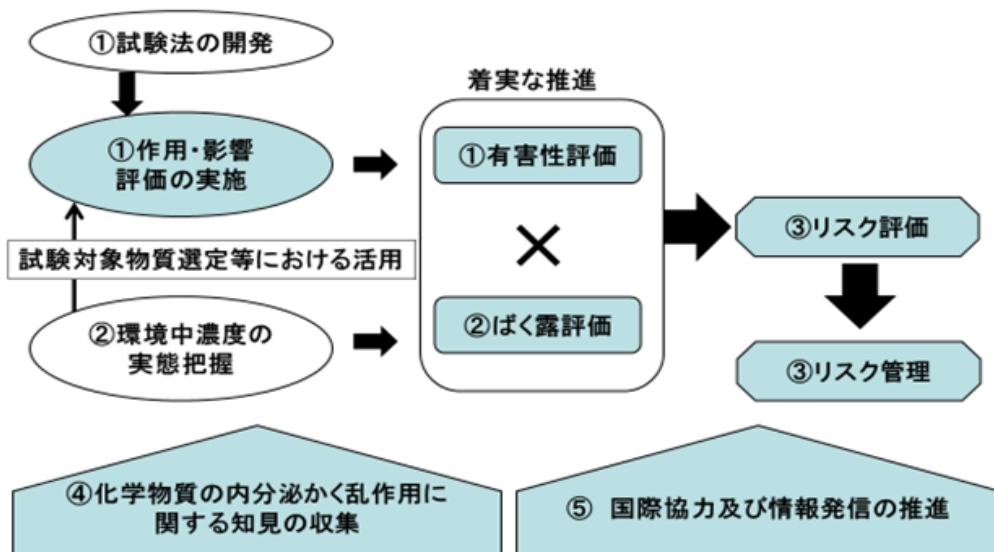


## 「化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応（EXTEND2016）」による取組みの概要と成果のまとめ

### 1. 環境省（庁）の対応の経緯

- \* 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－ [平成 10 年 5 月]
- \* 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－ [平成 17 年 3 月]
- \* 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 22 年 7 月]
- \* 化学物質の内分泌かく乱作用に関する今後の対応－EXTEND2016－ [平成 28 年 6 月]（EXTEND = Extended Tasks on Endocrine Disruption）
  - EXTEND2010（H22～H28）の枠組みを整理統合し所要の改善を加え、5年間程度を見据えた新たなプログラムを構築した。
  - 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た。
  - 生態影響に関する検討を優先し、リスク管理に向けた議論を深めていく。
  - 国際協力を進めるとともに、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。

### EXTEND2016における取組みの概念図



## 2. 検討対象物質の選定

環境リスクが懸念される物質を効果的に抽出すること目的とした。

→国内の環境調査で検出された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する。

今後、さらに、他の環境調査結果、PRTRによる排出量等の情報、専門学会や内外の公的機関における調査・研究結果等についても、物質選定に活用することが考えられ、これらから、どのように母集団に加える物質を選定していくかについて、引き続き検討を行う。

- (1) 化学物質環境実態調査(平成8年度以降の調査結果を対象とする)において検出された物質(群)
- (2) 公共用水域水質測定「環境基準項目」(平成12年度以降を対象とする)及び「要監視項目」(平成6年度以降を対象とする)として検出された項目
- (3) 要調査項目等存在状況調査(平成11年度以降の調査結果を対象とする)において検出された物質(群)
- (4) 農薬残留対策総合調査(平成15年度以降の調査結果を対象とする)において検出された物質(群)
- (5) PRTR対象物質(群)
- (6) 米国環境保護庁(US EPA)のEDSP (Endocrine Disruptor Screening Program)、欧州化学品庁(ECHA: European Chemicals Agency)の内分泌かく乱性(Endocrine disrupting properties)を根拠とする高懸念物質(SVHC: Substances of Very High Concern)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<sup>1)</sup>

②対象物質が特定できない物質<sup>2)</sup>

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<sup>3)</sup>

1) POPs、化審法第一種特定化学物質、失効した農薬、オゾン層保護法の特定物質等

2) 「金属及びその化合物」などCAS番号が特定できない物質、または単体と化合物の合計値のみが示されている物質等

3) アクリルアミド、アクリル酸、アクリロニトリル、アクロレイン、アジピン酸、アセタミプリド、6-アセチル-1,1,2,4,4,7-ヘキサメチルテトラリン(別名:トナリド)、アセトアルデヒド、アセフェート、アゾキシストロビン、アトラジン、アミオダロン、アラクロール、安息香酸ベンジル、EPN、イプロジオ

