

化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応

— EXTEND 2022 —

令和4年10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
I これまでの取組み	2
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	15
2.3 試験の実施と作用・影響評価	15
2.4 環境中濃度の実態把握及びばく露の評価	21
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	22
2.7 情報提供等の推進	22
2.8 国際協力の推進	23
2.9 推進体制	24
3. まとめ	24
II 国際的な主な動向	26
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	27
4. 欧州における対応状況	28
5. 北米における対応状況	31
6. アジアにおける対応状況	34
III 今後の方向性	35
1. 基本的な考え方	35
2. 具体的方針	36
2.1 作用・影響の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	39
2.4 知見の収集について	40
2.5 国際協力及び情報発信の推進について	40
3. 推進体制	42
おわりに	43
付 属 資 料	44

はじめに

化学物質はその有用性により我々の生活を豊かにする一方で、適切に取り扱われない場合には、人の健康や生態系に有害な影響を及ぼしうるため、環境リスクの適切な評価と管理は世界共通の課題である。

化学物質が内分泌系をかく乱する作用が人の健康や野生生物に及ぼす影響については、科学的に未解明な点が多いものの、世代を越えた影響をもたらすおそれがある重要な課題として内外の関心を集めてきた。

平成 10 年 5 月に策定した「内分泌攪乱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－」は、平成 17 年 3 月に「化学物質の内分泌かく乱作用に関する環境省の今後の対応方針について－ExTEND2005－」として再構成したが、さらにこれを引き継ぐ形で平成 22 年 7 月には「化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応－EXTEND2010－」、平成 28 年 6 月には同 EXTEND2016 を策定した。これらを通じて、化学物質の内分泌かく乱作用に関する試験・評価の枠組みを構築するとともに、これに必要となる試験手法の開発を国際的な協力の下で進め、魚類、両生類、無脊椎動物を用いた国際標準試験法の策定に貢献した。確立した試験・評価の枠組みの下で、既存知見の整理や試験を進め、200 を超える物質の作用・影響に関する知見を集積した。

国際的な動向に目を向けると、米国では内分泌かく乱作用を評価するプログラムにおいて、生物を用いない試験評価手法の開発を目指している。欧州連合（EU）では、植物保護剤、殺生物剤等の規制の下で、内分泌かく乱化学物質への対応が進められているほか、内分泌かく乱作用に係る試験・評価手法の開発プロジェクトが動いている。経済協力開発機構（OECD）では、引き続き内分泌かく乱作用に関する試験・評価手法の開発が進められており、我が国も参加している。当省のプログラムは国際的にも広く認知されており、今後も積極的に貢献していく必要がある。

EXTEND2016 の開始から 5 年が経過したことを受け、環境省では「化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会」及び関連する下部委員会の助言の下で振り返りを行い、環境省としての対応の方向性を「化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応－EXTEND2022－」としてとりまとめた。「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する」という EXTEND2010 以来の基本理念を踏襲しつつ、既に確立した試験・評価の枠組みを維持した上で、評価すべき物質の母集団の拡大、新たに確立した試験法を用いた試験・評価の実施、国際的に研究が進められている新たな評価手法に関する検討、リスク管理に向けた評価のあり方の検討等、新規の課題に取り組むこととした。関係の方々の協力を得ながら、これらの課題に取り組んでいく所存である。

令和 4 年 10 月 環境省環境保健部環境安全課

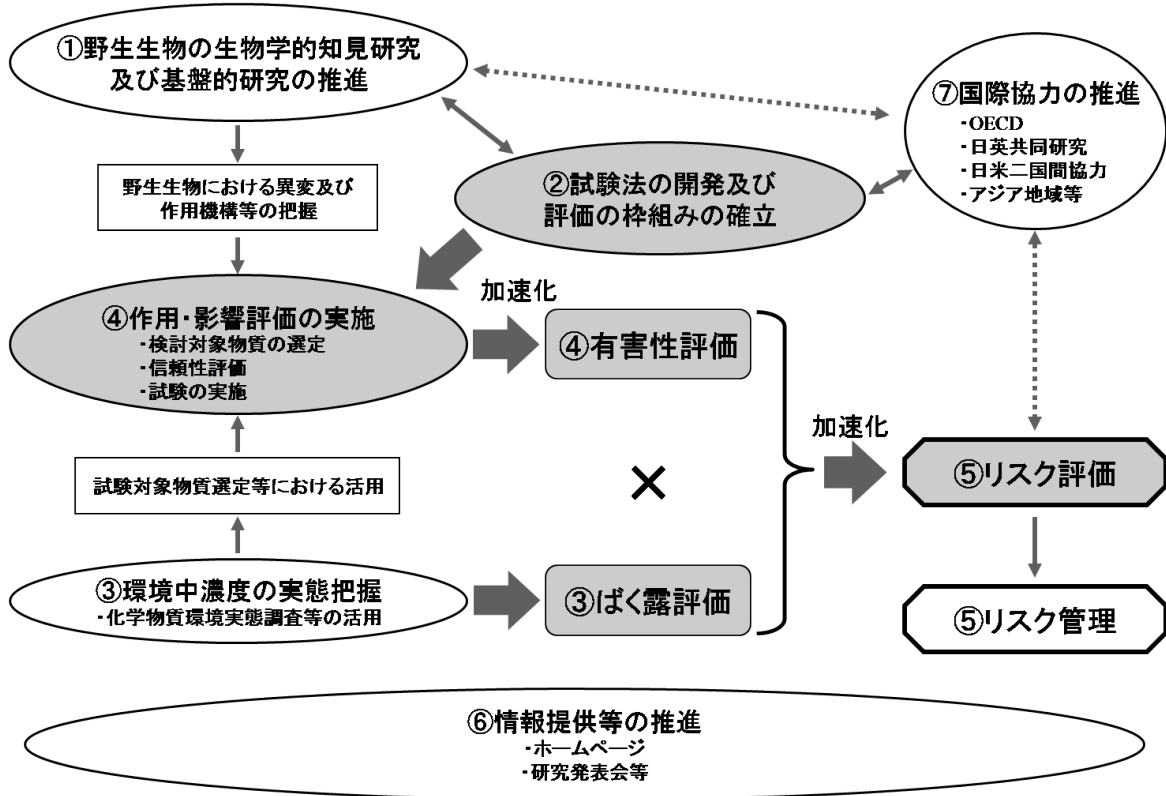
I これまでの取組み

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

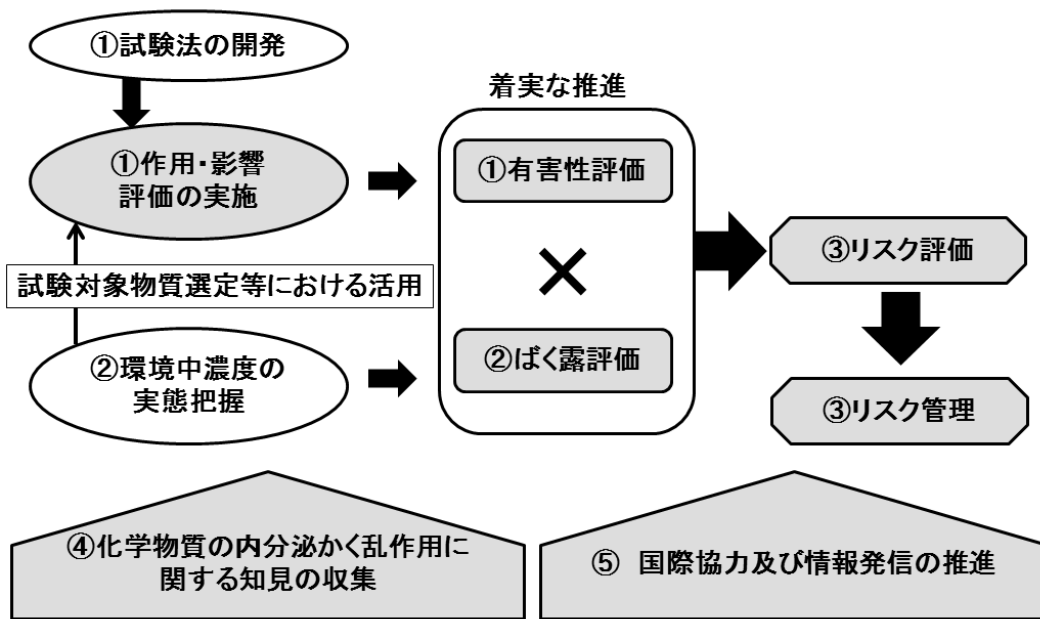
図 1 EXTEND2010 における取組みの概念図



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の「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。
- ・欧州の化学物質の登録、評価、認可及び制限に関する規則(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20物質群のうち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、疫学調査及びヒトへの投与試験に関する文献や報告等を入手した。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」とする政府見解を前提とした。「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。
- ・ 既存知見の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、第1段階試験管内試験の対象候補物質とした。
- ・ 第1段階試験管内試験結果が陽性であった物質について第1段階生物試験を実施する優先順位付けの対象物質とした。
- ・ 既存知見及び第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」と示唆された物質を、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*))、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*)及び無脊椎動物(オオミジンコ(*Daphnia magna*))である。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(Fish Short-Term Reproduction Assay, FSTRA, OECD TG229)を用いることとした。

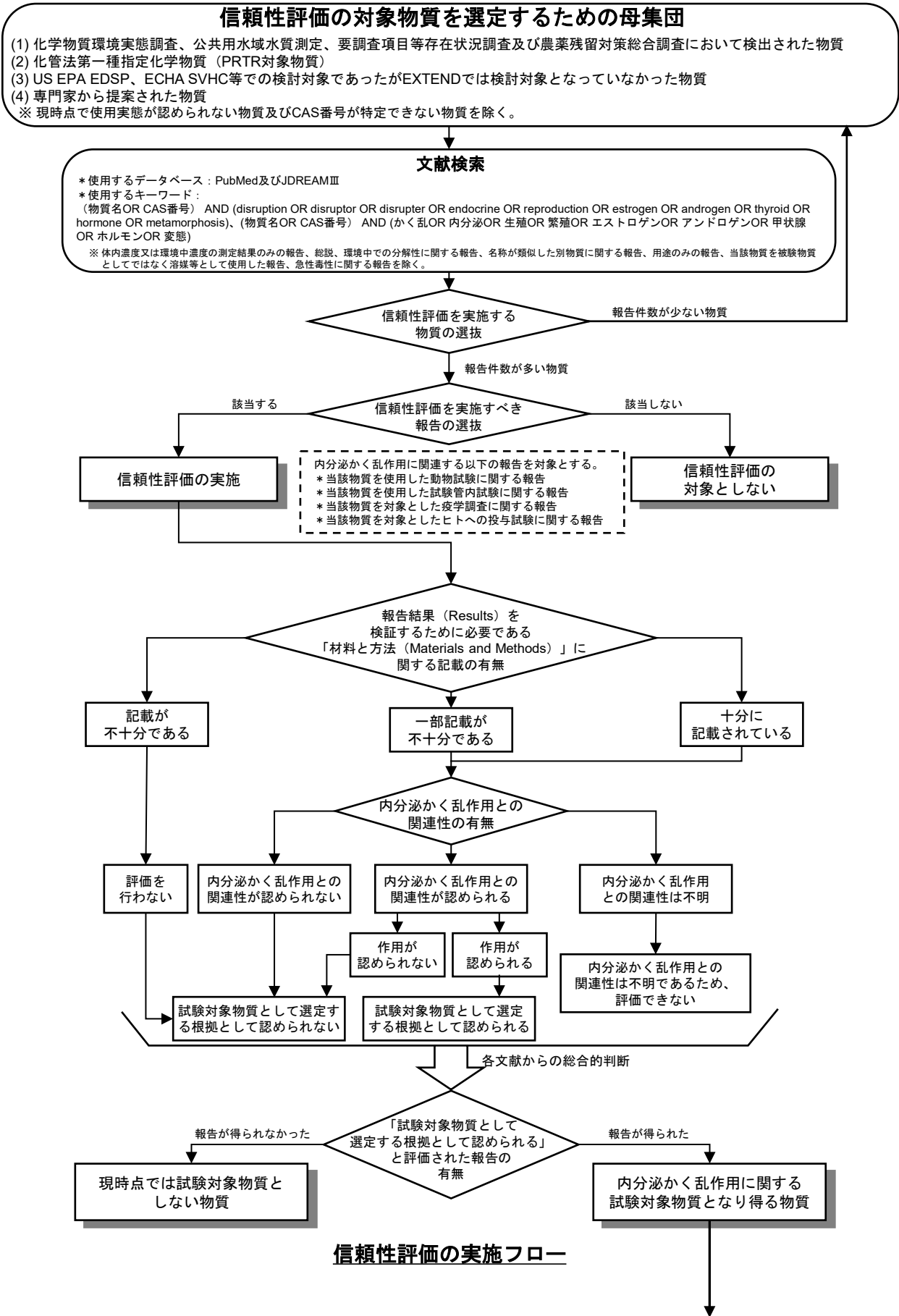
(3) 試験及び評価の実施手順

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。

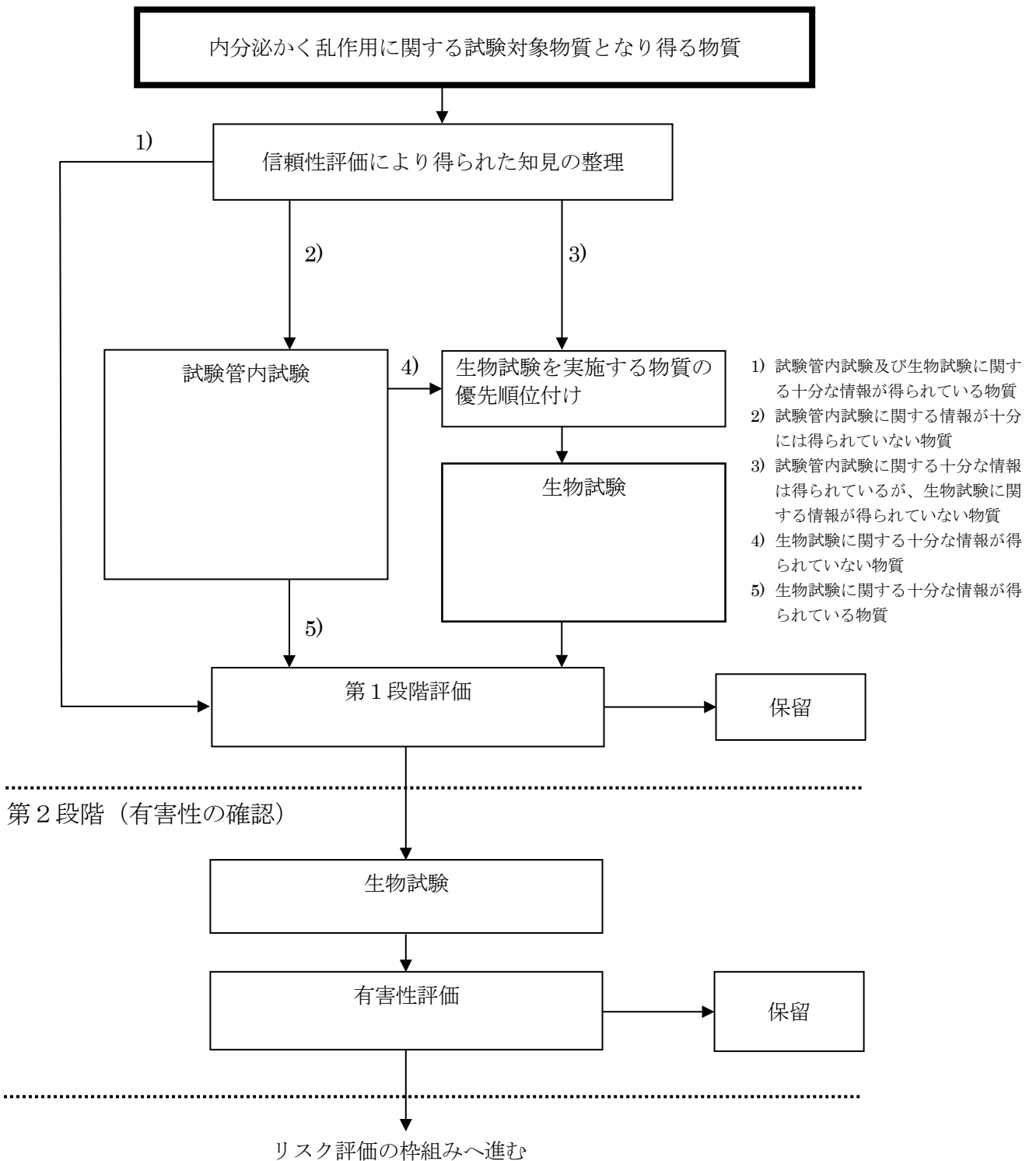
- ① 信頼性評価において確認された既存知見を以下の観点から整理し、第1段階評価を実施するに当たり、必要な情報がどの程度既に得られているかを確認する。
 - ・ 内分泌かく乱作用の可能性が疑われている内分泌系の項目は何か
 - ・ 第1段階で採用する試験管内試験に相当する情報はるか
 - ・ 第1段階で採用する生物試験に相当する情報はるか
- ② 上記の既存知見の整理結果に基づき、次のように試験を行う。
 - (i) 評価すべき内分泌系の項目を選定
 - (ii) 選定された項目について、十分な試験管内試験の情報が得られていない物質については、試験管内試験を実施
 - (iii) 選定された項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

幼若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）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。メダカ拡張 1 世代繁殖試験（Medaka Extended One Generation Reproduction Test (MEOGRT, OECD TG240)）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。

両生類変態試験（Amphibian Metamorphosis Assay, AMA, OECD TG231）及び幼生期両生類成長発達試験（Larval Amphibian Growth and Development Assay, LAGDA, OECD TG241）については、試験法の実用化に向けて影響既知の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、試験法開発については保留（中断）とし、EXTEND2016 においては不採用とした。

（1）魚類の試験法開発

① 魚類短期繁殖試験（FSTRA, OECD TG229）

本試験は、当初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、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及びアロマト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 OECD において採択された。

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修正する形で、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 35～42 日齢（5～6 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様作用については、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様作用も検出できる。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様作用、抗エストロゲン様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 (MEOGRT, 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 両生類変態試験 (AMA, OECD TG231)

AMA は、アフリカツメガエルの Nieuwkoop and Faber (NF) stage 51 の幼生を試験生物として、21 日間にわたる化学物質によるばく露を行う。ばく露開始から 7 日後に、

一部の個体を取り上げて、発達段階（NF stage）の確認、頭胴長、後肢長及び体重の測定を行う。また、ばく露終了時に生存する個体について、ばく露7日後と同様のエンドポイントを調べるほか、一部の個体（5個体/水槽）を対象に甲状腺組織を検査し、異常の有無及び重症度を調べる。本試験では、これらのエンドポイントの測定結果を基に、化学物質の甲状腺受容体を介した作用のほかに、甲状腺ホルモンの生合成系、視床下部—下垂体—甲状腺系（HPT 軸）に対する作用を検出できるとされている。

AMA のテストガイドライン（TG231）は、2009年（平成21年）に公表されている。AMA については、OECD による TG 化のためのリングテスト（Phase 1、2 及び 3 Validation）において、甲状腺ホルモン作用の陽性物質及び甲状腺系（甲状腺ホルモンの合成・代謝系）に対する阻害作用を持つ化学物質等を用いた試験が実施されている。また、EXTEND2010/2016 の枠組みでの適用性及び有効性の検証、第1段階評価で参考とする知見の収集等を目的として、平成27年度から甲状腺に及ぼす影響に関わる内分泌かく乱作用の陽性物質及び陰性物質を用いた検証試験が実施されている。

② 幼生期両生類成長発達試験（LAGDA, 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）、生殖及び生長等への影響を評価する試験であり、EXTEND2010 では、甲状腺ホルモン様作用又は抗甲状腺ホルモン様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生殖腺が成熟するまでばく露を行う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（LAGDA, OECD TG241）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 α レポーター遺伝子試験	◎メダカを用いた魚類短期繁殖試験 (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 β レポーター遺伝子試験	◎メダカを用いた魚類短期繁殖試験 (OECD TG229)	◎メダカ拡張 1 世代繁殖試験 (OECD TG240, MEOGRT)
抗アンドロゲン様作用	◎メダカアンドロゲン受容体 β 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 β 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簡易スクリーニング試験	◎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 からの通算で、現時点（2022 年 10 月）までに、母集団¹から信頼性評価の対象物質として 228 物質を選定し、213 物質について信頼性評価が完了し、そのうち 159 物質（17 β -エストラジオール及び 17 α -エチニルエストラジオールを含む²）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 2-1 参照）。

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、アンドロゲン作用、抗アンドロゲン作用、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用及び脱皮ホルモン作用）を対象として第 1 段階試験管内試験を実施した。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（メダカを用いた魚類短期繁殖試験：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特性の確認を踏まえ、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）

¹ 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

² 17 β -エストラジオール（E2）及び 17 α -エチニルエストラジオール（EE2）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のため、信頼性評価は実施していない。

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)

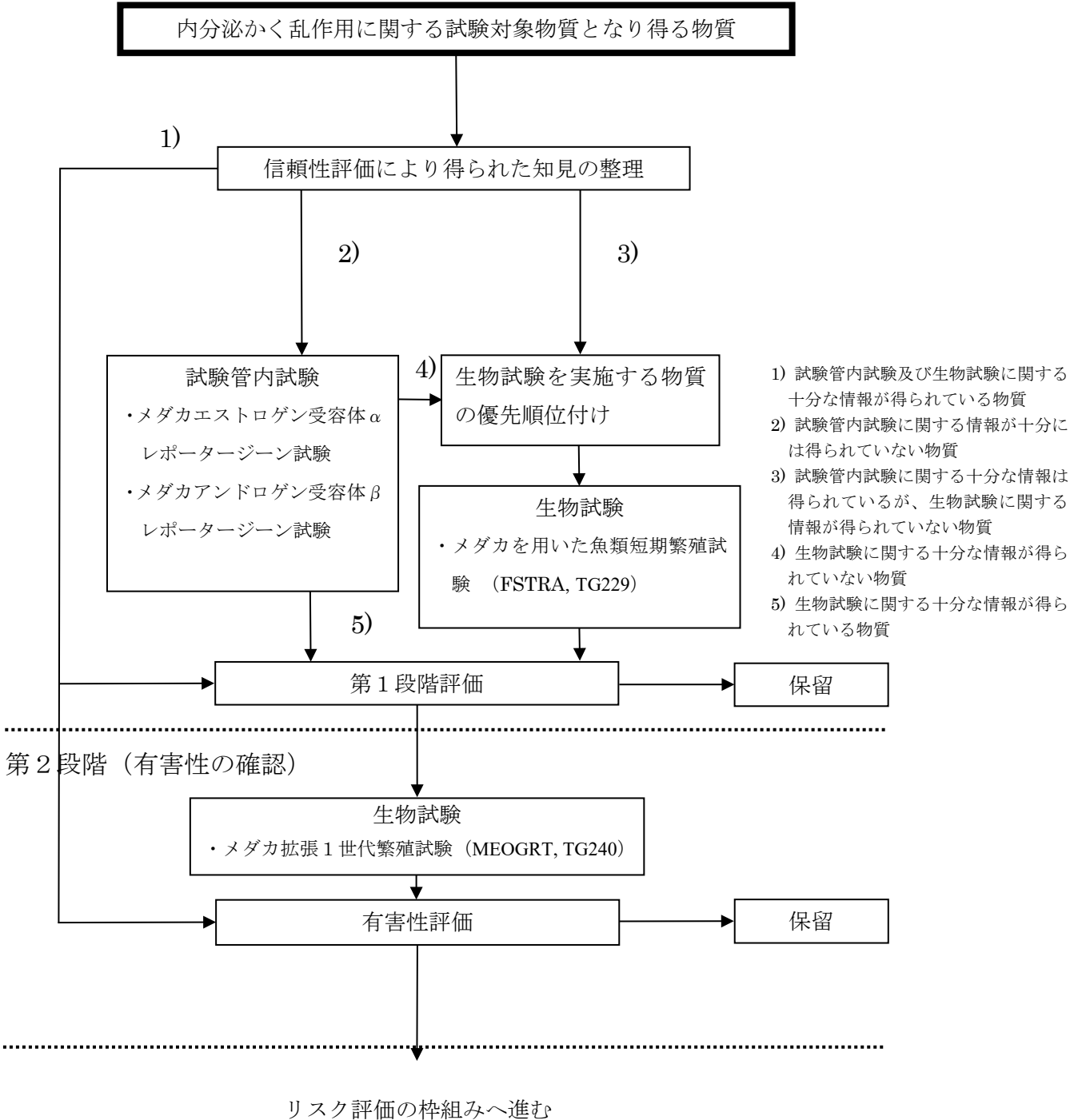


図5 内分泌かく乱作用の有害性評価の枠組み
 生殖に及ぼす影響
 (抗アンドロゲン様作用、等)

第1段階 (内分泌系に対する作用の有無を確認)

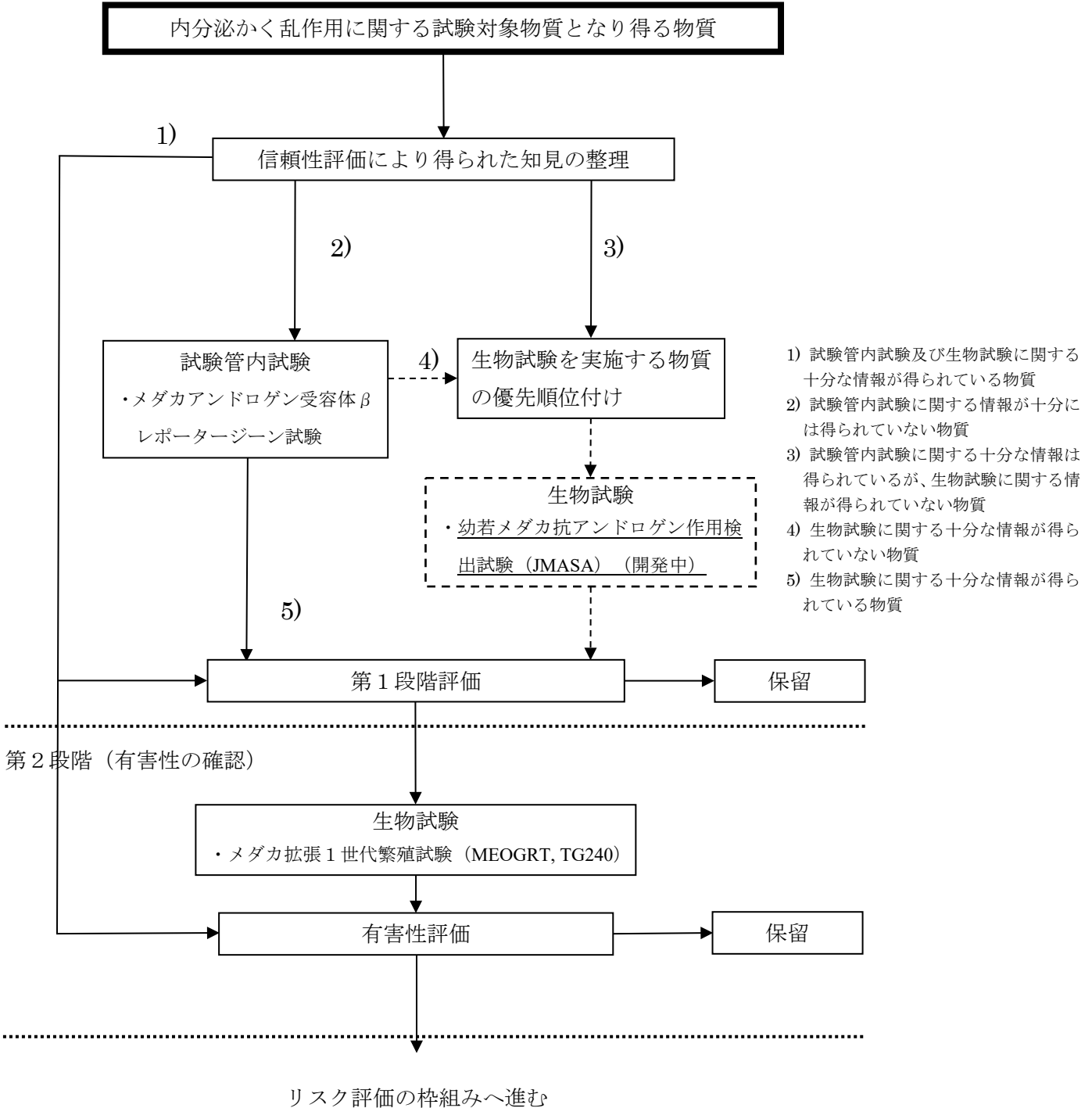


図6 内分泌かく乱作用の有害性評価の枠組み
甲状腺に及ぼす影響

(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)

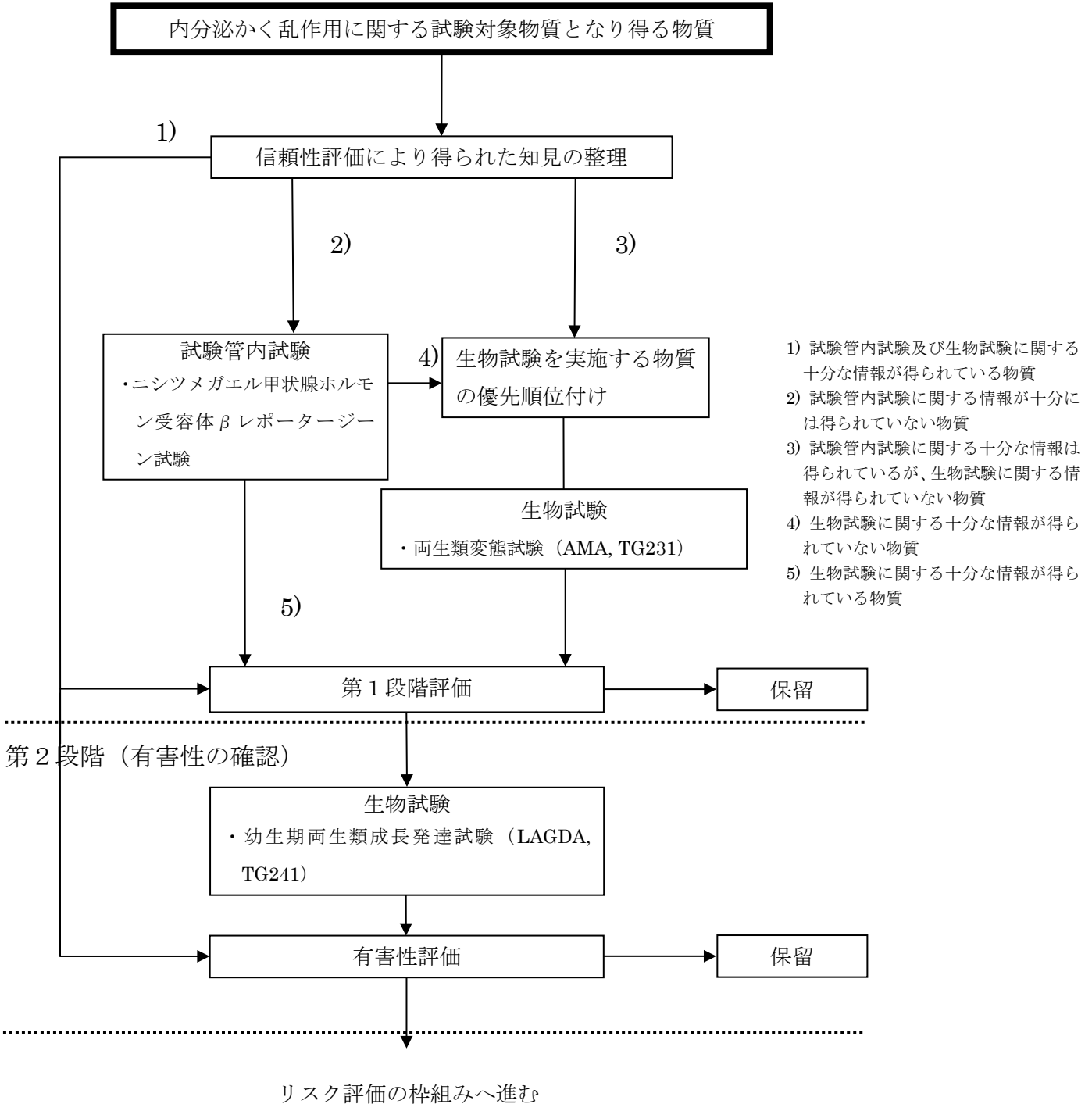
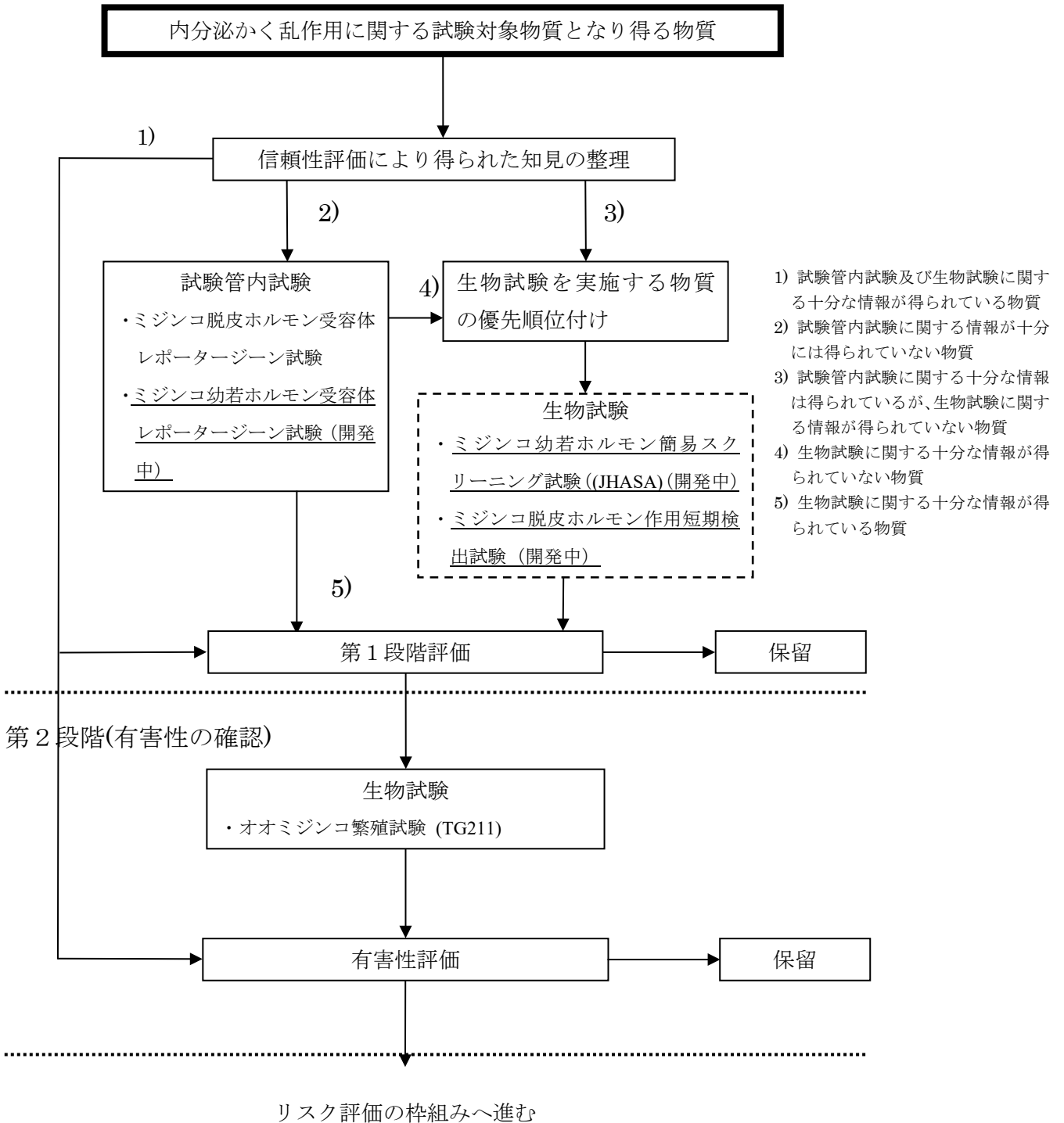


図7 内分泌かく乱作用の有害性評価の枠組み
成長に及ぼす影響

(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からの通算で、「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159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2-1参照)。

陽性の結果が得られた44物質のうち23物質についてメダカを用いた第1段階生物試験(FSTRA, OECD TG229)が実施され、そのうち14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(様)作用が示唆された12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 β エストラジオール、17 α エチニルエストラジオール、4-*t*ブチルフェノール、抗エストロゲン様作用が示唆された2物質:りん酸トリフェニル、フタル酸イソブチル)、18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(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 β エストラジオール、17 α 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、4-*t*ブチルフェノール)(付属資料2、付表2-2参照)。

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(FSTRA, 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³。

(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2-3参照)。

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 $\mu\text{g/L}$)を確認した。

以後順次MEOGRT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 $\mu\text{g/L}$)を確認した。

³ Onishi *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 *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.

