

生態影響及びヒト健康影響への内分泌かく乱作用に関する試験の方法と結果の概要

1 - 1 . 生態系への内分泌かく乱作用による影響に関する魚類を用いた試験方法

評価体制

「内分泌攪乱化学物質問題検討会」のもとに設置された「内分泌攪乱作用が疑われる物質のリスク評価検討会」のなかに生態系の専門家からなる「内分泌攪乱化学物質の生態影響に関する試験法開発検討会」を設置し（鳥類、両生類、無脊椎動物についてはそれぞれ担当グループを更に設置）、物質ごとのプロトコル及びそのプロトコ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た。

試験方法

環境省においては、わが国において開発した方法（メダカのビテロジェニンアッセイ・パーシャルライフサイクル試験・フルライフサイクル試験・レセプターバインディングアッセイ・レポータージーンアッセイ）を用いて、有害性評価を進めた。対象とした化学物質は、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⁾、平成14年度に選定した8物質³⁾及び平成15年度に選定した8物質⁴⁾である。

- 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、フタル酸ジベンチル、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
- 4) アルドリン、エンドリン、ディルドリン、ヘプタクロル、マイレックス、ケルセン、マラチオン及びペルメトリン

i) 魚類

メダカを試験動物とし、スクリーニングの位置付けで、ビテロジェニンアッセイ、パーシャルライフサイクル試験、FLF・d-rRメダカ試験等を実施するとともに、確定試験の位置付けでフルライフサイクル試験を実施した。また、必要に応じて、物質ごとに試験を追加するとともに、これらの試験結果を補完する目的で試験管内（*in vitro*）試験を実施した。なお、試験方法及び試験

結果についてOECDに報告するとともに、OECDにおいて、魚類のビテロジェニン産生試験の標準化を目的としたリングテスト（試験法の有用性及び妥当性等を検証する目的で、同一試験を同一条件で複数の機関により実施するテスト）が平成15年3月より開始され、日本（化学物質評価研究機構）がリードラボ（取りまとめ試験機関）として結果を取りまとめている。

・スクリーニング試験

○ビテロジェニンアッセイ

雄メダカを化学物質に21日間曝露し、ビテロジェニン産生能力を測定することにより、化学物質のエストロゲン様作用の有無・程度を把握した。曝露濃度は、環境実態調査結果により得られた魚類の推定曝露濃度を参考に、被験物質の水溶解度、一般毒性値、内分泌攪乱作用を示すと疑われた試験結果（信頼性評価済み）及び水中での検出限界値等を考慮して、5群設定した。本アッセイについては、24物質*について試験を実施した。

○パーシャルライフサイクル試験

化学物質をメダカに受精卵から成熟期を通して約70日間曝露することにより、主に性分化への影響を把握する試験であり、孵化、孵化後の生存、成長、二次性徴、生殖腺組織、ビテロジェニン産生等をエンドポイントとした。曝露濃度は、原則としてビテロジェニンアッセイの結果を参考に、5群設定した。本試験については、24物質*について試験を実施した。

○FLF・d-rRメダカ試験

胚の白色色素の有無により遺伝的な性別が判別できるFLFメダカや体色により遺伝的な性別が判別できるd-rRメダカなどの試験生物の開発を進めており、アーリーライフステージでの影響を把握する試験へ応用できる系統を確立した。

・確定試験

○フルライフサイクル試験

化学物質をメダカに少なくとも2世代（約180日間）にわたり曝露することにより、発達、成熟、繁殖期を含む全生涯を通しての影響を把握する試験であり、孵化、孵化後の生存、成長、二次性徴、生殖腺組織、ビテロジェニン産生、産卵数、受精率等をエンドポイントとした。曝露濃度は、パーシャルライフサイクル試験結果を参考に、原則として5群設定した。本試験については、4物質**及び陽性対照物質（17β-エストラジオール、エチニルエストラジオール、メチルテストステロン、フルタミド）について試験を実施した。

- ・試験管内 (in vitro) 試験

- レセプターバインディングアッセイ

化学物質のメダカエストロジェンレセプター (ER α 及び ER β) への結合能力を測定するアッセイを開発し、24 物質* について試験を実施した。

- レポータージーンアッセイ

レセプター遺伝子及びレポータージーンを導入したヒト子宮頸がん由来 HeLa 細胞を用いることにより、化学物質のメダカエストロジェンレセプター (ER α 及び ER β) 及びアンドロジェンレセプター (AR) への結合後の転写活性能力を測定するアッセイを開発し、24 物質* について試験を実施した。

- ・メダカの標準データベース作成

各種試験に際し正常な個体の成長や生殖腺の発達状況を把握するため、パーシャルライフサイクル試験の飼育方法に準じ、定期的に体重及び生殖腺の発達などについて、測定、観察、記録を行い、標準データベースを作成した。この標準データベースについては、非曝露の対照群のデータ及び過去に実施した試験において得られた曝露個体の生殖腺分化異常とあわせて、(独) 国立環境研究所ホームページ上で公開している。
(<http://w-edcdb.nies.go.jp/SHf/index.html>)

- ・その他

遺伝子技術を用いて、内分泌攪乱化学物質によるメダカの性分化に及ぼす影響とその作用メカニズムを明らかにするため、魚類の性決定遺伝子として、メダカ性決定遺伝子 (DMY) を発見・同定した。また、メダカの性分化制御に関わる遺伝子群の一部のクローニングを終了し、メダカの性分化制御に関わる遺伝子群及び魚類の性決定遺伝子のうちメダカの性分化時における各種遺伝子の発現パターンを調査し、性分化に関わる遺伝子群を用いた DNA チップを作成した。さらに DNA チップを改良し、性ステロイドホルモン及び内分泌攪乱化学物質の作用メカニズムを解析するためのデータを収集した。

- ii) 鳥類

ニホンウズラを試験動物とし、ピテロジェニンアッセイ、性転換試験などのスクリーニング手法を開発した。確定試験として OECD の 1 世代繁殖毒性試験 (TG206) にエンドポイントを追加する調査研究を行った。調査研究結果を改良型 1 世代繁殖毒性試験 (Enhanced one-generation Reproduction Test) の具体的なデータとして OECD における 1 世代試験改訂及び 2 世代試験策定のための会議において発表した。あわせて、レセプターバインディングアッセイを実施した。

- ・スクリーニング試験

- ピテロジェニンアッセイ

雄ニホンウズラの腹腔内に化学物質を 7 日間投与し、血清中ピテロジェニンを測定することにより、化学物質のエストロジェン様作用の有無・程度を把握した。本アッセイについては、感度を上げるとともに、ピテロジェニン測定用キットの開発に成功し、20 物質*** について試験を実施した。

- クロアカ試験

ニホンウズラを試験生物として男性ホルモンの標的組織である総排泄隆起 (クロアカ腺) の大

きさをエンドポイントとして、化学物質のアンドロジェン様作用又は抗アンドロジェン様作用の有無・程度を把握した。

- 性転換試験

WE 系 (正常羽装) と AWE 系 (羽装により遺伝的性が判別可) の F₁ 卵に化学物質を投与し、孵化前に F₁ の遺伝的性を確認し、その個体の生殖腺への影響を評価した。さらに、陽性対照物質 (17 β -エストラジオール、メチルテストステロン) 及びノニルフェノール、ビスフェノール A によるパイロット試験を実施した。

- ・確定試験

- 1 世代繁殖毒性試験

ニホンウズラを試験動物とし、OECD の 1 世代繁殖毒性試験 (TG206) に、ピテロジェニン測定や生殖腺組織 (精巣卵の発生等) 等をエンドポイントとして追加することを目標としたパイロット試験を陽性対照物質 (17 β -エストラジオール) を用いて実施した。

- ・試験管内 (in vitro) 試験

- レセプターバインディングアッセイ

化学物質のニホンウズラのエストロジェンレセプター (ER α 及び ER β) 及びアンドロジェンレセプター (AR) への結合能力を測定するアッセイを開発し、20 物質*** について試験を実施した。

- iii) 両生類

アフリカツメガエル等を試験動物とし、変態アッセイ、ピテロジェニンアッセイ、性転換試験などのスクリーニング手法を開発した。あわせて、レセプターバインディングアッセイを実施した。なお、OECD において、両生類の変態アッセイの標準化を目的としたリングテスト (リードラボ: ドイツ、ライプニッツ淡水生態及び内水面水産研究所) が平成 15 年 10 月より開始され、日本も参加している。

- ・スクリーニング試験

- 変態アッセイ

無尾両生類の幼生の変態過程において化学物質に 2 ~ 3 週間曝露することにより、甲状腺ホルモン様作用を検出する試験であり、後肢長の短縮の程度などをエンドポイントとした。アフリカツメガエルを試験動物として陽性対照物質 (T4、PTU) による試験を行い、ドイツ、日本、イギリス及びスイスが共同して独自に行ったリングテストに結果を提供した。さらに、OECD において開始された両生類の変態アッセイの標準化を目的としたリングテストに参加し、わが国においてフェーズ の取りまとめ会議を開催し、フェーズ の結果の取りまとめ及びフェーズ 用のプロトコル案の作成を行った。さらに、在来種であるツチガエルを試験動物とした予備実験を行い、陽性対照物質 (T4) の濃度、温度及び飼育密度について適切な試験条件を確認した。

- ピテロジェニンアッセイ

雄アフリカツメガエルを化学物質に曝露し、ピテロジェニン産生能力を測定することにより、化学物質のエストロジェン様作用の有無・程度を把握した。また、魚類と同程度の感度を有するアフリカツメガエル・ピテロジェニン測定用キットを

開発した。

○性転換試験

アフリカツメガエルを用いて人為的に作出した ZZ (雌: 野生型アフリカツメガエル雌の染色体型は ZW) と、ZZ (雄) とを交配することにより得られた F₁ (全雄) に対し、化学物質を曝露した個体の生殖腺における卵巣構造の発達を確認することにより、その個体の生殖腺への影響を評価した。陽性対照物質 (17β-エストラジオール) による予備実験を行い、その有効性を確認した。性転換試験の標準化を目指し、非曝露の個体の成長、発生を定義するため、変態アッセイの飼育方法に準じて F₁ (全雄) を飼育し、定期的に全長、尾長、発生段階及び生殖腺の発達について、測定、観察、記録を行い、標準データベースの原案を作成した。