ン、イミダクロプリド、17β-エストラジオール、エストロン、17α-エチニルエストラジオール、2-エチルヘキサン酸、エチルベンゼン、エチレンオキシド、エチレングリコール（別名：エタン-1,2-ジオール）、エチレングリコールモノエチルエーテル、エチレングリコールモノメチルエーテル、エチレンジアミン四酢酸、エチレンチオウレア、エピクロロヒドリン、エリスロマイシン、塩化ビニルモノマー、塩化メチル、オクタブロモジフェニルエーテル類、4-*t*-オクチルフェノール、過塩素酸（別名：パークロレート）、カフェイン、カルバマゼピン、カルバリル、カルベンダジム、カルボフラン、キシレン、クラリスロマイシン、グリホサート、クリンダマイシン、クレゾール（別名：*o*-クレゾール、*m*-クレゾール、*p*-クレゾール）、クロチアニジン、クロトリマゾール、クロミプラミン、クロルピリホス、クロロタロニル（別名：TPN）、クロロベンゼン、クロロホルム、酢酸2-エトキシエチル、酢酸クロルマジノン、サリチル酸、シアナジン、シアナミド、シアン化物（シアン化水素を含む）、ジウロン、ジエチレングリコール、四塩化炭素、ジクロフェナク、ジクロベニル、ジクロルボス、3,4-ジクロロアニリン、1,2-ジクロロエタン、1,1-ジクロロエチレン（別名：塩化ビニリデン）、ジクロロ酢酸、2,4-ジクロロフェノール、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸（別名：2,4-D、2,4-PA）、ジクロロブロモメタン、*o*-ジクロロベンゼン、*p*-ジクロロベンゼン、ジクロロメタン、ジクワット（別名：ジクアトジプロミド）、2,4-ジニトロトルエン、2,4-ジニトロフェノール、ジノカップ、ジフェノコナゾール、ジブチルスズ、2,6-ジ-*t*-ブチル-4-メチルフェノール（別名：BHT）、ジプロモクロロメタン、シペルメトリン、シマジン、*N,N*-ジメチルアセトアミド、ジメチルスルホキシド、*N,N*-ジメチルホルムアミド、ジメトエート、ジラム、スチレン、スピノサド、スルファジアジン、スルファピリジン、スルファメトキサゾール、セルトラリン、ダイアジノン、チアメトキサム、チウラム、チオシアン酸及びその塩類、チオ尿素、チオファネートメチル、チオベンカルブ、直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩（C=10~14）、デカブロモジフェニルエーテル（別名：PBDE#209）、テトラクロロエチレン、テトラクロロベンゼン類、2,2',4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン（別名：ベンゾフェノン-2）、テトラブロモビスフェノールA、テブコナゾール、テブフェノジド、トリクロサン、トリクロピル、トリクロルホン（別名：DEP）、1,1,1-トリクロロエタン、トリクロロエチレン、トリクロロ酢酸、1,2,3-トリクロロプロパン、トリクロロベンゼン、トリフルラリン、2,4,6-トリブロモフェノール、トリメトプリム、トルエン、2,4-トルエンジアミン、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、ナフタレン、1-ナフトール、2-ナフトール（別名：β-ナフトール）、*p*-ニトロフェノール、ニトロベンゼン、二硫化炭素、ノナブロモジフェニルエーテル類、4-ノニルフェノール（分岐型）、パロキセチン、パラコート、ビスフェノールA、ヒドラジン、4-ヒドロキシ安息香酸プロピル（別名：プロピルパラベン）、4-ヒドロキシ安息香酸メチル、ヒドロキノン、ヒドロクロロチアジド、4-ビニル-1-シクロヘキセン、ピリプロキシフェン、ピレン、フィプロニル、フェナントレン、フェニトイン、フェニトロチオン、*o*-フェニルフェノール、フェノール、フェノバルビタール、フェンチオン、フェンバレレート、ブタクロール、1,3-ブタジエン、1-ブタノール、フタル酸ジイソブチル、フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)（別名：フタル酸ビス(2-エチルヘキシル)）、フタル酸ジ-*n*-オクチル、フタル酸ジメチル、4-*tert*-ブチルフェノール、2-プトキシエタノール（別名：エチレングリコールモノブチルエーテル）、フルオランテン、フルタミド、フルトラニル、プロシミドン、2-プロパノール、プロパルギット、プロピコナゾール、プロピザミド、1-プロモプロパン、2-プロモプロパン、1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロドデカン類、*n*-ヘキサン、ベザフィブラート、ベノミル、ペルフルオロオクタタン酸、ペルフルオロドデカン酸、ペルメトリン、3-ベンジリデン=カンファー（別名：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）、ベンジルアルコール、ベンゼン、4-*t*-ペンチルフェノール、ペンディメタリン、ポリ(オキシエチレン)=ノニルフェニルエーテ

ル類（重合度が1から15までのもの）（別名：ノニルフェノールエトキシレート類）、ホルムアルデヒド、マンゼブ（別名：マンコゼブ）、マンネブ、ミクロブタニル、メソミル、メタクリル酸メチル、メタラキシル、メチルエチルケトン（別名：2-ブタノン）、メチルセルロース、メチル-*t*-ブチルエーテル、2-メチルプロパン-2-オール（別名：*tert*-ブチルアルコール）、4-メチルベンジリデン=カンファー（別名：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）、メトラクロール、メトリブジン、メフェナム酸、メラミン、メルカプト酢酸、モノブチルスズ、モリネート、リニューロン、りん酸トリクレジル、りん酸トリス（別名：2-クロロエチル）、りん酸トリフェニル、ロキシスロマイシン

### 3. 1. 化学物質の内分泌かく乱作用に関連する報告の検索方法

1. (1)～(7)に該当した物質について、事務局において PubMed\*及び JDreamIII\*\*を使用し、キーワード<sup>4)</sup>を設定して報告の検索を行う。

なお、報告本文の言語は英語及び日本語に限定する。

ただし、対象物質を特定する検索語として、「物質名」及び「CAS 番号」に加え、必要に応じて「別名又は通称」を追加する。

\* <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

\*\* <http://jdream3.com/>

4) (物質名 OR CAS 番号) AND (disruption OR disruptor OR disrupter OR endocrine OR reproduction OR estrogen OR androgen OR thyroid OR hormone OR metamorphosis)

(物質名 OR CAS 番号) AND (かく乱 OR 内分泌 OR 生殖 OR 繁殖 OR エストロゲン OR アンドロゲン OR 甲状腺 OR ホルモン OR 変態)

### 3. 2. 信頼性評価を実施すべき物質の選抜方法

事務局は、上記2. の文献検索を実施し、報告を入手する。

検索された報告のうち、化学物質の内分泌かく乱作用に関連しない報告<sup>5)</sup>については、信頼性評価の対象としない。

5)体内濃度または環境中濃度の測定結果のみの報告、総説、環境中での分解性に関する報告、名称が類似した別物質に関する報告、用途のみの報告、当該物質を被験物質としてではなく溶媒等として使用した報告、急性毒性に関する報告