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 α 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 MEOGRT 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⁴。

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）。

また、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。基本的に入手可能な調査結果を活用したが、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（4-ノニルフェノール（分岐型）、ビスフェノール A、4-*t*オクチルフェノール、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、ジクロフェナク等）

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」

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

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、植物保護製品規則及び殺生物製品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、規制が動きつつある。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 の結果等に基づき、繁殖に対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。

4-ノニルフェノール（分岐型）の MEOGRT の結果は、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参照され、この結果も踏まえ水環境中でリスクが懸念される箇所が数多く確認された。ビスフェノール A の MEOGRT の結果は、化審法の下で行われたリスク評価におけるキーデータよりも高濃度であり、評価結果を変えるものとはならなかった。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。4-*t*-オクチルフェノール等の結果については、今後リスク評価における活用、参照等が期待される。一方、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

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⁵で公開した。

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（FATRA, 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ゼノパス自由胚甲状腺試験（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幼若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。現在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については、米国と共同でOECDに一部改定を提案し、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

⁵ <http://www.env.go.jp/chemi/end/extend2010/seminar.html>

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幼若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 から通算して、2022年7月までに、信頼性評価の対象物質として228物質を選定し、213物質について信頼性評価が完了し、そのうち159物質を「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159物質のうち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23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（FSTRA, OECD TG229）が実施され、そのうち14物質について内分泌かく乱作用を持つことが示唆され、18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（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よる影響の評価については、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。ここでは、“An endocrine disruptor is an exogenous substance or mixture that alters function(s) of the endocrine system and consequently causes adverse health effects in an intact organism, or its progeny, or (sub)populations.”

(内分泌かく乱物質とは、内分泌系の機能を変化させ、その結果として健全な生物個体やその子孫、または(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である。)と記述しており、これが内分泌かく乱物質 (endocrine disruptor) の定義として広く共有されることになった⁶。

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⁷。

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⁸。

⁶ Global Assessment of the State-of-the Science of Endocrine Disruptors (2002) (http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/)

日本語訳 (厚生労働省版、日本語訳: 国立医薬品食品衛生研究所): 内分泌かく乱化学物質の科学的現状に関する全地球規模での評価 (<https://www.nihs.go.jp/edc/global-doc/index.html>) 及び (環境省版): 内分泌かく乱化学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>) を基に一部追加修正した。

⁷ 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/)

⁸ 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)

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リーグループ（EDTA AG）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「Guidance Document on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption」が2012年に取りまとめられ⁹、2018年にはその改定版「Revised Guidance Document 150 on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption」が公開された¹⁰。

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¹¹。

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

⁹ Guidance Document on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption (2012)
(<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdguidancedocumentonstandardisedtestguidelinesforevaluatingchemicalsforendocrinedisruption.htm>)

¹⁰ Revised Guidance Document 150 on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption (2018)
(<https://www.oecd.org/chemicalsafety/guidance-document-on-standardised-test-guidelines-for-evaluating-chemicals-for-endocrine-disruption-2nd-edition-9789264304741-en.htm>)

¹¹ 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 (2012)
([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))

(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¹²。

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¹³。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6-1参照)。

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。該当する法規制は、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)である。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¹⁴。この文書は、1999年以来EU規則によってハザード分類

¹² SAICM Emerging Policy Issues and Other Issues of Concern (2012)
(<https://www.saicm.org/Implementation/EmergingPolicyIssues>)

¹³ 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>)

¹⁴ European Parliament, Endocrine Disruptors: From Scientific Evidence to Human Health Protection (Mach,

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。

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¹⁵（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上市並びに使用ができなくなる。REACH 規則の運用事例について付属資料 7 に示した。

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 7-1 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 7-1 参照）。

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

2019)

([https://www.europarl.europa.eu/thinktank/en/document/IPOL_STU\(2019\)608866](https://www.europarl.europa.eu/thinktank/en/document/IPOL_STU(2019)608866))

¹⁵ 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>)

物保護製品中の活性成分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製品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。有害性と内分泌特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とされている。

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）との理由から、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¹⁶。

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、

¹⁶ 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）

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¹⁷（付属資料7、付表7-2参照）。

ED (Endocrine Disrupter) の定義としてはWHO/IPCS(2002)を採用しており、内分泌特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) においてばく露によるリスクの蓋然性がある (probable to very probable risk of exposure) 物質が選別されている。

4.4 EUにおける研究動向 (EURION)

内分泌かく乱物質の同定法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¹⁸。

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。

5. 北米における対応状況

5.1 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、1996年に成立した食品品質保護法 (Food Quality Protection Act) 及び飲料水安全法 (Safe Drinking Water Act) 改正法により、ヒトの健康や野生生物（水生及び陸生の脊椎動物が対象）に有害な影響を及ぼすようなエストロゲン作用、アンドロゲン作用及び甲状腺ホルモ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¹⁹。

(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。

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

¹⁷ List of Endocrine Disrupting Chemicals (Final report, December 21th, 2017 (Some mainly editorial changes were made in September 2018))

(https://images.chemycal.com/Media/Files/DK_ED-list-final_2018.pdf)

¹⁸ <https://eurion-cluster.eu/>

¹⁹ United States Environmental Protection Agency (<https://www.epa.gov/endocrine-disruption>)

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り、ラット2世代試験、メダカ拡張1世代繁殖試験、幼生期両生類成長発達試験及び鳥類多世代繁殖試験の4種類である。

(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 (付属資料8, 付表8-1参照)。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。

(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²⁰。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させるための指令 (Directive to Prioritize Efforts to Reduce Animal Testing)」と題するメモラ

²⁰ <https://www.federalregister.gov/articles/2015/06/19/2015-15182/use-of-high-throughput-assays-and-computational-tools-endocrine-disruptor-screening-program-notice>

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²¹。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法（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は、具体的には *in vitro*、*in silico* 等の試験法を指し、新規でハイスケールプットな、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 8-2 参照）の開発を目標としている。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、ステロイド産生、甲状腺ホルモン系のためのハイスケール試験（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 vitro* から *in vivo* への外挿（IVIVE）、生物活性とばく露との比（iBER）、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）。

5.2 カナダ

カナダ政府（Government of Canada）のサイトにて“Consideration of endocrine-related effects in risk assessment”として、特に内分泌かく乱作用のリスク評価に関する考え方が示されている（最新更新日 2022 年 2 月 11 日）²²。内分泌かく乱作用及び内分泌関連作用の扱いについては、リスク評価に向けた物質の優先順位付け及び物質のハザードキャラクター化が Canadian Environmental Protection Act（CEPA, 1999）における化学物質管理の重要な側面である。2016 年 7 月に公表された「有機化学物質の生態リスク分類（Ecological Risk Classification of Organic Substances）」による評価対象物質の優先順位付けでは、ホルモン受容体結合性が考慮されている。

関連情報を考慮したリスク評価を行うべき物質として、ペルフルオロオクタン酸（PFA）、ポリ臭素化ジフェニルエーテル類（PBDE）、ヘキサブロモシクロドデカン（HBCD）、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類、ビスフェノール A（BPA）、その他難燃剤について検討が進められている。

Chemicals Management Plan Science Committee による Committee report が 2018 年に公開された²³。この中の「内分泌かく乱化学物質に対するカナダの現在の取組み（Current approach in Canada for addressing endocrine disrupting chemicals）」によると、CEPA 1999 では、化学物質を内分泌かく乱化学物質（EDC）として特定することを明確には要求して

²¹ <https://www.epa.gov/sites/default/files/2019-09/documents/image2019-09-09-231249.pdf>

²² Consideration of endocrine-related effects in risk assessment, Fact sheet series: Topics in risk assessment of substances under the Canadian Environmental Protection Act, 1999 (CEPA 1999)

²³ Committee report - July 18-19 2018, Chemicals Management Plan Science Committee

Advancing consideration of endocrine-disrupting chemicals under the Canadian Environmental Protection Act, 1999

(<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/chemical-substances/chemicals-management-plan/science-committee/meeting-records-reports/committee-report-july-18-19-2018.html>)

おらず、新規及び既存化学物質を評価するために各省庁が採用しているリスクベースのアプローチが検討されている。SC では、EDC を既存規制プロセスによって適切に特定、評価、管理することが可能であるという見解と、EDC の特殊性ゆえに追加の政策的対応が必要であるという見解とに分かれたが、この点については統一見解を示さずに今後の重点課題として以下の項目について論点整理している。

- ・ 用量反応性（非単調用量反応（Non-Monotonic Dose Response）や低用量毒性等）
- ・ 内分泌かく乱作用（エストロゲン、アンドロゲン、甲状腺ホルモン及びステロイド産生以外の作用も含む）
- ・ 感受性の窓
- ・ エピジェネティクスを含む多世代影響
- ・ ヒト、哺乳類モデル、生態学的生物種（脊椎動物、無脊椎動物）等の種間外挿
- ・ 環境濃度に近いばく露（生物活性一ばく露比（Bioactivity-Exposure Ratios）の利用拡大）
- ・ ヒト集団の多様性、感受性、脆弱性
- ・ 混合物、同時ばく露、非化学的ストレス因子による累積リスク
- ・ 代替試験系による結果解釈

6. アジアにおける対応状況²⁴

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。

²⁴ The 15th Tripartite Policy Dialogue on Chemical Management Policy in China, Japan and Korea (2021)

Ⅲ 今後の方向性

1. 基本的な考え方

(1) 新たなプログラムの位置付けとねらい

化学物質の内分泌かく乱作用については、これまでさまざまな調査研究や試験法開発などが進められてきており、環境省でも EXTEND2016 に至るまでのプログラムの下でさまざまな取組みを進めてきた。一連のプログラムの下で化学物質の内分泌かく乱作用を評価するための枠組みを確立し、そこで用いるべき試験法の開発を進めてきた。これまでの取組みを通じてわが国が開発してきた複数の試験法が OECD テストガイドラインとして確立されたほか、これらを活用して体系的に試験・評価を進めたことなどを通じて、成果を上げつつある。しかし、

- ・この評価の枠組みで用いるべき試験法の中には、未だ未確立のものがあること。この点も含め、内分泌かく乱作用に着目した試験は、十分に進んでいるとは言えないこと。
- ・欧州では化学品や農薬の規制において内分泌かく乱作用の評価が進められつつあり、その運用が本格化していること。
- ・米国では新規の試験評価手法の検討が精力的に進められつつあること。
- ・他の地域でも、規制の中で内分泌かく乱作用を考慮する国がみられること。

等踏まえると、環境省として引き続き対応を進めていく必要がある。

EXTEND2016 で進められてきた取組みについては、基本的な考え方については根本的な見直しは必要ないものの、新たな知見や海外の検討の動向等を踏まえ、改善、改良を加えることが重要である。また、試験法の確立、これを受けた試験の実施及びその結果の評価に要する期間を考慮すると、新たなプログラムには従来の5年目途よりも長い期間を見込む必要があると考えられる。

このため、EXTEND2016 の枠組みを踏襲しつつ所要の改善や新たな要素を加えた上で、2030年（令和12年）を見据えた新たなプログラムを構築し、内分泌かく乱作用に関する検討を着実に進めていくこととする。新たなプログラムは、これまでの名称を踏襲して EXTEND (Extended Tasks on Endocrine Disruption) 2022 と称することとする。

EXTEND2016 に至るプログラムでは、環境中の生物への影響に的を絞った上で、試験法の開発を行い、試験データを取得し、評価を進めてきた。これまでの実績と強みを活かす形で、本プログラムでは関係省庁における役割分担を踏まえつつ、引き続き環境中の生物への影響について優先的に取り組む物質の評価を着実に進めるとともに、海外の動向を踏まえつつリスク管理に向けた議論を深めていくこととする。また、環境中の化学物質が人の健康に及ぼすリスクについても情報収集を行い、子どもの健康と環境に関する全国調査（エコチル調査）等、国内で行われているさまざまな取組みとの連携を視野に入れる。

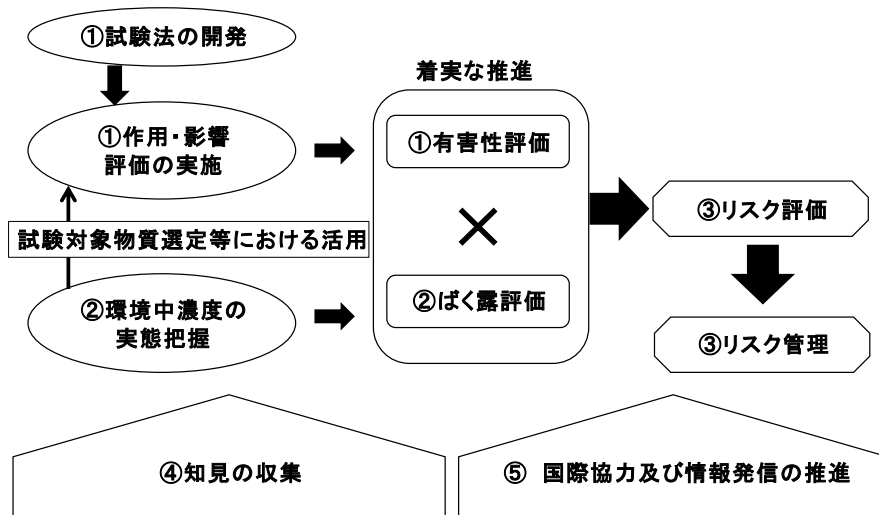
また、OECD等を通じた試験法の確立への協力、二国間協力等を通じた知見・情報の収集、わが国における取組みの情報発信等を進めるとともに、諸外国の動向や OECD、WHO等の国際的な検討の動向に常に留意し、それらの成果を最大限活用する。

(2) 本プログラムの構成

これまでの取組みの成果と課題を踏まえ、EXTEND2022（以下「本プログラム」という）はEXTEND2016と同じく以下の構成で進める。（図8）

- 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 知見の収集
- ⑤ 国際協力及び情報発信の推進

図8 EXTEND2022における取組みの概念図



2. 具体的方針

2.1 作用・影響の評価及び試験法の開発について

EXTEND2010の初期に化学物質の内分泌かく乱作用を評価するための枠組みを定め、以後はそれに基づき、候補物質の選定、既存知見の信頼性評価、試験管内試験及び生物試験を実施し、物質の評価を行ってきた。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

この枠組みの基本的な考え方は変更する必要がないと考えられるため、現状の取組みを着実に進めていく。

内分泌かく乱作用に係る影響を評価するための試験法については、これまでのプログラムを通じて魚類、両生類及び甲殻類を用いた手法の開発を進め、OECDにおいて多く

の試験法が採択された。このような試験法の開発に引き続き注力する。

以上より、作用・影響評価と試験法の開発については、本プログラムにおいても基本的に EXTEND2010 以来とられてきた方向性を継続することが妥当と考えられるが、より効率的・効果的に進めるため、所要の改善を加えることとする。

(1) 検討対象物質の選定

ExTEND2005 以来、化学物質の環境中の存在状況に関する情報を活用して検討対象物質を絞り込み、物質の評価を進めてきた。本プログラムでも環境中の存在状況に関する情報を引き続き重視するが、内分泌かく乱作用や有害性に関する知見をより積極的に活用するよう努める。諸外国、国際機関等の動向を常にフォローし、それらで得られた知見を最大限活用する。欧米の規制やプログラムにおいて検討されている物質については、その評価の考え方も十分確認しながら本プログラムにおいて候補物質とすべきか否かを検討する。また、内分泌かく乱作用を有する可能性を推測するための新たな評価手法に関する内外の研究の進展を踏まえ、本プログラムにおいてこれらの手法の活用を積極的に検討する。

これまでは検討対象物質の選定において化学物質環境実態調査の結果を重視してきたため、結果として選定された物質は一般的な工業化学物質が中心であった。本プログラムでは、工業化学物質に加え、農薬、医薬品を含む PPCPs (Pharmaceuticals and Personal Care Products) 等についても積極的に検討対象に加えることとする。

(2) 文献情報に基づく影響評価 (信頼性評価)

EXTEND2010 以来、検討対象物質について、その時点での最新の検索によって抽出された文献情報によって内分泌かく乱作用に関連する影響の評価を行い、試験を行う対象物質の絞り込みを行ってきた。この方針については継続することが妥当と考えられるが、農薬、医薬品等の物質については参照すべき知見が豊富に得られる可能性があるため、効率化を重視しつつ文献収集とその信頼性評価を行う。

(3) 作用・影響評価の進め方

内分泌かく乱作用を有することが示唆される文献情報が得られた物質について、評価の枠組みに基づき作用・影響評価に向けた試験を実施する。試験を実施する物質の優先順位付けにあたっては、試験法の開発状況、環境中の存在状況等を考慮して、効率よく実施できるよう留意する。

評価対象とする影響範囲は、従来どおり生殖、発達 (変態等) 及び成長とする。ほかに加えるべきものがあるか否かについて、本プログラムの中で検討を続けることとする。

作用・影響評価については、既に確立した試験・評価に関する 2 段階の枠組みの考え方を踏襲する。作用の確認については従来どおり受容体を介した発現を確認するための レポータージーンアッセイを中心に据えるが、受容体を介さない影響発現も捉えるため、視床下部-下垂体-生殖腺軸 (HPG 軸)、視床下部-下垂体-甲状腺軸 (HPT 軸) 等への影響を考慮した試験・評価の運用を加えることとする。

New Approach Method[ologies] (NAMs) と呼ばれる新たな評価手法についても、活

用策を検討する。これらの手法は、欧米では主として動物試験代替の観点から広く開発が進められているが、本プログラムでも活用可能性の検討を行う。多くの化学物質から検討対象物質を抽出するスクリーニング段階において活用すること等が考えられる。

これらに加え、複合影響評価の視点を加えることとする。これまでは基本的に個別物質に着目して評価を進めてきたが、分解物、代謝産物等を含め、作用、構造等が共通する物質については合わせて評価することが考えられるので、欧米における検討の動向を踏まえ、より充実した評価が実施できるように留意する。

(4) 試験法の開発

本プログラムでは、引き続き環境中の生物に対する影響評価のための試験法を中心に開発を進めるものとする。EXTEND2010 において構築された評価の枠組みに基づき、必要な試験法の開発に注力し、魚類、無脊椎動物等を用いる開発途上の試験法を完成させる。

並行して、新たな評価手法 (NAMs) に関する情報収集を進め、その活用を検討することとするが、必要となる手法の開発に乗り出すことも視野に入れる。メダカ拡張1世代繁殖試験 (MEOGRT, OECD TG240) 等、多くの生物を使用する試験については、手順の簡素化やより簡易な試験による代替可能性についても併せて検討する。

試験法の開発は、OECD 加盟国との協力により効率的かつ効果的に進めるほか、日米及び日英の二国間協力事業を活用して進める。このような試験法にとって国際的な検証は極めて重要であるので、積極的にこれに参加する。本プログラムの下で未だ位置付けられていない試験法の国際的な検討についても、これまでの成果と経験を踏まえた貢献の視点から、可能な範囲で参加するものとする。

手法として確立された試験法であっても、本プログラムの下での活用に向けて重要と考えられる場合は、検証に向けたデータの追加的な取得を検討する。

(5) 試験の実施と結果の評価

試験の実施に当たっては、効率化を重視する。試験を実施する物質の優先順位付けにあたっては、試験法の開発状況、環境中の存在状況等を考慮して、効率よく実施できるよう留意する。文献情報や諸外国との情報共有によりわが国で採用している試験と同等の試験によるデータが得られた場合等は、そのデータ等を基に作用・影響評価を行うものとする。

EXTEND2010 及び EXTEND2016 の下で試験・評価を進めてきたが、信頼性評価を経て「内分泌かく乱作用に関する試験対象となりうる物質」とされながら未だ試験が行われていない物質が残っている。第1段階試験(試験管内試験及び生物試験)の実施を通じて、内分泌かく乱作用を有する物質の抽出を進めることとする。これまでに実施されたのは魚類短期繁殖試験 (FSTRA, OECD TG229) のみであったが、新たに両生類変態試験 (AMA, OECD TG 231)、幼若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) に係る試験に着手し、多様な影響の評価を進める。有害な影響を見極めるためには、第2段階生物試験を行う必要があり、これまでも実施してきたメダカ拡張1世代繁殖試験 (MEOGRT, OECD TG240)

を、優先度の高い物質を対象として着実に実施する。

甲状腺ホルモン作用による影響を評価するため、両生類試験を本格的に実施する。第1段階生物試験としての両生類変態試験（AMA, OECD TG231）に加え、必要な物質については第2段階生物試験として幼生期両生類成長発達試験（LAGDA, OECD TG241）を実施する。並行して、このようにして得た両生類のデータを、従来より行われている生態リスク評価の下で活用するための考え方を整理する。一方、欧州を中心に魚類を用いた甲状腺ホルモン様作用の検出・評価手法に関する検討が進められているので、その動向も見据えて本プログラムにおける活用可能性を検討する。

試験結果を受けた作用・影響評価については、文献等で得られた既存知見、欧米における評価結果等も参照しつつ、証拠の重み付け（weight of evidence）の視点を踏まえて総合的に行う。

2.2 環境中濃度の実態把握及びばく露の評価について

化学物質の環境リスクを的確に評価するためには、有害性に関する情報とともに、環境中における存在状況を把握することが必要不可欠である。EXTEND2016 までの考え方を踏まえ、環境省で実施している化学物質環境実態調査、水環境保全に向けた取組みのための要調査項目等の環境調査、農薬残留対策総合調査の結果等を参照するほか、製造使用量、環境排出量、それらを踏まえた予測推計結果等の情報を広く活用する。

2.3 リスク評価及びリスク管理について

（1）リスクに着目した評価の視点

WHO/IPCS によれば、「内分泌かく乱物質（Endocrine Disruptor）とは、内分泌系の機能を変化させ、その結果として健全な生物個体やその子孫、または（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である。」とされている²⁵。OECD では、これを前提として内分泌かく乱物質の試験・評価に係る概念的枠組み（Conceptual Framework）を構築しており、その下で Level 4 または 5 に位置付けられる試験は、内分泌かく乱作用に関連する悪影響を評価するものとされている。

EXTEND2016 においては、これらの考え方を基本として、上記に相当する試験を実施し、その悪影響に着目してそのリスクを評価するというアプローチを採用したが、本プログラムでもこれを踏襲する。これはハザードベースを重視する欧州のアプローチとは異なるものである。既に行ってきたように、内分泌かく乱物質に相当するか否かについて詳細に判断するより、有害性に基づき環境リスクが高いと見込まれる物質の探索・同定の視点を重視する。これらを踏まえ、本プログラムを通じて得られた知見に基づき、評価対象物質の内分泌かく乱作用について適切に言及しつつ、リスク評価において参照すべき有害性に着目して評価をとりまとめる。

（2）リスク評価及びリスク管理

化学物質の環境リスク評価においては、内分泌かく乱作用に伴う悪影響を単独で評価

²⁵ “An endocrine disruptor is an exogenous substance or mixture that alters function(s) of the endocrine system and consequently causes adverse health effects in an intact organism, or its progeny, or (sub)populations.”

するのではなく、化学物質によるさまざまな影響を俯瞰して総合的に評価する必要がある。環境省では、

- ・ 多数の化学物質の中から環境リスクが高い可能性があるものを効率的に選び出し、リスク管理の検討に向けた詳細な評価を行う候補物質を抽出することを目的とする評価
- ・ 法律に基づく基準設定や規制導入を含め、環境行政としてリスク管理の必要性を判断するための詳細なリスク評価

の2つのレベルに対応するリスク評価を行っているので、化学物質としてのリスク評価はこれら既存の体系に委ねることが適当である。

既存のリスク評価体系の下で、EXTEND2016 までのプログラムで得られた知見の活用は既に始められている。リスクが懸念されると見込まれる物質については既存のリスク評価体系の下で評価を行い、リスク管理に向けた対応がとられるように、本プログラムにより得られた知見を速やかに共有する。

一方、既存のリスク評価体系の下で、内分泌かく乱作用を示し繁殖影響等の悪影響を生ずる物質の確認を進めるための枠組みは、未だ構築されていない。EXTEND2016 までのプログラムにおいて、内分泌かく乱作用の試験・評価に関する2段階の枠組みを既に構築しているので、本プログラムではこれを踏まえ、リスク管理に係る制度下の評価体系における活用を念頭に置いた内分泌かく乱作用に関する評価の方策の提案を目指す。欧米で検討が進んでいる多様な試験・評価手法の活用可能性を検討するほか、評価の合理化、効率化にも配慮し、評価対象物質群を限定する可能性についても検討を行うなどを通じて、評価の考え方の整理を行う。

2.4 知見の収集について

化学物質の内分泌かく乱作用については、欧米で幅広い研究が進められ、既に規制の運用も開始されているので、その動向を積極的に把握する。特に、わが国とは異なる規制体系の運用実態、新たな試験・評価手法の検討状況等については、重点的に情報収集を行う。

本プログラムの中で未だカバーしていない課題について、必要に応じて研究的視点も含めた検討に着手する。新たな評価手法 (NAMs) の活用に向けた検討を進めるほか、環境側からのアプローチとしての影響指向型解析等を試みる事が考えられる。

環境省の競争的資金（環境研究総合推進費）の下で行政ニーズを踏まえた目的志向型研究を推進するため、同資金の公募に際して内分泌かく乱作用の関連で把握すべき事項を行政ニーズとして適宜発信していくとともに、採択された研究課題の実施に際しては積極的に対応する。

2.5 国際協力及び情報発信の推進について

化学物質の内分泌かく乱作用に関する国際協力として、OECD における試験法のテストガイドライン化をはじめとする国際機関における議論に対し、引き続き参加し、貢献する。従来より進めてきた日英共同研究及び日米二国間協力についても、本プログラムの目的を踏まえ協力関係を継続、発展させる。

情報発信については、ウェブページの一層の充実を図るほか、引き続き公開セミナーを開催する。

（１）OECDにおける検討

化学物質の内分泌かく乱作用に関する試験法、評価手法等については、OECDテストガイドラインプログラムの下で、内分泌かく乱物質の試験・評価（EDTA）に関する検討が進められている。わが国がリード国として開発を進めている幼若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）を早期に完成させる。さらに、これまでに進めてきた試験法開発の実績を踏まえ、新たな試験法の共同開発、国際バリデーション等に積極的に貢献する。

（２）化学物質の内分泌かく乱作用に関する日英共同研究

日英共同研究では、「内分泌かく乱作用を有する化学物質（EDCs）」を共同研究の対象としてきたが、令和2年4月に開始した第5期日英共同研究では、「新たな懸念となる汚染（Contaminants of Emerging Concern（CEC）」を加えることにより対象領域を拡張した。その課題として設定された以下の4分野について、英国との共同研究を進める。

- ① EDCs及びCECの処理排水及び環境中での挙動の推定に関する研究並びにそれらの環境への排出を削減するための方法に関する研究
- ② EDCs及びCECのスクリーニングのための様々な分子メカニズムの解析、*in vitro*のスクリーニングシステムの開発及び各作用メカニズムに関連する遺伝子改変魚の確立に関する研究
- ③ 水生生物及びその他の生物種の生殖、発生及びそれらへの複合的な影響を理解するための化学物質の試験における様々なエンドポイントの評価に関する研究
- ④ EDCs及びCECの野生生物の個体群への影響の推定並びに他の化学物質やストレスとの複合的な影響を含む野生生物に対する環境リスクの解析に関する研究

第5期共同研究の成果については適切に評価を行い、さらなる延長、発展の是非を判断する。

（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

日米二国間協力では、引き続き新たな試験法の開発等について協力して取り組んでいくほか、試験データの共有や物質評価の手法に関する新たな知見の情報交換等を行う。特に米国が開発を進める新たな評価手法については、本プログラムにおける活用を視野に入れて知見の共有を受け、共同による検討等を行う。

（４）新たな協力、連携等

上記の二国間協力事業の推進に加え、新しい試験法開発に関する共同検討のほか、評価事業や規制の運用に関する情報交換等を通じて、新たな協力、連携等の関係の構築を模索する。

(5) ウェブページによる情報提供

環境省における化学物質の内分泌かく乱作用に関するウェブページを精査し、適切な情報を抽出した上で閲覧や更新が行いやすいように整理する。過去の情報はアーカイブ化等により整理する。

また、わが国における化学物質の内分泌かく乱作用に関する対応状況を海外に発信するため、英語によるウェブページを作成し、適切に更新を行う。本プログラムで行ってきた試験・評価の結果については、外国の機関からも照会があるので、英語による発信、提供に努める。

(6) セミナー等の開催

EXTEND2016 の下で、化学物質の内分泌かく乱作用に関する最新の情報を提供するための公開セミナーを開催してきており、特に海外の講演者に依頼して動向の紹介を行うよう努めた。コロナ禍によりイベント運営のオンライン化が進み、海外の講演者への依頼が容易になっているので、本プログラムにおいても海外動向の把握、紹介を重視して公開セミナーを企画、開催する。その際はプログラム構成についても検討を行い、一般の方々に対してもわかりやすく情報を発信するよう努める。

3. 推進体制

EXTEND2016 と同様に、本プログラムでも「化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会」を公開で開催し、物質の作用・影響評価等に関する実務的な検討を行う。また、その結果を定期的に中央環境審議会環境保健部会に報告し、その意見を踏まえて本事業を進めていく。技術的な検討を行う下部の委員会については、本プログラムの方向性を踏まえて検討体制の強化を図る。

なお、本プログラム期間が半ば経過した時点（策定後概ね4年経過時）において、本プログラムの進捗、達成状況等の振り返りを行うものとする。

おわりに

本方針は、令和4年度から令和12年度（2030年度）に及ぶ期間を念頭に置いて、化学物質の内分泌かく乱作用に関する環境省としての対応の方向性をまとめたものである。

新たなプログラムである **EXTEND2022** では、先行した **EXTEND2010** 及び **EXTEND2016** の基本的理念を踏襲した上で、用いるべき試験法を完成させ、確立された新しい試験法を用いた試験・評価に乗り出すことも含め試験・評価の加速化を図る点は、これまでのアプローチの延長上に位置付けられる。その上で、検討対象物質として農薬、医薬品をはじめとする **PPCPs** 等を積極的に取り上げること、欧米で研究が進む新たな評価手法 (**NAMs**) の活用方策を検討すること、リスク管理に係る制度下の評価体系における活用を念頭に置いた内分泌かく乱作用に関する評価の方策の提案を目指すことなど、新たな課題に取り組むこととした。これらを本プログラムにおいて達成すべく対応を進めていきたい。

