであることを前提として、EXTEND2016 の中で直接リスク評価を行うことはせず、既存の評価体系に対して知見を提供する形をとった。

ノニルフェノールの MEOGRT 試験結果は、化審法の下で優先評価化学物質であるノニ

ルフェノールエトキシレートのリスク評価において活用された。ビスフェノール A、4-*t*-オクチルフェノール等の化審法の優先評価化学物質では、今後リスク評価における活用、参照等が期待される。エストロンは、この試験結果も参照して、化学物質の環境リスク初期評価が行われ、詳細な評価を行う候補と結論づけられた。その他のリスク管理に係る体系においては、本事業の成果の活用には至っていない。

## 2.7 情報提供等の推進

### (1) ウェブページによる情報提供

EXTEND2010 では、化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討内容については、以下のウェブページにおいて公開した。

[http://www.env.go.jp/chemi/risk\\_assessment.html](http://www.env.go.jp/chemi/risk_assessment.html)

英語版：<http://www.env.go.jp/en/chemi/index.html>

EXTEND2016 における試験・評価の進捗状況を確認できるウェブページを充実させた。英語によるウェブページの充実は未だ途上である。

### (2) 公開セミナーの開催

EXTEND2010 では、「化学物質の内分泌かく乱作用に関する公開セミナー」は、これまでに実施してきた化学物質の内分泌かく乱作用に関する調査研究の成果等について、専門家や一般の方々へ広く情報提供することを目的として、平成 22 年度より開催してきた。

開催報告及び講演資料については、ウェブページ（下記 URL 参照）で公開した。

<http://www.env.go.jp/chemi/end/extend2010/seminar.html>

EXTEND2016 では、欧米の関係者、専門家等に講演を依頼し、規制や研究の最新動向について知見を得た。EXTEND2016 の成果に関する情報発信に努めた。コロナ禍に伴うオンライン開催により、外国人への講演依頼が容易になり、聴衆が増加するなどの効果があった（付属資料 4 参照）。

## 2.8 国際協力の推進

### (1) 経済協力開発機構（OECD）

EXTEND2010 では、ExTEND2005 に続き、OECD テストガイドラインプログラムにおいて、化学物質の内分泌かく乱作用に関する試験法の開発を国際協力の下で進めた。魚類短期繁殖試験（OECD TG229）については、メダカの試験条件を記述するよう OECD に改定を提案し、採択された。米国と共同で提案したメダカ拡張 1 世代繁殖試験（MEOGRT）及び幼生期両生類成長発達試験（LAGDA）は、それぞれテストガイドライン 240（OECD TG

240) 及び 241 (OECD TG 241) として採択された。フランスが提案した胚期ツメガエル甲状腺シグナリングアッセイ (XETA) については、国際的なリングテストに参加した。平成 27 年には、EXTEND2010 の下で開発してきたメダカ抗アンドロゲン作用検出試験 (JMASA) 及びミジンコ幼若ホルモン簡易スクリーニング試験 (JHASA) を、OECD に対し新規プロジェクトとして提案した。

EXTEND2016 では、OECD によりプロジェクトとして採択された JMASA 及び JHASA について、日本主導で開発を進めた。試験法プロトコル案をとりまとめる段階に至っている。MEOGRT 改定については、米国と共同で OECD に提案し、令和 4 年にプロジェクトとして採択された。併せて、OECD で進められている内分泌かく乱関連試験法開発プロジェクトに協力した。

## (2) 化学物質の内分泌かく乱作用に関する日英共同研究

EXTEND2010 の下では、ExTEND2005 に引き続き、平成 22 年度に 5 年間の延長が合意された第 3 期共同研究事業が実施された。本事業は 4 つのコアプロジェクトにより構成され、年 1 回の共同研究ワークショップ等を通じて日英の研究者による密接な連携の下で研究が進められ、試験法開発、作用・影響評価等にとって有用な成果が得られた。平成 27 年には第 4 期共同研究の実施について日英間の合意文書に署名し、研究を実施している。