検索された報告から信頼性評価の対象としない報告を除き、信頼性評価を実施すべき報告を選抜し、1. (1)～(5)に該当した物質については、暫定的に10件以上の報告が得られた物質を“信頼性評価を実施すべき物質”とする。

1. (6)、(7)に該当した物質については、1件以上の報告が得られた物質を“信頼性評価を実施すべき物質”とする。

信頼性評価を実施すべき報告について、事務局は報告ごとに要旨を作成する。

### 3. 3. 信頼性評価を実施すべき報告の選抜方法

信頼性評価を実施すべき報告は以下のとおり。

\*当該物質を使用した動物試験に関する報告

- \*当該物質を使用した試験管内試験に関する報告
- \*当該物質を対象とした疫学調査に関する報告
- \*当該物質を対象としたヒトへの投与試験に関する報告

なお、原則として、信頼性評価は、化学物質の内分泌かく乱作用が認められなかった報告も対象とする。

### 3.4. 信頼性評価の実施方法

事務局より「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作業班」(以下、作業班と言う。)に入手した文献の写しと事務局が作成した要旨を送付し、作業班において信頼性評価シートを用いて信頼性評価を行う。

事務局において信頼性評価結果をとりまとめ、作業班会議において確認・検討する。

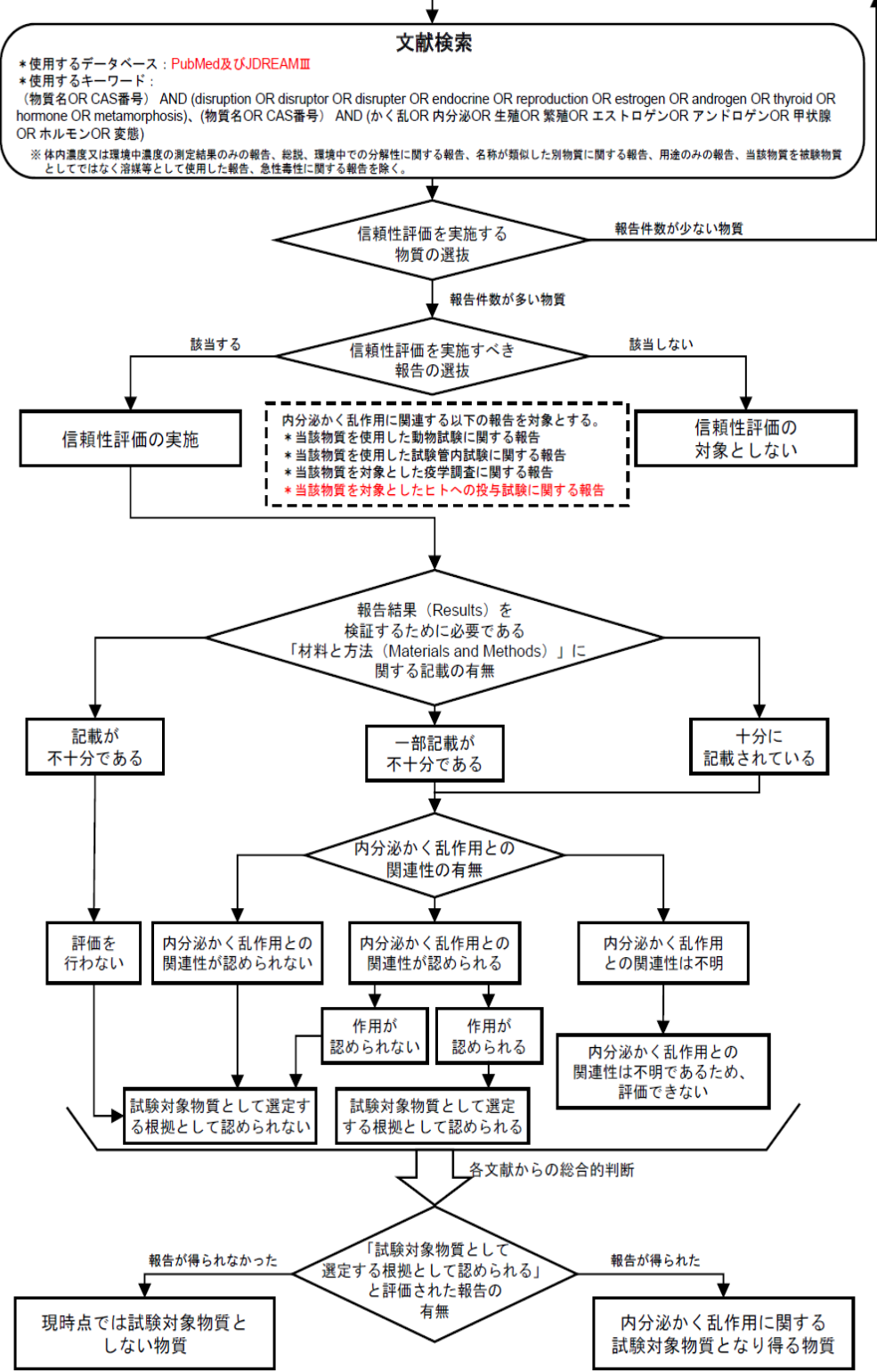
検討に当たっては、内分泌かく乱化学物質について、「内分泌系に影響を及ぼすことにより、生体に障害や有害な影響を引き起こす外因性の化学物質」とする平成15年5月の政府見解を作業班共通の認識として評価を行うこととする。

「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」、「内分泌かく乱作用との関連の有無」及び「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、「今後の対応案」をとりまとめる。