付 属 資 料

- 付属資料 1 : EXTEND2016 における内分泌かく乱作用に関する試験法の概要
- 付属資料 2 : 信頼性評価及び試験の実施状況
- 付属資料 3 : 化学物質環境実態調査に対して調査を要望した物質の検出状況（平成 28 年度～令和 2 年度）
- 付属資料 4 : 化学物質の内分泌かく乱作用に関する公開セミナー（EXTEND2016）概要
- 付属資料 5 : 経済協力開発機構（OECD）の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）
- 付属資料 6 : UNEP Overview Report（2017）に記載されている潜在的内分泌かく乱特性を根拠とした規制事例
- 付属資料 7 : 欧州における対応状況
- 付属資料 8 : 北米における対応状況
- 付属資料 9 : 主な論文（平成 28 年度～令和 4 年度）
- 付属資料 10 : 化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会委員名簿（平成 28 年度以降）

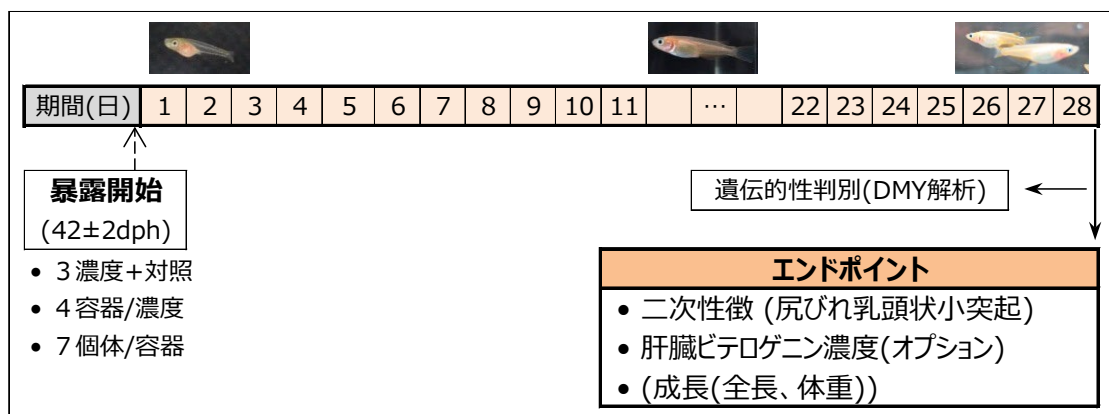
付属資料 1 EXTEND2016 における内分泌かく乱作用に関する試験法の概要

(1) 生殖に及ぼす影響に関する試験（魚類試験）

①魚類短期繁殖試験（OECD TG229 : Fish Short Term Reproduction Assay, FSTRA)

FSTRA は、性的に成熟し繁殖可能な状態にある雌雄の成魚を試験生物とする。試験では、試験水槽にメス及びオス各 3 個体を収容し、21 日間にわたり試験物質（化学物質）によるばく露を行う。ばく露期間中、メスが産んだ卵を回収して産卵数及び受精率を調べる。また、ばく露終了時に生存する個体について肝臓中ビテロゲン濃度及び二次性徴（乳頭状小突起を発現する尻びれの節板数）を測定する。本試験法については、化学物質の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、アロマターゼ阻害作用（ステロイド合成阻害作用）のほか、視床下部一下垂体一生殖腺軸系（HPG 軸）に対する作用も検出可能とされている。FSTRA のテストガイドライン（OECD TG229）は、2009 年（平成 21 年）に公表されているが、その後、日本より提案したメダカを試験生物とする場合の試験条件等が変更された改訂版が 2012 年（平成 24 年）に公表されている。FSTRA については、平成 22 年度より、日米二国間協力の下で試験法の妥当性及び有効性の検証、OECD への TG の修正提案に向けた検討が進められ、以降、平成 28 年度までに、EXTEND2010 の枠組み（第 1 段階評価）で参考とする知見の収集等を目的として、生殖に及ぼす影響に関わる内分泌かく乱作用（作用モード）の陽性物質（魚類等に対する作用が既知の物質）及び陰性物質を用いた検証試験が実施されている。

米国（USEPA）の内分泌かく乱物質スクリーニング計画（EDSP）では、FSTRA をエストロゲン系（Estrogen pathway）及びアンドロゲン系（Androgen pathway）に関する Tier 1（スクリーニング）試験法として採用している。ただし、EDSP に適用される TG（OPPTS 890.1350）では、試験生物をファットヘッドミノー（4.5～6 か月齢）に限定し、エンドポイントには生殖腺体指数（GSI）及び生殖腺組織を必須、血漿中性ステロイドホルモン濃度をオプションのエンドポイントとする点で OECD TG229 と異なる。



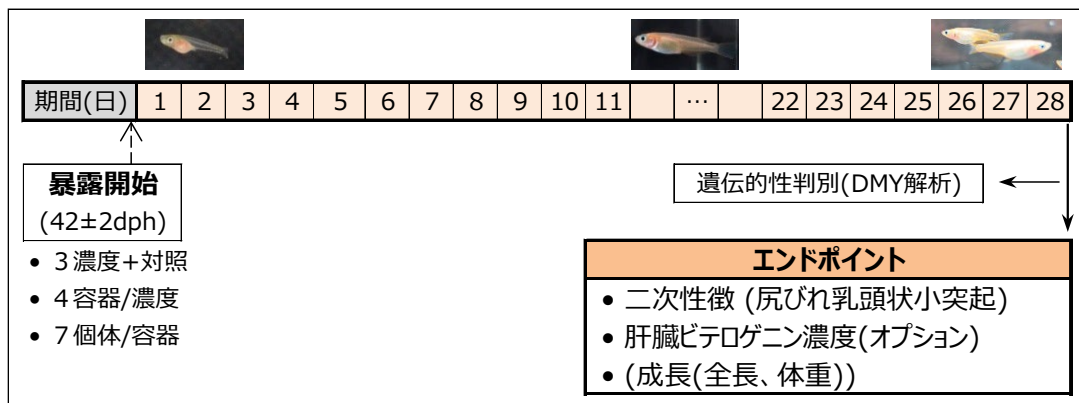
②メダカを用いた魚類 21 日間スクリーニング試験（OECD TG230 : 21-day Fish Assay: A Short-Term Screening for Oestrogenic and Androgenic Activity, and Aromatase Inhibition, 21D-FA)

21D-FA は、エンドポイントに繁殖に関わるエンドポイント（産卵数、受精率等）を含まないこと以外、FSTRA とほぼ同様の試験法である。21D-FA のテストガイドライン（OECD TG 230）は、FSTRA と同様に、2009 年（平成 21 年）に公表されている。21D-FA については、TG 化の過程で、エストロ

ゲン、アンドロゲン、抗アンドロゲン及びアロマトラーゼ阻害作用の陽性物質及び陰性物質を用いた検証試験（リングテスト）が実施されているが、EXTEND の枠組みで検証試験は実施していない。

③ 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：OECD へ GD 化のプロジェクトを提案）

JMASA は、受精後 32～42 日齢（5～6 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様作用については、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様作用も検出できる。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トラ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（GD）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。



④ メダカ拡張 1 世代繁殖試験（OECD TG240：Medaka Extended One Generation Reproduction Test (MEOGRT)）

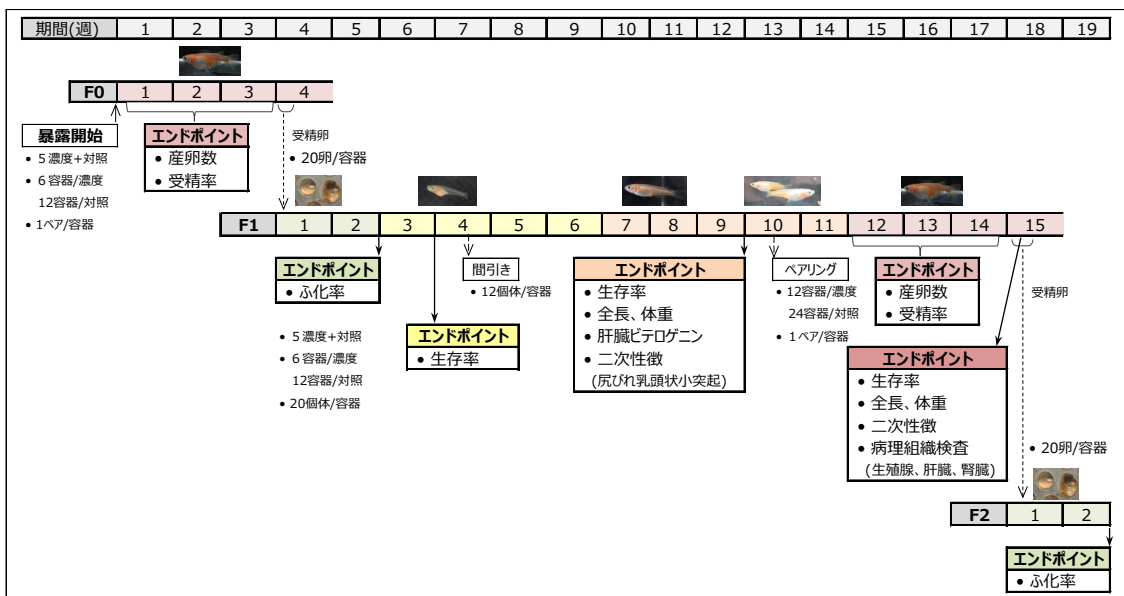
MEOGRT は、メダカを試験生物種とする 19 週間の試験である。試験では、性的に成熟し繁殖可能な状態にある雌雄の成魚を試験生物 (F0 世代) として試験物質 (化学物質) によるばく露を開始する。F0 世代のエンドポイントは産卵状況のみである。F0 世代のばく露で得られた受精卵で F1 世代 (子世代) のばく露を開始する。F1 世代では、エンドポイントとして、受精卵のふ化率、受精 4 週間までの生存率、受精後 9～10 週目 (未成魚期) における生残率、成長 (全長及び体重)、ビテロゲン (mRNA 又は蛋白発現量)、二次性徴 (尻びれの乳頭状小突起) 及び外見上の性比、初回産卵までの時間、受精 12～14 週目における産卵状況 (産卵数及び受精率) 及び受精 15 週後 (繁殖ステージ終了後) の生存個体における生残率、成長、二次性徴及び病理組織学的所見 (生殖腺、肝臓、腎臓) を調べる。これらの個体については性決定遺伝子 (*dmy* 遺伝子) に基づき遺伝的性を確認し、遺伝的雌雄ごとにエンドポイントの解析を行う。また、F1 世代の繁殖ステージで得られた受精卵で F2 世代 (孫世代) のば

く露を行う。F2世代については、エンドポイントとしてふ化率のみ測定する。これらのエンドポイントに対する影響から、化学物質の内分泌かく乱作用のほか、致死、成長及び繁殖に対する母体を通じた化学物質の経代影響を評価できると考えられる。

2009年（平成21年）に、日米両国が共同でOECDへメダカ多世代試験法（MMT）のTG化に関するプロジェクトを提案し、日米二国間協力の下で開発が進められ、2015年（平成27年）にOECDにおいてテストガイドライン（OECD TG240）が公表された。

米国EDSPでは、エストロゲン系及びアンドロゲン系のTier 2試験としてMEOGRTを採用している。EDSPでは、独自のTG（OCSP 890.2200）が適用されるが、このTGの規定は基本的にOECD TG240と同じである。

MEOGRTについては、平成24年度までに日米両国によって実施されたエストロゲン、抗エストロゲン、アンドロゲン、抗アンドロゲン及びステロイド合成阻害作用の陽性物質を用いたメダカ多世代試験（MMT）の結果に基づいて試験法の検証が実施されている。また、EXTEND2016の枠組みでは、令和2年度までに第1段階試験でエストロゲン様作用又は抗エストロゲン様作用を有することが示唆された6物質を対象にOECD TG240に準拠した試験が実施されている。



（2）甲状腺に及ぼす影響に関する試験（両生類試験）

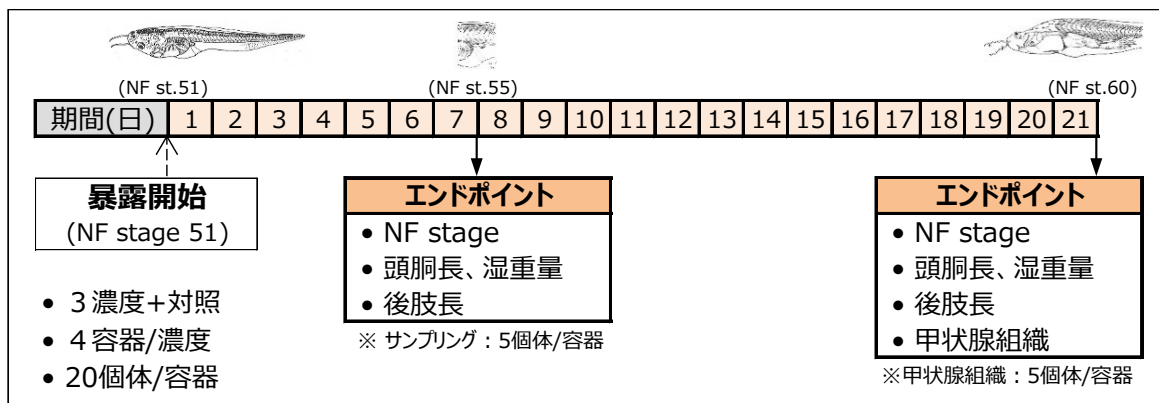
①両生類変態試験（OECD TG231：Amphibian Metamorphosis Assay, AMA）

AMAは、アフリカツメガエルのNieuwkoop and Faber (NF) stage 51の幼生を試験生物として、21日間にわたる化学物質によるばく露を行う。ばく露開始から7日後に、一部の個体を取り上げて、発達段階（NF stage）の確認、頭胴長、後肢長及び体重の測定を行う。また、ばく露終了時に生存する個体について、ばく露7日後と同様のエンドポイントを調べるほか、一部の個体（5個体/水槽）を対象に甲状腺組織を検査し、異常の有無及び重症度を調べる。本試験では、これらのエンドポイントの測定結果を基に、化学物質の甲状腺受容体を介した作用のほか、甲状腺ホルモンの生合成系、視床下部—下垂体—甲状腺系（HPT軸）に対する作用を検出できるとされている。

AMAのテストガイドライン（TG231）は、2009年（平成21年）に公表されている。AMAについては、OECDによるTG化のためのリングテスト（Phase 1、2及び3 Validation）において、甲状腺ホ

ルモン作用の陽性物質及び甲状腺系（甲状腺ホルモンの合成・代謝系）に対する阻害作用を持つ化学物質等を用いた試験が実施されている。また、EXTEND2010/2016 の枠組みでの適用性及び有効性の検証、第1段階評価で参考とする知見の収集等を目的として、平成27年度から甲状腺に及ぼす影響に関わる内分泌かく乱作用の陽性物質及び陰性物質を用いた検証試験が実施されている。

米国 EDSP では、AMA を甲状腺系に対する Tier 1 のスクリーニング試験法として採用しており、適用される TG（OCSPP 890.2200）の規定は、基本的に OECD TG231 と同じである。



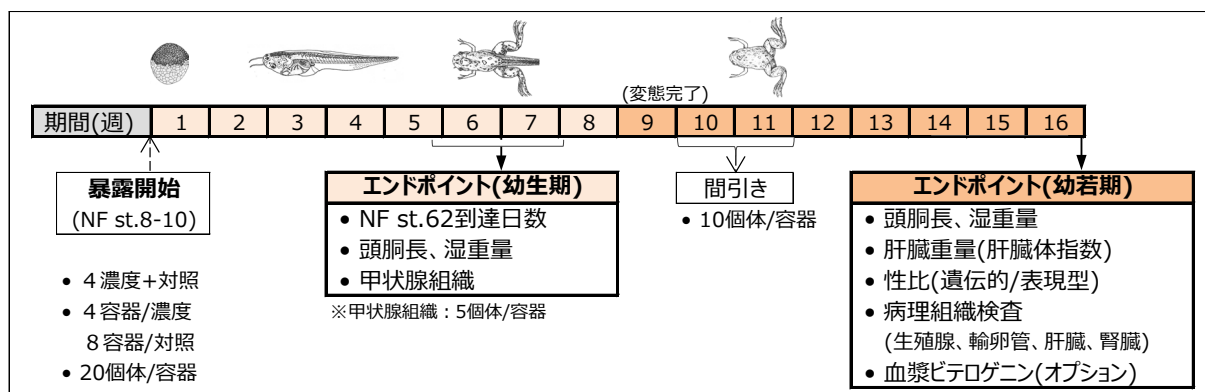
② 幼生期両生類成長発達試験（OECD TG241 : Larval Amphibian Growth and Development Assay (LAGDA)）

LAGDA は、アフリカツメガエルの NF stage 8～10 の幼生（胚体）を試験生物として、約16週間にわたる化学物質（試験物質）によるばく露を行う。ばく露期間中に、甲状腺に対する影響を調べるための幼生期のエンドポイントとして、各個体が NF stage 62 到達に要した日数を調べ、一部の個体について NF stage 62 における頭胴長及び体重の測定並びに甲状腺組織の検査を行う。すべての個体が NF stage 66 に達して変態を完了した時点で水槽内の個体数の調整（間引き）を行い、以降、対照区における NF stage 62 到達日（平均日数）から10週後までばく露を継続する。また、ばく露終了時に、幼若期のエンドポイントとして、成長（頭胴長、体重）、肝臓体指数、性比（遺伝的性比と表現型性比のギャップ）及び主要な臓器（生殖腺、輸卵管、腎臓、肝臓）を対象として病理組織学的検査を行う。これら幼若期のエンドポイントについては、遺伝的雌雄ごとに解析する。遺伝的性は、性決定遺伝子 DMW に基づいて判別する。LAGDA では、これらのエンドポイントから、甲状腺（変態）に対する影響のほか、致死、成長及び生殖腺の発達に対する化学物質の影響を評価できると考えられる。ただし、EXTEND2010 の枠組みで LAGDA を使用する場合には、変態（甲状腺系）に対する影響に関するエンドポイント測定までを試験期間とする。

LAGDA は、2015年（平成27年）にテストガイドライン（OECD TG241）が公表されている。日米二国間協力の下で、2009年（平成21年）に共同で OECD へ提出した SPSF に基づいて、ADGRA（Amphibian Development, Growth and Reproduction Assay）として開発が進められたが、2010年に、日米間の合意を踏まえて SPSF が修正され、以降、LAGDA として開発が進められた。平成24年度までに日米両国で、LAGDA のプロトコルに基づいて、主にエストロゲン、アンドロゲン及び抗エストロゲン作用の陽性物質を用いて検証試験が実施されている。また、平成25年度以降、試験法の妥当性や有効性、EXTEND2010 の枠組みでの適用性の検討及び参考とする知見の収集等を目的として、甲状腺ホルモン作用の陽性物質及び甲状腺系（甲状腺ホルモンの合成・代謝系）に対する阻害作用を持つ

化学物質等を用いた検証試験が実施されている。

米国の EDSP では、甲状腺系の Tier 2 試験として LAGDA を採用しており、適用される USEPA のテストガイドライン (OCSP 890.2300) の規定は基本的に OECD TG241 と同じである。



③ゼノパス自由胚甲状腺試験 (Xenopus Eleutheroembryo Thyroid Assay, XETA)

XETA は、甲状腺ホルモン応答遺伝子と GFP 遺伝子を導入 (トランスジェニック) したアフリカツメガエルの幼生 (NF stage 45~46) を試験生物とする。試験では、化学物質 (試験物質) に 72 時間ばく露し、ばく露後に GFP の蛍光強度を測定し、甲状腺ホルモン受容体を介した作用を調べる。甲状腺ホルモン作用 (アゴニスト作用) については試験物質のみでばく露する系、抗甲状腺ホルモン作用 (アンタゴニスト作用) については、試験物質とトリヨードサイロニン (T3) に混合でばく露する系から得られた結果から評価する。リングテスト (Phase 1 及び 2) の結果から、甲状腺ホルモン作用は検出できるものの、甲状腺系 (甲状腺ホルモンの合成・代謝系) に対する阻害作用を持つ化学物質に対する感度が低いことが指摘されている。XETA については、2019 年 (令和元年) にテストガイドライン (OECD TG248) が公表されている。

(3) 成長に及ぼす影響に関する試験 (無脊椎動物試験)

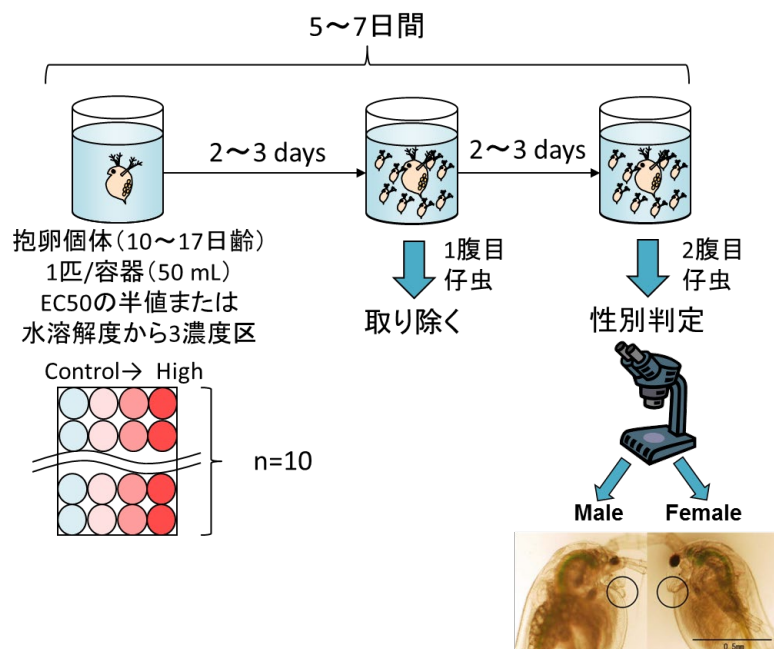
①オオミジンコ繁殖試験/アネックス 7: 仔虫の性別決定に関するガイダンス (OECD TG211: Daphnia magna Reproduction Test/ANNEX 7: Guidance for the identification of neonate sex)

オオミジンコ繁殖試験は、主に産仔数をエンドポイントとして化学物質の甲殻類 (無脊椎動物) の繁殖に対する影響を調べる試験法であるが、産仔された幼体 (仔虫) の性比 (オスの発生) をエンドポイントとすることで、幼若ホルモン様作用を持つ化学物質の影響を評価できる。オオミジンコ繁殖試験のテストガイドライン (OECD TG211) は、1998 年 (平成 10 年) に公表され、2008 年に、日本提案の仔虫の性別決定に関するガイダンス (ANNEX 7) を追加した改訂版が公表されている。

②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: OECD へ TG 化プロジェクトを提案)

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。2016 年 (平成 28 年) に日本より TG 化に関するプロジェクト提案 (SPSF) を OECD に行い承認されている。

JHASA については、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。また、OECD での TG 化に向けた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。



③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。

④ミジンコ多世代試験（Daphnids multi-generation test）（EXTEND2016 では不採用）

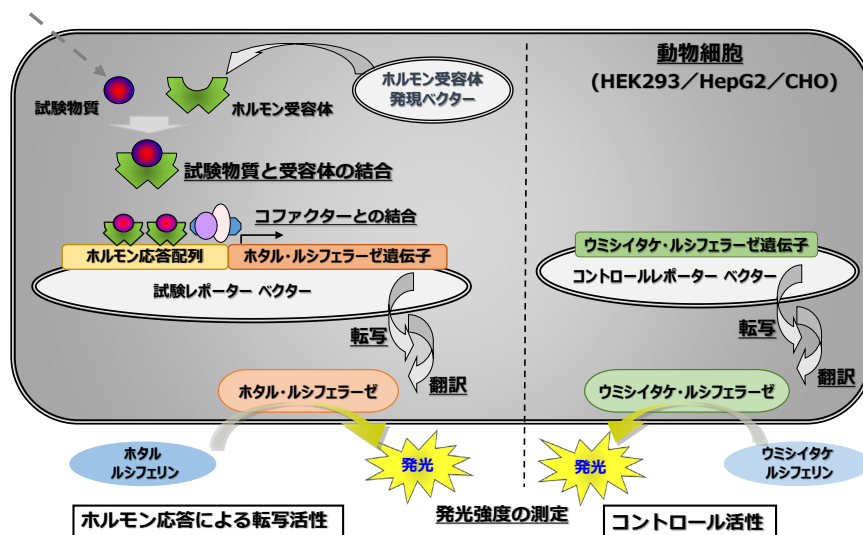
ミジンコ多世代試験は、平成 22 年度から平成 25 年度まで、日米二国間協力の下で、欧米を中心に OECD で TG 化が検討されていたカイアシ類（コペポッド）を用いたフルライフサイクル試験及びアミ（ミシッド）を用いた 2 世代繁殖試験との比較検証を行いつつ試験デザインの検討を進めてきた。その後は、OECD への TG 化の提案も視野に試験法の開発を進めてきたが、平成 29 年度までに実施した検証試験の結果、ミジンコ類に対して多世代（経世代）影響を示す化学物質が見つからなかったことから、試験法開発については保留（中断）することとされた。

（4）生殖に及ぼす影響に関する試験管内試験

①メダカのエストロゲン受容体及びアンドロゲン受容体を用いるレポーター遺伝子試験

生殖に及ぼす影響に関する試験管内試験としては、動物細胞にホルモン受容体発現ベクター、試験レポーターベクター及びコントロールベクター等を一過的に導入する一過性発現細胞系のデュアル・ルシフェラーゼ・レポーター試験法を基本原理とするメダカのエストロゲン受容体 α (ER α) 及びアンドロゲン受容体 β (AR β) を用いるレポーター遺伝子試験法が開発されている。メダカ ER α 及び AR β を用いるレポーター遺伝子試験は、第 2 期日英共同研究の成果を基に開発された試験法であり、それぞれ動物細胞として、HEK293（ヒト胎児腎細胞株）又は HepG2（ヒト肝癌由来細胞株）を用いる。エストロゲン作用あるいはアンドロゲン作用を調べるアゴニスト系試験では、メダカ ER α 又は AR β

に対する転写活性化能を指標として試験物質の EC₅₀ 値を算出する。また、抗エストロゲン作用あるいは抗アンドロゲン作用を調べるアンタゴニスト検出系試験では、それぞれ試験系に陽性物質として 17β-エストラジオール又は 11-ケトテストステロンを共添加し、陽性物質の転写活性化能に対する阻害作用として試験物質の IC₅₀ 値を算出する。メダカ ERα 及び ARβ を用いるレポーター遺伝子試験については、基礎的な知見の蓄積を目的として、平成 29 年度より、FSTRA 及び JMASA の検証に用いた陽性物質等について試験を実施している。



(5) 甲状腺に及ぼす影響に関する試験管内試験

①ニシツメガエルの甲状腺ホルモン受容体を用いるレポーター遺伝子試験

甲状腺に及ぼす影響に関する試験管内試験としては、生殖に関する試験管内試験と同様に、一過性発現細胞系のデュアル・ルシフェラーゼ・レポーター試験法を基本原理とするニシツメガエルの甲状腺ホルモン受容体β (TRβ) を用いるレポーター遺伝子試験法が開発されている。ニシツメガエル TRβ レポーター遺伝子試験は、第3期日英共同研究の成果を基に開発された試験法であり、動物細胞として HepG2 を用いる。甲状腺ホルモン作用を調べるアゴニスト系試験では、ニシツメガエル TRβ に対する転写活性化能を指標として試験物質の EC₅₀ 値を算出し、抗甲状腺ホルモン作用を調べるアンタゴニスト検出系試験では、試験系に陽性物質として添加するトリヨードサイロニンの転写活性化能に対する阻害作用として試験物質の IC₅₀ 値を算出する。ニシツメガエル TRβ レポーター遺伝子試験については、基礎的な知見の蓄積を目的として、平成 29 年度より、AMA 及び LAGDA の検証に用いた陽性物質等について試験を実施している。

(6) 成長に及ぼす影響に関する試験管内試験

①ミジンコ脱皮ホルモン受容体レポーター遺伝子試験

成長に及ぼす影響に関する試験管内試験としては、生殖あるいは甲状腺に関する試験管内試験と同様に、一過性発現細胞系のデュアル・ルシフェラーゼ・レポーター試験法を基本原理とするミジンコの脱皮ホルモン受容体 (EcR) を用いるレポーター遺伝子試験が開発されている。ミジンコ EcR レポーター遺伝子試験は、EXTEND2010 の基盤的研究の成果を基に開発された試験法であり、動物細胞とし

て CHO (チャイニーズハムスター卵巣由来細胞株) を用いる。脱皮ホルモン作用を調べるアゴニスト系試験では、ミジンコ EcR に対する転写活性化能を指標として試験物質の EC₅₀ 値を算出する。抗脱皮ホルモン作用を調べるアンタゴニスト検出系試験については、理論的に実施可能であるが、これまで検証試験も含めて実施されていない。また、ミジンコ EcR レポーター遺伝子試験については、陽性対照物質として用いている 20-ヒドロキシエクジソン以外に脱皮ホルモン作用の陽性物質等を用いた検証試験も実施されていない。

②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受容体レポーター遺伝子試験は、ミジンコ脱皮ホルモン受容体レポーター遺伝子試験と同様に、CHO を用いる一過性発現細胞系のデュアル・ルシフェラーゼ・レポーター試験法を基本原理とする試験法である。ミジンコの幼若ホルモン受容体 (JhR) を用いる試験管内試験については、EXTEND2010 の基盤的研究の成果として、平成 25 年度までに、ミジンコの JhR 遺伝子 (Methoprene-tolerant) と Steroid receptor coactivator の部分配列を用いるツウハイブリッドルシフェラーゼ試験法 (THLA) が開発されたが、下流の遺伝子の試験物質による転写活性化を定量的に評価できないことから、幼若ホルモン応答配列を介した転写活性化を定量できるレポーター遺伝子試験法の開発が進められた。ミジンコ JhR レポーター遺伝子試験については、平成 28 年度に基本的なプロトコルが確立されたが、Fold Activation の最大値が低いことから、平成 29 年度に試験系に使用する幼若ホルモン受容体エレメントを改良し、改良された試験プロトコルについて、JHASA の結果を参考に幼若ホルモン作用の陽性物質を用いて検証試験を実施している。

付表 1 - 1 生殖に及ぼす影響に関する試験法と検出可能な作用

試験法	作用					
	エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	ステロイド合成阻害 (アロマトラーゼ阻害)	視床下部-下垂体-生殖腺軸
メダカエストロゲン受容体 α レポーター遺伝子試験	○	○	—	—	—	—
メダカアンドロゲン受容体 β レポーター遺伝子試験	—	—	○	○	—	—
OECD TG229 メダカ FSTRA	○	○	○	—	○	○
OECD TG230 メダカ 21D-FA	○	○	○	—	○	—
JMASA	(○)	(○)	○	○	(○)	—
OECD TG240 MEOGRT	○	○	○	○	○	○

○：検出可能な作用、—：検出できない作用、(○) オプションとして肝臓中ビテロゲニンを測定することで検出できる作用

付表 1-2 甲状腺に及ぼす影響に関する試験法と検出可能な作用

試験法	作用				
	甲状腺ホルモン	抗甲状腺ホルモン	甲状腺ホルモン生成、代謝阻害	視床下部—下垂体—甲状腺軸	エストロゲン、抗エストロゲン、アンドロゲン、抗アンドロゲン
ニシツメガエル甲状腺ホルモン受容体 β レポータージーン試験	○	○	—	—	—
OECD TG231 AMA	○	○	○	○	—
OECD TG241 LAGDA	○	○	○	○	(○)
XETA	○	○	—	—	—

○：検出可能な作用、—：検出できない作用、(○) 生殖腺組織観察及びオプションとして血中ビテロゲニンを測定することで検出できる作用

付表 1-3 生長に及ぼす影響に関する試験法と検出可能な作用

試験法	作用			
	幼若ホルモン	抗幼若ホルモン	脱皮ホルモン	抗脱皮ホルモン
ミジンコ幼若ホルモン受容体レポータージーン試験	○	○	—	—
ミジンコ脱皮ホルモン受容体レポータージーン試験	—	—	○	○
JHASA	○	—	—	—
OECD TG211 DRT Annex 7	○	—	—	—
ミジンコ脱皮ホルモン作用検出試験	—	—	○	(検討中)