・試験管内 (in vitro) 試験

○レセプターバインディングアッセイ

アフリカツメガエル・エストロゲンレセプター (ERα) への結合能力を測定するアッセイを開発した。20 物質^{***}についてレセプターバインディングアッセイを実施した。さらに、放射性同位元素を用いて、ノニルフェノール、4-オクチルフェノールの Kd 値を測定すると共に、ヒト、ウズラ及びメダカ受容体に対する結合性の種差の検討を行った。

・アフリカツメガエルの標準データベース作成

変態試験に際し正常な個体の成長、発生を定義するため、標準プロトコル (XEMA) に準じてアフリカツメガエルを飼育し、定期的に全長、尾長、発生段階及び生殖腺・甲状腺の発達について、測定、観察、記録を行い、アフリカツメガエルの標準データベースを作成した。この標準データベースについては、非曝露

の対照群のデータとあわせて、(独) 国立環境研究所ホームページ上で公開している。
(<http://w-edcdb.nies.go.jp/AMPH/atlas/index.html>)

iv) 無脊椎動物

脊椎動物と全く異なる内分泌系を有する無脊椎動物において、化学物質による内分泌かく乱作用を初期評価するスクリーニング試験法の開発が OECD 専門家会合で求められている。数ある無脊椎動物の中でも比較的内分泌系の知見があり、試験生物として取扱の容易な枝角類のオオミジンコを用いて、スクリーニング試験法の開発に取り組んだ。オオミジンコは、単為生殖を行うため通常ほとんど雌しか存在しない。しかし、環境条件 (例えば、餌密度、日周期、個体群密度等) の変化により、雄仔虫が発生し有性生殖を行うことが知られている。しかし、これまでは化学物質がミジンコの性比に与える影響にうちて、明確な知見は少なかった。

最近、幼若ホルモンの存在下で雄仔虫が発生するという報告があり、この現象について暴露試験や基礎的な知見の収集を行った結果、OECD の繁殖試験 (TG211) にエンドポイントとして親オオミジンコから発生する仔虫の性比を追加することにより、幼若ホルモン様物質のスクリーニングに使える可能性が示唆された。

十分な科学的知見がないながらも、幼若ホルモンのオオミジンコへの影響を評価するスクリーニング試験として TG211 の改訂となる enhancedTG211 を OECD/WNT 会議 (2004 年 5 月) に提案し、今後は EDTA 等の OECD 専門家会合において審議検討される予定である。また、必要な科学的基礎となる標準化試験 (リングテスト: リードラボは日本、国立環境研究所) も行う予定である。

【24 物質^{*}、4 物質^{**}、20 物質^{***}について】

24 物質^{*}

ヘキサクロロベンゼン、ヘキサクロロシクロヘキサン、p,p'-DDT、o,p'-DDT、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、アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル、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、フタル酸ジベンチル、フタル酸ジヘキシル及びフタル酸ジプロピル

4 物質^{**}

4-オクチルフェノール、ノニルフェノール、フタル酸ジ-n-ブチル及びビスフェノール A

20 物質^{***}

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、アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル、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、フタル酸ジベンチル、フタル酸ジヘキシル及びフタル酸ジプロピル

1 - 2 . 生態系への内分泌かく乱作用による影響に関する魚類を用いた試験結果概要

ペンタクロロフェノール、オクタクロロスチレンについては、ピテロジェニン産生試験及びパーシャルライフサイクル試験を実施した結果、明らかな内分泌攪乱作用は認められなかった。なお、内分泌攪乱作用とは関連のない所見も認められなかった (オクタクロロスチレンの詳細な試験結果については、平成 14 年

度第 1 回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載。

ペンタクロロフェノールの詳細な試験結果については、平成 15 年度第 1 回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載)。

p,p'-DDT、トリフェニルスズ (塩化トリフェニルスズを被験物質とした)、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジエチル、フタル酸ジベンチル、フタル酸ジ

ヘキシル、フタル酸ジプロピルについては、ピテロジェニン産生試験及びパーシャルライフサイクル試験を実施した結果、明らかな内分泌攪乱作用は認められなかった。なお、内分泌攪乱作用とは関連のない所見（死亡率、全長、体重、孵化日数、肝指数の高値など）は認められた（塩化トリフェニルスズ、フタル酸ブチルベンジル、フタル酸ジエチルの詳細な試験結果については、平成14年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載。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の詳細な試験結果については、平成15年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載。p,p'-DDTの詳細な試験結果については、平成16年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載）。

アミトロール、フタル酸ジ-2-エチルヘキシルについては、ピテロジェニン産生試験及びパーシャルライフサイクル試験を実施した結果、明らかな内分泌攪乱作用とは言えないが、内分泌攪乱作用に関連する所見（雄の肝臓中ピテロジェニン濃度の僅かな高値、あるいは低頻度の精巣卵の出現など）が認められた。なお、内分泌攪乱作用とは関連のない所見は認められなかった（フタル酸ジ-2-エチルヘキシルの詳細な試験結果については、平成14年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載。アミトロールの詳細な試験結果については、平成15年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載）。

ヘキサクロロベンゼン、ヘキサクロロシクロヘキサン（β-ヘキサクロロシクロヘキサンを被験物質とした）、o,p'-DDT、トリブチルスズ（塩化トリブチルスズを被験物質とした）、フタル酸ジシクロヘキシル、2,4-ジクロロフェノール、アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル、ベンゾフェノン、4-ニトロトルエンについては、ピテロジェニン産生試験及びパーシャルライフサイクル試験を実施した結果、明らかな内分泌攪乱作用とは言えないが、内分泌攪乱作用に関連する所見（雄の肝臓中ピテロジェニン濃度の僅かな高値、あるいは低頻度の精巣卵の出現など）が認められた。なお、内分泌攪乱作用とは関連のない所見（死亡率、全長、体重、孵化日数、肝指数、生殖腺指数の高値など）も認められた（塩化トリブチルスズの詳細な試験結果については、平成14年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載。フタル酸ジシクロヘキシル、アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル、ベンゾフェノンの詳細な試験結果については、平成14年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載。2,4-ジクロロフェノール、4-ニトロトルエンの詳細な試験結果については、平成15年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載。ヘキサクロロベンゼン、β-ヘキサクロロシクロヘキサン、o,p'-DDTの詳細な試験結果については、平成16年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載）。o,p'-DDTについては、魚類（メダカ）の女性ホルモン受容体との結合性が弱いながらも認められるとともに、用量相関的な肝臓中ピテロジェ

ニン濃度及び精巣卵出現率の有意な高値が認められたため、フルライフサイクル試験を平成16年度に開始した。

フタル酸ジ-n-ブチルについては、ピテロジェニン産生試験、パーシャルライフサイクル試験及びフルライフサイクル試験を実施した結果、明らかな内分泌攪乱作用とは言えないが、内分泌攪乱作用に関連する所見（雄の肝臓中ピテロジェニン濃度の僅かな高値及び低頻度の精巣卵の出現）が認められた。なお、内分泌攪乱作用とは関連のない所見（死亡率、全長、体重、孵化日数、肝指数、生殖腺指数の高値など）も認められた（フタル酸ジ-n-ブチルの詳細な試験結果については、平成14年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載）。

ビスフェノールAについては、ピテロジェニン産生試験、パーシャルライフサイクル試験及びフルライフサイクル試験を実施した結果、魚類（メダカ）の女性ホルモン受容体との結合性が弱いながらも認められるとともに、肝臓中ピテロジェニン濃度の受精率に影響を与える程度までの上昇、受精率に影響を与える程度の精巣卵の出現が認められ、魚類に対して内分泌攪乱作用を有することが推察された。なお、内分泌攪乱作用とは関連のない所見（死亡率、全長、体重、孵化日数、肝指数の高値など）も認められた（ビスフェノールAの詳細な試験結果については、平成16年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載）。

ノニルフェノール（4-ノニルフェノール分岐型を被験物質とした）、4-オクチルフェノール（4-t-オクチルフェノールを被験物質とした）については、ピテロジェニン産生試験、パーシャルライフサイクル試験及びフルライフサイクル試験を実施した結果、魚類の女性ホルモン受容体との結合性が強く、肝臓中ピテロジェニン濃度の受精率に影響を与える程度までの上昇、受精率に影響を与える程度の精巣卵の出現、産卵数または受精率の低値が認められ、魚類に対して内分泌攪乱作用を有することが強く推察された。なお、内分泌攪乱作用とは関連のない所見（死亡率、全長、体重、肝指数、生殖腺指数の高値など）も認められた（4-ノニルフェノール分岐型の詳細な試験結果については、平成14年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載。4-t-オクチルフェノールの詳細な試験結果については、平成14年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載）。

表 - 1 メダカ試験の結果

試験物質名	試験結果	試験物質名	試験結果
ヘキサクロロベンゼン	D	フタル酸ベンジル	B
ペンタクロロフェノール	A	フタル酸ジ-n-ブチル	E
アミトール	C	フタル酸ジシクロヘキシル	D
β-ヘキサクロロシクロヘキサン	D	フタル酸ジエチル	B
p,p'-DDT	B	2,4-ジクロロフェノール	D
o,p'-DDT	D	アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル	D
塩化トリブチルスズ	D	ベンゾフェノン	D
塩化トリフェニルスズ	B	4-ニトロトルエン	D
4-ニトロフェノール（分岐型）	G	オクタクロスチレン	A
4-tert-ブチルフェノール	G	フタル酸ジペンチル	B
ビスフェノールA	F	フタル酸ジヘキシル	B
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	C	フタル酸ジプロピル	B