とりまとめに至る経緯及びその結果を「EXTEND2016 化学物質の内分泌かく乱作用に関する検討会」に提案する。

## 信頼性評価の対象物質を選定するための母集団

- (1) 化学物質環境実態調査、公共用水域水質測定、要調査項目等存在状況調査及び農業残留対策総合調査において検出された物質
  - (2) 化管法第一種指定化学物質（PRTR対象物質）
  - (3) US EPA EDSP、ECHA SVHC等での検討対象であったがEXTENDでは検討対象となっていなかった物質
  - (4) 専門家から提案された物質
- ※ 現時点で使用実態が認められない物質及びCAS番号が特定できない物質を除く。



## 4. 試験の実施と有害性評価

### (1) 生態影響評価のための基本的枠組みと評価の考え方

EXTEND2016 では、基本的に EXTEND2010 の考え方を踏襲して、「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る物質」として選定された化学物質の生態影響について、以下の2段階で試験及び評価を進めていくとしている。

試験及び評価の対象生物としては、魚類、両生類及び無脊椎動物の水生生物とする。

EXTEND2016 の内分泌かく乱作用の有害性評価の枠組みでは、生殖、甲状腺及び成長に及ぼす影響（作用）を対象として試験並びに評価を行う。第1段階の試験は、試験管内試験と簡易（短期）な生物試験で構成される。まず試験管内試験（*in vitro* 試験）を実施し、その結果等を踏まえて第1段階生物試験（*in vivo* 試験）を優先的に実施すべき物質を抽出する。第1段階の試験結果等を踏まえて第2段階生物試験（*in vivo* 試験）を優先的に実施すべき物質を抽出する。第2段階の試験は長期の確定試験である。第1段階と第2段階で一貫した評価を行うため、各影響に関して同一生物種（魚類：メダカ、両生類：ツメガエル類、無脊椎動物：ミジンコ）を用いることを基本としている。

試験法については、可能な限り既存の試験法を組み合わせることで試験群を構築することを前提として、OECD でテストガイドライン化されている試験法を優先し、別途、新たに開発が必要な試験法に関する検討を進めている。

\* 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）

\* 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）

\* 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の確認）

- 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段階試験群を構成する。
- 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」とされた物質を試験対象の候補とする。
- 既存の知見及び第1段階試験群の結果より、第1段階評価を実施する。

#### 第2段階（有害性の確認）

- 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段階試験群を構成する。
- 第1段階評価において「内分泌系に対する作用がある」と認められた物質を、第2段階試験群を実施する候補とする。

※ 第1段階評価で「内分泌系に対する作用がある」と認められなかった物質については、内分泌系に対する作用を必ずしも否定することはできないが、効率的かつ効果的に評価を進める観点から、現時点では「保留」とする。

図1 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)