○：検出可能な作用、—：検出できない作用

付属資料2 信頼性評価及び試験の実施状況

付表2—1 信頼性評価と第1段階試験管内試験の結果概要

物質名	示唆された作用ごとの作用濃度 (Mol 濃度) 及び陽性対象物質との相対活性比						
	エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモ ン	抗甲状腺ホル モン	脱皮ホルモン
<u>エストロン</u>	EC ₅₀ =5.4×10 ⁻⁹ (0.043)	ND	ND	IC ₅₀ =1.6×10 ⁻⁶ (0.22)	—	—	—
<u>4-<i>t</i>-ペンチルフェノール</u>	EC ₅₀ =9.7×10 ⁻⁷ (0.0010)	ND	ND	IC ₃₀ =1.7×10 ⁻⁵ (0.0018)	—	—	—
<u>4-ヒドロキシ安息香酸メチル</u>	EC ₅₀ =7.0×10 ⁻⁵ (0.0000038)	ND	ND	ND	—	—	—
<u>4-ノニルフェノール (分岐型)</u>	EC ₅₀ =3.6×10 ⁻⁸ (0.0049)	ND	ND	ND	ND	ND	—
<u>ビスフェノール A</u>	EC ₅₀ =2.2×10 ⁻⁷ (0.0008)	ND	ND	IC ₅₀ =7.0×10 ⁻⁶ (0.056)	—	ND	—
<u>17β-エストラジオール</u>	EC ₅₀ =1.6×10 ⁻¹⁰ (1.0)	—	ND	IC ₅₀ =1.4×10 ⁻⁶ (0.45)	—	—	—
<u>17α-エチニルエストラジオール</u>	EC ₅₀ =5.1×10 ⁻¹¹ (3.1)	ND	ND	IC ₅₀ =1.4×10 ⁻⁷ (2.4)	—	—	—
<u>4-ヒドロキシ安息香酸プロピ ル</u>	EC ₅₀ =7.0×10 ⁻⁶ (0.000033)	ND	ND	ND	—	—	—
<u>ベンゾフェノン-2</u>	EC ₅₀ =1.6×10 ⁻⁶ (0.00010)	ND	EC ₅₀ =4.4×10 ⁻⁵ (0.000048)	IC ₅₀ =4.0×10 ⁻⁵ (0.0097)	ND	IC ₅₀ =7.9×10 ⁻⁵ (-)	—

物質名	示唆された作用ごとの作用濃度 (Mol 濃度) 及び陽性対象物質との相対活性比						
	エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモ ン	抗甲状腺ホル モン	脱皮ホルモン
<u>ペンディメタリン</u>	EC ₅₀ =3.3×10 ⁻⁶ (0.000050)	ND	ND	EC ₅₀ =3.1×10 ⁻⁶ (-)	—	—	—
<u>4-<i>t</i>-オクチルフェノール</u>	EC ₅₀ =3.5×10 ⁻⁸ (0.005)	ND	ND	ND	—	ND	—
<u>りん酸トリフェニル</u>	EC ₅₀ =9.7×10 ⁻⁶ (0.000021)	ND	ND	ND	—	—	—
<u>1-ナフトール</u>	EC ₅₀ =7.8×10 ⁻⁵ (0.0000027)	ND	PC ₁₀ =3.3×10 ⁻⁵ (-)	ND	—	ND	—
<u>スルファメトキサゾール</u>	EC ₅₀ =9.7×10 ⁻⁶ (0.000017)	—	—	ND	—	—	—
<u>フェンバレレート</u>	EC ₅₀ =2.4×10 ⁻⁶ (0.0000049)	ND	ND	ND	ND	ND	—
<u>りん酸トリクレジル</u>	EC ₅₀ =2.3×10 ⁻⁶ (0.000029)	ND	ND	ND	—	—	—
安息香酸ベンジル	EC ₅₀ =6.0×10 ⁻⁵ (0.0000028)	—	—	—	—	—	—
<u>4-<i>t</i>-ブチルフェノール</u>	EC ₅₀ =6.3×10 ⁻⁸ (0.001)	ND	—	—	—	—	—
4-メチルベンジリデン=カン ファー	EC ₅₀ =2.7×10 ⁻⁵ (0.0000063)	ND	—	ND	ND	ND	—
ペルメトリン	EC ₅₀ =2.7×10 ⁻⁵ (0.0000063)	ND	—	ND	ND	ND	—

物質名	示唆された作用ごとの作用濃度 (Mol 濃度) 及び陽性対象物質との相対活性比						
	エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモ ン	抗甲状腺ホル モン	脱皮ホルモン
<u>フタル酸ジイソブチル</u>	PC ₁₀ =3.0×10 ⁻⁶ (0.000011)	ND	ND	ND	—	—	—
<u>ダイアジノン</u>	PC ₁₀ =1.0×10 ⁻⁵ (0.0000021)	ND	ND	ND	—	—	—
<u>トリクロサン</u>	PC ₁₀ =2.0×10 ⁻⁶ (0.000017)	ND	ND	ND	ND	ND	—
クロルピリホス	PC ₁₀ =1.1×10 ⁻⁶ (0.000019)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ポリ(オキシエチレン)=ノニル フェノールエーテル類(重合度 が1~15)	ND	—	—	—	—	—	—
ポリ(オキシエチレン)=ノニル フェノールエーテル(重合度が 1)	PC ₁₀ =1.0×10 ⁻⁶ (0.000025)	—	—	—	—	—	—
ポリ(オキシエチレン)=ノニル フェノールエーテル(重合度が 2)	PC ₁₀ =4.6×10 ⁻⁶ (0.0000054)	—	—	—	—	—	—
2,4-ジクロロフェノール	PC ₁₀ =1.8×10 ⁻⁵ (0.00000067)	ND	ND	ND	—	—	—
2-ナフトール	PC ₁₀ =6.9×10 ⁻⁶ (0.0000011)	—	—	—	—	ND	—

物質名	示唆された作用ごとの作用濃度 (Mol 濃度) 及び陽性対象物質との相対活性比						
	エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモ ン	抗甲状腺ホル モン	脱皮ホルモン
<u>シアナジン</u>	ND	IC ₅₀ =6.1×10 ⁻⁷ (0.00053)	ND	ND	—	—	—
<u>フェニトイン</u>	ND	IC ₅₀ =2.1×10 ⁻⁶ (0.00016)	ND	ND	—	IC ₃₀ =6.3×10 ⁻⁵ (-)	—
メフェナム酸	ND	lin IC ₃₀ =6.5×10 ⁻⁵ (0.0000026)	ND	ND	—	—	—
<u>フルタミド</u>	ND	ND	ND	IC ₅₀ =1.4×10 ⁻⁶ (0.45)	ND	ND	ND
ジクロフェナク	ND	ND	ND	lin IC ₃₀ =3.0×10 ⁻⁵ (0.019)	ND	IC ₃₀ =3.9×10 ⁻⁵ (-)	—
カルバリル	ND	ND	ND	lin IC ₃₀ =3.1×10 ⁻⁶ (0.0097)	—	ND	—
ペルフルオロオクタン酸	ND	ND	ND	IC ₅₀ =7.1×10 ⁻⁵ (0.0021)	—	ND	—
ジウロン	—	ND	—	lin IC ₃₀ =5.4×10 ⁻⁶ (0.0056)	—	—	—
フェニトロチオン	ND	ND	ND	IC ₅₀ =5.6×10 ⁻⁶ (0.027)	—	—	—
ベノミル	ND	ND	ND	IC ₅₀ =3.3×10 ⁻⁶ (0.11)	—	—	—
プロシミドン	ND	ND	ND	IC ₅₀ =6.1×10 ⁻⁵ (0.015)	ND	ND	—

物質名	示唆された作用ごとの作用濃度 (Mol 濃度) 及び陽性対象物質との相対活性比						
	エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモ ン	抗甲状腺ホル モン	脱皮ホルモン
酢酸クロルマジノン	ND	ND	ND	lin.IC ₃₀ =4.9×10 ⁻⁷ (1.39)	—	—	—
マンゼブ	ND	ND	ND	IC ₅₀ =1.8×10 ⁻⁶ (0.22)	ND	ND	
マンネブ	ND	ND	ND	IC ₅₀ =1.2×10 ⁻⁶ (0.32)	ND	ND	—
トナリド	ND	ND	—	IC ₅₀ =8.1×10 ⁻⁶ (0.048)	—	—	—
2,4,6-トリブロモフェノール	—	ND	—	—	—	IC ₅₀ =4.6×10 ⁻⁵ (-)	—
テブフェノジド	—	—	—	—	—	—	EC ₅₀ =7.7×10 ⁻⁶ (1.05)
<i>P</i> -ジクロロベンゼン	ND	ND	—	ND	—	—	—
<i>N,N</i> -ジメチルホルムアミド	ND	—	—	ND	—	—	—
2,4-トルエンジアミン	ND	—	—	ND	—	—	—
ヒドラジン	ND	ND	ND	ND	—	—	—
フェンチオン	ND	ND	ND	ND	—	—	—
カルボフラン	ND	ND	ND	ND	—	—	—
ジクロロボス	—	—	—	ND	—	—	—
ジクロロプロモメタン	ND	ND	ND	ND	—	—	—
フェノバルビタール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—
アクリルアミド	ND	ND	ND	ND	—	—	—

物質名	示唆された作用ごとの作用濃度 (Mol 濃度) 及び陽性対象物質との相対活性比						
	エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモ ン	抗甲状腺ホル モン	脱皮ホルモン
アラクロール	ND	—	—	ND	ND	ND	—
2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D、2,4-PA)	ND	ND	ND	ND	—	ND	—
テトラブロモビスフェノール A	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—
ナフタレン	—	—	ND	—	—	—	—
モリネート	ND	ND	ND	ND	—	—	—
2,6-ジ- <i>t</i> -ブチル-4-メチルフェ ノール (BHT)	ND	—	—	ND	—	—	—
メソミル	ND	ND	—	ND	—	—	—
アトラジン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
シマジン	ND	ND	ND	ND	—	—	—
デカブロモジフェニルエーテ ル (PBDE#209)	ND	ND	—	ND	ND	ND	—
フェノール	ND	ND	ND	ND	—	—	—
二硫化炭素	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—
2,4-ジニトロフェノール	—	—	—	—	—	ND	—
過塩素酸 (パークロレート)	—	—	—	—	ND	ND	—
グリホサート	ND	ND	ND	ND	—	—	—
ニトロベンゼン	ND	ND	ND	ND	—	—	—
カルベンダジム	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—
トリクロロ酢酸	ND	—	—	ND	—	—	—

物質名	示唆された作用ごとの作用濃度 (Mol 濃度) 及び陽性対象物質との相対活性比						
	エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモ ン	抗甲状腺ホル モン	脱皮ホルモン
フィプロニル	—	—	—	ND	ND	ND	—
アクリロニトリル	ND	ND	ND	ND	—	—	—
ジブロモクロロメタン	ND	ND	ND	ND	—	—	—
テブコナゾール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—
ブタクロール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—
フルオランテン	ND	—	—	ND	ND	ND	—
2-ブロモプロパン	—	ND	—	ND	—	—	—
1-ブロモプロパン	—	—	—	—	ND	ND	—
ペルフルオロドデカン酸	—	—	—	—	ND	ND	—
メチル- <i>t</i> -ブチルフェノール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—
メトラクロール	—	—	—	—	ND	ND	—
スチレン	—	—	—	—	ND	ND	—
チオ尿素	—	—	—	—	ND	ND	—
2-メチルプロパン-2-オール (<i>tert</i> -ブチルアルコール)	—	—	—	—	ND	ND	—
クロロタロニル (TPN)	—	—	—	—	ND	ND	ND
ジラム	—	—	—	—	ND	ND	—
プロピコナゾール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—
リニユロン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—
ジメトエート	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—
フタル酸ジ ^o (2-エチルヘキシ ル)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—

物質名	示唆された作用ごとの作用濃度 (Mol 濃度) 及び陽性対象物質との相対活性比						
	エストロゲン	抗エストロゲン	アンドロゲン	抗アンドロゲン	甲状腺ホルモ ン	抗甲状腺ホル モン	脱皮ホルモン
エチレングリコールモノエチ ルエーテル	—	—	—	—	ND	ND	—
イプロジオン	ND	ND	ND	ND	—	—	—
メラミン	ND	ND	ND	ND	—	—	—
ジブチルスズ	—	ND	—	—	—	—	—
ピレン	ND	ND	ND	ND	—	—	—
ジクロベニル	ND	ND	ND	ND	—	—	—
シペルメトリン	ND	ND	ND	ND	—	—	—
ピロプロキシフェン	ND	—	—	—	—	—	—
メタラキシル	—	ND	—	ND	—	—	—
<i>o</i> -フェニルフェノール	ND	ND	ND	ND	—	—	—
フルトラニル	ND	ND	ND	ND	—	—	—
ミクロブタニル	ND	ND	ND	ND	—	—	—
セルトラリン	ND	ND	ND	ND	—	—	—
<i>p</i> -ニトロフェノール	ND	ND	ND	ND	—	—	—
アゾキシストロビン	ND	ND	ND	ND	—	—	—
クロチアニジン	ND	—	—	ND	—	—	—
チアメトキサム	ND	—	—	—	—	—	—
パラコート	ND	—	—	—	ND	ND	—
アセタミプリド	—	ND	ND	—	ND	ND	—
クロトリマゾール	ND	ND	ND	ND	—	—	—
エチレンチオウレア	ND	ND	ND	ND	ND	ND	—

○：作用が示唆された、ND：作用が示唆されなかった、—：未実施、EC₅₀ 値：最大作用活性の 50%を示す濃度、PC₁₀ 値：陽性対象物質の最大作用活性（100%）の 10%を示す濃度、IC₅₀ 値：陽性対象物質の最大阻害活性（100%）の 50%を示す濃度、lin IC₃₀ 値：陽性対象物質の最大阻害活性（100%）の 70%を示す濃度物質名に下線を付した物質について第 1 段階生物試験（メダカ OECD TG229）を実施済みである。

*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であり、第 1 段階試験管内試験の試験対象候補物質：ベンジルパラベン（4-ヒドロキシ安息香酸ベンジル）、ベザフィブラート、ヒドロクロチアジド、チオシアン酸及びその塩類、サリチル酸及びその塩類、クロミプラミン、カルバマゼピン、カフェイン、アミオダロン、パロキセチン、ジフェノコナゾール、メトリブジン、プロピザミド、プロパルギット、ノナブロモジフェニルエーテル類、モノブチルスズ、イミダクロプリド、エリスロマイシン、クラリスロマイシン、アセフェート、りん酸トリス(2-クロロエチル)、ロキシスロマイシン、*n*-ヘキサン、トリクロロホン（DEP）、4-ビニル-1-シクロヘキセン、エチレンオキシド、ジクロロ酢酸、2,4-ジニトロトルエン、3,4-ジクロロアニリン、アセトアルデヒド、クロロベンゼン、ヒドロキノ、ベンゼン、トリクロロエチレン、チウラム、キシレン、エピクロロヒドリン、エチレングリコールモノエチルエーテル、トルエン、エチルベンゼン、シアナミド、3-ベンジリデン=カンファー、ジメチルスルホキシド、フタル酸ジ-*n*-オクチル、マラカイトグリーン塩酸塩、デカメチルシクロペンタシロキサン

*現時点では試験対象物質としない物質：*o*-ジクロロベンゼン、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩（C=10~14）、トリフルラリン、アジピン酸、フェナントレン、1-ブタノール、ベンジルアルコール、メタクリル酸メチル、EPN、アクリル酸、ジノカップ、テトラクロロベンゼン、トリクロロベンゼン、フタル酸ジメチル、メルカプト酢酸、アクロレイン、ジエチレングリコール、2-プロパノール、塩化ビニルモノマー、クロロホルム、四塩化炭素、ジクロロメタン、テトラクロロエチレン、1,1,1-トリクロロエタン、ホルムアルデヒド、クレゾール、チオベンカルブ、1,2,3-トリクロロプロパン、酢酸 2-エトキシエチル、塩化メチル（クロロメタン）、1,2-ジクロロエタン、スピノサド、2-ブトキシエタノール（エチレングリコールモノブチルエーテル）、エチレンジアミン四酢酸、オクタブロモジフェニルエーテル類、1,1-ジクロロエチレン（塩化ビニリデン）、2-エチルヘキサン酸、*N,N*-ジメチルアセトアミド、スルファピリジン、クリンダマイシン、2,4-トルエンジイソシアネート、2,6-トルエンジイソシアネート、トリメトプリム、スルファジアジン、1,3-ブタジエン、ジクワット（ジクアトジプロミド）、トリクロピル、チオファネートメチル、エチレングチコール、シアン化物（シアン化水素）、メチルエチルケトン、メチルセルロース、イソシアヌル酸、ドデカメチルシクロヘキサシロキサン

*第一種特定化学物質に新たに指定（平成 26 年 5 月 1 日施行）されたため、信頼性評価を実施しない物質：1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロドデカン類

付表 2-2 第 1 段階生物試験（メダカを用いた FSTRA, OECD TG229）の結果概要

物質名	示唆された作用			
	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	繁殖等に関する有害作用 最小影響濃度 LOEC 無影響濃度 NOEC
<u>エストロン</u>	○	ND	ND	LOEC:1,009 ng/L NOEC:272 ng/L
4- <i>t</i> -ペンチルフェ ノール	○	ND	ND	LOEC:940 mg/L NOEC:227 mg/L
4-ヒドロキシ安息 香酸メチル	○	ND	ND	LOEC:9.75 mg/L NOEC:1.90 mg/L
<u>4-ノニルフェノー ル (分岐型)</u>	○	ND	ND	LOEC:51.8 μg/L NOEC:18.8 μg/L
<u>ビスフェノール A</u>	○	ND	ND	LOEC:4.67 mg/L NOEC:0.826 mg/L
17β- エストラジ オール	○	ND	ND	LOEC:553 ng/L NOEC:115 ng/L
<u>17α-エチニルエス トラジオール</u>	○	ND	ND	LOEC:84.9 ng/L NOEC:17.8 ng/L
4-ヒドロキシ安息 香酸プロピル	○	ND	ND	LOEC:0.926 mg/L NOEC:0.311 mg/L
ベンゾフェノン-2	○	ND	ND	LOEC:9.53 mg/L NOEC:0.939 mg/L
ペンディメタリン	○	ND	ND	LOEC:100 μg/L NOEC:28.8 μg/L
4- <i>t</i> -ブチルフェ ノール	○	ND	ND	LOEC:0.313 mg/L NOEC:0.102 mg/L
<u>4-<i>t</i>-オクチルフェ ノール</u>	○	ND	ND	ND
<u>りん酸トリフェニ ル</u>	ND	△	ND	LOEC:44.9 μg/L NOEC:17.1 μg/L
フタル酸ジイソブ チル	ND	△	ND	ND
シアナジン	ND	ND	ND	LOEC:1.02 mg/L NOEC:0.349 mg/L
フェニトイン	ND	ND	ND	LOEC:8.72 mg/L NOEC:4.76 mg/L

物質名	示唆された作用			
	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	繁殖等に関する有害作用 最小影響濃度 LOEC 無影響濃度 NOEC
ダイアジノン	ND	ND	ND	LOEC:196 µg/L NOEC:38 µg/L
1-ナフトール	ND	ND	ND	LOEC:857 µg/L NOEC:258 µg/L
トリクロサン	ND	ND	ND	LOEC:353 µg/L NOEC:177 µg/L
スルファメトキサ ゾール	ND	ND	ND	LOEC:3.38 mg/L NOEC:0.987 mg/L
フルタミド	ND	ND	ND	ND
フェンバレレート	ND	ND	ND	ND
りん酸トリクレジ ル	ND	ND	ND	ND

○：作用が示唆された、△：試験管内試験の結果とは異なる作用が示唆された、ND：作用が示唆されなかった

物質名に下線を付した物質について第2段階生物試験（OECD TG240）を実施済みである。

なお、メダカを用いた OESD TG229 では抗アンドロゲン様作用は検出できない。

付表 2 - 3 第 2 段階生物試験 (MEOGRT, OECD TG240) の結果概要

物質名	確認 (示唆) された作用				
	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	繁殖等に関する有害作用 最小影響濃度 LOEC 無影響濃度 NOEC
エストロン	○	ND	ND	ND	LOEC:89.1 ng/L NOEC:28.5 ng/L
4- ノニルフェノール (分岐型)	○	ND	ND	ND	LOEC:1.27 µg/L NOEC:得られなかった
ビスフェノール A	○	ND	ND	ND	LOEC:1,000 µg/L NOEC:330 µg/L
17 α -エチニルエストラジオール	○	ND	ND	ND	LOEC:7.48 ng/L NOEC:2.36 ng/L
4- <i>t</i> - オクチルフェノール	○	ND	ND	ND	LOEC:9.91 µg/L NOEC:3.21 µg/L
りん酸トリフェニル*	ND	△	ND	ND	LOEC:48.4 µg/L NOEC:15.2 µg/L

○ : 作用が確認された、△ : 試験管内試験の結果とは異なる作用が確認された、ND : 作用が確認されなかった

※りん酸トリフェニルについては、ステロイド合成阻害作用も示唆されている。

付属資料3 化学物質環境実態調査に対して調査を要望した物質の検出状況
(平成22年度～令和2年度)

要望年度	物質名 (CAS No.)	分析法	環境実態調査	検出下限値 ng/L	検出範囲 検出頻度 (地点 数)
平成22年度	4- <i>t</i> -オクチルフェノール (140-66-9)	開発済	平成24年度詳細環境調査実施	0.36	水質：nd～31ng/L 19/24
	2,4-ジ- <i>t</i> -ブチルフェノール (96-76-4)	開発済	平成24年度初期環境調査実施	57	水質：nd 0/14
	4-(ジメチルベンジル)フェノール (599-64-4)	開発済	平成26年度詳細環境調査実施	2.5	水質：nd～94ng/L 10/20
	<i>o</i> -トリジン (119-93-7)	開発済	平成24年度初期環境調査実施	1.6	水質：nd 0/14
	ビスフェノール A (80-05-7)	開発済	平成26年度詳細環境調査実施	1.7	水質：nd～280ng/L 18/20
	ベンゾフェノン (119-61-9)	開発済	平成24年度初期環境調査実施	4.3	水質：nd～38ng/L 7/25
平成23年度	エクイリン (474-86-2)	開発済	平成25年度初期環境調査実施	0.17	水質：nd 0/16
	クロルマジノン (1961-77-9)	開発済	平成25年度初期環境調査実施	0.038	水質：nd 0/18
	酢酸クロルマジノン (302-22-7)			0.033	水質：nd～0.76ng/L 13/18
	プロピルパラベン (94-13-3)	開発済	平成24年度初期環境調査実施	14	水質：nd～16ng/L 1/16
	メチルベンジリデンカンファー (36861-47-9)	開発済	平成25年度初期環境調査実施	440	水質：nd 0/17
平成24年度	トリクロサン (3380-34-5)	開発済	平成26年度初期環境調査実施	0.00013	水質：0.00076～0.093ng/L 16/16
	スルファメトキサゾール (723-46-6)	開発済	平成26年度初期環境調査実施	0.005	水質：nd～0.19ng/L 11/16
	クロルテトラサイクリン (57-62-5)	開発済	平成26年度初期環境調査実施	0.046	水質：nd 0/16
	クラリスロマイシン (81103-11-9)	開発済	平成26年度初期環境調査実施	0.0008	水質：nd～0.49ng/L 13/17

注) 医薬品等の環境中濃度の実態把握のための項目も含む。

nd:検出下限値未満

要望 年度	物質名 (CAS No.)	分析法	環境実態調査	検出下限値 ng/L	検出範囲 検出頻度 (地点 数)
平成 26 年度	ジクロフェナク (15307-86-5)	開発済	平成 28 年度初 期環境調査実施	0.17	水質 : nd~76ng/L 15/16
	エリスロマイシン (114-07-8)	開発済	平成 26 年度初 期環境調査実施	0.0049	水質 : nd~0.03ng/L 6/17
	セルトラリン (79617-96-2)	開発済	平成 28 年度初 期環境調査実施	0.44	水質 : nd~3.6ng/L 7/16
	パロキセチン (61869-08-7)	開発済	平成 28 年度初 期環境調査実施	0.65	水質 : nd~2.9ng/L 1/16
	オキシテトラサイクリン (79-57-2)	開発済	平成 26 年度初 期環境調査実施	0.0029	水質 : nd 0/14
平成 27 年度	エストロン (53-16-7)	開発済	平成 28 年度初 期環境調査実施	0.046	水質 : nd~4.1ng/L 10/15
	エストロン-3-硫酸 (483-67-5)			0.068	水質 : nd~4.1ng/L 10/15
	エストロン-3-グルクロニド (15087-01-1)			0.50	水質 : nd 0/15
	4-ビニル-1-シクロヘキセン (100-40-3)	開発済	平成 29 年度初 期環境調査実施	47	水質 : nd 0/18
	フェニトイン (57-41-0)	開発済	平成 28 年度初 期環境調査実施	2.1	水質 : nd~28ng/L 2/15
	りん酸トリフェニル (115-86-6)	開発済	平成 29 年度初 期環境調査実施	11	水質 : nd~24ng/L 3/18
平成 28 年度	ケトプロフェン (22071-15-4)	開発済	平成 30 年度初 期環境調査実施	0.055	水質 : nd~50ng/L 12/17
	アジルサルタン (147403-03-0)	開発済	平成 30 年度初 期環境調査実施	0.037	水質 : nd~24ng/L 17/18
	レボフロキサシン (100986-85-4)	開発済	令和元年度初 期環境調査実施	0.44	水質 : nd~540ng/L 20/26
	塩酸メトフォルミン (1115-70-4)	開発済	令和元年度初 期環境調査実施	0.17	水質 : nd~ 3,600ng/L 26/27
	クロトリマゾール (23593-75-1)	開発済	平成 30 年度初 期環境調査実施	0.043	水質 : nd~0.48ng/L 11/16

注) 医薬品等の環境中濃度の実態把握のための項目も含む。

nd:検出下限値未満

要望 年度	物質名 (CAS No.)	分析法	環境実態調査	検出下限値 ng/L	検出範囲 検出頻度 (地点 数)
平成 28 年度	フルボキサミン (54739-18-3)	開発済	平成 30 年度初期環境調査実施	34	水質 : nd 0/17
	アルベンダゾール (54965-21-8)	開発済	平成 30 年度初期環境調査実施	1.1	水質 : nd 0/16
	ヒドロクロロチアジド (58-93-5)	開発済	平成 30 年度初期環境調査実施	0.091	水質 : nd~0.48ng/L 11/16
	ピリドスチグミン (155-97-5)	開発済	令和元年度初期環境調査実施	0.043	水質 : nd~18ng/L 19/26
	サリチル酸ナトリウム (54-21-7)	開発済	平成 30 年度初期環境調査実施	50	水質 : nd~ 1,400ng/L 14/20
	クロミプラミン (303-49-1)	開発済	平成 30 年度初期環境調査実施	0.020	水質 : nd~1.5ng/L 8/16
平成 29 年度	ベンゾフェノン-4 (4065-45-6)	開発済	令和 2 年度初期環境調査実施	16	水質 : nd~150ng/L 6/21
	アンピシリン (69-53-4)	開発済	令和 2 年度初期環境調査実施	0.12	水質 : nd~1.4ng/L 4/22
	チアムリン (55297-95-5)	開発済	令和元年度初期環境調査実施	0.013	水質 : nd~3.1ng/L 7/27
	バロプロ酸 (99-66-1)	開発済	令和元年度初期環境調査実施	3.1	水質 : nd~24ng/L 9/27
	3-ベンジリデン=カンファー (15087-24-8)	開発済	令和元年度初期環境調査実施	23	水質 : nd 0/28
	ベンジルパラベン (94-18-8)	開発済	令和元年度初期環境調査実施	0.29	水質 : nd~0.31ng/L 1/27
	ピリメタニル (53112-11-9)	開発済	令和元年度初期環境調査実施	2.1	水質 : nd 0/26
	(E)-アゾキシスロトビン (131860-33-8)	開発済	令和元年度初期環境調査実施	1.1	水質 : nd~100ng/L 14/28
	(Z)-アゾキシスロトビン (131860-33-8)			0.39	水質 : nd~0.52ng/L 4/28
	ストレプトマイシン (57-92-1)	開発済	令和 3 年度初期環境調査実施		

注) 医薬品等の環境中濃度の実態把握のための項目も含む。

nd:検出下限値未満

要望 年度	物質名 (CAS No.)	分析法	環境実態調査	検出下限値 ng/L	検出範囲 検出頻度 (地点 数)
平成 29 年度	17 α -エチニルエストラ ジオール (57-63-6)	開発中			
	17 β -エストラジオール (50-28-2)	開発中			
平成 30 年度	イベルメクチン (70288- 86-7)	開発済	令和 3 年度初期 環境調査実施		
	ベンラファキシ ン (9343-69-5)	開発済	令和 2 年度初期 環境調査実施	0.24	水質 : nd~53ng/L 19/23
	0-デスメチルベンラ ファキシ ン (93413-62-8)			6.0	水質 : nd~190ng/L 6/21
	クロフィブラート (637- 07-0)	開発済	令和 2 年度初期 環境調査実施	28	水質 : nd 0/23
	クロフィブリン酸 (882- 09-7)			33	水質 : nd 0/23
	イマザリル (35554-44-0)	開発済	令和 2 年度初期 環境調査実施	3.9	水質 : nd 0/21
令和元 年度	ベンゾフェノン-3 (131- 57-7)	開発済	令和 3 年度初期 環境調査実施		
	メフェナム酸 (61-68-7)	開発済	令和 3 年度初期 環境調査実施		
	アミオダロン (1951-25- 3)	開発済	令和 3 年度初期 環境調査実施		
	p-メトキシケイ皮酸 2- エチルヘキシル (5466- 77-3)	開発済	令和 3 年度初期 環境調査実施		
	アトルバスタチン (134523-00-5)	開発済	令和 4 年度初期 環境調査予定		
	シプロフロキサシ ン (85721-33-1)	開発中			
令和 2 年度	4-t-ブチルフェノール (98-54-4)	開発中			
	N-デスタモキシフェ ン (31750-48-8)	開発中			

注) 医薬品等の環境中濃度の実態把握のための項目も含む。

nd:検出下限値未満

要望 年度	物質名 (CAS No.)	分析法	環境実態調査	検出下限値 ng/L	検出範囲 検出頻度 (地点 数)
令和 2 年度	タモキシフェン (10540- 29-1)	開発中			
	ミクロコナゾール (22916-47-8)	開発中			
	フルコナゾール (86386- 73-4)	開発中			

注) 医薬品等の環境中濃度の実態把握のための項目も含む。

nd:検出下限値未満

付属資料 4 化学物質の内分泌かく乱作用に関する公開セミナー（EXTEND2016）概要（1）

年度 開催日	会場	内容（要約）	参加者
平成 28 年度 12 月 7 日 (水)	朝日新聞東京本社・ 新館 2 階	欧州から 2 人の講師をお招きして、化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討の状況等について、専門的な観点から講演いただくとともに、国内外で進めている取組み及び日英共同研究の成果等について報告した。	121 名
平成 29 年度 平成 30 年 2 月 22 日 (木)	東京国際交流館 プ ラザ平成 3 階 国際 交流会議場	欧州から 2 人の講師をお招きして、化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討の状況等について、専門的な観点から講演いただくとともに、国内で進めている研究の成果等について報告した。	96 名
平成 30 年度 平成 31 年 1 月 15 日 (火)	東京国際交流館 プ ラザ平成 3 階 国際 交流会議場	英国から講師をお招きして、EU における化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討の状況等について、専門的な観点から講演いただくとともに、国内で進めている研究の成果等について報告した。	119 名
令和元年度 令和 2 年 2 月 21 日 (金)	主婦会館プラザエフ 7 階 カトレア	欧米から 2 人の講師をお招きして、化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討の状況等について、専門的な観点から講演いただくとともに、国内で進めている研究の成果等について報告した。	72 名
令和 2 年度 2 月 25 日 (木)	オンライン開催	EXTEND2016 の実施状況等について、国内の講師により講演を行うとともに、国内で進めているリスク評価について報告した。	132 名
令和 3 年度 3 月 2 日(水)	オンライン開催	欧州から 2 人の講師をお招きして、化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討の状況等について、専門的な観点から講演いただくとともに、国内で進めている研究成果等についても報告した。	151 名

化学物質の内分泌かく乱作用に関する公開セミナー（EXTEND2016）概要（2）

年度 開催日時	プログラム
平成 28 年度 12 月 7 日（水） 13:30～17:00	13:30 開会挨拶 環境省 [海外招待講演] 13:35 内分泌かく乱物質ばく露によるヒト健康リスク及び野生生物リスクは かなり過小評価されているかもしれない Åke Bergman（スウェーデン 毒性科学研究センター（ <u>Swedish Toxicology Sciences Research Centre</u> , Swetox）） 14:25 内分泌かく乱物質の環境ハザード・リスク評価（EHRA）：SETAC Pellston ワークショップ™における成果報告より Peter Matthiessen（英国有害 物質諮問委員会（ <u>Hazardous Substances Advisory Committee</u> , HSAC）） [環境省の取組み報告] 15:30 化学物質の内分泌かく乱作用に対する環境省の対応－EXTEND2016－ （環境省） [国内外の取組み等に関する講演] 15:55 化学物質の内分泌かく乱作用の生態影響に関する試験法 鱧迫 典久 （国立環境研究所） 16:25 内分泌かく乱化学物質研究に関する日英共同研究の成果および今後の 展望について 井口 泰泉（横浜市立大学） 17:00 閉会 環境省
平成 29 年度 2 月 22 日（木） 13:30～17:00	13:30 開会挨拶 環境省 [海外からの講演者] 13:35 欧州連合（EU）における内分泌かく乱物質の規制動向 ZhiChao Dang（オ ランダ国立公衆衛生環境研究所（RIVM）） 14:25 生態毒性学における内分泌かく乱 農薬活性物質を中心にした試験及 び評価 Lennart Weltje（BASF 社） [環境省の取組み報告] 15:30 化学物質の内分泌かく乱作用に対する環境省の対応－EXTEND2016－ （環境省） [国内の講演者] 15:45 日本における妊馬由来エクインエストロゲン類の存在実態と生態影響 評価 有菌 幸司（熊本県立大学） 16:20 水環境中の汚染医薬品による生態影響の理解にむけて 井原 賢（京都 大学大学院） 17:00 閉会 環境省