EXTEND2016 では、令和 2 年 (2020 年) 4 月より第 5 期日英共同研究に着手した。対象に新興環境汚染物質 (Contaminants of Emerging Concern: CEC) を加えることにより、研究領域を拡大した。これに伴い、内分泌かく乱作用の検出、評価を目的としない試験法についても、共同研究の対象とすることとしたほか、CEC に関連する研究に関する情報交換を行った。併せて、両国の行政間の情報交換を緊密化することとし、英国を通じて欧州における内分泌かく乱物質の規制等に関する情報を得た。

## (3) 化学物質の内分泌かく乱作用に関する日米二国間協力

EXTEND2010 の下では、ExTEND2005 に引き続き、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について、試験法や試験条件等の技術的課題について検討を行い、さらに日米共同で研究や検証試験等を実施することにより、試験法の OECD でのテストガイドライン化に向けた取組みを進めた。併せて、日米それぞれの評価事業に関する情報交換を行った。

EXTEND2016 では、日米双方の試験、評価事業の進捗について相互に情報提供し、関連の知見を共有するとともに、米国側が進める新たな評価手法の検討状況について、情報共有を受けた。

## 2.9 推進体制

EXTEND2016 で示された内容で委員会を再編し、「化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会」において、物質の作用・影響評価等に関する実務的な検討を公開で行った（付属資料 10 参照）。また、中央環境審議会環境保健部会には、適宜進捗状況を報告した。

## 3. まとめ

EXTEND2010 では、評価手法の確立と評価の実施を加速化することをねらいとして、「試験法の開発及び評価の枠組みの確立」及び「作用・影響評価の実施」を重点的に進めた。

「評価の枠組みの確立」については、限られた資源の中で効率よく試験・評価を進める観点から、ExTEND2005 において着手した物質選定及び既存知見の信頼性評価の手順をより具体化するとともに、試験管内試験と生物試験の組合せによる 2 段階の試験・評価の枠組みを構築した。試験管内試験と短期生物試験により構成されスクリーニングを目的とする第 1 段階、長期生物試験を通じて悪影響の検出を目的とする第 2 段階という考え方は、後述する米国のスクリーニングプログラムとも共通するものである。

「試験法の開発」については、ExTEND2005 における検討を受け継ぎ、上記枠組みの下で必要となる試験法の開発を進めた。第 1 段階で用いる魚類短期繁殖試験におけるメダカの試験条件を確立するとともに、第 2 段階で用いるべきメダカ拡張 1 世代繁殖試験及び幼生期両生類成長発達試験を完成させた。

EXTEND2016 では、EXTEND2010 において構築した「評価の枠組み」に従い、新たな試験法の開発を進めた。日本から OECD にプロジェクト提案したメダカ抗アンドロゲン作用検出試験 (JMASA) 及びミジンコ幼若ホルモン簡易スクリーニング試験 (JHASA) については、開発とバリデーションを日本主導で進め、試験法プロトコル案をとりまとめる段階に至った。

「作用・影響の評価」においては、EXTEND2010 から継続して、2022 年 3 月までに、信頼性評価の対象物質として 219 物質を選定し、211 物質について信頼性評価が完了し、そのうち 157 物質 (E2 及び EE2 を含む) を「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る物質」とし、54 物質について「現時点では試験対象物質としない物質」とした。「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る物質」とした 157 物質 (E2 及び EE2 を含む) のうち 113 物質について延べ 428 の第 1 段階試験管内試験が実施され、44 物質について陽性の結果が得られた。陽性の結果が得られた 44 物質のうち 22 物質について第 1 段階生物試験としてメダカを用いた魚類短期繁殖試験(OECD TG229) が実施され、そのうち 13 物質について内分泌かく乱作用を持つことが示唆され、17 物質について繁殖等に関する有害性を持つことが示唆された。第 2 段階生物試験としてメダカ拡張 1 世代繁殖試験 (MEOGRT、OECD TG240) について、試験法としての検証を続けつつ、EXTEND2016 にお