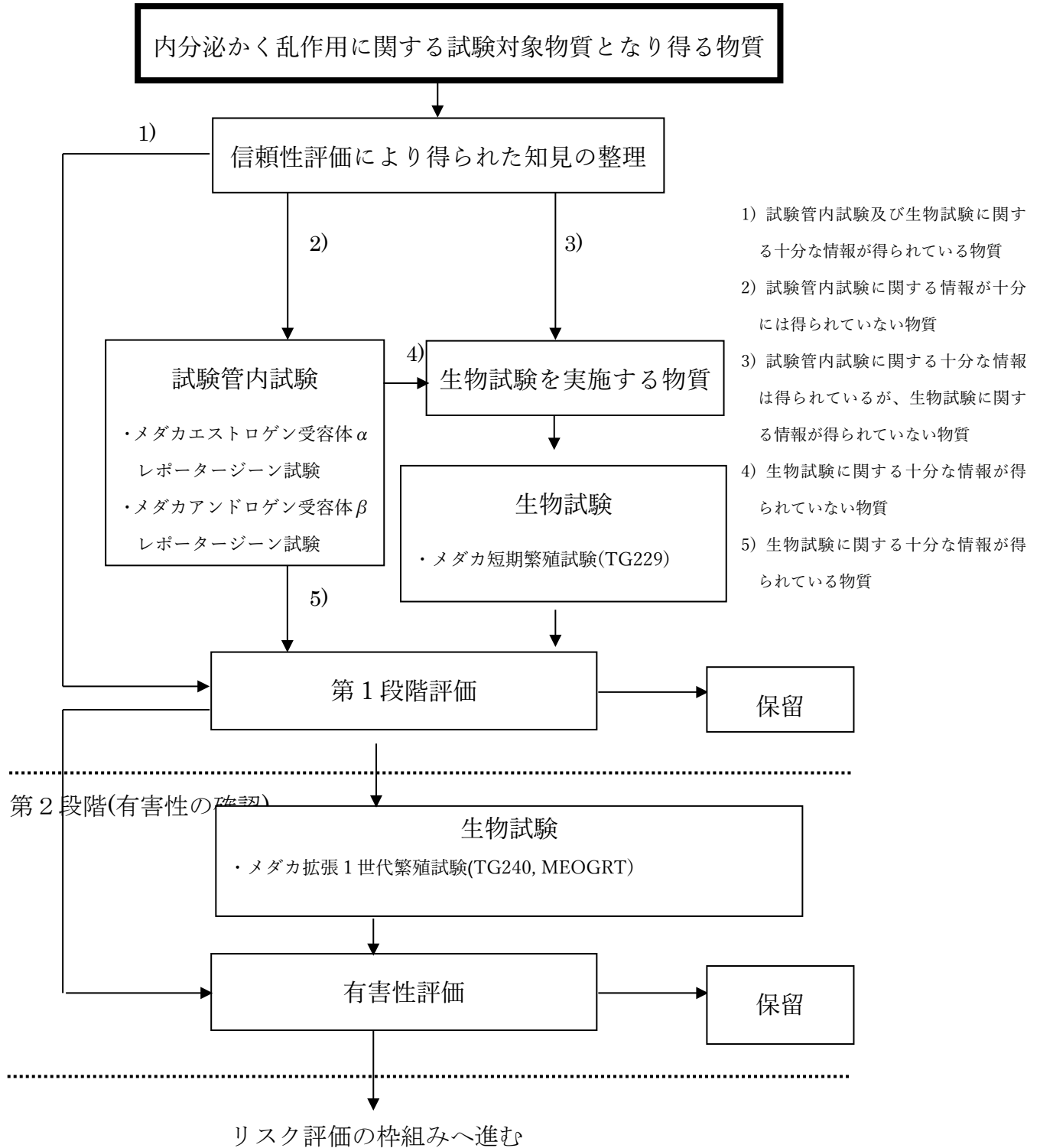




図2 内分泌かく乱作用の有害性評価の枠組み  
 生殖に及ぼす影響  
 (抗アンドロゲン様作用、等)

第1段階(内分泌系に対する作用の有無を確認)

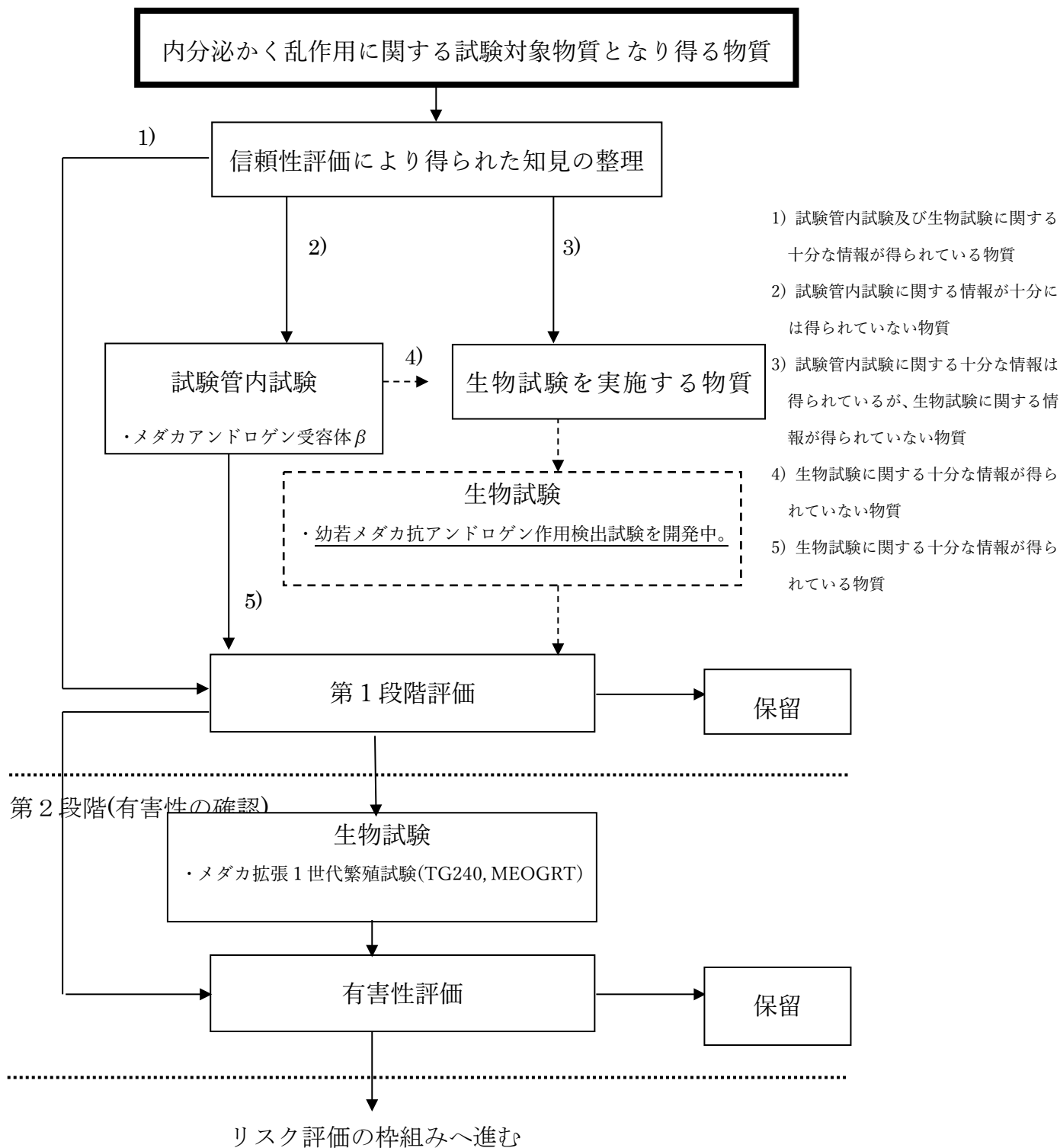


図3 内分泌かく乱作用の有害性評価の枠組み  
 甲状腺に及ぼす影響  
 (甲状腺ホルモン様作用、抗甲状腺ホルモン様作用、等)

第1段階(内分泌系に対する作用の有無を確認)