ここで実施した試験は、内分泌かく乱作用の生態系への影響を推察することを目的としているが、個体の生殖能力の変化や次世代における変化としてどのような現象が出現するか当初から特定できるものではない。そのため、内分泌かく乱作用による変化が否か、生殖能力と関連するか否かを問わず偶発的な現象と考えられる所見も含め、観察された全ての所見について結果として掲載した。

A：ビテロジエン産生試験およびパーシャルライザル試験を実施した結果、所見は認められなかった。

B：ビテロジエン産生試験およびパーシャルライザル試験を実施した結果、内分泌かく乱作用とは関連のない所見が認められた。

C：ビテロジエン産生試験およびパーシャルライザル試験を実施した結果、明らかな内分泌かく乱作用とは言えないが、内分泌かく乱作用に関連する所見が認められた。

D：ビテロジエン産生試験およびパーシャルライザル試験を実施した結果、上記BおよびCが認められた。

E：ビテロジエン産生試験、パーシャルライザル試験およびフルライザル試験を実施した結果、内分泌かく乱作用と関連する所見および関連のない所見が認められたが、明らかな内分泌かく乱作用とは言えなかった。

F：ビテロジエン産生試験、パーシャルライザル試験およびフルライザル試験を実施した結果、内分泌かく乱作用と関連する所見が認められ内分泌かく乱作用を有することが推察された。なお、内分泌かく乱作用とは関連のない所見も認められた。

G：ビテロジエン産生試験、パーシャルライザル試験およびフルライザル試験を実施した結果、内分泌かく乱作用と関連する所見が認められ内分泌かく乱作用を有することが強く推察された。なお、内分泌かく乱作用とは関連のない所見も認められた。

2 - 1 . ヒト健康への内分泌かく乱作用による影響に関するほ乳類を用いた試験方法

評価体制

「内分泌攪乱化学物質問題検討会」のもとに設置された「内分泌攪乱作用が疑われる物質のリスク評価検討会」のなかに「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、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・評価を行った。

試験方法

環境省においては、内分泌攪乱化学物質の健康への影響評価のため、原則、スクリーニングとして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）、OECDを中心に各国がバリデーションとして進行中の（ ）子宮肥大試験

（ ）ハーシュバーガー試験（ ）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した。優先してリスク評価に取り組む物質は、生態影響をみるための試験と同様とした。

・1世代試験のプロトコールの概要

○陽性対象物質（エチ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（試験1：器官形成期（妊娠7～18日）試験2：周産期（妊娠18日～哺育5日）試験3：妊娠～哺育期間（妊娠0日～哺育20日））で試験を実施し、試験3の投与期間を採用することとした。

ア．動物の種類：ラット（近交系；Wistar Kyoto）

- イ．飼料の種類：Phytoestrogen-free 飼料 (NIH-07-PLD、リエン外酵母(株))を自由摂取
- ウ．投与経路：皮下投与(コーンオイルに溶解)
- エ．用量：経口避妊薬としての体内濃度を考慮した 6 群 (0、0.01、0.03、0.1、0.3、1.0 μ g/kg/day)
- オ．1 群あたりの動物数：妊娠動物として 12 匹/群以上
- カ．試験期間：交配期間を含め 17 週程度 (約 120 日)
- キ．観察項目：
 - * 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
 - * 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、精巣の精子頭部数等)、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：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した。また、コーン油等に混合した実質投与量及び飼料等の女性ホルモンも分析した。

○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、日本ケルア(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：文献情報等により得られたヒト推定曝露量を考慮した用量にしばり 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/群以上
- 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。

○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、日本ケルア(株))(自由摂取)
- ウ．投与経路：強制経口投与(コーン油に溶解)。トリブチルスズ、トリフェニルスズについ

ては混餌投与。

- エ．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用量にしばり 6 群(物質ごとに検討)。フタル酸ジ-n-ブチルについては、文献情報等により得られたヒト推定曝露量を考慮した用量にしばり 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/群以上
- 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。

○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。

○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 Hannover)
- イ．飼料の種類：実験動物用固型飼料(CE2、日本ケルア(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、アミトロールにおいては、飲水投与。ビスフェノール A においては、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：文献情報等により得られたヒト推定曝露量を考慮した用量にしばり 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/群以上
- 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、1%CMC 水溶液については、被験物質及び植物エストロジ

エ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、コーン油または1%

CMC水溶液等に混合した実質投与量も測定。

実施の概要

i) げっ歯類を用いた1世代試験

- ・これまでの試験実施状況等

げっ歯類を用いた1世代試験については、22物質について試験を実施した。

ii) 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。

- ・エストロゲン様作用

22物質 について ヒトエストロゲン受容体 (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 ヒト乳がん細胞 E-screen 試験を実施した。

- ・アンドロゲン様作用

22物質 について ヒト乳がん細胞アンドロゲン受容体レポーター遺伝子試験(アゴニスト及びアンタゴニスト)及び ラットアンドロゲン受容体結合阻害試験(放射線リガンド結合法:RIA 法)を実施した。

- ・甲状腺ホルモン様作用

22物質 についてヒト甲状腺ホルモン受容体 (TR α 及び TR β) 酵母試験を実施した。

iii) DNA 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った。ヒトのがん細胞及び正常細胞、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、ヒトのがん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。陽性対照物質に加え、12物質 を、ヒトのがん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。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を行った。

【10物質、10物質、22物質、12物質】

10物質

トリブチルスズ、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

10物質

ペンタクロロフェノール、アミトロール、p,p'-DDT、p,p'-DDD、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、フタル酸ジベンチル、フタル酸ジヘキシル及びフタル酸ジプロピル

22物質

ノニルフェノール、4-オクチルフェノール、トリブチルスズ、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、アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル、ペンタクロロフェノール、アミトロール、p,p'-DDT、p,p'-DDD、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、フタル酸ジベンチル、フタル酸ジヘキシル及びフタル酸ジプロピル

12物質

ノニルフェノール、4-オクチルフェノール、トリブチルスズ、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

2-2. ヒト健康への内分泌かく乱作用による影響に関するほ乳類を用いた試験結果概要

p,p'-DDD、ビスフェノールAについては、ラットの1世代試験を実施した結果、文献情報等により得られたヒト推定曝露量を考慮した用量では有意な反応は認められず、明らかな内分泌攪乱作用は認められなかった。なお、既報告で何らかの影響が認められた用量では、一般毒性と考えられる影響が認められた(詳細な試験結果については、平成16年度内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載)。

アミトロール、p,p'-DDT、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジエチル、2,4-ジクロロフェノール、アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ジベンチルについては、ラットの1世代試験を実施した結果、文献情報等により得られたヒト推定曝露量を考慮した用量で有意な反応が認めら

れたが、その反応は生理的変動の範囲内であると考えられ、明らかな内分泌攪乱作用は認められなかった。なお、既報告で何らかの影響が認められた用量では、一般毒性と考えられる影響が認められた(フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸ジエチル、アジピン酸ジ-2-エチルヘキシルの詳細な試験結果については、平成14年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載。アミトロール、フタル酸ジ-n-ブチル、2,4-ジクロロフェノール、フタル酸ジベンチルの詳細な試験結果については、平成15年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載。p,p'-DDTの詳細な試験結果については、平成16年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載)。

フタル酸ブチルベンジルについては、ラットの1世代試験を実施した結果、文献情報等により得られた

ヒト推定曝露量を考慮した用量で有意な反応が認められたが、その反応の意義については今後の検討課題とし、明らかな内分泌攪乱作用は認められなかった。なお、既報告で何らかの影響が認められた用量では、一般毒性と考えられる影響が認められた(フタル酸ブチルベンジルの詳細な試験結果については、平成14年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載)

ペンタクロロフェノール、トリブチルスズ(塩化トリブチルスズを被験物質とした)、トリフェニルスズ(塩化トリフェニルスズを被験物質とした)、フタル酸ジシクロヘキシル、ベンゾフェノン、4-ニトロトルエン、オクタクロロスチレン、フタル酸ジヘキシル、フタル酸ジプロピルについては、ラットの1世代試験を実施した結果、文献情報等により得られたヒト推定曝露量を考慮した用量で有意な反応が認められたが、その反応は生理的変動の範囲内であると考えられ、あるいは、その意義については今後の検討課題とし、明らかな内分泌攪乱作用は認められなかった。なお、既報告で何らかの影響が認められた用量では、一般毒性と考えられる影響が認められた(塩化トリブチルスズ、

塩化トリフェニルスズ、フタル酸ジシクロヘキシル、ベンゾフェノン、オクタクロロスチレンの詳細な試験結果については、平成14年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載。ペンタクロロフェノール、4-ニトロトルエン、フタル酸ジヘキシル、フタル酸ジプロピルの詳細な試験結果については、平成15年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載)

ノニルフェノール(4-ノニルフェノール分岐型を被験物質とした)、4-オクチルフェノール(4-t-オクチルフェノールを被験物質とした)については、ラットの1世代試験を実施した結果、文献情報等により得られたヒト推定曝露量を考慮した用量で有意な反応が認められたが、その反応は生理的変動の範囲内であると考えられ、あるいは、その意義については今後の検討課題とし、明らかな内分泌攪乱作用は認められなかった(4-ノニルフェノール分岐型、4-t-オクチルフェノールの詳細な試験結果については、平成15年度第1回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料に記載)

なお、試験結果の詳細については、環境省ホームページにおいて公開している。

環境省ホームページ URL

<http://www.env.go.jp/chemi/end/speed98/speed98-19.pdf>

表 - 2 ラット改良1世代試験の結果

試験物質名	試験結果	試験物質名	試験結果
ペンタクロロフェノール	S	フタル酸ジ-n-ブチル	Q
アミトロール	Q	フタル酸ジシクロヘキシル	S
p,p'-DDT	Q	フタル酸ジエチル	Q
p,p'-DDD	P	2,4-ジクロロフェノール	Q
塩化トリブチルスズ	S	アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル	Q
塩化トリフェニルスズ	S	ベンゾフェノン	S
4-ノニルフェノール(分岐型)	T	4-ニトロトルエン	S
4-t-オクチルフェノール	T	オクタクロロスチレン	S
ビスフェノールA	P	フタル酸ジペンチル	Q
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	Q	フタル酸ジヘキシル	S
フタル酸ブチルベンジル	R	フタル酸ジプロピル	S