年度 開催日時	プログラム
平成 30 年度 1 月 15 日 (火) 13:30～17:00	13:30 開会挨拶 環境省 国内の講演者 13:35 内分泌かく乱物質研究から 27 年：今までの経験から今後の展開へ 井口 泰泉 (横浜市立大学) 14:20 魚類・甲殻類に対する化学物質の内分泌かく乱作用の試験法開発 山本裕史 (国立環境研究所) 海外からの講演者 15:25 EU における内分泌かく乱物質：科学的根拠、規制、試験実施の必要性の現状 Andreas Kortenkamp (英国 ブルネル大学 (Brunel University London)) 環境省の取組み報告 16:25 化学物質の内分泌かく乱作用に対する環境省の対応－EXTEND2016－ (環境省) 17:00 閉会 環境省
令和元年度 2 月 21 日 (金) 13:30～17:00	13:30 開会挨拶 環境省 海外からの講演者 13:35 化学物質の内分泌かく乱作用のスクリーニング及び試験に関する歴史的経緯と米国の取組み Leslie Touart (コンサルタント、元米国環境保護庁 (US EPA)) 14:25 欧州連合 (EU) における潜在的内分泌かく乱化学物質 (EDCs) ー同定、評価及び規制 Mike Roberts (コンサルタント、元英国 環境・食料・農村地域省 (UK DEFRA)) 国内の講演者 15:35 座礁・漂着鯨類における残留性有機汚染物質の蓄積レベルと経年変化の解析 国末 達也 (愛媛大学) 16:15 化学物質の内分泌かく乱作用に対する環境省の対応－EXTEND2016－ (環境省) 16:35 日本の化学物質審査規制法に基づくノニルフェノールの生態リスク評価 (環境省) 16:55 閉会 環境省

年度 開催日時	プログラム
令和2年度 2月25日(木) 13:00～17:00	<p>13:30 開会挨拶 (環境省)</p> <p>13:35 「化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応 (EXTEND2016)」による取組みの概要 (環境省)</p> <p>13:55 魚類、無脊椎動物を用いた内分泌かく乱作用の試験法開発状況と主な試験結果について 山本 裕史 (国立環境研究所)</p> <p>14:35 EXTEND2016 における試験管内試験及び両生類試験の開発及び検証 大西 悠太 (いであ株式会社)</p> <p>15:25 EXTEND2016 における作用・影響評価の実施状況について 川嶋 之雄 (日本エヌ・ユー・エス株式会社)</p> <p>16:00 化学物質の内分泌かく乱作用に関する国際協力 (日英、日米等)、内外研究のトピックス等 井口 泰泉 (横浜市立大学)</p> <p>16:40 化学物質審査規制法に基づくリスク評価の進捗など (特にノニルフェノールについて) (環境省)</p> <p>17:00 閉会 環境省</p>
令和3年度 3月2日(水) 15:00～19:00	<p>15:00 開会挨拶 (環境省)</p> <p>15:05 野生生物の個体群でみられる生殖影響と内分泌かく乱 小林 亨 (静岡県立大学)</p> <p>15:45 日本の水環境における医薬品成分の存在実態について 中田 典秀 (京都大学)</p> <p>16:25 「化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応 (EXTEND2016)」による取組み状況等 (環境省)</p> <p>17:10 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)</p> <p>18:00 EURION クラスタについて Henrik Holbech (University of Southern Denmark)</p> <p>19:00 閉会 環境省</p>

付属資料 5 経済協力開発機構（OECD）の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）

2018 年版

哺乳類及び哺乳類以外の生物を対象とした試験法					
レベル 1 既存知見及び試験以外の情報	<ul style="list-style-type: none"> Physical & chemical properties, e.g., MW reactivity, volatility, biodegradability. All available (eco) toxicological data from standardized or non-standardized tests. Read across, chemical categories, QSARs and other <i>in silico</i> predictions, and ADME model predictions. 				
レベル 2 選択された内分泌機構/パスウェイに関する情報を提供する試験管内試験（哺乳類及び哺乳類以外の生物を対象とした試験法）	<ul style="list-style-type: none"> Estrogen (OECD TG 493) or androgen receptor binding affinity (US EPA TG OPPTS 890.1150). Estrogen receptor transactivation (OECD TG 455, ISO 19040-3), yeast estrogen screen (ISO 19040-1 & 2 TG 457). Androgen receptor transactivation (OECD TG 458). Steroidogenesis in vitro (OECD TG 456). Aromatase assay (US EPA TG OPPTS 890.1200). Thyroid disruption assays (e.g. thyroperoxidase inhibition, transthyretin binding). Retinoid receptor transactivation assays. Other hormone receptors assays as appropriate. High-throughput screens. 				
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>哺乳類を対象とした試験法</th> <th>哺乳類以外の生物を対象とした試験法</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> <ul style="list-style-type: none"> Uterotrophic assay (OECD TG 440). Hershberger assay (OECD TG 441). </td> <td> <ul style="list-style-type: none"> Amphibian metamorphosis assay (AMA) (OECD TG 231). Fish short-term reproduction assay (FSTRA) (OECD TG 229). 21-day fish assay (OECD TG 230). Androgenized female stickleback screen (AFSS) (OECD GD 148). </td> </tr> </tbody> </table>	哺乳類を対象とした試験法	哺乳類以外の生物を対象とした試験法	<ul style="list-style-type: none"> Uterotrophic assay (OECD TG 440). Hershberger assay (OECD TG 441). 	<ul style="list-style-type: none"> Amphibian metamorphosis assay (AMA) (OECD TG 231). Fish short-term reproduction assay (FSTRA) (OECD TG 229). 21-day fish assay (OECD TG 230). Androgenized female stickleback screen (AFSS) (OECD GD 148).
哺乳類を対象とした試験法	哺乳類以外の生物を対象とした試験法				
<ul style="list-style-type: none"> Uterotrophic assay (OECD TG 440). Hershberger assay (OECD TG 441). 	<ul style="list-style-type: none"> Amphibian metamorphosis assay (AMA) (OECD TG 231). Fish short-term reproduction assay (FSTRA) (OECD TG 229). 21-day fish assay (OECD TG 230). Androgenized female stickleback screen (AFSS) (OECD GD 148). 				
レベル 3 選択された内分泌機構/パスウェイに関する情報を提供する生物試験					

		<ul style="list-style-type: none"> • EASZY Assay. Detection of Substances Acting through Estrogen Receptors using Transgenic cyp19a1b GFP Zebrafish Embryos (draft OECD TG). • <i>Xenopus</i> embryonic thyroid signalling assay (XETA) (draft OECD TG). • Juvenile medaka anti-androgen screening assay (JMASA) (draft OECD GD). • Short-term juvenile hormone activity screening assay using <i>Daphnia magna</i> (draft OECD TG). • Rapid androgen disruption adverse outcome reporter (RADAR) assay (draft OECD TG).
<p>レベル4 内分泌に関連したエンドポイントにおける悪影響に関する情報を提供する生物試験</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Repeated dose 28-day study (OECD TG 407). • Repeated dose 90-day study (OECD TG 408). • Pubertal development and thyroid function assay in peripubertal male rats (PP male assay) (US EPA TG OPPTS 890.1500). • Pubertal development and thyroid function assay in peripubertal female rats (PP female assay) (US EPA TG OPPTS 890.1450). • Prenatal developmental toxicity study (OECD TG 414). • Combined Chronic toxicity and carcinogenicity studies (OECD TG 451-3). • Reproduction/developmental toxicity screening test (OECD TG 421). 	<ul style="list-style-type: none"> • Fish sexual development test (FSDT) (OECD TG 234). • Larval Amphibian Growth & Development Assay (LAGDA) (OECD TG 241). • Avian Reproduction Assay (OECD TG 206). • Fish early life stage (FELS) toxicity test (OECD TG 210). • New guidance document on harpacticoid copepod development and reproduction test with <i>Amphiascus</i> (OECD GD 201). • <i>Potamopyrgus antipodarum</i> reproduction test (OECD TG 242). • <i>Lymnaea stagnalis</i> reproduction test (OECD TG 243). • Chironomid Toxicity Test (TG 218 & TG 219). • <i>Daphnia Magna</i> reproduction test (with male induction) (OECD TG 211). • Earthworm Reproduction Test (OECD TG 222). • Enchytraeid Reproduction Test (OECD TG 220).

	<ul style="list-style-type: none"> • Combined repeated dose toxicity study with the reproduction/developmental toxicity screening test (OECD TG 422). • Developmental neurotoxicity (OECD TG 426). • Repeated dose dermal toxicity: 21/28-day study (OECD TG 410). • Subchronic dermal toxicity: 90-day study (OECD TG 411). • 28-day (subacute) inhalation toxicity study (OECD TG 412). • Subchronic inhalation toxicity: 90-day study (OECD TG 413). • Repeated dose 90-day oral toxicity study in non-rodents (OECD TG 409). 	<ul style="list-style-type: none"> • Sediment Water <i>Lumbriculus</i> Toxicity Test Using Spiked Sediment (OECD TG 225). • Predatory mite reproduction test in soil (OECD TG 226). • Collembolan Reproduction Test in Soil (OECD TG 232).
<p>レベル5 内分泌に関連したエンドポイントのみならず生物のより広範な生活環境における悪影響に関する情報を提供するより包括的な生物試験</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Extended one-generation reproductive toxicity study (EOGRTS) (OECD TG 443). • Two-generation reproduction toxicity study (OECD TG 416, most recent update). 	<ul style="list-style-type: none"> • Fish Life Cycle Toxicity Test (FLCTT) (US EPA TG OPPTS 850.1500). • Medaka Extended One-Generation Reproduction Test (MEOGRT) (OECD TG 240). • Avian two-generation toxicity test in the Japanese quail (ATGT) (US EPA TG OCSP 890.2100/740-C-15-003). • Sediment Water Chironomid Life Cycle Toxicity Test (OECD TG 233). • <i>Daphnia</i> Multigeneration test for assessment of EDCs (draft OECD TG). • Zebrafish extended one-generation reproduction test (ZEOGRT) (draft OECD TG).

付属資料6 UNEP Overview Report (2017) に記載されている潜在的内分泌かく乱特性を根拠とした規制事例

国・地域	化学物質名	具体的規制内容
EU	DEHP、DBP、BBP	玩具及びチャイルドケア製品への可塑剤としての使用量を0.1重量%未満に制限。
	ビスフェノールA	ポリカーボネート製哺乳瓶製造に対する制限として食品接触剤プラスチックの食品への特定移行量を0.6mg/kg未満に制限。
	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類	業務用及び家庭用クリーニング、布皮地処理、金属加工、化粧品等への使用量を0.1重量%未満に制限。
フランス	ビスフェノールA	食品接触材料への使用禁止。
スウェーデン	ビスフェノールA	0～3歳児向け食品包装に用いられる光沢被膜剤への使用禁止。 家庭用水道管に用いられる二成分エポキシ樹脂への使用禁止。
ベルギー	ビスフェノールA	0～3歳児向け食品に用いられる食品接触材料への使用禁止。
デンマーク	ビスフェノールA	0～3歳児向け食品に用いられる食品接触材料への使用禁止。
米国	DEHP、BBP	玩具及びチャイルドケア製品への使用量を0.1重量%未満に制限。
カナダ	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類	パルプ工場における年間使用量を1998年時の少なくとも97%削減するための汚染防止計画。 あらゆる製品の製造輸入における年間使用量を1998年時の95%削減するための汚染防止計画。
	ビスフェノールA	ポリカーボネート製哺乳瓶の輸入、販売、広告の禁止。 産業廃水によるビスフェノールA汚染の防止計画の策定及び実行を要請する通知（Notice）。 化粧品の成分ホットリスト（Ingredient Hotlist）への追加対象。
	DEHP、DBP、BBP	玩具及びチャイルドケア製品のビニール中含有量は1,000mg/kgを超過してはならない。
	リンデン	許容不可能な健康及び環境リスクを示す神経毒性を持つ内分泌活性物質であるため登録継続しない。
ブラジル	DEHP、DBP、BBP	ビニール製玩具中の可塑剤としての使用量を0.1重量%未満に制限。
	ビスフェノールA	哺乳瓶への使用（製造、輸入）禁止。
香港	DEHP、DBP、BBP	玩具又はチャイルド（ケア）製品中のDEHP、DBP、BBPの総含有量0.1重量%以下に制限。

国・地域	化学物質名	具体的規制内容
韓国	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類	これらの物質を含有する家庭用クリーナー、インク、ペンキ、業務用クリーナー、洗剤、洗剤、皮なめし剤の製造、輸出、販売、貯蔵、輸送、使用の制限。
南アフリカ	ビスフェノールA	哺乳瓶への使用禁止。
インド	ビスフェノールA	哺乳瓶への使用禁止。
イスラエル	DEHP、DBP、BBP	玩具及びチャイルドケア製品中組成物としての使用禁止。
	ビスフェノールA	乳児向けの哺乳瓶及びコップへの使用禁止。

DEHP：フタル酸ビス(2-エチルヘキシル)

DBP：フタル酸ジブチル

BBP：フタル酸ベンジルブチル

ビスフェノール A：4,4'-イソプロピリデンジフェノール

付属資料7 欧州の動向

1. REACH 規則の運用事例

(1) 直鎖又は分岐鎖 4-ノニルフェノールエトキシレート及び 4-*t*-オクチルフェノールエトキシレートの 2 物質群については該当物質に関する文書「Background document (Document developed in the context of ECHA's 6th recommendation for the inclusion of substances in Annex XIV)」において内分泌かく乱特性が選定理由として明記されており、2019 年 7 月 4 日までに認可申請を行わないと、2021 年 1 月 4 日以降の取扱いができなくなる。

ただし、日没日以前に生産が停止した又は停止するであろう成形品又は複合成形品の修理のための、成形品としてのスペアパーツ又は複合製品の生産における物質の使用で、その物質がそれらの成形品又は複合製品の生産に使用され、それらがそれらのスペアパーツなしでは意図したように機能せず、その物質なしではスペアパーツを生産できない場合に限っては、日没日は 2023 年 3 月 1 日とされている。更に、4-*t*-オクチルフェノールエトキシレートについては、COVID-19 関連用途への継続的供給の必要性から、

- ・施行後 18 ヶ月間の新しい申請期限を設定する
- ・日没日を 36 ヶ月後に延期する

とする案が可決される見込みである。

(2) フタル酸ジイソブチル、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)、フタル酸ジブチルの 4 物質群については該当物質に関する文書「Background document to the Opinion on the Annex XV dossier proposing restrictions on four phthalates」において内分泌かく乱特性が選定理由として明記されており、2013 年 8 月 21 日までに認可申請を行わないと、2015 年 2 月 21 日以降の取扱いができなくなる。ただし、以下の用途に限っては使用許可が延長される。

2024 年 12 月 14 日まで

- ・フタル酸ジイソブチル、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)、フタル酸ジブチルのいずれかを 0.1 重量%以上 0.3 重量%未満含む混合物
- ・フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)、フタル酸ジブチルについては、規則 (EC) No 726/2004 等による医薬品の即時包装
- ・フタル酸ビス(2-エチルヘキシル)については、規則(EC) No 1935/2004 等による食品接触材料

2025 年 5 月 27 日まで

- ・フタル酸ビス(2-エチルヘキシル)については、指令 90/385/EEC 等による医療機器

* 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>

* Substances identified as endocrine disruptors at EU level

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

付表 7 - 1 EU REACH 規則において内分泌かく乱特性 (Endocrine disrupting properties) を理由に SVHC に選定された 20 物質群

高懸念物質 (SVHC) ^{a)} *リスト掲載順	EC No.	CAS No. ^{b)}	Date of inclusion 選定日	Reason for inclusion ^{c)} 根拠 (推定メカニズム)	認可対象物質 ^{d)} *年月日記載がある物質が該当	
					Latest application date 最終申請日	Sunset Date 日没日
(±)-1,7,7-trimethyl-3-[(4-methylphenyl)methylene]bicyclo[2.2.1]heptan-2-one covering any of the individual isomers and/or combinations thereof (4-MBC) 1,7,7-トリメチル 3-[(4-メチルフェニル)メチレン]ビジクロ [2.2.1]ヘプタン-2-オン (別名: 3-(4-メチルベンジリデン)カンファー) 注) EC No.並びに CAS No.は、それぞれ(3E)、(1R,3E,4S)、(1S,3Z,4R)、(±)、(1R,4S)、(1S,3E,4R)、(1R,3Z,4S)-異性体に対応	- - - 253-242-6 - -	1782069-81-1 95342-41-9 852541-25-4 36861-47-9 741687-98-9 852541-30-1 852541-21-0	15/01/2022	Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - human health) ヒト健康影響 (エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用)		
Phenol, alkylation products (mainly in para position) with C12-rich branched alkyl chains from oligomerisation, covering any individual isomers and/ or combinations thereof (PDDP) フェノールのアルキル化(主にパラ位)反応生成物*オリゴマー化反応等による C12 に富む分岐アルキル鎖を有する	- - - 310-154-3 - -	210555-94-5 27459-10-5 27147-75-7 121158-58-5 74499-35-7 57427-55-1	08/07/2021	Toxic for reproduction (Article 57c) Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - environment) 環境影響 (魚類等への繁殖影響、エストロゲン作用) Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - human health) ヒト健康影響 (エストロゲン作用)		

高懸念物質 (SVHC) ^{a)} *リスト掲載順	EC No.	CAS No. ^{b)}	Date of inclusion 選定日	Reason for inclusion ^{c)} 根拠 (推定メカニズム)	認可対象物質 ^{d)} *年月日記載がある物質が該当	
					Latest application date 最終申請日	Sunset Date 日没日
4,4'-(1-methylpropylidene)bisphenol Bisphenol B; BPB ビスフェノールB	201-025-1	77-40-7	08/07/2021	Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - environment) 環境影響 (エストロゲン作用、 抗アンドロゲン作用) Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - human health) ヒト健康影響 (エストロゲン作用、 抗アンドロゲン作用)		
Butyl 4-hydroxybenzoate Butylparaben ブチルパラベン	202-318-7	94-26-8	25/06/2020	Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - human health) ヒト健康影響 (エストロゲン作用、 抗アンドロゲン作用、ステ ロイド産生影響)		
4- <i>tert</i> -Butylphenol 4- <i>tert</i> -ブチルフェノール	202-679-0	98-54-4	16/07/2019	Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - environment) 環境影響 (内分泌経路での魚類 への有害影響、NP 及び OP との リードアクロスから予想される エストロゲン作用)		
Tris(4-nonylphenyl, branched and linear) phosphite (TNPP) with ≥ 0.1% w/w of 4-nonylphenol, branched and linear (4-NP) トリス(分岐鎖又は直鎖 4-ノンニフェニル)フォスファイト *直鎖 4-ノンニフェノール(4-NP)を 0.1%以上含有	- 247-759-6	3050-88-2 26523-78-4 106599-06-8 31631-13-7 他	16/07/2019	Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - environment) 環境影響 (直鎖又は分岐鎖 4- ニルフェノールによる影響→エ ストロゲン作用)		

高懸念物質 (SVHC) ^{a)} *リスト掲載順	EC No.	CAS No. ^{b)}	Date of inclusion 選定日	Reason for inclusion ^{c)} 根拠 (推定メカニズム)	認可対象物質 ^{d)} *年月日記載がある物質が該当	
					Latest application date 最終申請日	Sunset Date 日没日
1,7,7-Trimethyl-3-(phenylmethylene)bicyclo[2.2.1]heptan-2-one *3-benzylidene camphor; 3-BC 1,7,7-トリメチル 3-(フェニルメチレン)ビジクロ[2.2.1]ヘプタン-2-オン (別名: 3-ベンジリデンカンファー)	239-139-9	15087-24-8	15/01/2019	Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - environment) 環境影響 (エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用)		
Dicyclohexyl phthalate DCHP フタル酸ジシクロヘキシル	201-545-9	84-61-7	27/06/2018	Toxic for reproduction (Article 57c) Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - human health) ヒト健康影響 (抗アンドロゲン作用、ステロイド産生影響)		
Reaction products of 1,3,4-thiadiazolidine-2,5-dithione, formaldehyde and 4-heptylphenol, branched and linear (RP-HP) with ≥0.1% w/w 4-heptylphenol, branched and linear (4-HPbl) 1,3,4-チアゾリジン thiadiazolidine-2,5-ジチオン、ホルムアルデヒド、分岐及び直鎖 4-ヘプチルフェノールの反応生成物	300-298-5 -	93925-00-9 1471311-26-8	15/01/2018	Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - environment) 環境影響 (直鎖又は分岐鎖 4-ヘプチルフェノールによる影響→エストロゲン作用)		
4,4'-Isopropylidenediphenol Bisphenol A; BPA ビスフェノールA	201-245-8	80-05-7	12/01/2017	Toxic for reproduction (Article 57c) Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - environment) 環境影響 (エストロゲン作用、抗甲状腺ホルモン作用、甲状腺軸への作用) Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - human health) ヒト健康影響 (エストロゲン作用、エストロゲン軸への作用)		

<p>4-Nonylphenol, branched and linear, ethoxylated substances with a linear and/or branched alkyl chain with a carbon number of 9 covalently bound in position 4 to phenol, ethoxylated covering UVCB- and well-defined substances, polymers and homologues, which include any of the individual isomers and/or combinations thereof 直鎖又は分岐鎖 4-ノニルフェノールエトキシレート</p>	<p>- 230-770-5 - 243-816-4 500-045-0 248-743-1 - - 500-315-8 - 265-785-6 255-695-5 248-702-5 248-294-1 245-293-6 248-292-0 248-291-5 247-816-5 247-555-7 - 500-024-6 500-209-1 - - - 939-975-0 260-678-0 293-926-1 284-987-5</p>	<p>104-35-8 7311-27-5 14409-72-4 20427-84-3 26027-38-3 27942-27-4 34166-38-6 37205-87-1 127087-87-0 156609-10-8 65455-69-8 42173-90-0 27986-36-3 27177-08-8 27577-05-5 27177-03-3 27176-95-8 26571-11-9 26264-02-8 127081-87-0 9016-45-9 68412-54-4 119449-37-4 1119449-38-5 20636-48-0 - 57321-10-5 91645-64-5 85005-55-6 他</p>	<p>20/06/2013</p>	<p>Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - environment) 環境影響 (エストロゲン作用)</p>	<p>04/07/2019</p>	<p>04/01/2021</p>
<p>4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenol, ethoxylated covering well-defined substances and UVCB substances, polymers and homologues 4-<i>t</i>-オクチルフェノールエトキシレート</p>	<p>- - - 219-682-8 -</p>	<p>2315-67-5 2315-61-9 9002-93-1 2497-59-8 9036-19-5</p>	<p>19/12/2012</p>	<p>Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - environment) 環境影響 (エストロゲン作用)</p>	<p>04/07/2019</p>	<p>04/01/2021</p>
<p>4-Nonylphenol, branched and linear substances with a linear and/or branched alkyl chain with a carbon number of 9</p>	<p>284-325-5 247-770-6</p>	<p>84852-15-3 26543-97-5</p>	<p>19/12/2012</p>	<p>Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - environment)</p>		

高懸念物質 (SVHC) ^{a)} *リスト掲載順	EC No.	CAS No. ^{b)}	Date of inclusion 選定日	Reason for inclusion ^{c)} 根拠 (推定メカニズム)	認可対象物質 ^{d)} *年月日記載がある物質が該当	
					Latest application date 最終申請日	Sunset Date 日没日
covalently bound in position 4 to phenol, covering also UVCB- and well-defined substances which include any of the individual isomers or a combination thereof 直鎖又は分岐鎖 4-ノニルフェノール	203-199-4 241-427-4 250-339-5 257-907-1 - - 234-284-4 - - 246-672-0 291-844-0	104-40-5 17404-66-9 30784-30-6 52427-13-1 186825-36-5 142731-63-3 11066-49-2 186825-39-8 521947-27-3 154-52-3 90481-04-2		環境影響 (エストロゲン作用)		
4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenol 4- <i>t</i> -オクチルフェノール	205-426-2	140-66-9	19/12/2011	Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - environment) 環境影響 (エストロゲン作用)		
Diisobutyl phthalate フタル酸ジイソブチル	201-553-2	84-69-5	13/01/2010	Toxic for reproduction (Article 57c) Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - human health) ヒト健康影響 (エストロゲン作用、 抗アンドロゲン作用)	21/08/2013	21/02/2015
Benzyl butyl phthalate (BBP) フタル酸ブチルベンジル	201-622-7	85-68-7	28/10/2008	Toxic for reproduction (Article 57c) Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - human health) ヒト健康影響 (エストロゲン作用、 抗アンドロゲン作用)	21/08/2013	21/02/2015

高懸念物質 (SVHC) ^{a)} *リスト掲載順	EC No.	CAS No. ^{b)}	Date of inclusion 選定日	Reason for inclusion ^{c)} 根拠 (推定メカニズム)	認可対象物質 ^{d)} *年月日記載がある物質が該当	
					Latest application date 最終申請日	Sunset Date 日没日
Bis (2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)	204-211-0	117-81-7	28/10/2008	Toxic for reproduction (Article 57c) Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - environment) 環境影響 (エストロゲン作用) Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - human health) ヒト健康影響 (エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用)	21/08/2013	21/02/2015
Dibutyl phthalate (DBP) フタル酸ジブチル	201-557-4	84-74-2	28/10/2008	Toxic for reproduction (Article 57c) Endocrine disrupting properties (Article 57(f) - human health) ヒト健康影響 (エストロゲン作用、抗アンドロゲン作用)	21/08/2013	21/02/2015

a) Candidate List of substances of very high concern for Authorisation より Endocrine disrupting properties を Reason for inclusion とする物質を抜粋。

b) Candidate List of substances of very high concern for Authorisation に記載がない物質群については SUPPORT DOCUMENT FOR IDENTIFICATION を参照。

c) Article 57(c)生殖毒性等も含まれる場合は併記。内分泌かく乱の主な作用影響については「SUPPORT DOCUMENT FOR IDENTIFICATION」から抜粋。

d) Authorisation List -List of substances included in Annex XIV of REACH より抜粋。

2. 「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）」

ガイダンスの範囲は以下の通りであった。

- ・申請者、リスク評価者に内分泌かく乱物質（ED）クライテリアの実施に関する技術的ガイダンスを提供する
- ・エストロゲン、アンドロゲン、甲状腺ホルモン及びステロイド産生（EATS）の各介在様式（Modalities）によって引き起こされる内分泌作用機序を網羅する（ただし、潜在的な非EATS 内分泌かく乱作用機序に関する入手可能な情報もフォローアップする必要がある）
- ・脊椎動物（哺乳類、魚類、両生類）の ED 影響に着目する

評価戦略の概要は以下の通りであった。

- ・ガイダンスでは、ED 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、以下の実施方法について記述している。
 - 評価に関連するあらゆる情報を収集、評価、検討する方法
 - 科学的根拠の重み付け（WoE）アプローチを適用する方法
 - 作用機序（MoA）分析を実施する方法

ある物質が内分泌系に対する有害な影響を示す物質であるには以下の3条件を満たした場合となる。

第1の条件：ある物質が有害影響を未処置の生物個体あるいはその子孫に対して形態、生理、成長、発達、生殖、寿命における何らかの変化が起きる、その対象は生物、系（システム）、（準）個体群であり、何らかの機能障害、または追加的なストレス対応能力の損傷、もしくはほかの影響への感受性増大を引き起こすような変化であること

第2の条件：ある物質が内分泌作用機序を持っていること

第3の条件：有害作用が内分泌系の作用機序の結果であること

これらの3つの基準が全て満たされた場合には内分泌かく乱物質となり、これらの1条件でも合っていないければその物質は内分泌かく乱物質ではないと判断される。

- ・ガイダンスでは、統合的アプローチでデータを考察するよう勧告している。しかし、哺乳類以外の非標的生物について更なるデータを実施/要求する前に、哺乳類データを用いて分析を開始し、それに基づいて結論を導出することを勧告している
- ・ガイダンスでは、ED 評価が不必要な活性物質を同定する可能性を残している

あらゆる関連情報を考察するため、ガイドライン試験、システマティックレビューを通じて選択されたその他の科学的データ（ガイダンス文書の別添 F 参照）を含む利用可能なあらゆる

データを収集し、グループ化に基づいて一連の科学的根拠に統合することが必要である。

- ・情報収集を支援する（ガイダンス文書の別添E参照）
- ・データ品質（例えば妥当性や信頼性）を評価する
- ・信頼可能な研究からED評価に関連するあらゆるパラメータを次のように分類する：
 - *in vivo* 作用機序
 - *in vitro* 作用機序
 - EATS-介在性
 - EATS 感受性があるが、EATS とは診断されない
- ・以下の有害性に関する一連の科学的根拠を整理する
 - 「EATS 介在」パラメータ
 - 「EATS 感受性があるが、EATS とは診断されない」パラメータ
- ・以下の内分泌活性に関する一連の科学的根拠を整理する
 - 「*in vitro* 作用機序」パラメータ
 - 「*in vivo* 作用機序」パラメータ
 - 「EATS 介在」パラメータ

ヒト及び哺乳類における EATS 介在様式を把握するために必要な知見は以下の通りである。

- ・エストロゲン介在様式（E-modality）－ToxCast ER 生物活性モデルもしくは「げっ歯類子宮肥大試験」（OECD TG 440）
- ・アンドロゲン介在様式（A-modality）－「ラットハーシュバーガー試験」（OECD TG 441）
- ・甲状腺ホルモン介在様式（T-modality）－反復投与毒性、生殖毒性、発がん性について必要な標準試験での検討が想定される（甲状腺ホルモン介在パラメータと同じ）甲状腺パラメータ
- ・ステロイド産生介在様式（S-modality）－実施済みの「H295R ステロイド産生試験」（OECD TG 456）及び「アロマターゼ試験（ヒト組換え）」（OPPTS890.1200）

非標的生物における EATS 介在様式を把握するために必要な知見以下の通りである。

- ・E、A、S-modality – 好ましくは「魚類短期繁殖試験」（FSTRA: OECD TG 229）を生殖腺の病理組織学的検査の評価と併せて実施すべき。生殖腺の病理組織学的検査が評価されるという条件で魚類 21 日間スクリーニング試験（OECD TG 230）も許容される
- ・T-modality – 「両生類変態試験」（AMA: OECD TG 231）もしくはゼノパス自由胚甲状腺試験（XETA: OECD 248）を実施すべき

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とされている。

付表7-2 デンマークによる内分泌かく乱物質 (ED) と疑われる 13 物質 (2017)

物質名 (CAS 番号)	懸念される 影響の区分	<i>In vitro</i> 作用機構	<i>In vivo</i> 作用機構	有害影響	関連性	評価
デルタメトリン Deltamethrin (52918-63-5)	ヒト健康	強：AR 拮抗作用	弱：AR 拮抗作用	中：雄生殖器官	中	ED と疑われる
プロクロラズ Prochloraz (67747-09-5)	ヒト健康	強：アロマトーゼ阻害、 抗エストロゲン様作用、 抗アンドロゲン様作用	強：抗アンドロゲン様作用	強：抗アンドロゲン様作用、 乳頭保持	強	ED
	環境	抗アンドロゲン様作用	強：魚類でのアロマトーゼ阻害	強：魚類及び両生類での表現型性比偏向	強	ED
トリクロカルバン Triclocarban (101-20-2)	ヒト健康	中：アンドロゲン及びエストロゲンが介在する活性の増大	強：アンドロゲン様作用	中：全付属生殖腺での重量増加	強	ED
オクタメチルシクロテトラシロキサン Octamethylcyclotetrasiloxane (D4) (556-67-2)	ヒト健康	強：エストロゲン様作用	強：エストロゲン様作用	強：生殖能低下、発情周期の不規則化、 排卵率低下、子宮重量増加、子宮 内膜細胞過形成、卵巣萎縮、膣粘液分泌	強	ED
りん酸トリクレジル Tris (methylphenyl) phosphate (1330-78-5)	ヒト健康	強：エストロゲン濃度低下につながるステロイド 産生影響	無～弱	強：成熟雄での有害生殖毒性影響	中	ED
4-tert-ブチルメチルベンジルプロパナール 2- (4-tert-butylbenzyl) - propionaldehyde (80-54-6)	ヒト健康	強：エストロゲン様作用 弱：抗アンドロゲン様作用	データなし	弱～中：精巣萎縮	中	ED
サリチル酸 Salicylic acid (69-72-7)	ヒト健康	中：テストステロン低下	中：抗アンドロゲン様作用、 テストステロン減少	中：精子形成に及ぼす影響	強	ED