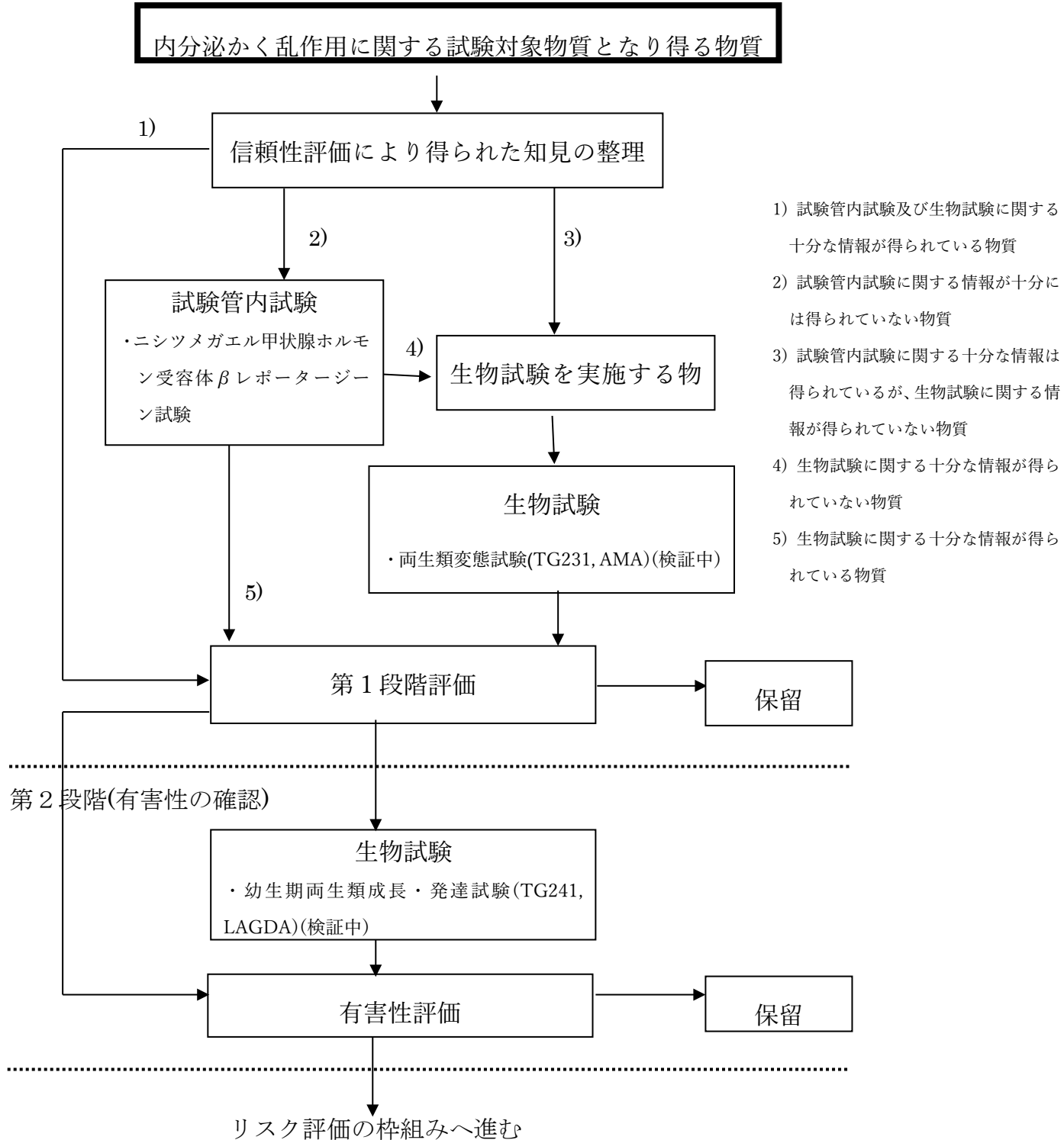
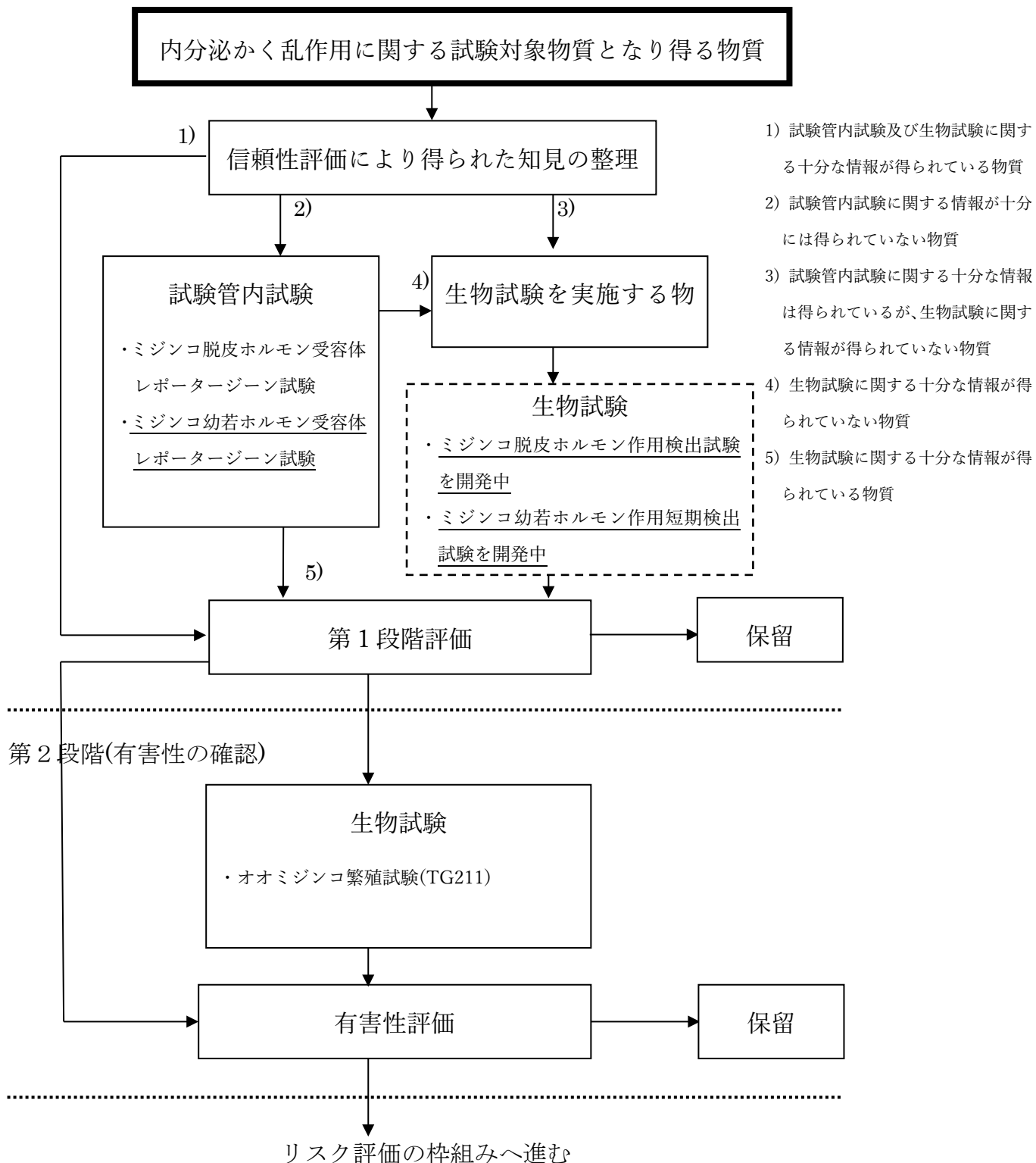