ここで実施した試験は、ヒトの個体への影響を推察することを目的としているが、ラットにおける内分泌かく乱作用としてどのような現象が出現するか、当初から特定できるものではない。そのため、内分泌かく乱作用による変化が否か、生殖能力と関連するが否かを問わず偶発的な現象と考えられる所見も含め、観察された全ての所見について結果として掲載した。

P：有意な反応は認められなかった。

Q：影響が既に認められている用量未満で有意な反応が認められたが、生理的変動の範囲内であると考えられた。

R：影響が既に認められている用量未満で有意な反応が認められたが、その意義については今後の検討課題である。

S：上記QおよびRが認められた。

T：上記QおよびRが認められた。(影響が既に認められている用量に代えて女性ホルモン(17β-エストラジオール)を用いた。)

WHO グローバル・アセスメント及びその後得られた科学的知見による化学物質暴露と観察された事象との関連性に関する評価について

WHO グローバル・アセスメントは、未解決事項が多々残されたまま懸念事項が次々に公表されている事態の中で、外因的な内分泌かく乱の科学的最新知見について客観的かつ地球規模的なアセスメント作成への要請に応えるために作成された（表6）。第7章では、内分泌かく乱作用の介在が疑われる事象について世界中で査読された科学文献からの評価が行われている。

WHO グローバル・アセスメント作成以降に公表された、またはWHO グローバル・アセスメントでは指摘されていないが国国内で観察された、内分泌かく乱作用の介在が疑われる事象について、学識経験者の助言のもとに、観察された事象と要因との関連性を評価した。さらに、文献からの評価を参照しつつ今後の対応についての分類を行った（表 - 2）。

表 - 1 WHO グローバル・アセスメントの構成

章	タイトル
第1章	エグゼクティブ・サマリー
第2章	緒言と背景
第3章	内分泌学と内分泌毒性学
第4章	野生生物
第5章	ヒト健康
第6章	ヒト及び野生生物における特定の潜在的内分泌かく乱化学物質暴露
第7章	内分泌攪乱化学物質を評価するための原因クライテリア -フレームワーク案-
第8章	全般的結論及び調査研究の必要性

邦訳：環境省ホームページ <http://www.env.go.jp/chemi/end/index4.html>

表 - 2 文献上の評価に基づく内分泌かく乱作用に関する事象の分類

文献から見た内分泌かく乱作用の 介在が疑われる事象と要因との 関連性に係る評価	内分泌かく乱作用の介在が疑われる事象	分類
・「EDC 注 ¹⁵ メカニズム 注 ¹⁶ 」の評価が「強」注 ¹⁷	・海産腹足綱動物インボセックス ・魚類のビテロジェニン誘導 ・魚類の生殖変化	環境省として調査・ 研究の実施を検討す べき項目
・EDC メカニズム評価が「中」 ・EDC メカニズム評価が「弱」 であり「事象」注 ¹⁸ （内分泌攪乱作用の介 在が疑われる事象と暴露との関連性）の評 価が「強」または「中」	・アザラシ生殖機能低下 ・トリ幼胚死亡・水腫・奇形症候群 ・カメ生殖異常 ・コイ等の発生異常と繁殖低下	環境省として積極的 に観察・文献収集に 努める項目
	・ヒト子宮内膜症 ・ヒト神経行動障害 ・ヒト免疫機能かく乱 ・ヒト生殖器の先天異常 ・ヒト受胎能・生殖能への影響	環境省として新たな 情報が得られた時点 で対応を検討する項 目
・EDC メカニズムの評価が「中」とされ、「事 象」の評価が「強」とされたが関連した国 内情報の追加がなかった 項目 ・EDC メカニズム及び「事象」の評価が「弱」 または「ND 注 ¹⁹ ：関連データなし」と評価さ れた項目	・集団性水鳥卵殻薄弱 ・カエル四肢奇形 ・カエルの生殖腺異常 ・ヒト乳がん発生 ・ヒト精液質・精巣機能の低下 ・小児悪性腫瘍 ・児童の骨代謝への影響	

注 15 EDC は Endocrine Disrupting Chemicals の略で内分泌かく乱作用の要因となることが疑われる化学物質。

WHO グローバル・アセスメント第7章に準拠して、カエルの生殖腺異常、ヒト生殖器の先天異常等、国内で観察された内分泌攪乱作用の介在が疑われる事象及び WHO グローバル・アセスメントで検討された事象について国内文献を用いて評価した。

国内における生態影響に関する文献及び国内におけるヒト健康影響に関する文献の収集には、文献データベースを利用した。文献検索データベースとしては、国内の情報源が比較的広い独立行政法人科学技術振興機構が提供するオンライン文献検索システム（JOIS）等を利用した。

得られた国内情報の評価作業に当たっては、生態影響、ヒト健康影響、暴露、作用メカニズムの4分野（1分野3名、合計12名）の専門家による作業グループで、収集した文献により、懸念される事象と化学物質暴露との関連性及びその関連性における内分泌系が介在するメカニズムの関与の有無について評価した。我が国における内分泌攪乱作用の介在が疑われる事象の評価結果及び、WHO グローバル・アセスメントで検討された事象に関する我が国での追加・関連情報については、関連データなし(ND)と評価されるものが多かった。（表 - 3，表 - 4）

表 - 3 国内で観察された内分泌攪乱作用の介在が疑われる事象の評価

内分泌攪乱作用の 介在が疑われる 事象	内分泌攪乱作用 の介在が疑われる 事象の要因	時間的な 合理性	関連性の 強さ	一貫性	生物学的 整合性	回復	暴露した際の 影響	事象	EDC メカニズム
カエルの 生殖腺異常	化学物質	ND	ND, 中	ND, 弱	ND	ND	ND, 弱 中	ND	ND
ヒト生殖器の 先天異常	化学物質	ND, 弱	ND, 弱 中 (DES に ついて)	ND, 弱 中 (DES に ついて)	ND, 弱 中 (DES 及びエ ストロゲン製 剤について)	ND	ND, 弱 中 (DES に ついて)	ND, 弱	ND, 弱 中 (DES 及びエ ストロゲン製剤 について)
受胎能・生殖能 への影響	化学物質	ND, 弱 中	ND, 弱	ND, 弱	ND, 弱	ND	ND, 弱	ND, 弱中	ND, 弱
小児甲状腺腫瘍	化学物質	ND, 弱	ND, 弱	ND, 弱	ND, 弱 (ベンジンに ついて)	ND	ND, 弱	ND, 弱	ND, 弱 (ベンジンに ついて)
児童の骨代謝 への影響	ディーゼルエンジン 排気ガス	ND, 弱	ND, 弱 中	ND	ND, 弱	ND, 弱	ND, 弱 中	ND, 弱	ND, 弱

・ EDC は Endocrine Disrupting Chemicals の略で内分泌かく乱作用の要因となることが疑われる化学物質を指す。

・ ND は関連データなし。

・ EDCs の影響評価のための「時間的な合理性」「関連性の強さ」「一貫性」「生物学的整合性」「回復」の各評価因子について、科学的関連の強さを弱～強にランク付けした。

・ 各欄には、今回文献評価を実施した複数の検討員の評価結果を併記した。

・ 「暴露した際の影響」は、個体や個体群に作用する仮定的要因に関連するかどうかを、「関連性の強さ」欄及び「一貫性」欄の評価結果を記載した。

・ 「事象」欄（懸念される影響と化学物質暴露との関連性）については、「時間的な合理性」欄及び「回復」欄の評価結果を記載した。

・ 「EDC メカニズム」（懸念される影響と化学物質暴露との関連性において内分泌系が介在するメカニズムが関与しているかどうか）欄については、「生物学的整合性」欄の評価結果を記載した。

表 - 4 WHO グローバル・アセスメントで検討されている項目に関する我が国での文献情報の有無
(WHO グローバルアセスメント第7章 table7.1 table7.2 に加筆)

内分泌攪乱作用の介在が疑われる事象	内分泌攪乱作用の介在が疑われ事象の要因	国内情報の有無	時間的合理性	関連性の強さ	一致性	生物学的整合性	回復	事象	EDC メカニズム	発現影響
海産腹足綱動物インボセックス	TBT	○	****	****	****	***	****	強	強	
バルト海アザラシ生殖機能低下	PCBs	○	***	**	***	***	****	強	中	
トリ GLEMEDS	(PCBs)	○	****	****	****	****	****	強	弱	
集団性水鳥卵殻薄弱	DDT 代謝物	×	****	****	****	***	****	強	中	
アポブカ湖ワニ生殖異常	Dicofol、農薬	○ (カメについて)	****	***	***	***	**	中	中	
オンタリオ湖レイクトラウトの発生異常と繁殖低下	Dioxins, coplanar PCBs	○ (コイ等について)	****	****	***	****	****	強	弱	
英国下水処理排水曝露魚類のビテロジェニン誘導	エストロゲン性汚染物質	○	****	****	***	****	**	強	強	
オンタリオ漂白パルプ工場排水曝露魚類の生殖変化	漂白パルプ工場排水	○	****	****	***	****	***	強	強	
ヒト子宮内膜症	TCDD, PCBs	○	ND	*	*	*	ND	弱	中	
ヒト神経行動障害	PCBs, TCDD	○	****	***	***	***	ND	中	中	
ヒト免疫機能攪乱	DDT, DDE, PCBs	○	***	****	**	**		中	弱	
ヒト乳がん発生	DDT, DDE, PCBs	○	*	*	*	**	ND	弱	弱	
北米カエル四肢奇形	原因化学物質不明	○	ND	関連性 ND 影響*	曝露 ND 影響*	**	ND	弱	弱	強
ヒト精液質・精巣機能の低下	エストロゲン性及び抗アンドロゲン性化学物質	○	ND	関連性 ND 影響*	曝露 ND 影響*	***	ND	ND	弱	弱

