

ケ. 分析 : 飼料、飲水、1%CMC 水溶液等については、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、1%CMC 水溶液等に混合した実質投与量も測定。

※ なお、餌に含まれる植物エストロゲン等に関する議論があることから、別途試験を実施することを検討する。

③ 平成 14 年度に選定した 24 物質のうちの 8 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、日本クリア(株))(自由摂取)

ウ. 投与経路 : 原則として、混餌投与または強制経口投与(コーン油に溶解)。

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、原則として、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)

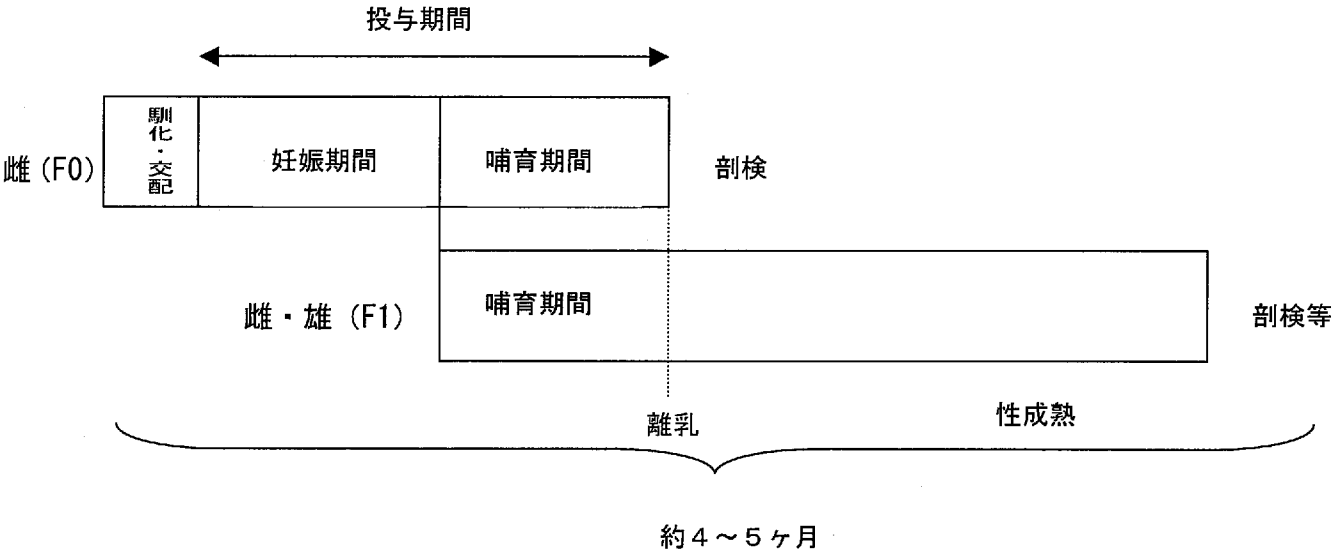
キ. 投与期間 : 妊娠 0 日～哺育 21 日

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。

*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、p,p'-DDD

(3) 1 世代試験の概略図



2. 試験管内 (*in vitro*) 試験

in vivo 試験結果を補完し、作用機序を確認するために実施している。

※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13-1、3-2を参照 2-2-6

(1) エストロジェン様作用

平成12年度及び平成13年度に選定した20物質について①ヒトエストロジェン受容体(ER α 及びER β)結合競合阻害試験(レセプターバインディングアッセイ)及び②ヒト乳がん細胞E-screen試験を実施、終了。

(2) アンドロジェン様作用

平成12年度及び平成13年度に選定した20物質について①ヒト乳がん細胞アンドロジェン受容体レポータージーン試験(アゴニスト及びアンタゴニスト)及び②ラットアンドロジェン受容体結合阻害試験(放射線リガンド結合法:RIA法)を実施、終了。

