

内分泌攪乱作用を有すると疑われる化学物質の試験体系の概況

内分泌攪乱化学物質の人健康影響評価のための試験体系の概況

(平成15年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料：平成15年6月12日開催)

◎ 基本的な考え方

優先してリスク評価に取り組む平成12年度に選定した12物質¹⁾、平成13年度に選定した8物質²⁾及び平成14年度に選定した24物質のうち8物質³⁾にかかる人健康影響評価のための試験体系については、原則、スクリーニングとして①我が国独自で開発する「げっ歯類を用いた1世代試験」(以下、1世代試験)、②OECDを中心に各国がバリデーションとして進行中の(i)子宮肥大試験(ii)ハーシュバーガー試験(iii)28日間反復投与試験を実施するとともに、作用の有無・程度や確定試験実施等の判定の際には、経済産業省及び厚生労働省等で進められている試験結果に加え、これらの結果を補完する目的で実施する試験管内試験結果も考慮する。

- 1) トリブチルスズ、4-オクチルフェノール、ノニルフェノール、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジシクロヘキシル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、オクタクロロスチレン、ベンゾフェノン、トリフェニルスズ、フタル酸ジエチル、フタル酸ブチルベンジル及びアジピン酸ジ-2-エチルヘキシル
- 2) ペンタクロロフェノール、アミトロール、ビスフェノールA、2,4-ジクロロフェノール、4-ニトロトルエン、フタル酸ジペンチル、フタル酸ジヘキシル及びフタル酸ジプロピル
- 3) ヘキサクロロベンゼン、ヘキサクロロシクロヘキサン、クロルデン、オキシクロルデン、trans-ノナクロル、DDT、DDE及びDDD

1. げっ歯類を用いた1世代試験

※有害性評価結果(平成13年度に選定した8物質(ビスフェノールAを除く)、4-オクチルフェノール、ノニルフェノール及びフタル酸ジ-n-ブチル)については、資料3-1、3-2を参照

(1) 現在の試験実施状況等

① 平成12年度に選定した12物質について

a. 10物質について

優先12物質のうち、4-オクチルフェノール及びノニルフェノールを除く10物質については、1世代試験を実施し、平成14年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会(平成14年6月14日開催)にて結果を公表。このうち、フタル酸ジ-n-ブチルについては追加試験を実施し、今回、試験結果を報告。

b. 2物質について

2物質(4-オクチルフェノール及びノニルフェノール)については、文献調査や試験管内試験により、エストロゲン様作用が疑われることから、陽性対照物質であるエチニルエストラジオール(EE)を使用したパイロット試験を実施し、終了。その結果を参考に1世代試験を実施し、今回、試験結果を報告。

② 平成13年度に選定した8物質について

優先8物質のうちビスフェノールAを除く7物質について、1世代試験を実施し、今回、試験結果を報告。

なお、ビスフェノールAについては、文献調査やその信頼性評価において、生殖へ

の影響等に関し、相反する結果が報告されていることから、特定の遺伝子座に着目し、陽性対照物質を投与したパイロット試験(子宮肥大試験及びハーシュバーガー試験)を実施。今後、1世代試験を実施する予定。

③ 平成14年度に選定した24物質について

平成14年度に選定した24物質のうち、人又は魚類を用いた動物試験の用量(濃度)設定の可否の観点から、8物質について文献調査・信頼性評価の結果を参考に、物質ごとに個別にスクリーニング・試験の実施の有無及びその組み合わせを判断することとしていた(別紙1、2参照)。

ただし、今回の8物質には複数の異性体を有する物質が含まれていることから、環境実態調査*において異性体ごとに測定を実施した物質については、同調査において検出された異性体を文献調査・信頼性評価の対象とした(別紙3参照)。

文献調査・信頼性評価結果については、資料7のとおりであり、現時点では、ヘキサクロロベンゼン、 β -ヘキサクロロシクロヘキサン、cis-クロルデン、trans-ノナクロル、p,p'-DDT、o,p'-DDT、p,p'-DDE及びp,p'-DDDについて、今後、原則として1世代試験を実施する予定。