・国内情報については、○：今回の検索で追加情報あり、×：今回の検索で追加情報なしと示した。

・EDC は Endocrine Disrupting Chemical の略で内分泌かく乱作用の因子となることが疑われる化学物質を指す。

・ND は関連データなし。

・EDCs の影響評価のための「時間的合理性」「関連性の強さ」「一致性」「生物学的整合性」「回復」の各評価因子について、科学的関連の強さを弱(*)～強(****)にランク付けした。

・「発現影響」「事象」「EDC のメカニズム」は、弱、中、強にランク付けした。

・「EDC メカニズム」(懸念される影響と化学物質暴露との関連性において内分泌系が介在するメカニズムが関与しているかどうか) 欄については、「生物学的整合性」欄の評価結果を記載した。

■ WHO グローバル・アセスメント及びその後得られた科学的知見による化学物質暴露と観察された事象との関連性に関する評価に用いた文献

- 1) Damstra, T., S. Barlow, A. Bergman, R. Kavlock and G. van der Kraak edited (2002) Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors, *WHO/PCS/EDC/02.2*
- 2) 染谷稔 (2002) 内分泌攪乱化学物質の野生生物への影響、*環境研究*, **126**, 96-104.
- 3) 高瀬稔 (2003) 野外両生類の幼生における生殖腺異常発生率についての研究、*環境科学総合研究所年報*, **22**, 33-40.
- 4) 倉橋典絵、岸玲子 (2003) 停留精巢の発症要因に関する疫学研究、*日衛雑*, **57**, 636-644.
- 5) 平原史樹、住吉好雄、鈴木恵子、松本博子、山中美智子、田中政信、本多洋、坂元正一 (1999) 本邦における先天異常発生状況とその推移、*日本小児臨床薬理学会雑誌*, **12**, 1, 64-66.
- 6) Sumiyoshi, Yoshio, Fumiki Hirahara and Shouichi Sakamoto (2000) Studies on the frequency of congenital malformations in Japan and Asian countries. *Congenital Anomalies*, **40**, S76-S86.
- 7) Hirahara, F., Y. Sumiyoshi, M. Yamanaka, N. Andoh, K. Suzuki, H. Matsumoto, Y. Tokoro, C. Katoh, T. Ae, M. Kodata, M. Tanaka, H. Kiyokawa, H. Honda and S. Sakamoto (2000) The prevalence of hypospadias in Japan from the analysis of Japan birth defects registry (JAOG), *Japanese Teratology Society Abstracts*, 19A.
- 8) 荒川千賀子、吉永淳、水本賀文、安部正雄 (2003) ヒト生殖能の評価手法に関する予備的調査 受胎待ち時間調査法に関する検討、*日本公衛雑*, **50**, 5, 414-419.
- 9) Baba, Katsuyuki, Takayasu Nishida, Miki Yoshiike, Shiari Nozawa, Takao Hoshino and Teruaki Iwamoto (2000) Current status of reproductive function in Japanese fertile men: international collaborative project on a study of partners of pregnant women. *International Journal of Andrology*, **23**, Supple. 2, 54-56.
- 10) 岸玲子、片倉洋子、湯浅潤子、三宅浩次 (1993) 小児悪性腫瘍と両親の従事する産業および職業の関連 急性リンパ芽球性白血病の症例対照研究、*産業医学*, **35**, 515-529.
- 11) 渡辺伸枝 (1999) 4 . 大気汚染 1) 大気汚染の原因と考えられる有害物質の健康への影響、*臨床検査*, **43**, **11**, 1297-1305.
- 12) 渡辺伸枝、池田眞悟、大澤誠喜、土屋悦輝、鈴木重任 (1996) ディーゼルエンジン排気ガスの曝露は、ラットの成長板の病理学的変化を起し、骨量を減少させる、*東京衛研年報*, **47**, 225-237.
- 13) Hagino, H., K. Yamamoto, R. Teshima, H. Kishimoto and T. Nakamura (1989) The incidence of the proximal femur and the distal radius in Tottori prefecture, Japan. *Arch. Orthop. Trauma Surg.*, **109**, 43-44.
- 14) 藤森弘 (1990) 胸郭異常をめぐって、新版 子どものからだは蝕まれている、*バイオタ叢書2*、*柏樹社*
- 15) 清野佳紀、田中弘之、西山宗六、井本岳秋、福永仁夫 (1994) 日本人若年女性の最大骨量、*医学のあゆみ*, **170**, **12**, 1041-1042.

自治体ヒアリング結果概要

ヒアリングの趣旨

内分泌攪乱化学物質問題については今年度も多数の自治体から要望が提出されているが、要望書だけでは地域住民と直接接している自治体の状況と問題点が明らかでない。このため、直接担当者と対面で、内分泌攪乱化学物質問題をどのように認識しているのか、自治体としてどのような取組みを行っているのか、環境省に対する要望の背景にはどのようなことがあるのか、SPEED'98の改訂にあたり何をしていくのが共通の理解を得るのにいいのか、等を直接聴取し、改定案策定の基礎資料とする。

対象自治体等

東京都	環境局環境改善部有害化学物質対策課 日時・場所：平成16年9月10日（金）東京都庁 聴取者：有田委員および事務局
愛知県	環境部水環境課、大気環境課 日時・場所：平成16年9月24日（金）愛知県庁 聴取者：青山委員および事務局
奈良県	生活環境部環境政策課および保健環境研究センター 日時・場所：平成16年9月24日（金）奈良県庁 聴取者：青山委員および事務局
北九州市	環境局環境保全部環境対策課 日時・場所：平成16年9月27日（月）北九州市役所 聴取者：中園委員および事務局

ヒアリング結果のまとめ

1. 内分泌攪乱化学物質問題に関する基本的な認識
 - ・98年当時ほどではないが、今も住民の関心が高く、環境監視の要望もあるが、リスク評価が明確でない現在、どのように対応していくか、見直す時期になっている。
 - ・化学物質を排出している企業が多数あり、リスク評価に基づく基準といった根拠が示されない中で工場・事業場へどう指導するのか苦慮している。
 - ・国で長期間調査や研究が進められてきてはいるが結果がわかりにくい。少なくとも98年当時に恐れられたような状況ではないと考えられる。
 - ・野生生物における異変の観点から独自に取り組み、住民にも一定の理解が得られ落ち着いている。繰り返し説明し意見交換をしていくことが重要。
 - ・これまでの間、特に住民からの強い要望等もなく、化学物質を排出する企業も多くはなく、大きな問題とはなっていない。
2. 自治体としての取組
 - ・これまで内分泌攪乱作用が疑われる物質の一部について独自に環境調査を実施してきた。
 - ・野生生物に与える影響の原因究明調査を実施し、報告書にとりまとめた。またその情報を広く地域住民へ伝えるため、パンフレットを作成し、環境ホルモンシンポジウムを開催した。その後は特段の施策は行っていない。
 - ・企業側のリスクコミュニケーションへの取組みに期待しているが、企業間での差が大きいのが現状。対応する組織の維持ができない企業もある。
3. 今後の取組について
 - ・今後も内分泌攪乱作用が疑われる物質の環境調査を継続していくことは重要と捉えているが、国のリスク評価など、根拠が示されなければ優先的な課題とはなりにくい。
 - ・内分泌攪乱作用は化学物質がもつ毒性の一面であり、化学物質対策の中に位置づけ対応していきたいが、化学物質対策全般について方向がまとめきれていない。
 - ・リスク評価した結果等、なんらかの評価基準の策定やリスク論が示されないと逆に不安を煽ることもなりかねず、リスクコミュニケーションがはかれない状況。
4. SPEED'98改訂に際して期待すること
 - ・内分泌攪乱作用は化学物質がもつ毒性の一面であり、法規制でなく、行政目標を設定してはどうか。
 - ・規制以外で管理という側面からのアプローチを示してほしい。
 - ・影響の有無について国の明確な判断がほしい。何らかの指標がないとリスクコミュニケーションをはかる時に、逆に曖昧になり不安をあおることになってしまうのではないかと

- ・現段階で何かわかっているのか、共通の理解を深める必要がある。正確なデータとともに、その解釈があるようなガイドブックやリスクコミュニケーションに関する事例集等があれば取り組みやすい。
- ・自治体としては調査はできても研究を進めることは国でなければならない。研究の継続・強化をしてほしい。
- ・野生生物の観察に関する市民活動の状況について、情報提供することは可能。
- ・改訂版には、国と自治体との役割分担について記載してほしい。
- ・国と自治体とで情報交換する場をセッティングしてほしい。

(参考) 北九州市での取り組み

「北九州市における外因性内分泌攪乱化学物質の野生生物に与える影響に関する検討委員会（略称：環境ホルモン北九州委員会）」報告（概要）

平成8年（1996年）にシーア・コルボーンらによる「奪われし未来」が米国で出版されて以来、わが国を含め世界で「外因性内分泌攪乱化学物質」いわゆる「環境ホルモン」の問題が大きくクローズアップされるようになりました。北九州市では、それ以前の平成7年（1995年）6月に、市内の山田緑地で過剰枝力エルが発見され、その後毎年発見されました。この山田緑地が旧日本軍や米軍の弾薬庫跡地であったことから、過剰枝力エルと化学物質との関係が注目されていました。

このような中、本市では、平成10年（1998年）山田緑地の過剰枝力エルを切り口として、環境ホルモンの野生生物に対する影響について検討するため、地方自治体としては全国に先駆けて「北九州市における外因性内分泌攪乱化学物質の野生生物に与える影響に関する検討委員会（略称：環境ホルモン北九州委員会）」を設置しました。

本委員会では、「山田緑地における過剰枝力エルに関する調査・研究」、「ドバトを指標とした環境モニタリングシステム開発のための調査・研究」、「環境ホルモンに関する情報の収集・提供」といった3つのメインテーマをおき調査・研究を進めました。