ける第2段階試験として6物質について試験を実施した。

「国際協力の推進」においては、令和2年(2020年)4月より第5期日英共同研究に着手した。対象に新興環境汚染物質 (Contaminants of Emerging Concern: CEC) を加えることにより、研究領域を拡大した。日米二国間協力では、日米双方の試験、評価事業の進捗について相互に情報提供し、関連の知見を共有した。

内分泌かく乱作用については、OECDにおいて確定試験として合意された MEOGRT 試験の結果等を踏まえ、リスク評価を行う前提を採用した。既にさまざまな目的に即したリスク評価システムが存在すること、リスク評価は目的に応じて異なる態様をとりうるものであることを前提として、EXTEND2016の中で直接リスク評価を行うことはせず、既存の評価体系に対して知見を提供する形をとった。第2段階生物試験の結果は、化審法の下で優先評価化学物質について実施されるリスク評価や、化学物質の環境リスク初期評価において活用されたが、その他のリスク管理に係る体系においては、成果の活用には至っていない。

## II 国際的な主な動向

化学物質の内分泌かく乱作用に関する国際的な行政機関等の主な動向を以下にまとめた。

### 1. 世界保健機関 (WHO)等による科学的レビュー

2002年に、世界保健機関 (World Health Organization: WHO)、国際労働機関 (International Labour Organization: ILO) 及び国連環境計画 (UN Environment Programme: UNEP) の共同プログラムである国際化学物質安全性計画 (International Programme on Chemical Safety: IPCS) が、内分泌かく乱物質に関する世界規模の包括的な科学文献レビュー報告書「Global Assessment of the State-of-the Science of Endocrine Disruptors (内分泌かく乱物質の科学的現状に関する全地球規模での評価)」を公表した。この中で、内分泌かく乱物質 (Endocrine Disruptors: EDs) は「内分泌系の機能に変化をもたらし、その結果として未処置生物、子孫、(準) 個体群に有害な健康影響をもたらす外因性の物質または混合物」と定義された。

2012年に、WHOは、内分泌かく乱物質が子どもの健康に与える影響に関する科学文献レビューの報告書「Endocrine disruptors and child health - Possible developmental early effects of endocrine disruptors on child health (内分泌かく乱物質と子どもの健康—内分泌かく乱物質が子どもの健康に及ぼしうる発達初期影響)」を公表した。

2013年に、WHO及びUNEPの連名で、2002年の報告書公表後の主として疫学的研究結果からの指摘等をまとめた科学文献レビューの報告書「State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals – 2012 (内分泌かく乱化学物質の科学の現状—2012年)」を公表した。

#### \* Global Assessment of the State-of-the Science of Endocrine Disruptors

[http://www.who.int/ipcs/publications/new\\_issues/endocrine\\_disruptors/en/](http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/)

日本語訳 (環境省版) : 内分泌かく乱物質の科学的現状に関する全地球規模での評価

<https://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/gassed.html>

#### \* Endocrine disruptors and child health - Possible developmental early effects of endocrine disruptors on child health

[http://www.who.int/ceh/publications/endocrine\\_disruptors\\_child/en/](http://www.who.int/ceh/publications/endocrine_disruptors_child/en/)

#### \* State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals - 2012

<http://www.who.int/ceh/publications/endocrine/en/>

日本語訳 (要約) : 内分泌かく乱化学物質の科学の現状—2012年

[http://www.nihs.go.jp/edc/files/EDCs\\_Summary\\_for\\_DMs\\_Jpn.pdf](http://www.nihs.go.jp/edc/files/EDCs_Summary_for_DMs_Jpn.pdf)