(3) 甲状腺ホルモン様作用

平成12年度及び平成13年度に選定した20物質についてヒト甲状腺ホルモン受容体(TR α 及びTR β)酵母試験を実施、終了。

3. その他のスクリーニング・試験法

(1) スクリーニング手法

①げっ歯類による子宮肥大試験

未成熟雌ラット又は卵巣摘出した雌ラットに化学物質を投与して、エストロジェン様作用を示すかどうかを子宮重量の変化等から評価する。

OECDにおいては、テストガイドライン化に向けて最終段階にあるが、残された課題として、マウスにおける子宮肥大試験の反応の検討・評価、統計学的な評価、さらにはピアレビューへの対応があり、テストガイドライン化は平成16年度以降となる予定。

経済産業省においては、優先12物質について、OECDのバリデーション手法に基づき、試験を実施・終了。

②げっ歯類による前立腺肥大試験(Hershberger試験)

未成熟雄ラット又は精巣摘出した雄ラットに化学物質を投与し、アンドロジェン様作用を示すかどうかを前立腺重量や副生殖器の組織学的検査により評価する。

OECDにおいては、バリデーションの手法に基づき平成13~14年度に実施された日本での試験結果を提出、他国での試験の実施・終了を踏まえて、統計学的な評価やピアレビューへの対応があり、テストガイドライン化は平成16年度以降となる予定。

経済産業省においては、優先12物質について、OECDのバリデーション手法に基づき、試験を実施・終了。

③改訂 OECD TG407 28日間反復経口毒性試験

28日間毎日化学物質を投与し、内分泌攪乱作用と関連が指摘されている指標(生殖器官、精子形成状態、血中ホルモン濃度等)を評価。

OECDにおいては、バリデーションの手法に基づき実施された各国での試験がほぼ終了し、結果の集約・検討を実施中。今年中には報告書案が提出される予定。

(2) 試験法の開発

ODNA マイクロアレイ

化学物質による内分泌攪乱作用について詳細に評価を行うために、遺伝子レベルでの試験法の開発を行う。

平成 13 年度は、ヒトの癌細胞及び正常細胞、マウスの株化細胞、初代培養細胞及び個体に陽性対照物質を投与し、遺伝子の発現が変化した遺伝子数とその変化の程度、再現性等から、ヒトの癌細胞及びマウス個体における遺伝子変化が遺伝子レベルの解析対象として優れていることを明らかにした。

平成 14 年度は、陽性対照物質に加え、平成 12 年度にリスク評価に取り組む物質として選定した 12 物質を、平成 13 年度に解析対象として優れていることが明らかとなったヒトの癌細胞及びマウス個体に投与し、発現が変動する遺伝子について解析を行った。これによりエストロゲン様作用を評価するための DNA チップ作成に向けた遺伝子の候補の選択を行った。