約5年間の委員会の活動により、以下の1～3に示す結果等が得られました

1. 山田緑地における形態異常カエルに関する調査・研究（カエル作業部会）

【遺伝学的原因究明】

ヤマアカガエルの交配実験の結果から、四肢異常は遺伝によることが明らかになった。（山田緑地管理委員会カエル専門委員会にて既に公表済み。）

【環境化学的原因究明】

環境中の環境ホルモン及びダイオキシン類などの化学物質及び放射能（空間線量）は、測定結果も一般環境と同レベルであった。DDTなどが、土壌から検出されたが、バイオアッセイ法（生物検定法）を用いて調べた結果、変異原性誘発能が検出されたものの、現在の環境中濃度ではカエルに影響がないことが確認された。

2. ドバトを指標とした環境モニタリングシステムの開発・検討（ドバト作業部会）

モニタリングシステムとしては、ドバト巣場でのドバトの画像情報を遠隔地のパソコン上で確認できるとともに、卵の画像情報を画像解析で判断できることを確認し、巣場での実証実験段階にまで至った。なお、ドバト実態調査、全国アンケート調査、X線撮影検査および形態異常調査等も行った。

3. 環境ホルモンに関する情報の収集・提供（情報作業部会）

市政だよりへの環境ホルモン情報の掲載による広報、環境ホルモンパンフレットの発行（2000年及び2002年）、環境ホルモンに関するシンポジウムの開催（2000年及び2002年）等を行った。

この件に関しては、北九州市環境局環境対策課ホームページ（以下URL）にて掲載されている。

http://www.city.kitakyushu.jp/~k2602010/index_2.html

内分泌かく乱化学物質問題関係省庁ホームページリスト

文部科学省 <http://www.mext.go.jp/>

厚生労働省 <http://www.nihs.go.jp/edc/edc.html>

農林水産省 <http://www.maff.go.jp/>

経済産業省 http://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/sonota/endocrine_top.html

国土交通省 <http://www.mlit.go.jp/>

環境省 <http://www.env.go.jp/chemi/end/index.html>

DRAFT 2

SPEED '98 による研究業績一覧（学術雑誌掲載分（印刷中を含む）のみ）

[基礎科学分野]

Matsuda, M., Nagahama, Y., Shinomiya, A., Sato, T., Matsuda, C., Kobayashi, T., Morrey, C.E., Shibata, N., Asakawa, S., Shimizu, N., Hori, H., Hamaguchi, S. and Sakaizumi, M. (2002) DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. *Nature*, **417**, 559-563.

1 Watanabe, H., Suzuki, A., Mizutani, T., Kohno, S., Lubahn, D.B., Handa, H., Iguchi, T. (2002) Genome-wide
2 analysis of changes in early gene expression induced by estrogen. *Genes Cells*, **7**, 497-507.

3
4 Watanabe, H., Suzuki, A., Mizutani, T., Handa, H., Iguchi, T. (2002) Large-scale gene expression analysis for
5 evaluation of endocrine disruptors. In *Toxicogenomics*, Inoue, T. and Pennie, W.D. (eds.), Springer, 149-155.

6
7 Watanabe, H., Iguchi, T. (2003) Evaluation of endocrine disruptors based on gene expression using a micorarray.
8 *Environ. Sci.*, **10 Suppl.**, 61-67.

9
10 Watanabe, H., Suzuki, A., Kobayashi, M., Lubahn, D., Handa, H., Iguchi, T. (2003) Analysis of temporal changes
11 in the expression of estrogen regulated genes in the uterus. *J. Mol. Endocr.*, **30**, 347-358.

12
13 Watanabe, H., Suzuki, A., Kobayashi, M., Lubahn, D.B., Handa, H., Iguchi, T. (2003) Similarities and differences
14 in uterine gene expression patterns caused by treatment with physiological and non-physiological estrogen. *J. Mol.*
15 *Endocr.*, **31**, 487-497.

16
17 Miyagawa, S., Suzuki, A., Katsu, Y., Kobayashi, M., Goto, M., Handa, H., Watanabe, H., Iguchi, T. (2004)
18 Persistent gene expression in mouse vagina exposed neonatally to diethylstilbestrol. *J. Mol. Endocr.*, **32**, 663-677.

19
20 Watanabe, H., Suzuki, A., Goto, M., Lubahn, D.B., Handa, H., Iguchi, T. (2004) Tissue-specific estrogenic and
21 non-estrogenic effects of a xenoestrogen, nonylphenol. *J. Mol. Endocr.*, **33**, 243-252.

22
23 Watanabe, H., Suzuki, A., Goto, M., Ohsako, S., Tohyama, C., Handa, H., Iguchi, T. Comparative uterine gene
24 expression analysis after dioxin and estradiol administration. *J. Mol. Endocr.*, (In press).

[魚類分野]

25 Yokota, H., Tsuruda, Y., Maeda, M., Oshima, Y., Tadokoro, H., Nakazono, A., Honjo, T. and Kobayashi, K. (2000)
26 Effect of bisphenol A on the early life stage in Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and*
27 *Chemistry*, **19**, 1925-1930.

28
29 Yokota, H., Seki, M., Maeda, M., Oshima, Y., Tadokoro, H., Honjo, T. and Kobayashi, K. (2001) Life-cycle
30 toxicity of 4-nonylphenol to medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, **20**, 2552-2560.

31
32 Yokota, H., Morita, H., Nakano, N., Kang, I. J., Tadokoro, H., Oshima, Y., Honjo, T. and Kobayashi, K. (2001)
33 Development of an ELISA for determination of the hepatic vitellogenin in medaka (*Oryzias latipes*). *Jpn. J.*
34 *Environ. Toxicol.*, **4**, 87-98.

35
36 Kang, I.J., Yokota, H., Oshima, Y., Tsuruda Y., Yamaguchi, T., Maeda, M., Imada, N., Tadokoro, H. and Honjo, T.
37 (2002) Effect of 17 β -estradiol on the reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere*, **47**, 71-80.

38
39 Kang, I.J., Yokota, H., Oshima, Y., Tsuruda Y., Oe, T., Imada, N., Tadokoro, H. and Honjo, T. (2002) Effect of
40 bisphenol A on the reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*,
41 **21**, 2394-2400.

42
43 Kang, I.J., Yokota, H., Oshima, Y., Tsuruda Y., Hano, T., Maeda, M., Imada, N., Tadokoro, H. and Honjo, T.
44 (2003) Effect of 4-nonylphenol on reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology*
45 *and Chemistry*, **22**, 2438-2445.

46
47 Seki, M., Yokota, H., Haruki Matsubara, Yukinari Tsuruda, Masanobu Maeda, Hiroshi Tadokoro, and Kunio

- 1 Kobayashi. (2002) Effect of ethinylestradiol on the reproduction and induction of vitellogenin and testis-ova in
2 medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, **21**, 1692-1698.
- 3
- 4 Seki, M., Yokota, H., Matsubara, H., Maeda, M., Tadokoro, H., Kobayashi, K. (2003) Fish full life-cycle testing
5 for the weak estrogen 4-tert-pentylphenol on medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and Chemistry*,
6 **22**, 1487-1496.
- 7
- 8 Seki, M., Yokota, H., Maeda, M., Tadokoro, H., Kobayashi, K. (2003) Effects of 4-nonylphenol and
9 4-tert-octylphenol on sex differentiation and vitellogenin induction in medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental*
10 *Toxicology and Chemistry*, **22**, 1507-1516.
- 11
- 12 Urushitani H., Nakai M., Inanaga H., Shimohigashi Y., Shimizu A., Katsu Y., and Iguchi T. (2003) Cloning and
13 characterization of estrogen receptor α in mummichog, *Fundulus heteroclitus*. *Mol. Cell Endocrinol.*, **30**, 41-50.
- 14
- 15 Hutchinson, T.H., Yokota, H., Hagino, S. and Ozato, K. (2003) Development of fish tests for endocrine disruptors.
16 *Pure Appl. Chem.*, **75**, 2343-2354.
- 17
- 18 Seki, M., Yokota H., Matsubara, H., Maeda, M., Tadokoro, H., Kobayashi, K. (2004) Fish full life-cycle
19 testing for the androgen methyltestosterone on medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Toxicology and*
20 *Chemistry*, **23**, 774-781.
- 21
- 22 Nozaka, T., Abe T., Matsuura, T., Sakamoto, T., Nakano, N., Maeda, M., Kobayashi, K. (2004) Development
23 of vitellogenin assay for endocrine disruptors using medaka (*Oryzias latipes*). *Environmental Sciences* **11**,
24 99-111.
- 25
- 26 Yokota, H., Abe, T., Nakai, M., Murakami, K., Eto, C. and Yakabe, Y. Effects of 4-tert-pentylphenol on the gene
27 expression of P450 11 β -hydroxylase in the gonad of medaka (*Oryzias latipes*). *Aquat. Toxicol.*, (In press).
- 28
- 29 Tatarazako, N., Takigami, H., Koshio, M., Kawabe, K., Hayakawa, Y., Arizono, K., Morita, M. (2002) New
30 measurement method of P450s activities in the liver microsome with individual Japanese medaka (*Oryzias*
31 *latipes*). *Environmental Science*, **19(6)**, 451-462.
- 32
- 33 Ishibashi, H., Tachibana, K., Tsuchimoto, M., Tomiyasu, Y., Urakabe, A., Morishita, K., Yachibana, M.,
34 Tatarazako, N., Arizono, K. (2003) Monitoring of Environmental Pollutants by a Combination of Biomarkers in
35 inamata River Water using Goldfish(*Carassius auratus*). *Environmental Sciences*, **10(3)**, 175-186.
- 36
- 37 Tatarazako, N., Koshio, M., Hori, H., Morita, M., Iguchi, T. (2004) Validation of an Enzyme-Linked
38 Immunosorbent Assay Method for Vitellogenin in the Medaka. *Journal of Health Science*, **50(3)**, 1-8.
- 39
- 40 Ishibashi, H., Tachibana, K., Tsuchimoto, M., Soyano, K., Tatarazako, N., Matsumura, N., Tomiyasu, Y.,
41 Tominaga, N., Arizono, K. (2004) Effects of Nonylphenol and Phytoestrogen-Enriched Diet on Plasma
42 Vitellogenin, Steroid Hormone, Hepatic Cytochrome P450 1A, and Glutathione-S-Transferase Values in
43 Goldfish(*Carassius auratus*). *Comparative Medicine*, **54(1)**, 54-62.
- 44
- 45 羽田野泰彦, 近江みゆき, 西和人, 鑑迫典久, 水上春樹, 山下倫明, 民谷栄一, 榊原隆三 (2003)簡易
46 メダカ・ビテロジェニンアッセイによる外因性エストロジェンの影響評価研究. *水環境学会誌*, **26 (11)**,
47 779-785.
- 48
- 49 Hirai, N., Tatarazako, N., Koshio, M., Kawabe, K., Shiraishi, F., Hayakawa, Y., Morita, M. (2004) Seasonal
50 changes in sex ratio, maturation, and size composition of fresh water snail, *Sinotaia quadrata histrica* in Lake
51 Kasumigaura. *Environmental Sciences*, **11(5)**, (In press).