なお、この8物質を除く16物質**については、現在、文献調査・信頼性評価を進めており、今後、リスク評価に取り組む際の基礎資料とする。

* 環境省(庁)が実施した「平成10年度緊急全国一斉調査」、「平成11年度全国一斉調査」、「平成12年度全国一斉調査」、「平成13年度環境実態調査」及び国土交通省(建設省)が平成10~13年度に実施した「水環境における内分泌攪乱化学物質に関する実態調査」の水質・底質・大気・土壌・水生生物(野生生物調査のコイの結果を含む)の各調査
** 2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸、エチルパラチオン、1,2-ジプロモ-3-クロロプロパン、アルドリン、エンドリン、ディルドリン、ヘプタクロル、ヘプタクロルエポキシサイド、メトキシクロル、マイレックス、ニトロフェン、トキサフェン、アルディカーブ、キーボン、メチラム及びピンクロゾリン

(2) 1世代試験のプロトコールの概要

① 平成12年度に選定した12物質について

a. 10物質について

a-1 10物質の1世代試験

- ア. 動物の種類 : ラット(クローズドコロニー; Wistar Imamichi)
- イ. 飼料の種類 : 実験動物用固型飼料(CE2、日本クア(株))(自由摂取)
- ウ. 投与経路 : 強制経口投与(コーン油に溶解)
※TBT, TPTについては混餌
- エ. 用量 : 低用量(文献情報等により得られたヒト推定曝露量を考慮した比較的低用量)にしぼり6群(物質ごとに検討)。フタル酸ジ-n-ブチルについては、低用量にしぼり7群。
ただし、最高用量については、LOEL、LOAELを参考とし、母動物あるいは児動物に何らかの影響が予測される用量を設定。
- オ. 1群あたりの動物数 : 妊娠動物として12匹/群
- カ. 試験期間 : 馴化・交配期間を含め17週程度(約120日)
- キ. 投与期間 : 妊娠0日~哺育21日
- ク. 観察項目 : 文献調査結果を参考に、物質ごとに検討。
- ケ. 分析 : 飼料、飲水、コーン油については、被験物質及び植物エストロゲン濃度を測定するとともに、被験物質の純度分析も実施。また、コーン油等に混合した実質投与量も

測定。

a-2 フタル酸ジ-n-ブチルの追加試験

追加試験において変更した内容は以下のとおりである。

- ア. 動物の種類 : ラット(クローズドコロニー; Wistar Hannover)
- カ. 試験期間 : 馴化・交配期間を含め 21 週程度(約 150 日)。離乳時の F1 哺育児の間引きを行わないため、試験を 2 回に分割して実施。
- ク. 観察項目 : パイロット試験において F1 哺育児の 3 週齢時、6 週齢時及び 10 週齢時に雌雄 1 匹/腹の割合で実施した病理組織学的検査を 3 週齢時及び 10 週齢時の全例実施に変更するとともに、帝王切開検査(妊娠 14 日目)、反応性検査を追加。

b. 2 物質について

b-1 エチニルエストラジオール(EE)を使用したパイロット試験

3 種類の投与期間で実施

- ① 妊娠中期～妊娠後期 妊娠 7～18 日
- ② 妊娠後期～哺育前期 妊娠 18 日～哺育 5 日
- ③ 妊娠～哺育期間 妊娠 0 日～哺育 20 日

- ア. 動物の種類 : ラット(近交系; Wister Kyoto)
- イ. 飼料の種類 : Phytoestrogen-free の飼料(NIH-07-PLD, オリエンタル酵母(株))(自由摂取)
- ウ. 投与経路 : 皮下投与(コーンオイルに溶解)
- エ. 用量 : 低用量(ピル(経口避妊薬)としての体内濃度)を考慮した 6 群
- ① 0 ② 0.01 ③ 0.03 ④ 0.1 ⑤ 0.3 ⑥ 1.0 ($\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$)

オ. 1 群あたりの動物数 : 妊娠動物として 12 匹/群

カ. 試験期間 : 交配期間を含め 17 週程度(約 120 日)

キ. 観察項目 :