物質名 (CAS 番号)	懸念される 影響の区分	<i>In vitro</i> 作用機構	<i>In vivo</i> 作用機構	有害影響	関連性	評価
フェニトロチオン Fenitrothion (122-14-5)	ヒト健康	中：抗アンドロゲン様作用、アンドロゲン様作用	強：抗アンドロゲン様作用	強：雄仔ラットで肛門生殖突起間距離の低値、保持乳頭数の増加、雄成熟ラットで精巣組織、精子パラメータ、生殖腺重量、テストステロン濃度への影響	強	ED
ビフェントリン Bifenthrin (82657-04-3)	ヒト健康	強：1 <i>S-cis</i> 鏡像異性体にエストロゲン様作用あり（工業製品では認められず）	中～強：4-OH 代謝物及び1 <i>S-cis</i> 鏡像異性体にエストロゲン様作用あり（工業製品では陰性との試験結果あり）	低～中：1 <i>S-cis</i> 鏡像異性体及び4-OH 代謝物を用いての有害内分泌エンドポイントに絞った試験については未実施（低濃度で魚類の産卵数が認められるが内分泌特異的なエンドポイントではない）	中	ED と疑われる
フタル酸ジノルマルペンチル Di- <i>n</i> -pentylphthalate (131-18-0)	ヒト健康	強：ステロイド合成低下、抗アンドロゲン様作用	強：抗アンドロゲン様作用	強：雄仔動物で肛門生殖突起間距離の低値、保持乳頭数の増加、精子数、雄生殖器官の奇形及び重量低下	強	ED
ビスフェノールAF Bisphenol AF (1478-61-1)	ヒト健康	強：エストロゲン様作用	強：エストロゲン様作用	強：雄での二次性徴の遅延、雌での早熟及び生殖能に及ぼす明かな影響	強	ED
	環境	強：エストロゲン様作用	強：エストロゲン様作用	強：哺乳類個体群に関連する生殖能に及ぼす影響（非哺乳類個体群に関連するデータはない）	強	ED
安息香酸イソブチル Isobutyl paraben (4247-02-3)	ヒト健康	強：エストロゲン様作用	強：エストロゲン様作用	中：雄仔動物での精子運動性、精子数に及ぼす有害影響、性的二型行動に及ぼす影響	中	ED
ヘキサクロロフェン Hexachlorophene (70-30-4)	ヒト健康	中：抗エストロゲン様作用	関連データなし	弱～中：精細管毒性として顕在化する精巣組織への有害影響	弱	ED と疑われる

3. EUにおける研究動向：EURION

8つの研究プロジェクトの名称を以下に示した。

- ATHENA (Assays for the identification of Thyroid Hormone axis-disrupting chemicals: Elaborating Novel Assessment strategies) : 甲状腺ホルモン軸をかく乱する化学物質を同定するための試験法：新規な評価戦略の案出
- EDCMET (Metabolic effects of Endocrine Disrupting Chemicals: novel testing METHODS and adverse outcome pathways) : 内分泌かく乱化学物質の代謝影響：新規な試験法及び AOP (adverse outcome pathway)
- ENDpoiNTs (Novel Testing Strategies for Endocrine Disruptors in the Context of Developmental NeuroToxicity) : 内分泌かく乱物質の発達神経毒性に関する新規な試験戦略
- ERGO (Breaking down the wall between human health and environmental testing of endocrine disrupters: Endocrine Guideline Optimisation) : 内分泌かく乱物質の試験においてヒト健康と環境とにまたがる障壁の破壊：内分泌ガイドラインの最適化
- FRIA (Female Reproductive Toxicity of EDCs: A human evidence-based screening and Identification Approach) : EDCs の雌性生殖毒性：ヒトでの科学的根拠に基づいたスクリーニング及び同定の取組み
- GOLIATH (Beating Goliath: Generation of Novel, Integrated and Internationally Harmonised Approaches for Testing Metabolism Disrupting Compounds) : 代謝かく乱化学物質を試験するための統合的かつ国際的に調和した取組み
- SCREENED (A multistage model of thyroid gland function for screening endocrine-disrupting chemicals in a biologically sex-specific manner) : 内分泌かく乱化学物質を生物学的な性特異性をもってスクリーニングするための甲状腺機能多段階モデル
- OBERON (An integrative strategy of testing systems for identification of EDs related to metabolic disorders) : 代謝疾患に関連する内分泌かく乱物質を同定するための試験系の統合的戦略

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

* ATHENA : <https://athenaedctestmethods.net/>

* EDCMET : <https://www.uef.fi/en/web/edcmet>

* ENDpoiNTs : <https://endpoints.eu/>

* ERGO : <https://ergo-project.eu/>

* FRIA : <http://freiaproject.eu/wp/>

* GOLIATH : <http://beatinggoliath.eu/>

* SCREENED : <http://screened-project.eu/>

* OBERON : <https://oberon-4eu.com/>

付属資料 8 米国の動向

付表 8-1 EDSP においてエストロゲン、アンドロゲン及び甲状腺ホルモンに潜在的な相互作用を示す物質で Tier 2 テストにおいて推奨される試験法

物質名	ヒト健康影響に関する試験法	野生生物への影響に関する試験法
イプロジオン	×	MEOGRT
カルバリル	×	MEOGRT
PCNB (キントゼン)	×	MEOGRT
クロロタロニル	×	LAGDA
ジクロベニル (DBN)	×	MEOGRT
ジメトエート	甲状腺への影響試験	×
シペルメトリン	男性生殖システムへの影響に関する試験	MEOGRT
テブコナゾール	×	MEOGRT
o-フェニルフェノール	×	MEOGRT
フルトラニル	×	MEOGRT
DCPA (プロパニル)	甲状腺への影響試験	LAGDA
プロピコナゾール	×	MEOGRT
プロパルギット	×	LAGDA
ホルペット	×	MEODRT
マイクロブタニル	×	MEOGRT
メタラキシル	×	MEOGRT
メトリブジン	甲状腺への影響試験	LAGDA
リニュロン	甲状腺への影響試験	MEOGRT、LAGDA

×：Tier 1 スクリーニング評価として、試験結果を基に Tier 2 テストの実施を求めないと総合的に判断された試験項目

MEOGRT：メダカ拡張 1 世代繁殖試験 (OECD TG240)

LAGDA：幼生期両生類生長発達試験 (OECD TG241)

付表 8 - 2 開発中の EDSP 試験の代替案

EDSP Tier 1 試験群 (現行)		Tier 1 試験群の代替 NAM 試験群*
ラット ER 結合試験	<i>In vitro</i>	ER モデル (提案済)
ヒト HeLa 細胞 ER 転写活性化試験	<i>In vitro</i>	ER モデル (提案済)
ラット AR 結合試験	<i>In vitro</i>	AR モデル (提案済)
ヒトアロマターゼ試験	<i>In vitro</i>	STR モデル (近い将来)
ヒト STR 試験	<i>In vitro</i>	STR モデル (近い将来)
ラット子宮肥大試験	<i>In vivo</i>	ER モデル (提案済)
ラットハーシュバーガー試験	<i>In vivo</i>	AR/STR モデル (将来的)
ラット雌思春期試験	<i>In vivo</i>	ER, STR, THY モデル (将来的)
ラット雄思春期試験	<i>In vivo</i>	AR, STR, THY モデル (将来的)
魚類短期繁殖試験	<i>In vivo</i>	ER, AR, STR モデル (将来的)
両生類変態試験	<i>In vivo</i>	THY モデル (将来的)
EDSP Tier 2 試験群		Tier 2 試験群の代替 NAM 試験群*
ラット 2 世代試験	<i>In vivo</i>	ER, AR, STR, THY (将来的)
メダカ拡張 1 世代繁殖試験	<i>In vivo</i>	ER, AR, STR (将来的)
幼生期両生類成長発達試験	<i>In vivo</i>	THY (将来的)
鳥類多世代繁殖試験	<i>In vivo</i>	ER, AR, STR, THY (将来的)

* : ER: エストロゲン受容体系、AR: アンドロゲン受容体系、STR: ステロイド産生系、THY: 甲状腺ホルモン系

1. EDSP 代替試験法の概要

(1) High-Throughput (HTP) Assays for Estrogen Receptor, Androgen Receptor, Steroidogenesis, Thyroid Pathway

HTP assay for ER/AR pathway は「エストロゲン/アンドロゲン受容体系のためのハイスループット試験」であり、種々の *in vitro* 試験とコンピュータ処理的な解析手法が用いられる。

ER の場合は、受容体結合、二量化、コファクター・リクルートメント、DNA 結合、RNA 転写、蛋白質産生、細胞増殖の各ステップに対応した 18 の *in vitro* 試験が実施され (このうち 11 試験については陽性対照物質共存下アンタゴニスト活性についても実施)、試験結果についてはコンピュータを用いた統合的な解析がなされる。

HTP assay for Steroidogenesis pathway や HTP assay for Thyroid Pathway も検討されている。

(2) Sequences Alignment to Predict Across Species Susceptibility tool (SeqAPASS)

SeqAPASS は「生物種横断的に感受性を予測するための配列」であり、当該化学物質に対する毒性学的な感受性を生物種間で予測 (外挿) するための、データベースを用いたハイスループット

なオンラインスクリーニングツールである。化学物質に対する感受性を決定する因子は多いが、SeqAPASS では当該化学物質が生物体内に取り込まれた際に相互作用（結合）する蛋白質に着目し、アミノ酸配列の相同性を生物種間で比較検討する。

SeqAPASS のレベル 1 では全一次アミノ酸配列、レベル 2 では保存性の高い機能ドメインのアミノ酸配列、レベル 3 ではクリティカルなアミノ酸配列（厳密には基質たる化学物質に接する数か所のアミノ酸残基）の相同性について生物種間比較を実施する。

相同性が高いほど、当該化学物質がその蛋白質への結合を介して、生存、成育、発達、生殖において類似した感受性（有害性）が引き起こされる可能性が予測される。

生物種間比較は、例えば、哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類、魚類といった脊椎動物横断的に実施される場合の他、農薬開発において標的生物とそれ以外の生物との比較などにも応用される。

(3) In Vitro to In Vivo Extrapolation (IVIVE)

IVIVE は「*in vitro* から *in vivo* への外挿」であり、ハイスループットな *in vitro* スクリーニング試験から得られた毒性値（ μM 等の濃度）を、ヒト及び環境中ばく露により近い *in vivo* 試験での毒性値（哺乳動物の経口摂取量 $\text{mg}/\text{kg}/\text{day}$ 、水生生物のばく露濃度 $\mu\text{g}/\text{L}$ 等の予測濃度）に変換するプロセスである。その際、当該化学物質及び生物種に特異的な血漿蛋白質による結合及び代謝による体内クリアランスを考慮した生理学的トキシコキネティクス（PBTK: Physiologically-Based Toxicokinetics)やハイスループット・トキシコキネティクス（HTTK: High-Throughput Toxicokinetics)モデリングが用いられる他、体系的文献レビュー（Systematic literature review）やその他の科学的関連情報（OSRI: Other Scientific Relevant Information）も考慮される。

(4) integrated Bioactivity Exposure Ratio (iBER)

iBER は「生物活性とばく露との比」であり、ToxCast 等からハイスループット・トキシコキネティクス（HTTK）を経由して導かれる毒性値濃度と ExpoCast 等から得られるばく露濃度との比である。iBER は、化学物質の毒性試験実施に向けた優先順位付けにおいて重要な判断材料となる。

(5) Systematic Reviews (SR)

SR は「体系的文献レビュー」であり、既存データ・文献の科学的根拠を用いることによって、絞り込まれた課題に対し新たな確定試験を実施することなく回答を得るために設計されている。課題のスクリーニング、文献検索、表題・要旨スクリーニング、試験方法に対する評価（全文スクリーニング）、データ抽出、データ評価・合成というプロセスの流れとなるが、新アプローチ方法論（NAMs: New Approach Methodologies）に基づいた検証やリスク評価に資する高品質データを抽出することがゴールとなる。知見の見出し、評価、科学的根拠の構築においては、バイアスを可能な限りに小さくし、透明性を可能な限り高めることが重要である。環境影響分野では、2014年には最初の SR フレームワークが公表されており、既にこれまで約 1,500 件の SR を実施した関連文献が発表されている。

付属資料 9 主な論文（平成 28 年～令和 4 年）

1. 作用・影響評価に関連した論文

- 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. Publications from UK-Japan Partnership and Associated Research Projects(2016-2021)

Core Project 1

2016

- Donnachie, R.L, **Johnson, A.C.** and Sumpter, J.P. (2016). A rational approach to selecting and ranking twelve pharmaceuticals of concern for the aquatic environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35, 1021-1027.
- Hanamoto, S.**, Hasegawa, E., **Nakada, N.**, Yamashita, N. and **Tanaka, H.** (2016). Modeling the fate of a photoproduct of ketoprofen in urban rivers receiving wastewater treatment plant effluent. *Science of the Total Environment*, 573, 810–816.
- Mano, H. and **Okamoto, S.** (2016). Preliminary ecological risk assessment of 10 PPCPs and their contributions to the toxicity of surface water on an algal species in the middle basin of Tama River. *Journal of Water and Environment Technology*, 14, 423-436.
- Sato, C., Kim, I. and **Tanaka, H.** (2016). Effect of H₂O₂ on UV photo-oxidation of pharmaceuticals and personal care products in wastewater. *Journal of Environmental Engineering*, 142 (11), 04016055.

2017

- Ihara, M.**, Zhang, H., **Hanamoto, S.** and **Tanaka, H.** (2017). Detection of physiological activity of pharmaceuticals in wastewater and river water. *Yakugakuzashi*, 38, 281-287.
- Johnson, A.C.**, Jürgens, M.D., **Nakada, N.**, **Hanamoto, S.**, Singer A.C. and **Tanaka, H.** (2017). Linking changes in antibiotic effluent concentrations to flow, removal and consumption in four different UK sewage treatment plants over four years. *Environmental Pollution*, 220, Part B, 919-926.
- Johnson, A.C.** and Chen, Y. (2017). Does exposure to domestic wastewater effluent (including steroid estrogens) harm fish populations in the UK? *Science of the Total Environment*, 589, 89-96.
- Johnson, A.C.**, Donnachie, R.L, Sumpter, J.P., Monika D. Jürgens, M.D., Moeckel, C. and Pereira, M.G. (2017). An alternative approach to risk rank chemicals on the threat they pose to the aquatic environment. *Science of the Total Environment*, 599-600, 1372-1381.
- Nakada, N.**, **Hanamoto, S.**, Jürgens, M.D., **Johnson, A.C.**, Bowes, M.J. and **Tanaka, H.** (2017). Assessing the population equivalent and performance of wastewater treatment through the ratios of pharmaceuticals and personal care products present in a river basin: Application to the River Thames basin, UK. *Science of the Total Environment*, 575, 1100-1108.
- Park, J., Yamashita, N., Park, C., Shimono, T., Takeuchi, D. and **Tanaka, H.** (2017). Removal characteristics of pharmaceuticals and personal care products: Comparison between membrane bioreactor and various biological treatment processes. *Chemosphere*, 179, 371-380.
- Park, J., Yamashita, N., Wu, G. and **Tanaka, H.** (2017). Removal of pharmaceuticals and personal care products by ammonia oxidizing bacteria acclimated in a membrane bioreactor: Contributions of cometabolism and endogenous respiration. *Science of the Total Environment*, 605-606, 18-25.

- Qun, X., Fukahori, S., Yamashita, N., **Tanaka, H.** and Fujiwara, T. (2017). Removal of crotamiton from reverse osmosis concentrate by a TiO₂/zeolite composite sheet. *Applied Sciences*, 7 (8), 778.
- Tamura, I, Yasuda, Y., Kagota, K., Yoneda, S., **Nakada, N.**, Kumar, V., Kameda Y., Kimura K., **Tatarazako, N.** and Yamamoto H. (2017). Contribution of pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) to whole toxicity of water samples collected in effluent-dominated urban streams. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 144, 338-350.
- Yamashita, N., Fukunaga, A. and **Tanaka, H.** (2017). Examination of ecotoxicity test using bacteria as a test organism and toxicity evaluation of pharmaceuticals. *Journal of Japan Society of Civil Engineers, Ser. G*, 73(4), 159-171 (in Japanese).
- Yang, Y.K., **Nakada, N.**, Zhao, L. and **Tanaka, H.** (2017). Influences of activated sludge surface properties on adsorption of aqueous fullerene C60 nanoparticles. *International journal of Environmental Science & Technology*, 14, 1989-1998.

2018

- CruzI, N.E.P., Kim, I., **Tanaka, H.** and Sato, C. (2018). Ozone treatment process for the removal of pharmaceuticals and personal care products in wastewater. *Ozone Science and Engineering*, 41, 3-16.
- Hanamoto, S., Nakada, N.,** Jürgens, M.D., **Johnson, A.C.**, Yamashita, N. and **Tanaka, H.** (2018). The different fate of antibiotics in the Thames River, UK, and the Katsura River, Japan. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 1903-1913.
- Hata, A., Hanamoto, S., **Ihara, M.**, Shirasaka, Y., Yamashita, N. and **Tanaka, H.** (2018). Comprehensive study on enteric viruses and indicators in surface water in Kyoto, Japan, During 2014-2015 season. *Food and Environmental Virology*, 10 (4), 353-364.
- Hata, A., Kitajima, M., Haramoto, E., Lee, S., **Ihara, M.**, Gerba, C.P. and **Tanaka, H.** (2018). Next-generation amplicon sequencing identifies genetically diverse human astroviruses, including recombinant strains, in environmental waters. *Scientific Reports*, 8 (1), 11837.
- Hanamoto, S., Nakada, N.,** Yamashita, N. and **Tanaka, H.** (2018) Source estimation of pharmaceuticals based on catchment population and in-stream attenuation in Yodo river watershed, Japan. *Science of the Total Environment*, 615, 964-971.
- Park, J., Yamashita, N. and **Tanaka, H.** (2018). Membrane fouling control and enhanced removal of pharmaceuticals and personal care products by coagulation-MBR. *Chemosphere*, 197, 467-476.
- Takeuchi, H., **Tanaka, H.**, Nghiem, L.D. and Fujioka, T. (2018). Emerging investigator series: A steric pore-flow model to predict the transport of small and uncharged solutes through a reverse osmosis membrane. *Environmental Science: Water Research and Technology*, 4 (4), 493-504.
- Zhang, H., **Ihara, M., Hanamoto, S., Nakada, N.,** Jürgens, M.D., **Johnson, A.C.** and **Tanaka, H.** (2018). The quantification of pharmaceutical related biological activity in effluents from wastewater treatment plants in UK and Japan. *Environmental Science & Technology*, 52, 11848-11856.

2019

- Hanamoto, S.** and **Ogawa, F.** (2019). Predicting the sorption of azithromycin and levofloxacin to sediments from mineral and organic compounds. *Environmental Pollution*, 255, 113180.
- Im, D., **Nakada, N.**, Kato, Y., Aoki, M. and **Tanaka, H.** (2019). Pretreatment of ceramic membrane microfiltration in wastewater reuse: A comparison between ozonation and coagulation. *Journal of Environmental Management*, 251, 109555.
- Paucar, N.E., Kim, I.-H., **Tanaka, H.** and Sato, C. (2019). Effect of O₃ dose on the O₃/UV treatment process for the removal of pharmaceuticals and personal care products in secondary effluent. *Chemical Engineering*, 3 (2), 53.

2020

- Ghosh, G.C., Khan, M.J.H., Chkraborty, T.K., Zaman, S., Kabir, A.H.M.E. and **Tanaka, H.** (2020). Human health risk assessment of elevated and variable iron and manganese intake with arsenic-safe

groundwater in Jashore, Bangladesh. *Scientific Reports*, 10 (1), 5206.

- Ihara, M., Hanamoto, S.,** Ihara, M.O., Zhang, H. and **Tanaka, H.** (2020). Wastewater-derived antagonistic activities of GPCR-acting pharmaceuticals in river water. *Journal of Applied Toxicology*, 40, 908-917.
- Johnson, A.C.,** Ball, H., Cross, R., Horton, A.A., Jürgens, M.D., Read, D.S., Vollertsen, J. and Svendsen, C. (2020). Identification and quantification of microplastics in potable water and their sources within water treatment works in England and Wales. *Environmental Science and Technology*, 54 (19), 12326-12334.
- Johnson, A.C.,** Jin, X., **Nakada, N.** and Sumpter, J.P. (2020). Learning from the past and considering the future of chemicals in the environment. *Science*, 367, 384-387.
- Zhang, H., Ihara, M.O., **Nakada, N., Tanaka, H.** and **Ihara, M.** (2020). Biological-activity-based prioritization of pharmaceuticals in wastewater for environmental monitoring: G protein-coupled receptor inhibitors. *Environmental Science & Technology*, 54 (3), 1720-1729.

2021

- Cervený, D., Grabic, R., Grabicová, K., Randák, T., Larsson, D.G.J., **Johnson, A.C.,** Jürgens, M.D., Tysklind, M., Lindberg, R.H. and Fick, J. (2021). Neuroactive drugs and other pharmaceuticals found in blood plasma of wild European fish. *Environment International*, 146, 106188.
- Fujioka, T., Ngo, M.T.T., Makabe, R., Ueyama, T., Takeuchi, H., Nga, T.T.V., Bui, X.T. and **Tanaka H.** (2021). Submerged nanofiltration without pre-treatment for direct advanced drinking water treatment. *Chemosphere*, 265, 129056. doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.
- Greenop, A., Woodcock, B.A., Outhwaite, C.L., Carvell, C., Pywell, R.F., Mancini, F., Edwards, F.K., **Johnson, A.C.** and Isaac, N.J.B. (2021). Patterns of invertebrate functional diversity highlight the vulnerability of ecosystem services over a 45-year period. *Current Biology*, 31 (20), 4627-4634.
- Hanamoto, S.,** Yamamoto-Ikemoto, R. and **Tanaka, H.** (2021) Predicting mass loadings of sulfamonomethoxine, sulfamethoxazole, and lincomycin discharged into surface waters in Japanese river catchments. *Science of the Total Environment*, 776, 146032, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.146032.
- Hata, A., Shirasaka, Y., **Ihara, M.,** Yamashita, N., **Tanaka, H.** (2021). Spatial and temporal distribution of enteric viruses and indicators in a lake receiving municipal wastewater treatment plant discharge. *Science of the Total Environment*, 780, 146607. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.146607.
- Horton, A.A., Cross, R.K., Read, D.S., Jürgens, M.D., Ball, H.L., Svendsen, C., Vollertsen, J. and **Johnson, A.C.** (2021). Semi-automated analysis of microplastics in complex wastewater samples. *Environmental Pollution*, 268 (Part A), 115841.
- Ihara, M.,** Zhang, H., Ihara, M.O., Kato, D. and **Tanaka, H.** (2021). Proposal for fluorescence-based *in vitro* assay using human and zebrafish monoamine transporters to detect biological activities of antidepressants in wastewater. *Science of the Total Environment*, 770, 144665. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.144665.
- Johnson, A.C.,** Sumpter, J.P. and Depledge, M.H. (2021). The weight of evidence approach and the need for greater international acceptance of its use in tackling questions of chemical harm to the environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 40 (11), 2947-2949.
- Johnson, A.C.,** Sumpter, J.P. and Depledge, M.H. (2021). The future of the weight-of-evidence approach: A response to Suter's comments. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 40 (11), 2947-2949.
- Liu, Z., Xu, C., **Johnson, A.C.,** Sun, X., Ding, X., Ding, D., Liu, S. and Liang, X. (2021). Source apportionment and crop bioaccumulation of perfluoroalkyl acids and novel alternatives in an industrial-intensive region with fluorochemical production, China: Health implications for human exposure. *Journal of Hazardous Materials*, 423 (Pt. A), 127019.
- Miyaoku, K., Ogino, Y., **Lange, A.,** Ono, A., **Kobayashi, T., Ihara, M., Tanaka, H.,** Toyota, K., Akashi, H., Yamagishi, G., Sato, T., **Tyler C.R., Iguchi, T.** and **Miyagawa, S.** (2021). Characterization of G protein-coupled estrogen receptors in Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Journal of Applied Toxicology*, 41 (9), 1390-1399.
- Ngo, T.H., Van, D.-A., Tran, H.L., Nakada, N., **Tanaka, H.** and Huynh, T.H. (2021). Occurrence of pharmaceutical and personal care products in Cau River, Vietnam. *Environmental Science and Pollution*

Research, 28 (10), 12082-12091.

- Torii, S., Oishi, W., Zhu, Y., Thakali, O., Malla, B., Yu, Z., Zhao, B., Arakawa, C., Kitajima, M., Hata, A., **Ihara, M.**, Kyuwa, S., Sano, D., Haramoto, E. and Katayama, H. (2021). Comparison of five polyethylene glycol precipitation procedures for the RT-qPCR based recovery of murine hepatitis virus, bacteriophage phi6, and pepper mild mottle virus as a surrogate for SARS-CoV-2 from wastewater. *Science of the Total Environment*, 807 (Pt 2), 150722. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.
- Zhao, B., Nakada, N., **Hanamoto, S.**, Zhang, L. and Wong, Y. (2021). Modeling in-stream attenuation of *N*-nitrosodimethylamine and formaldehyde during urban river transportation based on seasonal and diurnal variation. *Environmental Science and Pollution Research*, 28 (9), 10889-10897.

Core Project 2

2016

- Chakraborty, T., Zhou, L.Y., Chaudhari, A., **Iguchi, T.** and Nagahama, Y. (2016). Dmy initiates masculinity by altering *Gsdf/Sox9a2/Rspo1* expression in medaka (*Oryzias latipes*). *Scientific Reports*, 6, 19480.
- Collison, E., Hird, H., Cresswell, J. and **Tyler, C.R.** (2016). Interactive effects of pesticide exposure and pathogen infection on bee health - A critical analysis. *Biological Reviews*, 91, 1006-1019.
- Dogra, Y., Arkill, K.P., Elgy, C., Stolpe, B., Lead, J., Valsami-Jones, E., **Tyler, C.R.** and Galloway, T.S. (2016). Cerium oxide nanoparticles induce oxidative stress in the sediment-dwelling amphipod *Corophium volutator*. *Nanotoxicology*, 10, 480-487.
- Green, J.M., Metz, J., Lee, O., Trznadel, M., Takesono, A., Brown, A.R., Owen, S.F., Kudoh, T. and **Tyler, C.R.** (2016). High-content and semi-automated quantification of responses to estrogenic chemicals using a novel translucent transgenic zebrafish. *Environmental Science & Technology*, 50, 6536-6545.
- Hamilton, P.B., Cowx, I.G., Oleksiak, M.F., Griffiths, A.M., Grahn, M., Stevens, J.R., Carvalho, G.R., Nicol, E. and **Tyler, C.R.** (2016). Population-level consequences for wild fish exposed to sublethal concentrations of chemicals - A critical review. *Fish and Fisheries*, 17, 545-566.
- Haselman, J.T., Kosian, P.A., Korte, J.J., Olmstead, A.W., **Iguchi, T.**, Johnson, R.D. and Degitz, S.J. (2016). Development of the Larval Amphibian Growth and Development Assay: Effects of chronic 4-*tert*-octylphenol or 17 β -trenbolone exposure in *Xenopus laevis* from embryo to juvenile. *Journal of Applied Toxicology*, 36, 1639-1650.
- Haselman, J.T., **Sakurai, M.**, Watanabe, N., Goto, Y., **Onishi, Y.**, Ito, Y., Onoda, Y., Kosian, P.A., Korte, J.J., Johnson, R.D., **Iguchi, T.** and Degitz, S.J. (2016). Development of the Larval Amphibian Growth and Development Assay: Effects of benzophenone-2 exposure in *Xenopus laevis* from embryo to juvenile. *Journal of Applied Toxicology*, 36, 1651-1661.
- Katsu, Y., Cziko, P.A., Chandsawangbhuwana, C., Thornton, J.W., Sato, R., Oka, K., Takei, Y., Baker, M.E. and **Iguchi, T.** (2016). A second estrogen receptor from Japanese lamprey (*Lethenteron japonicum*) does not have activities for estrogen binding and transcription. *General and Comparative Endocrinology*, 236, 105-114.
- Lillicrap, A., Springer, T. and **Tyler, C.R.** (2016). A tiered assessment strategy for more effective evaluation of bioaccumulation of chemicals in fish. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 75, 20-26.
- Nakajima, T., **Iguchi, T.** and Sato, T. (2016). Retinoic acid signalling determines the fate of uterine stroma in the mouse Müllerian duct. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113, 14354-14359.
- Ogino, Y., Kuraku, S., Ishibashi, H., Sumiya, E., **Miyagawa, S.**, Matsubara, H., Yamada, G., Baker, M.E. and **Iguchi, T.** (2016). Neofunctionalization of androgen receptor by gain-of-function mutations in teleost fish lineage. *Molecular Biology and Evolution*, 33, 228-244.
- Oka, K., Kohno, S., **Ohta, Y.**, **Guillette, L.J. Jr.**, **Iguchi, T.** and Katsu, Y. (2016). Molecular cloning and characterization of the aryl hydrocarbon receptors and aryl hydrocarbon receptor nuclear translocators in the American alligator. *General and Comparative Endocrinology*, 238, 13-22.
- Osborne, O.J., Mukaigasa, K., Nakajima, H., Stolpe, B., Romer, I., Philips, U., Lynch, I., Mourabit, S., Hirose, S., Lead, J.R., Kobayashi, M., Kudoh, T. and **Tyler, C.R.** (2016). Sensory systems and

ionocytes are targets for silver nanoparticle effects in fish. *Nanotoxicology*, 10, 1276-1286.

- Sherman, K.D., Dahlgren, C.P., Stevens, J.R. and **Tyler, C.R.** (2016). Integrating population biology into conservation management for endangered Nassau grouper *Epinephelus striatus*. *Marine Ecology Progress Series*, 554, 263-280.
- Song, Y., Rundberget, J.T., Evenseth, L.M., Xie, L., Gomes, T., Høgåsen, T., **Iguchi, T.** and Tollefsen, K.E. (2016). Whole-organism transcriptomic analysis provides mechanistic insight into the acute toxicity of emamectin benzoate in *Daphnia magna*. *Environmental Science & Technology*, 50, 11994-12003.
- Spirhanzlova, P., Leleu, M., Sébillot, A., Lemkine, G.F., **Iguchi, T.**, Demeneix, B.A. and Tindall, A.J. (2016). Oestrogen reporter transgenic medaka for non-invasive evaluation of aromatase activity. *Comparative Biochemistry and Physiology C Toxicology and Pharmacology*, 179, 64-71.
- Sumiya, E., Ogino, Y., **Toyota, K.**, Miyakawa, H., **Miyagawa, S.** and **Iguchi, T.** (2016). Neverland regulates embryonic molts through the regulation of ecdysteroids synthesis in the water flea *Daphnia magna*. *Journal of Applied Toxicology*, 36, 1476-1485.
- Terauchi, K., Shigeta, Y., **Iguchi, T.** and Sato, T. (2016). Role of Notch signalling in granulosa cell proliferation and polyovular follicle induction during folliculogenesis in the mouse ovary. *Cell and Tissue Research*, 365, 197-208.
- Toyota, K.**, Gavin, A., **Miyagawa, S.**, Viant, M.R. and **Iguchi, T.** (2016). Metabolomics reveals an involvement of pantothenate for male production responding to the short-day stimulus in the water flea, *Daphnia pulex*. *Scientific Reports*, 6, 25125.
- Toyota, K.**, Hiruta, C., Ogino, Y., **Miyagawa, S.**, **Okamura, T.**, **Onishi, Y.**, **Tatarazako, N.** and **Iguchi, T.** (2016). Comparative developmental staging of the female and male water fleas *Daphnia pulex* and *Daphnia magna* during embryogenesis. *Zoological Science*, 33, 31-37.
- Toyota, K.**, **Miyagawa, S.**, Ogino, Y. and **Iguchi, T.** (2016). Chapter 6: Microinjection-based RNA interference method in the water flea, *Daphnia pulex* and *Daphnia magna*. In *RNA Interference*, Ed. Abdurakhmonov, I.Y. InTech. pp. 119-135.
- Verbruggen, B., Bickley, L.K., van Aerle, R., Bateman, K.S., Stentiford, G.D., Santos, E.M. and **Tyler, C.R.** (2016). Molecular mechanisms of white spot syndrome virus infection and perspectives on treatments. *Viruses*, 8 (1), 29.
- Yatsu, R., Katsu, Y., Kohno, S., Mizutani, T., Ogino, Y., **Ohta, Y.**, Myburgh, J., van Wyk, J.H., **Guillette, L.J.Jr.**, **Miyagawa, S.** and **Iguchi, T.** (2016). Characterization of evolutionary trend in squamate estrogen receptor sensitivity. *General and Comparative Endocrinology*, 238, 88-95.
- Yatsu, R., **Miyagawa, S.**, Kohno, S., Parrott, B.B., Yamaguchi, K., Ogino, Y., Miyakawa, H., Lowers, R.H., Shigenobu, S., **Guillette, L.J.Jr.** and **Iguchi, T.** (2016). RNA-seq analysis of the gonadal transcriptome during *Alligator mississippiensis* temperature-dependent sex determination and differentiation. *BMC Genomics*, 17, 77.
- Zoeller, T., Bergman, Å., Becher, G., Bjerregaard, P., Bornman, R., Brandt, I., **Iguchi, T.**, Jobling, S., Kidd, K., Kortenkamp, A., Skakkebaek, N., Toppari, J. and Vandenberg, L. (2016). The path forward on endocrine disruptors requires focus on the basics. *Toxicological Sciences*, 149, 272.