## 2. 経済協力開発機構 (OECD)における試験評価手法の開発

経済協力開発機構 (Organisation for Economic Cooperation and Development: OECD) では、化学物質のテストガイドラインプログラムの一環として、内分泌かく乱物質の試験及び評価 (Endocrine Disrupters Testing and Assessment: EDTA) に関する検討を、1996年より進めている。ここでは、加盟国への情報提供と活動間の調整、化学物質の内分泌かく乱作用を検出するための新規試験法の開発と既存の試験法の改定、有害性やリスク評価の手法の調和 (harmonisation) 等が目的として挙げられている。現在も、テストガイドラインプログラムの下で、化学物質の内分泌かく乱作用を検出するための試験法の開発が進められており、これをサポートするために同プログラムの下に内分泌かく乱物質の試験と評価に関するアドバイザーグループ(EDTAAG)が設置された。

これらの中で、「内分泌かく乱物質の試験と評価に関する概念的フレームワーク (Conceptual Framework)」が2002年に提案され、内分泌かく乱作用を検出するための各種試験法が整理された。

OECDの下で内分泌かく乱作用に関連する各種試験法の開発が進められてきたのと並行して、一連の標準化された試験法に基づき内分泌かく乱作用を評価するためのガイダンス文書「Revised Guidance Document 150 on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption」が2012年に取りまとめられ、2018年にはその改定版(Revised Guidance Document 150)が公開された。

本文書では、化学物質の内分泌かく乱作用を評価する際のOECD概念的フレームワークに関する説明、使用する標準化された試験法の内容、個々の試験による結果の解釈等に関する情報を提供しており、2018年の改定版では最新の概念的フレームワーク (Conceptual Framework)が収載されている(付属資料5参照)。

また、2012年には内分泌かく乱作用のスクリーニングや試験に係る新たな手法に関する詳細レビュー文書が公開された。

\* Guidance Document on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption

<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdguidancedocumentonstandardisedtestguidelinesforevaluatingchemicalsforendocrinedisruption.htm>

\* Detailed Review Paper on the State of Science on Novel *In Vitro* and *In Vivo* Screening and Testing Methods and Endpoints for Evaluating Endocrine Disruptors

[http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2012\)23&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2012)23&doclanguage=en)

\* Revised Guidance Document 150 on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption

<https://www.oecd.org/chemicalsafety/guidance-document-on-standardised-test-guidelines-for-evaluating-chemicals-for-endocrine-disruption-2nd-edition-9789264304741-en.htm>

### 3. 国際的な化学物質管理のための戦略的アプローチ(SAICM)による対応

2002年の国連環境計画 (UNEP) 管理理事会において、国際的な化学物質管理のための戦略的アプローチ (Strategic Approach to International Chemicals Management: SAICM) が必要であることが決議された。これは2006年の国際化学物質管理会議 (ICCM1)において採択され、包括的方針戦略や世界行動計画が併せてとりまとめられた。

2012年に開催された第3回会議 (ICCM3) では、「内分泌かく乱化学物質」がSAICMにおける新規政策課題 (Emerging Policy Issues) に追加され、協力して取り組むべき優先事項として位置付けられた。

2015年に開催された第4回会議 (ICCM4) においては、ステークホルダーがUNEPを交えて内分泌かく乱化学物質 (Endocrine Disrupting Chemicals: EDCs) に関する情報を整理し広く普及するための決議が採択された。

それを受け、UNEPが2017年にEDCSに関するOverview Report(全3部)を公表した。

この中で内分泌かく乱作用を根拠とした規制事例が示されている (付属資料6付表1参照)。

#### \* SAICM Emerging Policy Issues and Other Issues of Concern

[http://www.saicm.org/index.php?option=com\\_content&view=article&id=452&Itemid=685](http://www.saicm.org/index.php?option=com_content&view=article&id=452&Itemid=685)

#### \* Overview Report I: Worldwide initiatives to identify endocrine disrupting chemicals (EDCs) and potential EDCs (July 2017)

Overview Report II: An overview of current scientific knowledge on the life cycles, environmental exposures, and environmental effects of select endocrine disrupting chemicals (EDCs) and potential EDCs (July 2017)

Overview Report III: Existing national, regional and global regulatory frameworks addressing Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs) (July 2017)