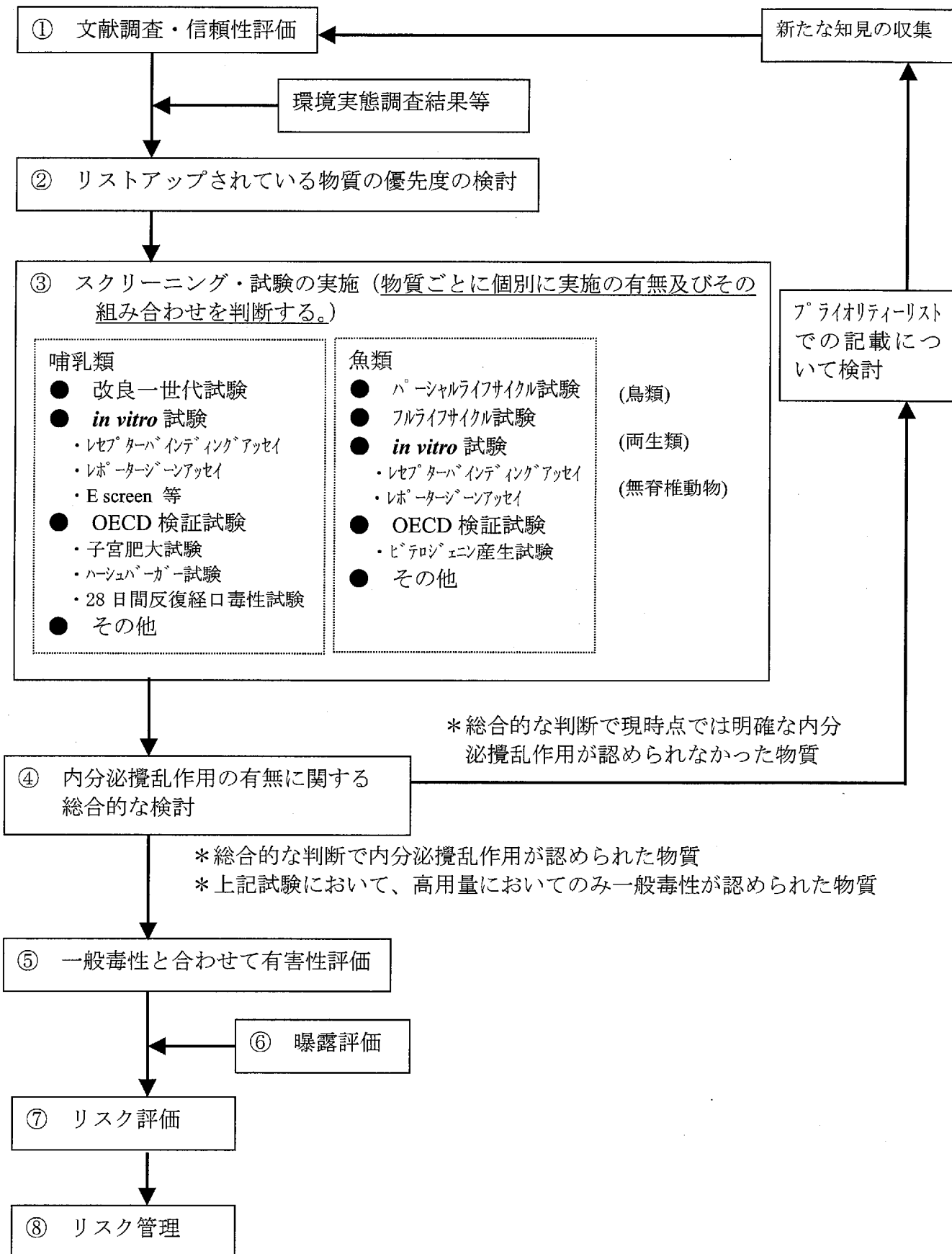
平成 15 年度は、平成 14 年度に選択した遺伝子を中心にエストロゲン様作用を評価するための DNA チップを試作し、その評価を行うとともに、これらのデータについてデータベース化したものの公開を目指す。

4. 評価体制

「内分泌攪乱化学物質問題検討会」の作業グループである「内分泌攪乱作用が疑われる物質のリスク評価検討会」のサブグループとして、「内分泌攪乱作用が疑われる化学物質のスクリーニング・試験法（哺乳類）評価検討会」を設置し、①各試験機関から提出された物質ごとのプロトコール及び②そのプロトコールに則った実施状況や試験結果について助言・評価を行っている。

(参考)