[その他の生態系]

- 52 陸明, 堀口敏宏, 白石寛明, 柴田康行, 安保充, 大久保明, 山崎素直 (2001) ガスクロマトグラフィー /
53 質量分析法による海産巻貝類におけるステロイドホルモンの同定と定量. *分析化学* **50(4)**, 247-255.
- 54
- 55

- Lu, M., Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shibata, Y., Abo, M., Okubo, Y., Yamazaki, S. (2001) Discrepancy of analytical values of steroid hormones in marine gastropods between GC/MS and ELISA. *Anal. Sci.* **17** (Suppl.), 1619-1622.
- 陸明, 堀口敏宏, 白石寛明, 柴田康行, 安保充, 大久保明, 山崎素直 (2002) ELISA 法によるイボニシ中のテストステロンの個体別分析. *分析化学*, **51**(1), 21-27.
- Nishikawa, J., Mamiya, S., Kanayama, T., Nishikawa, T., Shiraishi, F., Horiguchi, T. (2004) Involvement of the retinoid X receptor in the development of imposex caused by organotins in gastropods. *Environmental Science and Technology*, (In press).
- Mitsui, N., Tooi, O., Kawahara, A. (2003) Sandwich ELISAs for quantification of *Xenopus laevis* vitellogenin and albumin and their application to measurement of estradiol-17 beta effects on whole animals and primary-cultured hepatocytes. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, **135**, 305-313.
- Opitz, R., Braunbeck, T., Bogi, C., Pickford, D.B., Nentwig, G., Oehlmann, J., Tooi, O., Lutz, I., Kloas, W. (2004) Description and initial evaluation of a *Xenopus* metamorphosis assay (XEMA) for detection of thyroid system-disrupting activities of environmental compounds. *Environmental Toxicology and Chemistry*, (In press).
- Yoshimura, Y., Fujita, M. (2005) Endocrine disruption in avian reproduction: the histological analysis. *Avian Poult. Biol. Rev.*, **16**, 29-40. (In press).
- Fujita, M., Kinoshita, T., Yoshimura, Y. (2004) Concentration of orally administered nonylphenol in blood, liver, and egg yolk of maternal Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Journal of Poultry Science*, **41**, 269-274.
- Liang, J.X., Otsuka, R., Wada, M., Yoshimura, Y. (2004) The cloacal test: a method for testing anti-androgenic effects of chemicals in birds. *Journal of Poultry Science*, **41**, 58-63.
- Maekawa, S., Nishizuka, M., Heitaku, S., Kunimoto, M., Nishikawa, J., Ichikawa, K., Shimada, K., and Imagawa, M. (2004) Development of a competitive enzyme immunoassay for detection of capacity of chemicals to bind quail estrogen receptor α and β . *Journal of Health Science*, **50**, 25-32.
- Nishizuka, M., Heitaku, S., Maekawa, S., Nishikawa, J., and Imagawa, M. (2004) Development of standardized *in vitro* assay system for estrogen receptors and species specificity of binding ability of 4-nonylphenol and *p*-octylphenol. *Journal of Health Science*, **50**, 511-517.
- Ichikawa, K., Ha, Y., Tsukada, A., Saito, N. and Shimada, K. (2003) Effect of endocrine disrupters on mRNA expression of vitellogenin (VTG) II and very low density lipoprotein (apoVLDL) II in the liver of quail embryos, *Journal of Poultry Science*, **40**, 45-52.
- Ichikawa, K., Yamamoto, I., Tsukada, A., Saito, N. and Shimada, K. (2003) cDNA cloning and mRNA expression of estrogen receptors in Japanese quail. *Journal of Poultry Science*, **40**, 121-129.
- Maeda, T., Yoshimura, Y. (2002) Effects of ethynyl estradiol injection into maternal Japanese quail (*Coturnix japonica*) on male reproductive function of the F1 generation. *Journal of Poultry Science*, **39**, 310-315.
- Yoshimura, Y., Chowdhury, V.S., Fujita, M., Maeda, T., Obitsu, T. (2002) Effects of nonylphenol injection into maternal Japanese quail (*Coturnix japonica*) on the female reproductive functions of F1 generation. *Journal of Poultry Science*, **39**, 266-273.
- Maeda, T., Yoshimura, Y. (2002) Effects of diethylstilbestrol administration on sperm motility and reproductive function in male Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Journal of Poultry Science*, **39**, 27-33.
- Maeda, T. (2002) Motility of Japanese quail (*Coturnix japonica*) sperm diluted with chicken seminal fluid. *Journal of Poultry Science*, **39** (3), 185-187.
- Nishizawa, H., Okamoto, T. and Yoshimura Y. (2002) Immunolocalization of sex steroid receptors in the epididymis and ductus deferens of immature and matured Japanese quail, *Coturnix japonica*. *Animal Science Journal*, **73**(5), 339-346.

- 1
2 Maeda, T. and Yoshimura, Y. (2002) Effects of diethylstilbestrol administration on sperm motility and
3 reproductive function in male Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Journal of Poultry Science*, **39**(1), 27-33.
4
5 Yoshimura, Y. and Kawai, H. (2002) Structures and androgen receptor localization in the testes and epididymis of
6 Japanese quail hatched from the eggs exposed to diethylstilbestrol. *Journal of Reproduction and Development*
7 **48**(1), 79-85.
8
9 Yoshimura, Y., Tamura, Y., Nishikoori, M. and Okamoto, T. (2000) Effects of diethylstilbestrol intake during
10 growing phase on the reproductive organs in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Japanese Poultry Science*, **37**(6),
11 323-333.
12
13 Tatarazako, N., Takao, Y., Kishi, K., Onikura, N., Arizono, K., Iguchi, T. (2002) Styrene dimmers and timers affect
14 reproduction of daphnia (*Ceriodaphnia dubia*). *Chemosphere*, **48**, 597-601.
15
16 Tatarazako, N., Oda, S., Sonobe, H., Watanabe, H., Morita, M., and Iguchi, T. (2002) Insecticides for juvenile
17 hormone agonists exert the influence on the occurrence of the male daphnid. *Proc. Jpn. Soc. Comp. Endocrinol.*,
18 **17**, 87.
19
20 Tatarazako, N., Oda, S., Watanabe, H., Morita, M., Iguchi, T. (2003) Juvenile hormone agonists affect the
21 occurrence of male *Daphnia*. *Chemosphere*, **53**, 827-833.
22
23 鑓迫典久, 小田重人, 阿部良子, 森田昌敏, 井口泰泉 (2004) ミジンコを用いた甲殻類に対する内分泌
攪乱化学物質のスクリーニング法開発. *環境科学会誌* (受理、12月号掲載予定) .

[ヒト健康影響分野]

- 24 Aoyama, H., Suzuki, K. (2003) Enhanced one-generation reproductive toxicity study in rats for detecting
25 endocrine-disrupting effects of chemicals. *Pure Appl. chem.*, **75**(11-12), 2497-2501.
26
高橋剛, 井上まき, 山川克典, 村上純一, 力石辰也, 岩本晃明 (2002) 停留精巢児と父母に関する全国疫学調
査, *日本小児泌尿器科学会雑誌*, **11**(2), 127-133.

Mori C. (2001) Possible effects of endocrine disruptors on male reproductive function. *Acta Anat Nippon*, **76**,
361-368.

Mori C, Hamamatsu A, Fukata H, Koh K-B, Nakamura N, Takeichi S, Kusakabe T, Saito T, Morita M, Tanihara
S, Kayama F, Shiyomi M, Yoshimura J and Sagisaka K. (2002) Temporal changes in testis-weight during the last
50 years in Japan. *Anatomical Science International*, **77**, 109-116.

Todaka E and Mori C. (2002) Necessity to establish new risk assessment and risk communication for human fetal
exposure to multiple endocrine disruptors in Japan. *Congenital Anomalies (Congenit Anom Kyoto)*, **42**, 87-93.

Mori C, Komiyama M, Adachi T, Sakurai K, Nishimura D, Takashima K and Todaka E. (2003) Application of
toxicogenomic analysis to risk assessment of delayed long-term effects of multiple chemicals including endocrine
disruptors in human fetuses. *Environ Health Perspect*, **111**, 803-809.