2017

- Bickley, L.K., van Aerle, R., Brown, A.R., Hargreaves, A., Huby, R., Cammack, V., Jackson, R., Santos, E.M. and **Tyler, C.R.** (2017). Bioavailability and kidney responses to diclofenac in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environmental Science & Technology*, 51, 1764-1774.
- Brockmeier, E.K., Hodges, G., Hutchinson, T.H., Butler, E., Hecker, M., Tollefsen, K.E., Garcia-Reyero, N., Kille, P., Becker, D., Chipman, K., Colbourne, J., Collette, T.W., Cossins, A., Cronin, M., Graystock, P., Gutsell, S., Knapen, D., **Katsiadaki, I.**, **Lange, A.**, Marshall, S., Owen, S.F., Perkins, E.J., Plaistow, S., Schroeder, A., Taylor, D., Viant, M., Ankley, G. and Falciani, F. (2017). The role of omics in the application of Adverse Outcome Pathways for chemical risk assessment, *Toxicological Sciences*, 158(2):252–262.
- Bruintjes, R., Harding, H.R., Bunce, T., Birch, F., Lister, J., Spiga, I., Benson, T., Rossington, K., Jones, D., **Tyler, C.R.**, Radford, A.N. and Simpson, S.D. (2017). Shipbuilding docks as experimental systems for

- realistic assessments of anthropogenic stressors on marine organisms. *Bioscience*, 67, 853-859.
- David, A., **Lange, A.**, Abdul-Sada, A., **Tyler, C.R.** and Hill, E.M. (2017). Disruption of the prostaglandin metabolome and characterization of the pharmaceutical exposome in fish exposed to wastewater treatment works effluent as revealed by nanoflow-nanospray mass spectrometry-based metabolomics. *Environmental Science & Technology*, 51, 616-624.
- Edenbrow, M., Bleakley, B.H., Darden, S.K., **Tyler, C.R.**, Ramnarine, I.W. and Croft, D.P. (2017). The evolution of cooperation: Interacting phenotypes among social partners. *American Naturalist*, 189, 630-643.
- Flynn, K., Lothenbach, D., Whiteman, F., Hammermeister, D., Touart, L., Swintek, J., **Tatarazako, N.**, **Onishi, Y.**, **Iguchi, T.** and Johnson, R. (2017). Summary of the development the US Environmental Protection Agency's Medaka Extended One Generation Reproduction Test (MEOGRT) using data from nine multigenerational medaka tests. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36, 3387-3403.
- Galloway, T.S., Dogra, Y., Garrett, N., Rowe, D., **Tyler, C.R.**, Moger, J., Lammer, E., Landsiedel, R., Sauer, U.G., Scherer, G., Wohlleben, W. and Wiench, K. (2017). Ecotoxicological assessment of nanoparticle-containing acrylic copolymer dispersions in fairy shrimp and zebrafish embryos. *Environmental Science: Nano*, 4, 1981-1997.
- Hamilton, P.B., Rolshausen, G., Webster, T.M.U. and **Tyler, C.R.** (2017). Adaptive capabilities and fitness consequences associated with pollution exposure in fish. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372, 9.
- Horie, Y., **Watanabe, H.**, Takanobu, H., Shigemoto, Y., Yamagishi, T., **Iguchi, T.** and **Tatarazako, N.** (2017). Effects of triphenyltin on reproduction in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) across multiple generations. *Aquatic Toxicology*, 192, 16-23.
- Horie, Y., **Watanabe, H.**, Takanobu, H., Yagi, A., Yamagishi, T., **Iguchi, T.** and **Tatarazako, N.** (2017). Development of an *in vivo* anti-androgenic activity detection assay using fenitrothion in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Journal of Applied Toxicology*, 37, 339-346.
- Horie, Y., Yamagishi, T., Takahashi, H., Koshio, M., **Iguchi, T.** and **Tatarazako, N.** (2017). Lethal and sublethal effects of aniline and chlorinated anilines on zebrafish embryos and larvae. *Journal of Applied Toxicology*, 37, 836-841.
- Horie, Y., Yamagishi, T., Takahashi, H., Shintaku, Y., **Iguchi, T.** and **Tatarazako, N.** (2017). Assessment of the lethal and sublethal effects of 20 environmental chemicals in zebrafish embryos and larvae by using OECD TG 212. *Journal of Applied Toxicology*, 37, 1245-1253.
- Lange, A.**, Corcorana, J., **Miyagawa, S.**, **Iguchi, T.**, Winter, M.J. and **Tyler, C.R.** (2017). Development of a common carp (*Cyprinus carpio*) pregnane X receptor (cPXR) transactivation reporter assay and its activation by azole fungicides and pharmaceutical chemicals. *Toxicology In Vitro*, 41, 114-122.
- Le Page, G., Gunnarsson, L., Snape, J. and **Tyler, C.R.** (2017). Integrating human and environmental health in antibiotic risk assessment: A critical analysis of protection goals, species sensitivity and antimicrobial resistance. *Environment International*, 109, 155-169.
- Matsubara, K., Nakamura, N., Sanoh, S., Ohta, S., Kitamura, S., Uramaru, N., **Miyagawa, S.**, **Iguchi, T.** and Fujimoto, N. (2017). Altered expression of *Olr59*, *Ethel1*, and *Slc10a2* genes in the liver of F344 rats by neonatal thyroid hormone disruption. *Journal of Applied Toxicology*, 37, 1030-1035.
- Matthiessen, P., Ankley, G.T., Biever, B.C., Bjerregaard, P., Borgert, C., Brugger, K., Blankinship, A., Chambers, J., Coady, K.K., Constantine, L., Dang, Z., Denslow, N.D., Dreier, D., Dungey, S., Gray, L.E., Gross, M., Guiney, P.D., Hecker, M., Holbech, H., **Iguchi, T.**, Kadlec, S., Karouna-Renier, N.K., **Katsiadaki, I.**, **Kawashima, Y.**, Kloas, W., Krueger, H., Kumar, A., Lagadic, L., Leopold, A., Levine, S.L., Maack, G., Marty, S., Meador, J., Mihaich, E., Odum, J., Ortego, L., Parrott, J., Pickford, D., Roberts, M., Schaefer, C., Schwarz, T., Solomon, K., Verslycke, T., Weltje, L., Wheeler, J.R., Williams, M., Wolf, J.C. and **Yamazaki, K.** (2017). Recommended approaches to the scientific evaluation of environmental hazards and risks of endocrine-active substances. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 13, 267-279.
- Miyakawa, H. and **Iguchi, T.** (2017). Comparative luciferase assay for establishing reliable *in vitro* screening system of juvenile hormone agonists. *Journal of Applied Toxicology*, 37, 1082-1090.
- Moreman, J., Lee, O., Trznadel, M., David, A., Kudoh, T. and **Tyler, C.R.** (2017). Acute toxicity, teratogenic

- and estrogenic effects of Bisphenol A and its alternative replacements Bisphenol S, Bisphenol F and Bisphenol AF in zebrafish embryo-larvae. *Environmental Science & Technology*, 51 (21), 12796-12805.
- Parrott, J.L., Bjerregaard, P., Borgert, C.J., Brugger, K.E., Gray, L.E.Jr., **Iguchi, T.**, Kadlec, S.M., Weltje, L. and Wheeler, J.R. (2017). Uncertainties in biological responses that influence hazard and risk approaches to the regulation of endocrine active substances. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 13, 293-301.
- Sherman, K.D., King, R.A., Dahlgren, C.P., Simpson, S.D., Stevens, J.R. and **Tyler, C.R.** (2017). Historical processes and contemporary anthropogenic activities influence genetic population dynamics of Nassau grouper (*Epinephelus striatus*) within the Bahamas. *Frontiers in Marine Sciences*, 4, 393.
- Song, Y., Evenseth, L.M., **Iguchi, T.** and Tollefsen, K.E. (2017). Release of chitobiase as an indicator of potential molting disruption in juvenile *Daphnia magna* exposed to the ecdysone receptor agonist 20-hydroxyecdysone. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 80, 954-962.
- Song, Y., Villeneuve, D.L., **Toyota, K.**, **Iguchi, T.** and Tollefsen, K.E. (2017). Ecdysone receptor agonism leading to lethal molting disruption in arthropods: Review and adverse outcome pathway development. *Environmental Science & Technology*, 51, 4142-4157.
- Stevens, C.H., Croft, D.P., Paull, G.C. and **Tyler, C.R.** (2017). Stress and welfare in ornamental fishes: What can be learned from aquaculture? *Journal of Fish Biology*, 91, 409-428.
- Tohyama, S.**, Ogino, Y., **Lange, A.**, Myosho, T., **Kobayashi, T.**, Hirano, Y., Yamada, G., Sato, T., **Tatarazako, N.**, **Tyler, C.R.**, **Iguchi, T.** and **Miyagawa, S.** (2017). Establishment of estrogen receptor 1 (ESR1)-knockout medaka; ESR1 is dispensable for sexual development and reproduction in medaka, *Oryzias latipes*. *Development Growth and Differentiation*, 59, 552-561.
- Toyota, K.**, McNabb, N.A., Spyropoulos, D.D., **Iguchi, T.** and Kohno, S. (2017). Toxic effects of chemical dispersant Corexit 9500 on water flea *Daphnia magna*. *Journal of Applied Toxicology*, 37, 201-206.
- Toyota, K.**, Sato, T., **Tatarazako, N.** and **Iguchi, T.** (2017). Photoperiodism of male offspring production in the water flea *Daphnia pulex*. *Zoological Science*, 34, 312-317.
- Toyota, K.**, Sato, T., **Tatarazako, N.** and **Iguchi, T.** (2017). Protein kinase C involved with upstream signaling of methyl farnesoate for the photoperiod-dependent sex determination in the water flea *Daphnia pulex*. *Biology Open*, 6, 161-164.
- Toyota, K.**, Williams, T.D., Sato, T., **Tatarazako, N.** and **Iguchi, T.** (2017). Comparative ovarian microarray analysis of juvenile hormone-responsive genes in water flea *Daphnia magna*: Potential targets for toxicity. *Journal of Applied Toxicology*, 37, 374-381.
- Watanabe, H.**, Horie, Y., Takanobu, H., Koshio, M., Flynn, K., **Iguchi, T.** and **Tatarazako, N.** (2017) Medaka Extended One-Generation Reproduction Test (MEOGRT) evaluating 4-nonylphenol. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36, 3254-3266.
- Webster, T.M.U., Williams, T.D., **Katsiadaki, I.**, **Lange, A.**, Lewis, C., Shears, J.A. and **Tyler, C.R.**, Santos, E.M. (2017). Hepatic transcriptional responses to copper in the three-spined stickleback are affected by their pollution exposure history. *Aquatic Toxicology*, 184, 26-36.
- Winter, M.J., Windell, D., Metz, J., Matthews, P., Pinion, J., Brown, J.T., Hetheridge, M.J., Ball, J.S., Owen, S.F., Redfern, W.S., Moger, J., Randall, A.D. and **Tyler, C.R.** (2017). 4-Dimensional functional profiling in the convulsant-treated larval zebrafish brain. *Scientific Reports*, 7, 16.

2018

- Fujimoto, N., Kitamura, S., Uramaru, N., **Miyagawa, S.** and **Iguchi, T.** (2018). Identification of hepatic thyroid hormone-responsive genes in neonatal rats: Potential targets for thyroid hormone-disrupting chemicals. *Toxicological Letters*, 286, 48-53.
- Hiruta, C., Kakui, K., Tollefsen, K.E. and **Iguchi, T.** (2018). Targeted gene disruption by use of CRISPR/Cas9 ribonucleoprotein complexes in the water flea *Daphnia pulex*. *Genes to Cells*, 23, 494-502.
- Horie, Y., Yamagishi, T., Takahashi, H., **Iguchi, T.** and **Tatarazako, N.** (2018). Effects of triclosan on Japanese medaka (*Oryzias latipes*) during embryo development, early life stage and reproduction. *Journal of Applied Toxicology*, 38, 544-551.

- Horie, Y., Yamagishi, T., Shintaku, Y., **Iguchi, T.** and **Tatarazako, N.** (2018). Effects of tributyltin on early life-stage, reproduction, and gonadal sex differentiation in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*, 203, 418-425.
- Iguchi, T.** (2018). Thanks to OECD's work on screening and testing chemicals. *OECD Work on Endocrine Disrupting Chemicals*. OECD March 2018.
- Kakuta, H., **Iguchi, T.** and Sato, T. (2018). Regulation of Cyp17a1 expression in the theca cells of mice *in vivo* and *in vitro*. *In Vivo*, 32, 1387-1401.
- Kohno, S., Katsu, Y., Cipoletti, N., Wang, L.C., Jorgenson, Z.G., **Miyagawa, S.** and Schoenfuss, H.L. (2018). Divergent responsiveness of two isoforms of the estrogen receptor to mixtures of contaminants of emerging concern in four vertebrates. *Journal of Applied Toxicology*, 38, 705-713.
- Matsushita, S., Suzuki, K., Murashima, A., Kajioka, D., Acebedo, A.R., **Miyagawa, S.**, Haraguchi, R., Ogino, Y. and Yamada, G. (2018). Regulation of masculinization: androgen signalling for external genitalia development. *Nature Reviews in Urology*, 15, 358-368.
- Miyagawa, S.**, Yatsu, R. and **Iguchi, T.** (2018). Environmental control on sex differentiation in reptiles. In: *Reproductive and Developmental Strategies: The Continuity of Life. Part 2: Diversity in Sex Differentiation*. Springer, p. 367-390.
- Miyakawa, H., Sato, T., Song, Y., Tollefsen, K.E. and **Iguchi, T.** (2018). Ecdysteroid and juvenile hormone biosynthesis, receptors and their signaling in the freshwater microcrustacean *Daphnia*. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 184, 62-68.
- Ogino, Y., Tohyama, S., Kohno, S., Toyota, K., Yamada, G., Yatsu, R., **Kobayashi, T.**, **Tatarazako, N.**, Sato, T., Matsubara, H., **Lange, A.**, **Tyler, C.R.**, Katsu, Y., **Iguchi, T.** and **Miyagawa, S.** (2018). Functional distinctions associated with the diversity of sex steroid hormone receptors ESR and AR. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 184, 38-46.
- Ogino, Y., Yamada, G. and **Iguchi, T.** (2018). Diversified sex characteristics developments in teleost fishes: Implication for evolution of androgen receptor (AR) gene function. Hirata, H. and Iida, A. (eds.), *Zebrafish, Medaka, and Other Small Fishes: New Model Animals in Biology, Medicine, and Beyond*. Springer, p. 113-126.
- Sato, T., **Iguchi, T.** and Mohapatra, S. (2018). Vagina: Cell Biology. In: Skinner, M.K. (Ed.), *Encyclopedia of Reproduction*. Vol.2, Academic Press, pp.360-367.
- Sato, T., Kim, H., Kakuta, H. and **Iguchi, T.** (2018). Effects of 2,3-bis(4-hydroxyphenyl)-propionitrile on induction of polyovular follicles in the mouse ovary. *In Vivo*. 32, 19-24 .
- Toyota, K., **Tatarazako, N.** and **Iguchi, T.** (2018). Environmental control on sex differentiation in *Daphnia*. In: *Reproductive and Developmental Strategies: The Continuity of Life. Part 2: Diversity in Sex Differentiation*. Springer, p. 247-265.
- Urushitani, H., Katsu, Y., Kagechika, H., Sousa, A.C.A., Barroso, C.M., **Ohta, Y.**, Shiraishi, H., **Iguchi, T.** and Horiguchi, T. (2018). Characterization and comparison of transcriptional activities of the retinoid X receptors by various organotin compounds in three prosobranch gastropods; *Thais clavigera*, *Nucella lapillus* and *Babylonia japonica*. *Aquatic Toxicology*, 199, 103-115.
- Verbruggen, B., Gunnarsson, L., Kristansson, E., Österlund, T., Owen, S.F., Snape, J.S. and **Tyler, C.R.** (2018). ECOdrug: A database connecting drugs and conservation of their targets across species. *Nucleic Acid Research*, 46 (D1), D930-D936.
- Windsor, F.M., Ormerod, S.J. and **Tyler, C.R.** (2018). Endocrine disruption in aquatic systems: up-scaling research to address ecological consequences. *Biological Reviews. Cambridge Philosophical Society*, 93, 626-641.

2019

- Acebedo, A.R.**, Suzuki, K., Hino, S., Alcantara, M.C., Haga, H., Matsumoto, K.I., Nakao, M., Shimamura, K., Takeo, T., Nakagata, N., **Miyagawa, S.**, Nishinakamura, R., Adelstein, R.S. and Yamada, G. (2019). Mesenchymal actomyosin contractility is required for androgen-driven urethral masculinization in mice. *Communication Biology*, 8, 95.

- Bass, D., Stentiford, G.D., Wangs, H-C, Koskella, B. and **Tyler, C.R** (2019). The pathobiome in animal and plant diseases. *Trends in Ecology and Evolution*, 34 (11), 996-1008.
- Brown, A.R., Green, J.M., Moreman, J., Gunnarsson, L.M., Mourabit, S., Ball, J., Winter, M.J., Trznadel, M., Correia, A., Hacker, C., Perry, A., Wood, M.E., Hetheridge, M.J., Currie, R.A. and **Tyler, C.R**. (2019). Cardiovascular effects and molecular mechanisms of bisphenol A and its metabolite MBP in zebrafish. *Environmental Science & Technology*, 53 (1), 463-474.
- Chakraborty, T., Mohapatra, S., Zhou, L.Y., Ohta, K., Matsubara, T., **Iguchi, T.** and Nagahama Y. (2019). Estrogen receptor β 2 oversees germ cell maintenance and gonadal sex differentiation in medaka, *Oryzias latipes*. *Stem Cell Reports*, 13, 419-433.
- Cross, R.K., **Tyler, C.R.** and Galloway, T.S. (2019). The fate of cerium oxide nanoparticles in sediments and their routes of uptake in a freshwater worm. *Nanotoxicology*, 13 (7), 894-908.
- Godfray, H.C.J., Stephens, A.E.A., Jepson, P.D., Jobling, S., **Johnson, A.C.**, Matthiessen, P., Sumpter, J.P., **Tyler, C.R.** and McLean, A.R. (2019). A restatement of the natural science evidence base on the effects of endocrine disrupting chemicals on wildlife. *Proceedings of the Royal Society, B*, 286, 20182416.
- Gunnarsson, L., Snape, J.R., Verbruggen, B., Owen, S.F., Kristiansson, E., Margiotta-Cacaluci, L., Österlund, T., Hutchinson, K., Leverett, D., Marks, B. and **Tyler, C.R.** (2019). Pharmacology beyond the patient-The environmental risks of human drugs. *Environment International*, 129, 320-333.
- Hirano, Y., Suzuki, K., **Iguchi, T.**, Yamada, G. and **Miyagawa, S.** (2019). The role of Fgf signaling on epithelial cell differentiation in mouse vagina. *In Vivo*, 33, 1499-1505.
- Horie, Y., Yamagishi, T., Yagi, A., Shintaku, Y., **Iguchi, T.** and **Tatarazako, N.** (2019). The non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac sodium induces abnormal embryogenesis and delayed lethal effects in early life stage zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Applied Toxicology*, 39, 622-629.
- Hyuga, T., Suzuki, K., Acebedo, A.R., Hashimoto, D., Kajimoto, M., **Miyagawa, S.**, Enmi, J.I., Yoshioka, Y. and Yamada, G. (2019). Regulatory roles of epithelial-mesenchymal interaction (EMI) during early and androgen dependent external genitalia development. *Differentiation*, 110, 29-35.
- Kojima, Y., Koguchi, T., Mizuno, K., Sato, Y., Hoshi, S., Hata, J., Nishio, H., Hashimoto, D., Matsushita, S., Suzuki, K., **Miyagawa, S.**, Hui, C.C., Tanikawa, C., Murakami, Y., Yamada, G., Hayashi, Y. and Matsuda, K. (2019). Single nucleotide polymorphisms of HAAO and IRX 6 genes as risk factors for hypospadias. *Journal of Urology*, 201 (2), 386-392.
- Le Page, G., Gunnarsson, L., Trznadel, M., Wedgwood, K.C.A., Baudrot, V., Snape, J. and **Tyler, C.R.** (2019). Variability in cyanobacteria sensitivity to antibiotics and implications for environmental risk assessment. *Science of the Total Environment*, 695, 133804.
- Le Page, G., Gunnarsson, L., Snape, J. and **Tyler, C.R.** (2019). Development and application of a microplate assay for toxicity testing on aquatic cyanobacteria. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39 (3), 705-720.
- Lee, C.J., Paull, G.C. and **Tyler, C.R.** (2019). Effects of environmental enrichment on survivorship, growth, sex ratio and behaviour in laboratory maintained zebrafish *Danio rerio*. *Journal of Fish Biology*, 94 (1), 86-95.
- Mourabit, S., Fitzgerald, J.A., Ellis, R.P., Takesono, A., Porteus, C.S., Trznadel, M., Metz, J., Winter, M.J., Kudoh, T. and **Tyler, C.R.** (2019). New insights into organ-specific oxidative stress mechanisms using a novel biosensor zebrafish. *Environment International*, 133, 105138.
- Nomiri, S., Hoshyar, R., Ambrosino, C., **Tyler, C.R.** and Mansouri, B. (2019). A mini review of bisphenol A (BPA) effects on cancer-related cellular signaling pathways. *Environmental Science and Pollution Research International*, 26 (9), 8459-8467.
- Nakajima, T., Sato, T., **Iguchi, T.** and Takasugi, N. (2019). Retinoic acid signaling determines the fate of the uterus from the mouse Müllerian duct. *Reproductive Toxicology*, 86, 56-61.
- Oikawa, S., Kobayashi, S., **Miyagawa, S.**, **Iguchi, T.** and Sato T. (2019). Diethylstilbestrol alters the expression of activins in the neonatal mouse ovary *in vitro*. *In Vivo*, 33, 1095-1102.
- Parsons, A., **Lange, A.**, Hutchinson, T.H., **Miyagawa, S.**, **Iguchi, T.**, Kudoh, T. and **Tyler, C.R.** (2019). Molecular mechanisms and tissue targets of brominated flame retardants, BDE-47 and TBBPA, in embryo-larval life stages of zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*, 209: 209, 99-112.
- Saeki, H., **Miyagawa, S.**, Hirano, Y., Kajimoto, M. and Yamada, G. (2019). Altered expression of sex

hormone receptor genes in mouse external genitalia by hormonal modulations. *Journal of Wakayama Medical School*, 70, 59-65.

- Tanaka, T., **Iguchi, T.** and Miyakawa, H. (2019). Establishment of a high-sensitivity reporter system in mammalian cells for detecting juvenoids using juvenile hormone receptors of *Daphnia pulex*. *Journal of Applied Toxicology*, 39, 241-246.
- Thornber, K., Huso, D., Rahman, M.M., Biswas, H., Rahman, M.H., Brum, E. and **Tyler, C.R.** (2019). Raising awareness of antimicrobial resistance in rural aquaculture practice in Bangladesh through digital communications: A pilot study. *Global Health Action*, 12, 1734735.
- Windsor, F.M., Durance, I., Horton, A.A., Thompson, R.C., **Tyler, C.R.** and Ormerod, S.J. (2019). A catchment-scale perspective of plastic pollution. *Global Change Biology*, 25, 1207–1221.
- Windsor, F.M., Pereira, M.G., **Tyler, C.R.** and Ormerod, S.J. (2019). Persistent contaminants as potential constraints on the recovery of urban river food webs from gross pollution. *Water Research*, 163, 114858.
- Windsor, F.M., Pereira, M.G., **Tyler, C.R.** and Ormerod, S.J. (2019). River organisms as indicators of the distribution and sources of persistent organic pollutants in contrasting. *Environmental Pollution*, 255 Pt 1), 113144.
- Windsor, F.M., Pereira, M.G., **Tyler, C.R.** and Ormerod, S.J. (2019). Biological traits and the transfer of persistent organic pollutants through river food webs. *Environmental Science & Technology*, 53, 13246–13256.
- Windsor, F.M., Tilley, R.M., **Tyler, C.R.** and Ormerod, S.J. (2019). Microplastic ingestion by riverine macroinvertebrates. *Science of the Total Environment*, 646, 68-74.
- Windsor, F.M., Durance, I., Horton, A.A., Thompson, R.C., **Tyler, C.R.** and Ormerod, S.J. (2019). A catchment scale perspective of plastic pollution. *Global Change Biology*, 25 (4), 1207-1221.
- Witherall, L., Wagley, S., Butler, C., **Tyler, C.R.** and Temperton, B. (2019). Genome sequences of four *Vibrio parahaemolyticus* strains isolated from the English channel and the river Thames. *Microbiology Resource Announcement*, 8 (24), e00392-19.

2020

- Alshami, I.J.J., Ono, Y., Correia, A., Hacker, C., **Lange, A.**, Scholpp, S., Kawasaki, M., Ingham, P.W. and Kudoh, T. (2020). Development of the electric organ in embryos and larvae of the knifefish, *Brachyhyppomus gauderio*. *Developmental Biology*, 466, 99-108.
- Aulsebrook, L.C., Bertram, M.G., Martin, J.M., Aulsebrook, A.E., Brodin, T., Evans, J.P., Hall, M.D., O'Bryan, M.K., Pask, A.J., **Tyler, C.R.** and Wong, B.B.M. (2020). Reproduction in a polluted world: Implications for wildlife. *Reproduction*, 160, R13-R23.
- Brown, A.R., Lilley, M., Shutler, J., Lowe, C., Artioli, Y., Torres, R., Berdalet, E. and **Tyler, C.R.** (2020). Assessing risks and mitigating impacts of harmful algal blooms on mariculture and marine fisheries. *Reviews in Aquaculture*, 12, 1663-1688.
- Chaput, D.L., Bass, D., Alam, M.M., Hasan, N. Al, Stentiford, G.D., Aerle, R. van, Moore, K., Bignell, J.P., Haque, M.M. and **Tyler, C.R.** (2020). The segment matters: Probable reassortment of tilapia lake virus (TiLV) complicates: Phylogenetic analysis and inference of geographical origin of new isolate from Bangladesh. *Viruses*, 12 (3), 258.
- Hamilton, P.B., Lockyer, A.E., Uren Webster, T.M., Studholme, D.J., Paris, J.R., Baynes, A., Nicol, E., Dawson, D.A., Moore, K., Farbos, A., Jobling, S., Stevens, J.R. and **Tyler, C.R.** (2021). Investigation into adaptation in genes associated with response to estrogenic pollution in populations of roach (*Rutilus rutilus*) living in English rivers. *Environmental Science & Technology*, 54 (24), 15935-15945.
- Hirano, M., Toyota, K., Ishibashi, H., Tominagam N., Sato, T., **Tatarazako, N.** and **Iguchi, T.** (2020). Molecular insights into structural and ligand binding features of Methoprene-tolerant in daphnids. *Chemical Research in Toxicology*, 33 (11), 2785-2792.
- Holbeck, H., Matthiessen, P., Hansen, M., Schüürmann, G., Knapen, D., Reuver, M., Flamant, F., Sachs, L., Kloas, W., Hilscherova, K., Leonard, M., Arning, J., Strauss, V., **Iguchi, T.** and Baumann, L. (2020). ERGO: Breaking down the wall between human health and environmental testing of endocrine disrupters. *International Journal of Molecular Science*, 21, 2954.

- Horie, Y., Kanazawa, N., Takahashi, C., **Tatarazako, N.** and **Iguchi, T.** (2020). Bisphenol A induces a shift in sex differentiation gene expression with testis-ova or sex reversal in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Journal of Applied Toxicology*, 40, 804-814.
- Horie, Y., Kanazawa, N., Takahashi, C., **Tatarazako, N.** and **Iguchi, T.** (2020). Exposure to 4-nonylphenol induces a shift in the gene expression of *gsdf* and testis-ova formation and sex reversal in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Journal of Applied Toxicology*, 41(3), 399-409.
- Iguchi, T.**, Ogino, Y., **Miyagawa, S.**, Yatsu, R. and **Tatarazako, N.** (2020). 9. Screening and testing methods of endocrine-disrupting chemicals using medaka, 9-1. Applied toxicity tests for endocrine disruptors. In: *Medaka Biology, Management, and Experimental Protocols, Volume 2*, eds. Murata, K., Kinoshita, M. Naruse, K., Tanaka, M., and Kamei, Y., Wiley, Blackwell, pp. 271-274.
- Iguchi, T.**, **Tatarazako, N.**, Sato, T., **Onishi, Y.**, **Kawashima, Y.**, **Ishibashi, N.** and **Yamazaki, K.** (2020). Endocrine disruptors: Strategies and recent outcomes in Japanese Ministry of the Environment. In: *Neuroendocrine Regulation of Animal Vocalization*, Elsevier. p. 363-373.
- Kajioka, D., Suzuki, K., Nakada, S., Matsushita, S., **Miyagawa, S.**, Takeo, T., Nakagata, N. and Yamada, G. (2020). Bmp4 is an essential growth factor for the initiation of genital tubercle (GT) outgrowth. *Congenital Anomalies (Kyoto)*, 60 (1), 15-21.
- Knipe, H., Temperton, B., **Lange, A.**, Bass, D. and **Tyler, C.R.** (2020). Probiotics and competitive exclusion of pathogens in shrimp aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 13, 324-352.
- Lange, A.**, Paris, J.R., Gharbi, K., Cézard, T., **Miyagawa, S.**, **Iguchi, T.**, Studholme, D.J. and **Tyler, C.R.** (2020). A newly developed genetic sex marker and its application to understanding chemically induced feminisation in roach (*Rutilus rutilus*). *Molecular Ecology Resources*, 20, 1007-1022.
- Le Page, G., Gunnarsson, L., Snape, J. and **Tyler, C.R.** (2020). Development and application of a microplate assay for toxicity testing on aquatic cyanobacteria. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39, 705-720.
- Millard, R.S., Ellis, R.P., Bateman, K.S., Bickley, L.K., **Tyler, C.R.**, van Aerle, R. and Santos, E.M. (2020). How do abiotic environmental conditions influence shrimp susceptibility to disease? A critical analysis focussed on white spot disease. *Journal of Invertebrate Pathology*, 107369.
- Mills, L.J., Wilson, J.D., **Lange, A.**, Moore, K., Henwood, B., Knipe, H., Chaput, D.L. and **Tyler, C.R.** (2020). Using molecular and crowd-sourcing methods to assess breeding ground diet of a migratory brood parasite of conservation concern. *Journal of Avian Biology*, e02474.
- Mintram, K.S., Maynard, S.K., Brown, A.R., Boyd, R., Johnston, A.S.A., Sibly, R.M., Thorbek, P. and **Tyler, C.R.** (2020). Applying a mechanistic model to predict interacting effects of chemical exposure and food availability on fish populations. *Aquatic Toxicology*, 224, 105483.
- Ogino, Y., Sébillot, A., **Miyagawa, S.**, **Tatarazako, N.** and **Iguchi, T.** (2020). 9. Screening and testing methods of endocrine-disrupting chemicals using medaka, 9-2. Detection of androgenic and antiandrogenic chemicals using medaka. In: *Medaka Biology, Management, and Experimental Protocols, Volume 2*, eds. Murata, K., Kinoshita, M. Naruse, K., Tanaka, M., and Kamei, Y., Wiley, Blackwell, p. 275-280.
- Orton, F., Svanholm, S., Jansson, E., Carlsson, Y., Eriksson, A., Uren Webster, T., McMillan, T., Leishman, M., Verbruggen, B., Economou, T., **Tyler, C.R.** and Berg, C. (2020). A laboratory investigation into features of morphology and physiology for their potential to predict reproductive success in male frogs. *PLoS One*, 15 (11), e0241625.
- Parsons, A., **Lange, A.**, Hutchinson, T.H., **Miyagawa, S.**, **Iguchi, T.**, Kudoh, T. and **Tyler, C.R.** (2020). Expression dynamics of genes in the hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) cascade and their responses to 3,3',5-triiodo-L-thyronine (T3) highlights potential vulnerability to thyroid-disrupting chemicals in zebrafish (*Danio rerio*) embryo-larvae. *Aquatic Toxicology*, 225, 105547.
- Robinson, P.C., Littler, H.R., **Lange, A.**, Santos, E.M. (2020). Developmental exposure window influences silver toxicity but does not affect the susceptibility to subsequent exposures in zebrafish embryos. *Histochemistry and Cell Biology*, 154 (5), 579-595.
- Sayadi, M.H., Mansouri, B., Shahri, E., **Tyler, C.R.**, Shekari, H. and Kharkan, J. (2020). Exposure effects of iron oxide nanoparticles and iron salts in blackfish (*Capoeta fusca*): Acute toxicity, bioaccumulation, depuration, and tissue histopathology. *Chemosphere*, 247, 125900.

- Stentiford, G.D., Bateman, I.J., Hinchliffe, S.J., Bass, D., Hartnell, R., Santos, E.M., Devlin, M.J., Feist, S.W., Taylor, N.G.H., Verner-Jeffreys, D.W., van Aerle, R., Peeler, E.J., Higman, W.A., Smith, L., Baines, R., Behringer, D.C., **Katsiadaki, I.**, Froehlich, H.E. and **Tyler, C.R.** (2020). Sustainable aquaculture through the One Health lens. *Nature Food*, 1, 468–474.
- Terauchi, K.J., **Miyagawa, S.**, **Iguchi, T.** and Sato, T. (2020). Hedgehog signaling regulates the basement membrane remodeling during folliculogenesis in the neonatal mouse ovary. *Cell and Tissue Research*, 381, 555-567.
- Thornber, K., Verner-Jeffreys, D., Hinchliffe, S., Rahman, M.M., Bass, D. and **Tyler, C.R.** (2020). Evaluating antimicrobial resistance in the global shrimp industry. *Reviews in Aquaculture*, 12, 966-986.
- Tinguely, S.M., **Lange, A.** and **Tyler, C.R.** (2020). Ontogeny and dynamics of the gonadal development, embryogenesis and gestation in *Xenotoca eiseni* (Cyprinodontiformes, Goodeidae). *Sexual Development*, 13, 297-310.
- Toyota K., Masuda S., Sugita S., Miyaoku K., Yamagishi G., Akashi H. and **Miyagawa S.** (2020). Estrogen receptor 1 (ESR1) agonist induces ovarian differentiation and aberrant Müllerian duct development in Chinese soft-shelled turtle, *Pelodiscus sinensis*. *Zoological Studies*, 59, e54.
- Windsor, F.M., Pereira, M.G., Morrissey, C.A., **Tyler, C.R.** and Ormerod, S.J. (2020). Environment and food web structure interact to alter the trophic magnification of persistent chemicals across river ecosystems. *Science of the Total Environment*, 717, 137271.