<https://www.unep.org/explore-topics/chemicals-waste/what-we-do/emerging-issues/scientific-knowledge-endocrine-disrupting>

### 4. 欧州における対応状況

欧州委員会 (European Commission: EC) は、1996年から内分泌かく乱物質に対する取り組みを開始しており、1998年に欧州議会 (European Parliament: EP) はECに対し、欧州連合



(European Union: EU)内の規制に向けた枠組みの改正を求める決議を採択し、1999年9月に内分泌かく乱物質に対する戦略 EU Community Strategy (COM (1999) 706)が採択された。Community Strategy では、種々法規制への内分泌かく乱物質に関する特別条項の追加がなされた。

化学物質の登録、評価、認可及び制限に関する規則 (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemical Substances, 1907/2006: REACH)、植物保護製品規則 (Plant Protection Products Regulation, 1107/2009: PPPR)、殺生物製品規則 (Biocidal Products Regulation, 528/2012: BPR)、水枠組み指令 (Water Framework Directive, 2000/60/EC: WFD) が該当する。内分泌かく乱物質を扱う条項は、化粧品規則 (Regulations on Cosmetics, 1223/2009: RC) 及び医療機器規則 (Medical Device Regulation, 2017/745: MDR) にも追加されている。

欧州議会では、既存の関連する EU 規則について論じ、ヒト健康をより保護するための提言を行う目的で、Directorate General for Internal Policies of the Union (事務局連合域内政策部) から 2019年3月に「内分泌かく乱物質：科学的根拠からヒト健康保護へ向けて (Endocrine Disruptors: from Scientific Evidence to Human Health Protection)」を公表した。この文書は、1999年以来 EU 規則によってハザード分類として認識されている内分泌かく乱物質のヒト健康影響について、科学的知見を提示するものであり、内分泌かく乱の概念、ばく露の範囲、関連する健康影響、コストに関する科学的根拠についてレビューしている。

以下に、規則 (REACH、PPPR 及び BPR) ごとに内容をまとめた。

なお、水枠組み指令、化粧品規則及び医療機器規則については、各規則での対応について検討中である。

\* European Commission

[http://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/index\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/index_en.htm)

#### 4.1 化学物質の登録、評価、認可及び制限に関する規則 (REACH)

欧州化学品庁 (European Chemicals Agency: ECHA) が所管する REACH 規則においては、内分泌かく乱物質について WHO/IPCS (2002) の定義が採用されており、ある物質 (群) が同規則における高懸念物質 (Substances of Very High Concern: SVHC) として選定される際の根拠となる。内分泌かく乱作用がヒト健康又は環境に深刻な影響を及ぼす科学的根拠については、REACH 規則 Article 57(f)により、Endocrine Disruptor Expert Group によって物質 (群) 毎に検討され「Support Document for Identification」として公表される。SVHC に選定されると 0.1%以上の含有製品に対する含有表示や 1 トン以上の製造者からの ECHA への製造通知の義務が生じる。また、SVHC のリスト (Candidate List of Substances of Very High Concern for Authorisation) は、認可対象物質 (Substances included in Annex XIV of REACH) の

候補リストとされており、SVHC から更に認可対象物質に選定されると、最終申請日 (Latest Application Date) 及び日没日 (Sunset Date) が設定され、最終申請日までに認可申請を行わないと日没日以降の取扱いができなくなる。

ECHA は SVHC リストを随時公表しており、2022 年 1 月 17 日までに 223 物質 (群) が SVHC として掲載されており、このうち内分泌かく乱特性 (Endocrine disrupting properties) を根拠 (Reason for inclusion) としているのは 24 件、20 物質 (群) である (付属資料 7 付表 1 参照)。

ECHA は認可対象物質についても随時公表しており、54 物質 (群) (最終申請日 2022 年 5 月 27 日まで) が掲載されており、このうち内分泌かく乱特性 (Endocrine disrupting properties) を根拠 (Reason for inclusion) としているのは 6 物質 (群) である (付属資料 7 付表 1 参照)。