SPEED' 98 にリストアップされている物質のリスク評価



内分泌攪乱作用を有すると疑われる化学物質の検討状況

平成 12 年度検討物質(12 物質)	農薬取締法に基づき農薬として登録されている物質(20 物質)
<ul style="list-style-type: none"> ・トリブチルスズ ・トリフェニルスズ ・ノニルフェノール ・4-オクチルフェノール ・フタル酸ジ-2-エチルヘキシル ・フタル酸ブチルベンジル ・フタル酸ジ-n-ブチル ・フタル酸ジシクロヘキシル ・フタル酸ジエチル ・アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル ・ベンゾフェノン ・オクタクロロスチレン 	<ul style="list-style-type: none"> ・2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 ・アトラジン ・アラクロール ・CAT ・NAC ・ケルセン ・エンドスルファン ・マラチオン ・メソミル ・トリフルラリン ・ベノミル
平成 13 年度検討物質(8 物質)	マンゼブ (マンコゼブ)
<ul style="list-style-type: none"> ・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 ・フタル酸ジプロピル 	<ul style="list-style-type: none"> ・マンネブ ・メトリブジン ・シペルメトリン ・エスフェンバレレート ・フェンバレレート ・ペルメトリン ・ジネブ ・ジラム
[平成 14 年度にリスク評価に着手する物質の候補]	別途検討物質(4 物質)
<ul style="list-style-type: none"> ・ヘキサクロロベンゼン ・2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸 ・ヘキサクロロシクロヘキサン ・エチルパラチオン ・クロルデン ・オキシクロルデン ・trans-ノナクロル ・1,2-ジブromo-3-クロロプロパン ・DDT ・DDE ・DDD ・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 ・ピンクロゾリン 	<ul style="list-style-type: none"> ・ダイオキシン類 ダイオキシン類対策特別処置法に基づいて別途検討中 ・ポリ塩化ビフェニール類(PCB) ポリ塩化ビフェニール廃棄物の適正な処理の推進に関する特別処置法に基づいて別途検討中。なお、ポリ臭化ビフェニール類(PBB)については、PCBと構造が類似しており、PCBと一緒に評価することが望ましいと考えられる。 ・ベンゾ(a)ピレン 有害大気汚染物質に係る環境基準の設定に向けて別途検討中

内分泌攪乱作用を有すると疑われる化学物質の検討状況

平成 12 年度検討物質(12 物質)	農薬取締法に基づき農薬として登録されている物質(20 物質)
<ul style="list-style-type: none"> ・トリブチルスズ ・トリフェニルスズ ・ノニルフェノール ・4-オクチルフェノール ・フタル酸ジ-2-エチルヘキシル ・フタル酸ブチルベンジル ・フタル酸ジ-n-ブチル ・フタル酸ジシクロヘキシル ・フタル酸ジエチル ・アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル ・ベンゾフェノン ・オクタクロロスチレン 	<ul style="list-style-type: none"> ・2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 ・アトラジン ・アラクロール ・CAT ・NAC ・ケルセン ・エンドスルファン ・マラチオン ・メソミル ・トリフルラリン ・ベノミル ・マンゼブ (マンコゼブ) ・マンネブ ・メトリブジン ・シペルメトリン ・エスフェンバレレート ・フェンバレレート ・ペルメトリン ・ジネブ ・ジラム
平成 13 年度検討物質(8 物質)	
<ul style="list-style-type: none"> ・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 ・フタル酸ジプロピル 	
[平成 14 年度にリスク評価に着手する物質の候補]	別途検討物質(4 物質)
<ul style="list-style-type: none"> ・ヘキサクロロベンゼン ・2,4,5-トリクロロフェノキシ酢酸 ・ヘキサクロロシクロヘキサン ・エチルパラチオン ・クロルデン ・オキシクロルデン ・<i>trans</i>-ノナクロル ・1,2-ジブromo-3-クロロプロパン ・DDT ・DDE ・DDD ・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 ・キーポン ・メチラム ・ビンクロゾリン 	<ul style="list-style-type: none"> ・ダイオキシン類 ダイオキシン類対策特別処置法に基づいて別途検討中 ・ポリ塩化ビフェニール類(PCB) ポリ塩化ビフェニール廃棄物の適正な処理の推進に関する特別処置法に基づいて別途検討中。なお、ポリ臭化ビフェニール類(PBB)については、PCBと構造が類似しており、PCBと一緒に評価することが望ましいと考えられる。 ・ベンゾ(a)ピレン 有害大気汚染物質に係る環境基準の設定に向けて別途検討中