図4 内分泌かく乱作用の有害性評価の枠組み  
成長に及ぼす影響

(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)



## 5. 実施状況(平成3年度第1回公開検討会(2021.09.15)で報告された内容)

### 5.1. 物質選定

現時点までに、母集団\*から信頼性評価の対象物質として219物質を選定し、206物質について信頼性評価が完了し、そのうち155物質(E2及びEE2を含む)を「内分泌かく乱作用に関する試験対象物質となり得る物質」とした(155/206=75%)。

\*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

### 5.2. 第1段階試験の実施状況

「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155物質(E2及びEE2を含む)のうち107物質について延べ403の第1段階試験管内試験が実施され、40物質について陽性の結果が得られた(40/107=37%)(表1参照)。

陽性の結果が得られた40物質のうち22物質についてメダカを用いた第1段階生物試験(OECD TG229)が実施され、そのうち13物質について内分泌かく乱作用が確認され(13/22=59%)、17物質について繁殖等に関する有害性が確認された(17/22=77%)(表2参照)。

### 5.3. 第2段階生物試験の実施状況

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。

平成27年度(2015年度)に4-ノニルフェノール(分岐型)を対象としてMEOGRT試験を実施した。これにより、同試験の適用性に関する知見が得られ、当該物質がメダカに対してエストロゲン様作用を示すこと及びメダカの繁殖に対する有害性を示すことを確認(繁殖に及ぼす最低影響濃度は、1.27µg/L)した。

以後順次MEOGRT試験を実施している。

ビスフェノールA	(2016年度)
4-tert-オクチルフェノール	(2017~2018年度)
エストロン	(2017~2018年度)
17α-エチニルエストラジオール	(2019~2020年度)
リン酸トリフェニル	(2019~2020年度)

表 1 第 1 段階試験管内試験の結果概要

物質名	確認された作用							
	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	甲状腺ホルモン	抗甲状腺ホルモン	幼若ホルモン	脱皮ホルモン
<u>エストロン</u>	○	ND	ND	○	—	—	—	—
<u>4-<i>t</i>ヘンチルフェノール</u>	○	ND	ND	○	—	—	—	—
<u>4-ヒドロキシ安息香酸メチル</u>	○	ND	ND	ND	—	—	—	—
<u>4-ニルフェノール (分岐型)</u>	○	ND	ND	ND	ND	ND	—	—
<u>ビスフェノール A</u>	○	ND	ND	ND	ND	ND	—	—
<u>17β-エストラジオール</u>	○	ND	ND	○	—	—	—	—
<u>17α-エチニルエストラジオール</u>	○	ND	ND	○	—	—	—	—
<u>4-ヒドロキシ安息香酸プロピル</u>	○	ND	ND	ND	—	—	—	—
<u>ベンゾフェノン 2</u>	○	ND	○	○	ND	○	—	—
<u>ペンタイメタリン</u>	○	ND	ND	ND	—	—	—	—
<u>4-<i>t</i>オクチルフェノール</u>	○	ND	ND	ND	—	ND	—	—
<u>りん酸トリフェニル</u>	○	ND	ND	ND	—	—	—	—
<u>フタル酸ジイソブチル</u>	○	ND	ND	ND	—	—	—	—
<u>シアジピン</u>	ND	○	ND	ND	—	—	—	—
<u>フェニイン</u>	ND	○	ND	ND	—	○	—	—
<u>ダイジピン</u>	○	ND	ND	ND	—	—	—	—
<u>1-ナフトール</u>	○	ND	ND	ND	—	ND	—	—
<u>トリクロサン</u>	○	ND	ND	ND	ND	ND	—	—
<u>スルファメトキサゾール</u>	○	—	—	ND	—	—	—	—
<u>フルタミド</u>	ND	ND	ND	○	ND	ND	—	ND
<u>フェンハレレート</u>	○	ND	ND	ND	ND	ND	—	—
<u>りん酸トリクレ</u>	○	ND	ND	ND	—	—	—	—