\* Candidate List of substances of very high concern for Authorisation (published in accordance with Article 59(10) of the REACH Regulation)

<https://echa.europa.eu/candidate-list-table>

## 4.2. 植物保護製品規則 (PPPR) 及び殺生物製品規則 (BPR)

植物保護製品規則 (PPPR, 1107/2009) においては、非標的生物に対する内分泌かく乱特性を有する化合物は、以下のいずれかの条件に該当しない限り、活性成分、毒性緩和剤 (植物保護製品の植物への毒性を消去または低減する目的で植物保護製品に添加される化合物又は組成物)、助剤または共力剤 (それ自体の活性はないか微弱であるが、植物保護製品中の活性生物の活性を増大させる化合物又は組成物) として使用できない。

- ・ばく露が極めて小さい
- ・植物への深刻な危害を食い止める必要性があるが、他の代替手段 (非化学的手段を含む) がない (最大 5 年間に限定)

殺生物製品規則 (BPR, 528/2012) においては、有害影響を引き起こす内分泌かく乱特性を有する化合物は、以下のいずれかの条件に該当しない限り、認可されない。

- ・特に閉鎖系、ヒトの接触や環境への放出があり得ない条件において、リスクが無視できる
- ・ヒト、動物、環境の健全性のために不可欠である
- ・社会においてリスクよりも多大な負の影響が生ずる

殺生物性及び内分泌かく乱特性を有する化合物については、一般市民による殺生物剤としての使用を認めない。

2018 年 6 月、欧州食品安全機関 (Europe Food Safety Authority: EFSA) 及び ECHA は、「植物保護製品及び殺生物製品に含まれる内分泌かく乱物質の同定方法に関するガイダンス文

書 (Guidance for the identification of endocrine disruptors in the context of Regulations (EU) No 528/2012 and (EC) No 1107/2009) 」を公表した。このガイダンス文書は、植物保護製品 (PPP) 及び殺生物性製品 (BP) が、それぞれ EU 規則 No 2017/21003 及び EC 規則 No 2018 /6054 に定められた内分泌かく乱物質 (ED) の基準 (クライテリア) が満たされているかどうかを確認するために、評価に関連するあらゆる情報を収集し、評価し、検討し、作用機序 (Mode of Action: MoA) 分析を実施し、科学的根拠の重み付け (Weight of Evidence: WoE) アプローチを適用する方法について解説している。有害性と内分泌活性とに関する一連の科学的根拠との間の関連性を確立する際、その関連性は、生物学的に妥当なものであり、WoE アプローチを用いて確立されるべきものである。

EFSA において、既に 88 の農薬活性物質についてガイダンス文書に基づく検討が実施され、この内 10 物質が ED と同定された。その内訳は甲状腺への影響が 7 物質の他、エストロゲン、アンドロゲン、ステロイド産生への影響が各 1 物質であった。ヒト健康においては、88 活性物質中 22 物質が ED ではないとして同定され、非標的生物においては、64 活性物質中 5 物質が ED ではないとして同定された。23 活性物質については、刺激性、メトヘモグロビン形成、アセチルコリンエステラーゼ阻害、食品/飼料添加物として使用される物質、非毒性作用機序 (忌避剤等)、自然発生 (分解物も含む) の理由から、ED 評価の必要性なしとされた。なお、28 物質については、EFSA の結論が公開データとして入手可能とされている\*。

\*令和 3 年度化学物質の内分泌かく乱作用に関する公開セミナー資料 : Identification of pesticides having endocrine disrupting properties – EU approach and activities (内分泌かく乱特性を有する農薬の同定 – EU におけるアプローチ及び活動)、Maria Arena (European Food Safety Authority 欧州食品安全機関)

### 4.3 デンマークによるリスト作成

デンマーク環境保護庁 (Danish Environmental Protection Agency) の委託により、Danish Centre on Endocrine Disruptors (CeHoS) は、2017 年に独自に内分泌かく乱物質として優先的に対応すべき 13 物質のリストを公表した (付属資料 7 付表 2 参照)。