2021

- Cooper, R., David, A., Kudoh, T. and **Tyler, C.R.** (2021). Seasonal variation in oestrogenic potency and biological effects of wastewater treatment works effluents assessed using ERE-GFP transgenic zebrafish embryo-larvae. *Aquatic Toxicology*, 237, 105864.
- Cooper, R., David, A., **Lange, A.** and **Tyler, C.R.** (2021). Health effects and life stage sensitivities in zebrafish exposed to an estrogenic wastewater treatment works effluent. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 666656.
- Gould, S.L., Winter, M.J., Norton, W.H.J. and **Tyler, C.R.** (2021) The potential for adverse effects in fish exposed to antidepressants in the aquatic environment. *Environmental Science & Technology* <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c04724>
- Hamilton, P.; Baynes, A.; Nicol, E.; Harris, G., Uren Webster, T., Beresford, N., Straszkiwicz, M., Jobling, S. and **Tyler, C.R.** (2021). Feminizing effects of ethinylestradiol in roach (*Rutilus rutilus*) populations with different estrogenic pollution exposure histories. *Aquatic Toxicology*, (in press).
- Horie, Y., Chiba, T., Takahashi, C., **Tatarazako, N.** and **Iguchi, T.** (2021). Influence of triphenyltin on morphologic abnormalities and the thyroid hormone system in early-stage zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 242, 108948.
- Iguchi, T.**, **Miyagawa, S.**, Ogino, Y. and Sato, T. (2021). Ando, H., Ukena, K. and Nagata, S. (eds.), In: *Handbook of Hormones Comparative Endocrinology for Basic and Clinical Research 2nd edition*. Volume 1 and Volume 2, Academic Press; 122. Gonadal steroids: 122a. Progesterone, 122b. 17,20b-Dihydroxy-4-pregnen-3-one, 122c. 17,20b,21-Trihydroxy-4-pregnen-3-one, 122d. Dehydroepiandrosterone, 122e. Testosterone/dihydrotestosterone, 122f. 11-Ketotestosterone, 122g. Estradiol-17 β , 122h. Estrone; V Endocrine disrupting chemicals: 129. Endocrine disruptors, 129a. Nonylphenol, 129b. Octylphenol, 129c. Bisphenol A, 129d. Dichlorodiphenyltrichloroethane, 129e. 17 α -Ethinylestradiol, 129f. Equilin, 129g. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin/polychlorinated biphenyl, 129h. 1,1-Dichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl) ethylene, 129i. Vinclozolin, 129j. Polybrominated diphenyl ether.
- Iguchi, T.**, Sato, T., Nakajima, T., **Miyagawa, S.** and Takasugi, N. (2021). New frontiers of developmental endocrinology opened by researchers connecting irreversible effects of sex hormones on developing organs. *Differentiation*, 118, 4-23.
- Kajioka, D., Suzuki, K., Matsushita, S., Sato, T., Takada, S., Isono, K., Takeo, T., Kajimoto, M., Nakagata, N., Nakao, M., Suyama, M., DeFalco, T., **Miyagawa, S.** and Yamada, G. (2021). Sexual fate of murine external genitalia development: Conserved transcriptional competency for male-biased genes in both

sexes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118 (23), e2024067118.

- Lee, C.J., Paull, G.C. and **Tyler, C.R.** (2021). Improving science with laboratory zebrafish through better understanding of their natural history. *Biological Reviews*, (in press).
- Millard, R.S., Bickley, L.K., Bateman, K.S., Farbos, A., Minardi, D., Moore, K., Ross, S.H., Stentiford, G.D., **Tyler, C.R.**, van Aerle, R. and Santos, E.M. (2021). Global mRNA and miRNA analysis reveal key processes in the initial response to infection with WSSV in the Pacific whiteleg shrimp. *Viruses*, 13 (6), 1140.
- Miyaoku, K., Ogino, Y., **Lange, A.**, Ono, A., **Kobayashi, T.**, **Ihara, M.**, **Tanaka, H.**, Toyota, K., Akashi, H., Yamagishi, G., Sato, T., **Tyler C.R.**, **Iguchi, T.** and **Miyagawa, S.** (2021). Characterization of G protein-coupled estrogen receptors in Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Journal of Applied Toxicology*, 41 (9), 1390-1399.
- Nakajima, T., Sato, T. and **Iguchi, T.** (2021). Involvement of genetic, epigenetic and anatomical factors in oogenesis and development of female reproductive tracts. In Safu, S. (Ed.): *Genomic and Epigenomic Biomarkers of Toxicology and Disease: Clinical and Therapeutic Actions*. Wiley. (in press).
- Pinheiro, J.P.S., Windsor, F.M., Wilson, R.W. and **Tyler, C.R.** (2021). Global variation in freshwater physico-chemistry and its influence on chemical toxicity in aquatic wildlife. *Biological Reviews*, 96, 1528-1546.
- Pinion, J., Walsh, C., Goodfellow, M., Randall, A.D., **Tyler, C.R.** and Winter, M.J. (2021). Differential electrographic signatures of mechanistically diverse seizurogenic compounds measured in the larval zebrafish brain. *J Neuropharmacology*, (in press).
- Takesono, A., Schirmacher, P., Scott, A., Green, J.M., Lee, O., Winter, M.J., Kudoh, T. and **Tyler, C.R.** (2021). Estrogen regulates early embryonic development of the olfactory sensory system via estrogen-responsive glia. *Development*, (in press).
- Tinguely, S.M., David, A., **Lange, A.** and **Tyler, C.R.** (2021). Effects of maternal exposure to environmentally relevant concentrations of 17 α -ethinyloestradiol in a live bearing freshwater fish, *Xenotoca eiseni* (Cyprinodontiformes, Goodeidae). *Aquatic Toxicology*, 232, 105746.
- Toyota, K., Miyakawa, H., Hiruta, C., Sato, T., Katayama, H., Ohira, T. and **Iguchi, T.** (2021). Sex determination and differentiation in decapod and cladoceran crustaceans: An overview of endocrine regulation. *Gene*, 12, 305.
- Toyota, K., Sato, T., **Iguchi, T.** and Ohira, T. (2021). Putative methyl farnesoate regulatory mechanisms underlying photoperiod-dependent sex determination in the freshwater crustacean *Daphnia magna*. *Journal of Applied Toxicology*, 41 (2), 216-223.
- Toyota, K., Arai, Y., **Miyagawa, S.**, Kogo, Y. and Takeuchi, K. (2021). Novel validating indices to indicate sexual differences in the horsehair crab *Erimacrus isenbeckii* (Brandt, 1848). *Aquatic Animals*, AA2021, 1–8.
- Toyota, K., Watanabe, H., Hirano, M., Abe, R., Miyakawa, H., Song, Y., Sato, T., **Miyagawa, S.**, Tollefsen, K.E., **Yamamoto, H.**, **Tatarazako, N.** and **Iguchi, T.** Juvenile hormone synthesis and signaling disruption triggering male offspring induction and population decline in cladocerans (water flea): Review and adverse outcome pathway development. *Aquatic Toxicology*, (in press).
- Veisi, S., Johari, S.A., **Tyler, C.R.**, Mansouri, B. and Esmailbeigi, M. (2021). Antioxidant properties of dietary supplements of free and nanoencapsulated silymarin and their ameliorative effects on silver nanoparticles induced oxidative stress in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Environmental Science and Pollution Research*, 28 (20), 26055-26063.
- Verdon, R., Gillies, S.L., Brown, D.M., Henry, T., Tran, L., **Tyler, C.R.**, Rossi, A.G., Stone, V. and Johnston, H.J. (2021). Neutrophil activation by nanomaterials *in vitro*: comparing strengths and limitations of primary human cells with those of an immortalized (HL-60) cell line. *Nanotoxicology*, 15 (1), 1-20.
- Winter, M.J., Pinion, J., Tochwin, A., Takesono, A., Ball, J.S., Grabowski, P., Metz, J., Trznadel, M., Tse, K., Redfern, W.S., Hetheridge, M.J., Goodfellow, M., Randall, A.D. and **Tyler, C.R.** (2021). Functional brain imaging in larval zebrafish for characterising the effects of seizurogenic compounds acting via a range of pharmacological mechanisms. *British Journal of Pharmacology*, 178(13), 2671-2689.
- Wood, E.M., Capilla-Lasheras, P., Cram, D.L., Walker, L.A., York, J.E., **Lange, A.**, Hamilton, P.B., **Tyler,**

C.R. and Young, A.J. (2021). Social dominance and rainfall predict telomere dynamics in a cooperative arid-zone bird. *Molecular Ecology*, doi: 10.1111/mec.15868.

Yamagishi, G., **Iguchi, T.** and **Miyagawa, S.** (2021). Epigenetic regulation of sex determination and toxicity in non-mammalian vertebrates. In Safu, S. (Ed.): *Genomic and Epigenomic Biomarkers of Toxicology and Disease: Clinical and Therapeutic Actions*. Wiley. (in press).

Yamagishi, G., Park, M.K. and **Miyagawa, S.** Evolution of g6pc1 paralogs in sarcopterygian lineages: multiple origins and functional divergence among ectotherms. (in press).

Core Project 3

2016

Jennings, S., Stentiford, G.D., Leocadio, A.M., Jeffery, K.R., Metcalfe, J.D., **Katsiadaki, I.**, Auchterlonie, N.A., Mangi, S.C., Pinnegar, J.K., Ellis, T., Peeler, E.J., Luisetti, T., Baker-Austin, C., Brown, M., Catchpole, T.L., Clyne, F.J., Dye, S.R., Edmonds, N.J., Hyder, K., Lee, J., Lees, D.N., Morgan, O.C., O'Brien, C.M., Oidtmann, B., Posen, P.E., Santos, A.R., Taylor, N.G.H., Turner, A.D., Townhill, B.L. and Verner-Jeffreys, D.W. (2016). Aquatic food security: Insights into challenges and solutions from an analysis of interactions between fisheries, aquaculture, food safety, human health, fish and human welfare, economy and environment. *Fish and Fisheries*, 17 (4), 893-938.

Macnab, V., **Katsiadaki, I.**, Tilley, C.A. and Barber, I. (2016). Oestrogenic pollutants promote the growth of a parasite in male sticklebacks. *Aquatic Toxicology*, 174, 92-100.

Prokkola, J.M., **Katsiadaki, I.**, Sebire, M., Elphinstone-Davis, J., Pausio, S., Nikinmaa, M. and Leder, E.H. (2016). Microarray analysis of di-*n*-butyl phthalate and 17 α ethinyl-oestradiol responses in three-spined stickleback testes reveals novel candidate genes for endocrine disruption. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 124, 96-104.

Roufidou, C., Sebire, M., **Katsiadaki, I.**, Mustafa, A., Schmitz, M., Mayer, I., Shao, Y.T. and Borg, B. (2016). Overripening of eggs and changes in reproductive hormones in the threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Evolutionary Ecology Research*, 17 (4), 583-601.

Schwarz, T.I., **Katsiadaki, I.**, Maskrey, B.H. and Scott, A.P. (2016). Data on the uptake and metabolism of the vertebrate steroid estradiol-17 β from water by the common mussel, *Mytilus* spp. *Data in Brief*, 9, 956-965.

Sumpter, J.P., Scott, A.P. and **Katsiadaki, I.** (2016). Comments on Niemuth, NJ and Klaper, RD 2015. Emerging wastewater contaminant metformin causes intersex and reduced fecundity in fish. *Chemosphere*, 135, 38-45.

Von Hippel, F.A., Trammell, E.J. Merilä, J., Sanders, M.B., Schwarz, T., Postlethwait, J.H., Titus, T.A., Buck, C.L. and **Katsiadaki, I.** (2016). The ninespine stickleback as a model organism in arctic ecotoxicology. *Evolutionary Ecology Research*, 17 (4), 487-504.

Wang, Q., Kobayashi, K., Wang, W., Ruan, J., Nakajima, D., Yagishita, M., Lu, S., Zhang, W., Saito, T., Sekiguchi, K., Sankoda, K., Takao, Y., **Nagae, M.** and Terasaki, M. (2016). Size distribution of sources 37 toxic species of particulate polycyclic aromatic carbons during summer and winter in Baoshan suburban area of Shanghai China. *Science of the Total Environment*, 566-567: 1519-1534.

2017

Burden, N., Gellatly, N., Benstead, R., Benyon, K., Blickley, T.M., Clook, M., Doyle, I., Edwards, P., Handley, J., **Katsiadaki, I.**, Lillicrap, A., Mead, C., Ryder, K., Salinas, E., Wheeler, J. and Hutchinson, T.H. (2017). Reducing repetition of regulatory vertebrate ecotoxicology studies. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 13 (5), 955-957.

Coady, K., Holbech, H., Biever, R., Denslow, N., Gross, M., Guiney, P., Karouna-Renier, N., **Katsiadaki, I.**, Krueger, H., Levine, S., Maack, G., Williams, M. and Wolf, J. (2017). Current limitations and a path forward to improve testing for the environmental assessment of endocrine active substances. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 13 (2), 302-316.

- Fitzgerald, J.A., **Katsiadaki, I.** and Santos, E.M. (2017). Contrasting effects of hypoxia on copper toxicity during development in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Environmental Pollution*, 222, 433-443.
- Hirase S., Chambers, S., Hassell, K., Carew, M., Pettigrove, V., **Soyano, K.**, **Nagae, M.** and Iwasaki, W. (2016). Phylogeography of the yellowfin goby *Acanthogobius flavimanus* in native and non-native distributions. *Marine Biology*, 164, 106.
- Lagadic, L., **Katsiadaki, I.**, Biever, R., Guiney, P.D., Karouna-Renier, N., Schwarz, T.I. and Meador, J.P. (2017.) Tributyltin: Advancing the science on assessing 1 endocrine disruption with an unconventional endocrine-disrupting compound. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 245, 65-127.
- Schwarz, T.I., **Katsiadaki, I.**, Maskrey, B.H. and Scott, A.P. (2017). Data on the uptake and metabolism of testosterone by the common mussel, *Mytilus* spp. *Data in Brief*, 12, 164-168.
- Schwarz, T.I., **Katsiadaki, I.**, Maskrey, B.H. and Scott, A.P. (2017). Mussels (*Mytilus* spp.) display an ability for rapid and high capacity uptake of the vertebrate steroid, estradiol-17 β from water. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 165(B), 407-420.
- Schwarz, T.I., **Katsiadaki, I.**, Maskrey, B.H. and Scott, A.P. (2017). Rapid uptake, biotransformation, esterification and lack of depuration of testosterone and its metabolites by the common mussel, *Mytilus* spp. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 171, 54-65.
- Uren Webster, T., Williams, T.W., **Katsiadaki, I.**, **Lange, A.**, Lewis, C., Shears, J.A., **Tyler, C.R.** and Santos, E.M. (2017). Responses to copper in the three-spined stickleback are affected by their pollution exposure history. *Aquatic Toxicology*, 184, 26-36.
- Viant, M.R., Elphinstone, D.J., Duffy, C., Engel, J., Stenton, C., Sebire, M. and **Katsiadaki, I.** (2017). Application of passive sampling to characterise the fish exometabolome. *Metabolites*, 7 (1), 8.

2018

- Knapen, D., Angrish, M.M., Fortin, M.C., **Katsiadaki, I.**, Leonard, M., Margiotta-Casaluci, L., Munn, S., O'Brien, J.M., Pollesch, N., Smith, L.C., Zhang, X. and Villeneuve, D.L. (2018). Adverse outcome pathway networks I: Development and applications. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 37, 1723-1733.
- Roufidou, C., Schmitz, M., Mayer, I., Sebire, M., **Katsiadaki, I.**, Shao, Y.T. and Borg, B. (2018). Hormonal changes over the spawning cycle in the female three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *General and Comparative Endocrinology*, 257, 97-105.
- Schwarz, T.I., **Katsiadaki, I.**, Maskrey, B.H. and Scott, A.P. (2018). Uptake and metabolism of water-borne progesterone by the mussel, *Mytilus* spp. (Mollusca). *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 178, 13-21.
- Villeneuve, D.L., Angrish, M.M., Fortin, M.C., **Katsiadaki, I.**, Leonard, M., Margiotta-Casaluci, L., Munn, S., O'Brien, J.M., Pollesch, N.L., Smith, C.L., Zhang, X. and Knapen, D. (2018). Adverse outcome pathway networks II: Network analytics. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 37, 1734-1748.

2019

- Fitzgerald, J.A., Urbina, M.G., Rogers, N.J., Bury, N.R., **Katsiadaki, I.**, Wilson, R.W. and Santos, E.M. (2019). Sublethal exposure to copper suppresses the ability to acclimate to hypoxia in a model fish species. *Aquatic Toxicology*, 217, 105325.
- Kaitetzidou, E., **Katsiadaki, I.**, Lagnel, J., Antonopoulou, E. and Sarropoulou, E. (2019). Unravelling paralogous gene expression dynamics during three-spined stickleback embryogenesis. *Scientific Reports*, 9 (1), 3752.
- Katsiadaki, I.** (2019). Are marine invertebrates really at risk from endocrine disrupting chemicals? *Current Opinion in Environmental Science and Health*, 11, 37-42.
- OECD, TG203 (Fish Acute Toxicity Test). (update, June 2019). No authorship but UK (**Katsiadaki**, Ellis) and Switzerland (Rufli) undertook this important update on behalf of Defra and the Swiss competent authority.

2020

- Bignell, J.P., Barber, J., Bateman, K.S., Etherton, M., Feist, S.W., Galloway, T.S., **Katsiadaki, I.**, Sebire, M., Scott, A.P., Stentiford, G.D. and Bean, T.P. (2020). Insights into the development of hepatocellular fibrillar inclusions in European flounder (*Platichthys flesus*) from UK estuaries. *Chemosphere*, 256,126946.
- Fitzgerald, J.A., Trznadel, M., **Katsiadaki, I.** and Santos, E.M. (2020). Hypoxia modifies the response to flutamide and linuron in male three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Environmental Pollution*, 263(Pt A), 114326.
- Kubo, T., Bai, W., **Nagae, M.** and Takao, Y. (2020). Seasonal fluctuation of polycyclic aromatic hydrocarbons and aerosol genotoxicity in long-range transported air mass observed at the Western end of Japan. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17 (4), 1210.
- Song, J., **Nagae, M.**, Takao, Y. and **Soyano, K.** (2020). Field survey of environmental estrogen pollution in the coastal area of Tokyo Bay and Nagasaki City using the Japanese common goby *Acanthogobius flavimanus*. *Environmental Pollution*, 258,113673.
- Stentiford, G.D., Bateman, I.J., Hinchliffe, S.J., Bass, D., Hartnell, R., Santos, E.M., Devlin, M.J., Feist, S.W., Taylor, N.G.H., Verner-Jeffreys, D.W., van Aerle, R., Peeler, E.J., Higman, W.A., Smith, L., Baines, R., Behringer, D.C., **Katsiadaki, I.**, Froehlich, H.E. and **Tyler, C.R.** (2020). Sustainable aquaculture through the One Health lens. *Nature Food*, 1, 468-474.
- Tilley, C.A., Carreño Gutierrez, H., Sebire, M., Obasaju, O., Reichmann, F., **Katsiadaki, I.**, Barber, I. and Norton, W.H. J. (2020). Skin swabbing is a refined technique to collect DNA from model fish species. *Scientific Reports*, 10, 18212.
- Xu, W.G., Manabe, S., Mushirobira, Y., **Nagae, M.** and **Soyano, K.** (2020). Changes in expression of reproduction-related hormones in the brain and pituitary during early ovarian differentiation and development in the red spotted grouper *Epinephelus akaara*, with emphasis on FSH β and LH β . *Aquaculture*, 514, 734497.

2021

- Elis, T. and **Katsiadaki, I.** (2021). Clarification of early end-points for refinement of animal experiments, with specific reference to fish. *Laboratory Animals*, 55 (3), 244-253.
- Gajewicz-Skretna, A., Furuhashi, A., **Yamamoto, H.** and Suzuki, N. (2021). Generating accurate *in silico* predictions of acute aquatic toxicity for a range of organic chemicals: Towards similarity-based machine learning methods. *Chemosphere*, 280,130681.
- Gajewicz-Skretna, A., Gromelski, M., Wyrzykowska, E., Furuhashi, A., **Yamamoto, H.** and Suzuki, N. (2021). Aquatic toxicity (pre)screening strategy for structurally diverse chemicals: global or local classification tree models? *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208,111738.
- Hiki, K., Fischer, F.C., Nishimori, T., Watanabe, H., **Yamamoto, H.** and Endo, S. (2021). Spatiotemporal distribution of hydrophobic organic contaminants in spiked-sediment toxicity tests: Measuring total and freely dissolved concentrations in porewater and overlying water. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 40(11), 3148-3158.
- Hiki, K., Oka, K., Nakajima, N., **Yamamoto, H.**, Yamagishi, T. and Sugaya, Y. (2021). The complete mitochondrial genome of the non-biting midge *Chironomus yoshimatsui* (Diptera: Chironomidae). *Mitochondrial DNA B Resources*, 6(10), 2995-2996.
- Hiki, K., Watanabe, H. and **Yamamoto, H.** (2021). Sources of variation in sediment toxicity of hydrophobic organic chemicals: Meta-analysis of 10-14-day spiked-sediment tests with *Hyalella azteca* and *Chironomus dilutus*. *Integrative Environmental Assessment and Management*, 17(5), 1003-1013.
- Katsiadaki, I.**, Elis, T., Andersen, L., Antczak, P., Blaker, E., Burden, N., Fisher, T., Green, C., Labram, B., Pearson, A., Petersem, K., Pickford, D., Ramsden, C., Rønneseth, A., Ryder, K., Sacker, D., Steverns, C., Watanabe, H., **Yamamoto, H.**, Sewell, F., Hawkins, P., Rufli, H., Handy, R.D., Maynard, S.K. and Jacobs, M.N. (2021). Dying for change: A roadmap to refine the fish acute toxicity test after 40 years of applying a lethal endpoint. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 223, 112585.

- Katsiadaki, I.**, Schwarz, T.I., Cousins, A.R.O. and Scott, A.P. (2021). The Uptake of ethinyl-estradiol and cortisol from water by Mussels (*Mytilus* spp.). *Frontiers in Endocrinology*, doi.org/10.3389/fendo.2021.794623.
- Kronberg, J., Byrne, J.J., Jansen, J., Antoczak, P., Hires, A., Bignell, J., **Katsiadaki, I.**, Viant, M.R. and Falciani, F. (2021). Modeling the metabolic profile of *Mytilus edulis* reveals molecular signatures linked to gonadal development, sex and environmental site. *Scientific Reports*, 11 (1), 12882.
- Mushirobira, Y., Kamegai, K., Amagai, T., Murata, R., **Nagae, M.** and **Soyano, K.** (2021). Expression profiles of hepatic vitellogenin and gonadal zona pellucida subtypes in gray mullet (*Mugi cephalus*) with 17 α -ethinylestradiol-induced gonadal abnormality. *Aquatic Toxicology*, 237, 105863.
- Papadopoulou, A., Garvey, K., Hill, T., Ramirez-Paredes, J.G., Monaghan, S.J., Baily, J.L., Davie, A., **Katsiadaki, I.**, Verner-Jeffreys, D., Wallis, T., Migaud, H. and Adams, A. (2021). Novel atypical *Aeromonas salmornicida* bath challenge model for juvenile ballan wrasse (*Labrus bergylta*, Ascanius). *Journal of Fish Diseases*, 44 (6), 823-835.
- Tani, K., Watanabe, H., Noguchi, M., Hiki, K., Yamagishi, T., Tatarazako, N. and **Yamamoto, H.** (2021). Toxicity assessment of typical polycyclic aromatic hydrocarbons to *Daphnia magna* and *Hyalella azteca* in water-only and sediment-water exposure systems. *Science of the Total Environment*, 784, 147156.
- Toyota, K., Watanabe, H., Hirano, M., Abe, R., Miyakawa, H., Song, Y., Sato, T., **Miyagawa, S.**, Tollefsen, K.E., **Yamamoto, H.**, **Tatarazako, N.** and **Iguchi, T.** Juvenile hormone synthesis and signaling disruption triggering male offspring induction and population decline in cradocerans (water flea): Review and adverse outcome pathway development. *Aquatic Toxicology*, (in press).

Core Project 4

2016

- Horie, Y., Myosho, T., Sato, T., Sakaizumi, M., Hamaguchi, S. and **Kobayashi, T.** (2016). Androgen induces gonadal soma-derived factor, Gsdf, in XX gonads correlated to sex-reversal but not Dmrt1 directly, in the teleost fish, northern medaka (*Oryzias sakaizumii*). *Molecular and Cellular Endocrinology*, 436, 141-149.
- Tohyama, S.**, **Miyagawa, S.**, **Lange, A.**, Ogino, Y., Mizutani, T., **Ihara, M.**, **Tanaka, H.**, **Tatarazako, N.**, **Kobayashi, T.**, **Tyler, C.R.** and **Iguchi, T.** (2016). Evolution of estrogen receptors in ray-finned fish and their comparative responses to estrogenic substances. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 158, 189-197.

2017

- Kobayashi, T.**, Chiba, A., Sato, T., Myosho, T., Yamamoto, J., **Okamura, T.**, **Onishi, Y.**, Sakaizumi, M., Hamaguchi, S., **Iguchi, T.** and Horie, Y. (2017). Estrogen alters gonadal soma-derived factor (Gsdf)/Foxl2 expression levels in the testes associated with testis-ova differentiation in adult medaka, *Oryzias latipes*. *Aquatic Toxicology*, 191, 209-218.
- Song, J., **Nagae, M.**, and **Soyano, K.** (2017). Changes in plasma vitellogenin and estradiol-17 β levels during the gonadal development of the female Japanese common goby *Acanthogobius flavimanus*. *Aquaculture Science*, 65 (4), 303-310.

2018

- Higuchi, K., Yoshida, K., Gen, K., Matsunami, H., Takashi, T., Mushiake, K. and **Syano, K.** (2018). Effect of long-term food restriction on reproductive performances in female yellowtail, *Serola quinquerodiata*. *Aquaculture*, 486, 224-231.
- Kodama, M., Yoshida, M., Endo, M., **Kobayashi, T.**, Oike, A., Yasumasu, S. and Nakamura, M. (2018). Nanos 3 of the frog *Rana rugose*: molecular cloning and characterization. *Development, Growth and Differentiation*, 60, 112-120.

Song, J., **Nagae, M.** and **Soyano, K.** (2018). Standardization of plasma vitellogenin level for surveying environmental estrogen pollution using the Japanese common goby *Acanthogobius flavimanus*. *Journal of Applied Toxicology*, 38, 1018-1025.

2019

Amano, H., Kotake, A., Hiramatsu, N., Fujita, T., Todo, T., Aoki, J.Y., **Soyano, K.**, Kagawa, H. and Hara, A. (2019). Development of specific chemiluminescent immunoassays for three subtypes of vitellogenin in grey mullet (*Mugil cephalus*). *General and Comparative Endocrinology*, 271, 30-38.

Myosho, T., Sato, T., Nishiyama, H., Watanabe, A., Yamamoto, J., **Okamura, T.**, **Onishi, Y.**, Fujimaki R., Hamaguchi S., Sakaizumi M. and **Kobayashi T.** (2019). Inter- and intraspecific variation in sex hormone-induced sex-reversal in medaka, *Oryzias latipes* and *Oryzias sakaizumii*. *Zoological Science*, 36, 425-431.

Thomas, J.T., Todd, E.V., Muncaster, S., Lokman, P.M., Damsteegt, E.L., Liu, H., **Soyano, K.**, Gléonnec, F., Lamm, M.S., Godwin, J.R. and Gemmell, N. J. (2019). Conservation and diversity in expression of candidate genes regulating socially-induced female-male sex change in wrasses. *Peer J*, 7, e7032.

Xu, W.G., Amagai, T., Morita, Y., Chuda, H. and **Soyano, K.** (2019). Pituitary structures and immunohistochemical identification of FSH β and LH β expressing cells in four species of the adult groupers. *Aquaculture Science*, 67, 249-256.

2020

Higuchi, K., Kazeto, Y., Ozeki, Y., Izumida, D., Hattori, T., **Soyano, K.** and Gen, K. (2020). Insulin-like growth factors 1 and 2 regulate gene expression and enzymatic activity of *cyp17a1* in ovarian follicles of the yellowtail. *Seriola quinqueradiata*. *Heliyon*, 6 (6), e04181.

Mushirobira, Y., Niida, M., Hatori, T., Fujinami, Y. and **Soyano, K.** (2020). Hepatic expression profiles of three subtypes of vitellogenin and estrogen receptor during vitellogenesis in cultured female yellow tail. *General and Comparative Endocrinology*, 299, 113612.

Peter Dennis, L., Nocillado, J., Palma, P., Amagai, T., **Soyano, K.** and Elizur, A. (2020). Development of a giant grouper luteinizing hormone (LH) enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and its use towards understanding sexual development in grouper. *General and Comparative Endocrinology*, 296, 113524.

Song, J., **Nagae, M.**, Takao, Y. and **Soyano, K.** (2020). Field survey of environmental estrogen pollution in the coastal area of Tokyo Bay and Nagasaki City using the Japanese common goby *Acanthogobius flavimanus*. *Environmental Pollution*, 258, 113673.

Xu, W.G., Manabe, S., Mushirobira, Y., **Nagae, M.** and **Soyano, K.** (2020). Changes in expression of reproduction-related hormones in the brain and pituitary during early ovarian differentiation and development in the red spotted grouper *Epinephelus akaara*, with emphasis on FSH β and LH β . *Aquaculture*, 514, 734497.

2021

Huang, Y., Song, J., **Soyano, K.** and Ren, Q. (2021). Dorsal regulates the expression of two phage lysozymes acquired via horizontal gene transfer in triangle sail mussel *Hyriopsis cumingii*. *Developmental and Comparative Immunology*, 120, 104068.

Miyaoku, K., Ogino, Y., **Lange, A.**, Ono, A., **Kobayashi, T.**, **Ihara, M.**, **Tanaka, H.**, Toyota, K., Akashi, H., Yamagishi, G., Sato, T., **Tyler C.R.**, **Iguchi, T.** and **Miyagawa, S.** (2021). Characterization of G protein-coupled estrogen receptors in Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Journal of Applied Toxicology*, 41 (9), 1390-1399.

Murata, R., Mushirobira, Y., Tanaka, Y. and **Soyano, K.** (2021). Expression profile of GnRH-like peptide during gonadal sex differentiation in the cephalopod kisslip cuttlefish, *Sepia lycidas*. *General and Comparative Endocrinology*, 304, 113718.

Murata, R., Nozu, R., Musirobira, Y., Amagai, T., Fushimi, J., Kobayashi, Y., **Soyano, K.**, Nagahama, Y.

and Nakamura, M. (2021). Testicular steroidogenic cells trigger sex change in groupers. *Scientific Reports*, 11 (1), 11117.

Mushirobira, Y., Kamegai, K., Amagai, T., Murata, R., **Nagae, M.** and **Soyano, K.** (2021). Expression profiles of hepatic vitellogenin and gonadal zona pellucida subtypes in gray mullet (*Mugil cephalus*) with 17 α -ethinylestradiol-induced gonadal abnormality. *Aquatic Toxicology*, 237, 105863.

Myosho, T., Hattori, M., Yamamoto, J., Toda, M., **Okamura, T.**, **Onishi, Y.**, Takehana, Y. and **Kobayashi, T.** (2021). Effects of synthetic sex steroid hormone exposures on gonadal sex differentiation and dynamics of a male-related gene, gonadal soma-derived factor (Gsd) and an estrogen up-regulated gene, choriogenine-H (ChgH) gene expression in the euryhaline Javafish medaka *Oryzias javanicus* based on genetic sexes. *Chemosphere*, doi. 10.1016/j.chemosphere2021.12989

付属資料 10 化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会委員名簿
(平成 28 年度以降)

(敬称略)

氏名	所属・役職	在任期間
○ 井口 泰泉	横浜市立大学 特任教授	平成 28 年度～ 令和 2 年度から座長
小山 次朗	鹿児島大学 名誉教授	平成 28 年度～
白石 寛明	国立環境研究所 名誉研究員	平成 28 年度～
鑪迫 典久	愛媛大学大学院 農学研究科 生物環境学専攻 環境計測学研究室 教授	平成 28 年度～
広瀬 明彦	化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所 技術顧問	平成 28 年度～
横山 淳史	農業・食品産業技術総合研究機構 農業環境変動 研究部門 化学物質リスク研究領域 有機化学物 質グループ 上級研究員	平成 28 年度～
○ 田辺 信介	愛媛大学 特別名誉教授	平成 28 年度～令和元年度 令和元年度まで座長
藤沢 卓生	住友化学株式会社 生物環境科学研究所 主席研究員	平成 28 年度
宮本 貢	住友化学株式会社 生物環境科学研究所 主席研究員	平成 29 年度～平成 30 年 度
岩下 勝将	住友化学株式会社 生物環境科学研究所 主席研究員	令和元年度
山口 尊史	住友化学株式会社 生物環境科学研究所 主席研究員	令和 2 年度～
小林 亨	静岡県立大学 食品栄養環境科学研究院 教授	令和 2 年度～

○ : 座長

化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応－EXTEND2022－

令和4年10月発行

環境省大臣官房環境保健部環境安全課

〒100-8975 東京都千代田区霞が関1丁目2番2号

TEL: 03-3581-3351 (内線 6390) FAX: 03-3580-3596 E-mail: ehs@env.go.jp