物質名	確認された作用							
	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	甲状腺ホルモン	抗甲状腺ホルモン	幼若ホルモン	脱皮ホルモン
ジフル								
カルバ <sup>レ</sup> リル	ND	ND	ND	○	—	ND	—	—
2,4,6-トリブ <sup>ロ</sup> モフェノール	—	ND	—	—	—	○	—	—
ペ <sup>ル</sup> フルオロオクタ <sup>ン</sup> 酸	ND	ND	ND	○	—	ND	—ND	—
ジ <sup>ウ</sup> ロン	—	ND	—	○	—	—	—	—
フェニトロチオン	ND	ND	ND	○	—	—	—	—
ベ <sup>ノ</sup> ミル	ND	ND	ND	○	—	—	—	—
テブ <sup>フェノシト</sup>	—	—	—	—	—	—	—	○
プロシミ <sup>ト</sup> ン	ND	ND	ND	○	ND	ND	—	—
酢酸クロルマ <sup>ジ</sup> ノン	ND	ND	ND	○	—	—	—	—
マンゼ <sup>ブ</sup>	ND	ND	ND	○	ND	ND	—	—
マンネ <sup>ブ</sup>	ND	ND	ND	○	ND	ND	—	—
クロルピ <sup>リ</sup> ホス	○	ND	ND	ND	ND	ND	—	—
トナリ <sup>ト</sup>	ND	ND	—	○	—	—	—	—
ポリ(オキシエチレン)=ニルフェニルエーテル類(1,2)	○	—	—	—	—	—	—	—
メフェナム酸	ND	○	ND	ND	—	—	—	—
2,4-シ <sup>ク</sup> クロロフェノール	○	ND	ND	ND	—	—	—	—
2-ナフトール	○	—	—	—	—	ND	—	—
4- <i>t</i> -ブ <sup>チ</sup> ルフェノール	○	ND	—	—	—	—	—	—

○：作用が確認された、ND：作用が確認されなかった、—：未実施、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。

表2 第1段階生物試験(メダカを用いた OECD TG229)の結果概要

物質名	確認された作用			
	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	繁殖等に関する有害作用
<u>エストロン</u>	○	ND	ND	○
4- <u>t</u> ペンチルフェノール	○	ND	ND	○
4-ヒドロキシ安息香酸メチル	○	ND	ND	○
<u>4</u> -ニルフェノール(分岐型)	○	ND	ND	○
<u>ビ</u> スフェノール A	○	ND	ND	○
17β- <u>エ</u> ストラジオール	○	ND	ND	○
17α- <u>エ</u> チルエストラジオール	○	ND	ND	○
4-ヒドロキシ安息香酸プロピル	○	ND	ND	○
ペンゾフェノン-2	○	ND	ND	○
ペンタメチリン	○	ND	ND	○
<u>4</u> - <u>t</u> オクチルフェノール	○	ND	ND	ND
<u>りん</u> 酸トリフェニル※	ND	○	ND	○
フタル酸ジイソブチル	ND	○	ND	ND
シアジン	ND	ND	ND	○
フェニチン	ND	ND	ND	○
ダイアジン	ND	ND	ND	○
1-ナフトール	ND	ND	ND	○
トリクロサン	ND	ND	ND	○
スルファメトキサゾール	ND	ND	ND	○
フルタミド	ND	ND	ND	ND
フェンバレート	ND	ND	ND	ND
<u>りん</u> 酸トリクレジル	ND	ND	ND	ND

○：作用が確認された、ND：作用が確認されなかった、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。

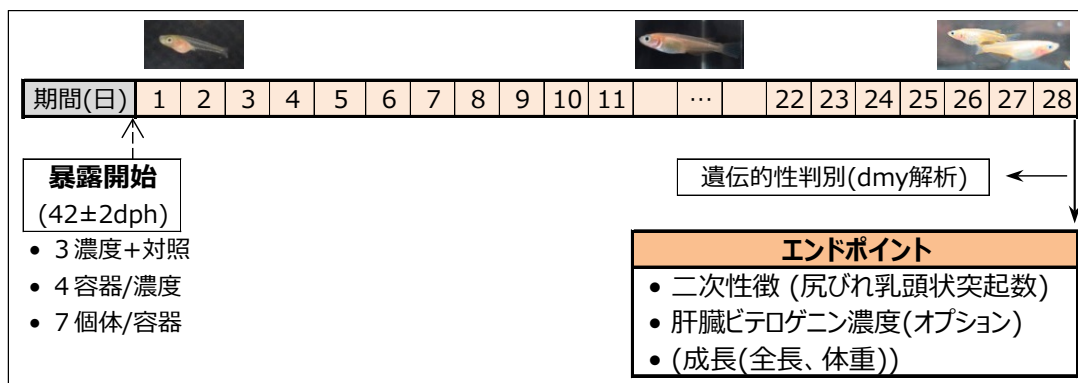
※りん酸トリフェニルについては、ステロイド合成阻害作用も示唆されている。

## 6. 試験法の開発

### (1) 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 42 日齢 (6 週齢) 前後の二次性徴 (尻びれの乳頭状小突起) が発現前の幼若期メダカを試験生物とする。試験では、各水槽に 7 個体を収容し、28 日間 (4 週間) にわたり試験物質 (化学物質) によるばく露を行う。ばく露終了時に、エンドポイントとして二次性徴の発現状況 (乳頭状小突起を発現している節板数) を調べる。エンドポイントの解析は、性決定遺伝子 (dmy 遺伝子) に基づき決定する遺伝的雌雄ごとに行う。化学物質の抗アンドロゲン作用については、遺伝的オスにおける二次性徴発現の低下から評価する。遺伝的メスにおける二次性徴の発現から試験物質のアンドロゲン作用も検出できる。また、必須のエンドポイントではないが、肝臓中のビテロゲ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。

JMASA については、2016 年 (平成 28 年) に、日本より OECD へ GD 化に関するプロジェクトを提案し、承認されている。TG 化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。



### (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。ばく露後に生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。JHASA については、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が検討されたが、令和元年度までに試験デザインは確定していない。

### (4) 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）を用いた二世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3 EXTEND2010 及び EXTEND2016 における試験法開発の進捗状況

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

注：◎開発済み、○開発中（完成間近）、△開発中、▽不採用