ED (Endocrine Disrupter) の定義としては WHO/IPCS(2002)を採用しており、内分泌活性の評価においては QSAR データも採用されている。優先リスト化においては、北欧諸国 (ノルウェー、スウェーデン、デンマーク、フィンランド) における化学物質ばく露データベースである Substances in Preparations in Nordic Countries (SPIN) において高ばく露懸念 (probable to very probable risk of exposure) のある物質が選別されている。

\* List of Endocrine Disrupting Chemicals (Final report, December 21th, 2017 (Some mainly editorial chances were made in September 2018))

[https://images.chemycal.com/Media/Files/DK\\_ED-list-final\\_2018.pdf](https://images.chemycal.com/Media/Files/DK_ED-list-final_2018.pdf)

\* Substances identified as endocrine disruptors at EU level

<https://edlists.org/the-ed-lists/list-i-substances-identified-as-endocrine-disruptors-by-the-eu>

#### 4.4 EUにおける研究動向 (EURION)

内分泌かく乱物質の同定を改良するための欧州クラスター (European Cluster to Improve Identification of Endocrine Disruptors: EURION) は、EU Horizon 2020 Research and Innovation Programme (H2020-EU) が総額5千万ユーロを出資する8研究プロジェクトから構成されており、欧州におけるこの種の研究に対する公的出資としては最大規模である。

2019年1月1日にEURIONクラスターが開始され、研究期間は、2020年～2023年である。

8つの研究プロジェクトの名称を付属資料7に示した。

\* <https://eurion-cluster.eu/>

## 5. 米国

米国環境保護庁 (United States Environmental Protection Agency: USEPA) では、内分泌かく乱物質スクリーニングプログラム (Endocrine Disruptor Screening Program: EDSP) を進めている。これは1999年に策定されたプログラムであり、食品品質保護法 (Food Quality Protection Act) 及び飲料水安全法 (Safe Drinking Water Act) により、ヒトの健康に有害な影響を及ぼすようなエストロゲン作用をもつ農薬及び飲料水中汚染化学物質をスクリーニングすることを目的としている。

### 5.1 試験法の開発と妥当性の検証

内分泌かく乱物質スクリーニングプログラムでは、Tier 1スクリーニングとTier 2テストの2段階の試験体系を採用した (付属資料8付表1参照)。

Tier 1スクリーニングは、生物の内分泌系に対する化学物質の作用の検出を目的とした試験であり、5種類の試験管内試験 (ラットエストロゲン受容体結合試験、ヒト HeLa 細胞エストロゲン受容体転写活性化試験、ラットアンドロゲン受容体結合試験、ヒトステロイド産生試験及びヒトアロマターゼ試験) 及び6種類の動物試験 (ラット子宮肥大試験、ラットハーシュバーガー試験、ラット雌思春期試験 (Pubertal female)、ラット雄思春期試験 (Pubertal male)、両生類変態試験及び魚類短期繁殖試験) より構成される。試験法の妥

当性の検証が行われ、2009年10月までに事業者が提出する試験法が公表された。

Tier 2テストは、化学物質の生物に対する有害な影響を確認するための試験である。

## 5.2 Tier 1スクリーニングの実施

Tier 1スクリーニングの対象物質としては、ヒトのばく露情報の有無を踏まえ、第1次リストとして、農薬活性成分 (PAIs) 及び高生産量化学物質 (HPVs) の計67物質が選定された(その後、自主的な農薬登録の取り下げ等により、対象物質は52物質となった)。

2013年には、第2次リストとして、農薬及び飲料水において検出されている107物質が選定された。

Tier 1スクリーニングについては、2009年10月から2010年2月にかけて、Tier 1スクリーニング第1次リスト収載物質の登録者、製造者及び輸入業者に対して実施命令が出された。提出された試験データと既存情報(未公開情報を含む)をもとに、証拠の重み付け(weight-of-evidence)を考慮して、Tier 1スクリーニング評価が行われた。