- ① 母動物 : 臨床症状及び死亡、体重、体重増加量、摂餌量、飲水量、繁殖能力(受胎率、出産率、妊娠期間、着床数等)、剖検及び組織の保存等
- ② 児動物 : 臨床症状及び死亡、産児数、性比、肛門生殖突起間距離、生存率、体重、体重増加量、摂餌量、飲水量、身体発達、初期行動発達、繁殖能力(性成熟、発情周期、精巢の精子頭数等)、病理学的検査(剖検、臓器の重量測定及び保存、病理組織学的検査)、遺伝子発現の定量的測定等

ク. 分析 : a-1 における分析項目に加え、飼料等の女性ホルモンも分析。

b-2 4-オクチルフェノール及びノニルフェノールの 1 世代試験

- ア. 動物の種類 : ラット(クローズドコロニー; Wistar Hannover)
- イ. 飼料の種類 : 実験動物用固型飼料(CE2、日本クリア(株))(自由摂取)
- ウ. 投与経路 : 4-オクチルフェノールについては、強制経口投与(コーン油に溶解)、ノニルフェノールについては、飲水投与。

- エ. 用量 : 低用量(文献情報等により得られたヒト推定曝露量を考慮した比較的 low 用量)にしぼり 5 群(物質ごとに検討)。
EE を使用したパイロット試験結果を参考にし、陽性対照群を 1 群設定(EE の皮下投与)。
- オ. 1 群あたりの動物数 : 妊娠動物として 12 匹/群
- カ. 試験期間 : 馴化・交配期間を含め 17 週程度(約 120 日)
- キ. 投与期間 : 妊娠 0 日～哺育 21 日
- ク. 観察項目 : 文献調査結果を参考に、物質ごとに検討。
- ケ. 分析 : 飼料、飲水、コーン油については、被験物質及び植物エストロゲン濃度を測定するとともに、被験物質の純度分析も実施。また、コーン油等に混合した実質投与量も測定。

② 平成 13 年度に選定した 8 物質について

a. ビスフェノール A を除く 7 物質について

- ア. 動物の種類 : ラット(クローズドコロニー; Wistar Hannover)
- イ. 飼料の種類 : 実験動物用固型飼料(CE2、日本クア(株))(自由摂取)
- ウ. 投与経路 : 強制経口投与(コーン油に溶解)。ただし、アミトロールについては、飲水投与。
- エ. 用量 : 低用量(文献情報等により得られたヒト推定曝露量を考慮した比較的 low 用量)にしぼり 6 群(物質ごとに検討)。
ただし、最高用量については、LOEL、LOAEL を参考とし、母動物あるいは児動物に何らかの影響が予測される用量を設定。
- オ. 1 群あたりの動物数 : 妊娠動物として 12 匹/群
- カ. 試験期間 : 馴化・交配期間を含め 17 週程度(約 120 日)
- キ. 投与期間 : 妊娠 0 日～哺育 21 日
- ク. 観察項目 : 文献調査・環境調査結果を参考に、物質ごとに検討
- ケ. 分析 : 飼料、飲水、コーン油については、被験物質及び植物エストロゲン濃度を測定するとともに、被験物質の純度分析も実施。また、コーン油等に混合した実質投与量も測定。

b. ビスフェノール A について

- ア. 動物の種類 : ラット(クローズドコロニー; Wistar Hannover)
- イ. 飼料の種類 : 実験動物用固型飼料(CE2、日本クア(株))(自由摂取)
- ウ. 投与経路 : 低用量群については、飲水投与。最高用量は強制経口投与(1%CMC 水溶液等に懸濁)。
- エ. 用量 : 低用量(文献情報等により得られたヒト推定曝露量を考慮した比較的 low 用量)にしぼり 6 群。ただし、最高用量については、LOEL、LOAEL を参考とし、母動物あるいは児動物に何らかの影響が予測される用量を設定。
- オ. 1 群あたりの動物数 : 妊娠動物として 12 匹/群
- カ. 試験期間 : 馴化・交配期間を含め 17 週程度(約 120 日)
- キ. 投与期間 : 妊娠 0 日～哺育 21 日
- ク. 観察項目 : 文献調査・環境調査結果を参考に、検討