2015年6月にUSEPAよりEDSPにおける52物質のTier 1スクリーニング評価結果が公表された。Tier 2テストの候補として18物質が選定され、併せて各物質に対し実施すべき試験項目が示されたが、現時点でTier 2テストの実施命令は出されていない。

## 5.3 代替試験法の開発

2015年9月に連邦官報(Federal Register FRL-9928-69)においてEDSPにおける潜在的内分泌かく乱物質を評価する際に用いる試験法について、何千もの化学物質に優先順位を付け、スクリーニングし、評価する方法の効率化の要請と動物愛護の立場からHigh Throughput試験法やUSEPAの毒性予測システム(Toxicity Forecaster、通称ToxCast)などのコンピュータを用いた手法で代替することが公表された。ToxCastは化学物質データと予測モデルを提供し、ハイスループットスクリーニング(HTS)法と計算毒性学的アプローチを用いて化学物質のランク付けと優先順位付けを行うものである。

2019年9月にはEPA長官より「動物試験実施を低減するための努力を優先するための指令(Directive to Prioritize Efforts to Reduce Animal Testing)」と題するメモランダム(公式文書として公表)が関係部門の責任者に通達された。ここでは、2025年までに哺乳類を用いた試験の30%低減、2035年までに哺乳類を用いた試験(要請及び出資)の排除、2035年以降については哺乳類を用いた試験を実施する際には個別承認が必要とする方針が示され、今後は新アプローチ方法論(New Approach Methods: NAMs)の開発、検証、普及に注力していく姿勢が示されていた。NAMsとは、欧州REACHや米国TSCA等にも言及があり、その定義には幅があるが、具体的には*in vitro*、*in silico*等の試験方法を指し、新規でハイスループットな、動物試験の代替となり得るスクリーニング試験法としての位置付けで論じられる場合が多い。

多数の化学物質を評価する方法の効率化の要請と動物愛護の立場から EDSP において採用された Tier 1 スクリーニングと Tier 2 テストの代替試験法 (付属資料 8 付表 2 参照) の開発を目標している。代替試験法の開発を補完するために必要とされたエストロゲン/アンドロゲン受容体 (介在経路) のためのハイスループット・アッセイ (High-Throughput (HTP) Assays for Estrogen Receptor, Androgen Receptor, Steroidogenesis, Thyroid Pathway)、生物種横断的に感受性を予測するための配列 (SeqAPASS)、*in vivo* から *in vitro* への外挿 (IVIVE)、生物活性とばく露との比 (BER)、体系的レビュー (SR) 等の手法 (tools) の開発を実施している (付属資料 8 参照)。

\* United States Environmental Protection Agency

<https://www.epa.gov/endocrine-disruption>

\* <https://www.epa.gov/sites/default/files/2019-09/documents/image2019-09-09-231249.pdf>

## 6. アジア

### 6.1 中国

2020 年に中華人民共和国生態環境部 (Ministry of Ecology and Environment, The People's Republic of China) より公表された The Guideline for Environmental Management Registration of New Chemical Substance において高有害性化学物質 (High-hazard chemical substances) が定義されており、その中に内分泌かく乱化学物質 (EDCs) が含まれている。また、2021 年にパブリックコメントを実施している Action Plan for Emerging Pollutants Control において Environmental endocrine disruptors としてノニルフェノールがリストアップされている。

### 6.2 韓国

2019 年に発効した改正 K-REACH 法 (Act on Registration and Evaluation of Chemical Substances) において重点管理物質 (Substance of Intensive Control) に内分泌かく乱作用 (Endocrine disruption) を持つ物質が含まれている。重点管理物質として 204 物質 (2019 年 7 月現在) がリストアップされており、内分泌かく乱化学物質 (EDCs) として 7 物質 (ビスフェノール A、4-*t*-ペンチルフェノール、フタル酸ジイソブチル、フタル酸ジブチル、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジ 2-エチルヘキシル、4-*t*-オクチルフェノール) が示されている。