[日英共同研究]

- 28 Hashimoto, S., Bessho, H., Hara, A., Nakamura, M., Iguchi, T., Fujita, K. (2000) Elevated serum vitellogenin
29 levels and gonadal abnormalities in wild male flounder (*Pleuronectes yokohamae*) from Tokyo Bay, Japan.
30 *Marine Environ. Res.*, **49**, 37-53.
31
32 Ura, K., Kai, T., Sakata, S., Iguchi, T., Arizono, K. (2002) Aquatic acute toxicity testing using the nematode
33 *Caenorhabditis elegans*. *Journal of Health Science*, **48**, 583-586.
34

- Matsuno, T., Ura, K., Sonoda, R., Kohara, Y., Uesugi, H., Arizono, K., Iguchi, T., Tominaga, N. (2002) Sensing of chemical substances using gene expression patterns in *C. elegans*. *Senser and. Materials*, **14**, 395-406.
- Ishibashi, H., Kobayashi, M., Koshiishi, T., Moriwaki, T., Tachibana, K., Tsuchimoto, M., Soyano, K., Iguchi, T., Mori, C., Arizono K. (2002) Induction of plasma vitellogenin synthesis by the commercial fish diets in male goldfish (*Carassius auratus*) and dietary phytoestrogens. *Journal of Health Science*, **48**, 427-434.
- Iguchi, T., Watanabe, H., Katsu, Y., Mizutani, T., Miyagawa, S., Suzuki, A., Sone K., Kato, H. (2002) Developmental toxicity of estrogenic chemicals on rodents and other species. *Congen. Anorm.*, **42**, 94-105.
- Iguchi, T., Sumi, M., Tanabe, S. (2002) Endocrine disruptor issues in Japan. *Congen. Anorm.*, **42**, 106-119.
- Iguchi, T. (2002) Endocrine disruptors and sexual differentiation. *Clin. Pediatr. Endocrinol.*, **11 (Suppl., 18)**, 51-58.
- Tatarazako, N., Takao, Y., Kishi, K., Onikura, N., Arizono, K., Iguchi, T. (2002) Styrene dimers and trimers affect reproduction of daphnia (*Ceriodaphnia dubia*). *Chemosphere*, **48**, 597-601.
- Urushitani, H., Shimizu, A., Katsu Y., Iguchi, T. (2002) Early estrogen exposure induces abnormal development of *Fundulus heteroclitus*. *J. Exp. Zool.*, **293**, 693-702.
- Fujita, T., Shimizu, M., Hiramatsu, N., Fukada, H., Hara, A. (2002) Purification of serum precursor proteins to vitelline envelope (choriogenins) in masu salmon, *Oncorhynchus masou*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **132B**, 599-610.
- Kawasaki, F., Katsiadaki, I., Scott, A.P., Soyano, K., Matsubara, T., Hara, A., Arizono, K., Nagae, M. (2003) Molecular cloning of two types of spiggin cDNA in the stickleback, *Gasterosteus aculeatu*. *Fish Physiol. Biochem.*, **28**, 425.
- Urushitani, H., Nakai, M., Inanaga, H., Shimohigashi, Y., Shimizu, A., Katsu Y., Iguchi, T. (2003) Cloning and characterization of estrogen receptor α in mummichog, *Fundulus heteroclitus*. *Mol. Cell., Endocr.*, **203**, 41-50.
- Tominaga, N., Ura, K., Kawakami, M., Kawaguchi, T., Kohra, S., Mitsui, Y., Iguchi T., Arizono, K. (2003) *Caenorhabditis elegans* responses to specific steroid hormones. *Journal of Health Science*, **49**, 28-33.
- Ishibashi, H., Tachibana, K., Tsuchimoto, M., Soyano, K., Tatarazako, N., Tomiyasu, Y., Tominaga, N., Arizono, K. (2004) Effects of nonylphenol and phytoestrogen-enriched diet on plasma vitellogenin, steroid hormone, hepatic cytochrome P450 1A, and glutathione-S-transferase values in goldfish (*Carassius auratus*). *Comp. Med.*, **4**, 54-62.
- Ishibashi, H., Matsumura, N., Matsuoka, M., Shiratsuchi, H., Ishibashi, Y., Takao, Y., Arizono, K. (2004) Effects of triclosan on the early life stages and reproduction of medaka *Oryzias latipes* and induction of hepatic vitellogenin. *Aquat Toxicol.*, **67**, 167-179.
- Sone, K., Hinago, M., Kitayama, A., Morokuma, J., Ueno, N., Watanabe H., Iguchi, T. (2004) Effect of 17 β -estradiol, nonylphenol and bisphenol-A on developing *Xenopus laevis* embryos. *Gen. Comp. Endocr.*, **138**, 228-236.
- Kohno, S., Fujime, M., Kamishima, Y., Iguchi, T. (2004) Sexually dimorphic basal water absorption at the isolated pelvic patch of Japanese tree frog, *Hyla japonica*. *J. Exp. Zool.*, **301A**, 428-438.
- Kajiwara, N., Matsuoka, S., Iwata, H., Tanabe, S., Rosas, F.C.W., Fillmann, G., Readman, J.W. (2004) Contamination by persistent organochlorines in cetaceans incidentally caught along Brazilian coastal waters. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **46**, 124-34.
- Inudo, M., Ishibashi, H., Matsumura, N., Matsuoka, M., Mori, T., Taniyama, S., Kadokami, K., Koga, M., Shinohara, R., Hutchinson, T., Iguchi, T. (2004) Levels of estrogenicity, dietary phytoestrogen and organochlorine pesticide in an experimental fish diet and reproduction and hepatic vitellogenin expression in medaka (*Oryzias latipes*). *Comp. Med.*, (In press).

[日韓共同研究]

Lee, K.T., Tanabe, S., Koh, C.H. (2001) Contamination of polychlorinated biphenyls (PCBs) in sediments from Kyeonggi Bay and nearby areas, Korea. *Marine Pollution Bulletin*, **42(4)**, 273-279.

Lee, K.T., Tanabe, S., Koh, C.H. (2001) Distribution of organochlorine pesticides in sediments from Kyeonggi Bay and nearby areas, Korea. *Environmental Pollution*, **114(2)**, 207-213.

田辺信介, 高橋真 (2001) ブチルスズ化合物による海洋生態系の汚染 - 海棲哺乳動物を中心に -, *地球環境*, **16(1)**, 13-27.

Hong, H.K., Takahashi, S., Min, B.Y., Tanabe, S. (2002) Butyltin residues in blue mussels (*Mytilus edulis*) and arkshells (*Scapharca broughtonii*) collected from Korean coastal waters. *Environmental Pollution*, **117(3)**, 475-486.

Sudaryanto, A., Takahashi, S., Monirith, I., Ismail, A., Muchtar, M., Zheng, J., Richardson, B.J. Subramanian, A.N., Prudente, M., Hue, N.D. and Tanabe, S. (2002) Asia-Pacific mussel watch: monitoring of butyltin contamination in coastal waters of Asian developing countries. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **21(10)**, 2119-2130.

Ueno, D., Iwata, H., Tanabe, S., Ikeda, K., Koyama, J., Yamada, H. (2002) Specific accumulation of persistent organochlorines in bluefin tuna collected from Japanese coastal waters. *Marine Pollution Bulletin*, **45(1-12)**, 254-261.

Monirith, I., Ueno, D., Takahashi, S., Nakata, H., Sudaryanto, A., Subramanian, A.N., Karuppiiah, S., Ismail, A., Muchtar, M., Zheng, J., Richardson, B. J., Prudente, M., Hue, N.D., Tana, T.S., Tkalin, A.V., Tanabe, S. (2003) Asia-Pacific mussel watch: monitoring contamination of persistent organochlorine compounds in coastal waters of Asian countries. *Marine Pollution Bulletin*, **46(3)**, 281-300.

Ueno, D., Inoue, T., Ikeda, K., Tanaka, H., Yamada, H., Tanabe, S. (2003) Specific accumulation of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in Japanese common squid as a bioindicator. *Environmental Pollution*, **125(2)**, 227-235.

Ueno, D., Takahashi, S., Tanaka, H., Subramanian, A.N., Fillmann, G., Nakata, H., Lam, P.K., Zheng, J., Muchtar, M., Prudente, M., Chung, K.H., Tanabe, S. (2003) Global pollution monitoring of PCBs and organochlorine pesticides using skipjack tuna as a bioindicator. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **45(3)**, 378-389.

Ueno, D., Inoue, S., Takahashi, S., Ikeda, K., Tanaka, H., Subramanian, A.N., Fillmann, G., Lam, P.K.S., Zheng, J., Muchtar, M., Prudente, M., Chung, K., Tanabe, S. (2004) Global pollution monitoring of butyltin compounds using skipjack tuna as a bioindicator. *Environmental Pollution*, **127(1)**, 1-12.

Ueno, D., Kajiwara, N., Tanaka, H., Subramanian, A.N., Fillmann, G., Lam, P.K.S., Zheng, G.J., Muchitar, M., Razak, H., Prudente, M., Chung, K.H., Tanabe, S. (2004) Global pollution monitoring of polybrominated diphenyl ethers using skipjack tuna as a bioindicator. *Environmental Science and Technology*, **38(8)**, 2312-2316.

内分泌攪乱化学物質問題検討会委員等

○平成16年度内分泌攪乱化学物質問題検討会委員

有園幸司	熊本県立大学環境共生学部教授
井口泰泉	大学共同利用機関法人自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター教授
井上 達	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター長
岩本晃明	聖マリアンナ医科大学医学部教授
大島康行	(財)自然環境研究センター常勤理事
奥野泰由	住友化学工業(株)生物環境科学研究所
角田禮子	主婦連合会副会長
柏木昭彦	広島大学大学院理学研究科附属両生類研究施設助教授
香山不二雄	自治医科大学地域医療学センター環境医学部門教授
清水 誠	東京大学名誉教授
鈴木継美	東京大学名誉教授
住吉好雄	(財)神奈川県労働衛生福祉協会
高杉 暹	横浜市立大学名誉教授
高橋道人	昭和大学薬学部客員教授
武 繁春	神奈川県環境科学センター所長
田辺信介	愛媛大学沿岸環境科学研究センター教授
坪田敏男	岐阜大学応用生物科学部教授
遠山千春	(独)国立環境研究所環境健康研究領域長
中村正久	早稲田大学教育学部教授
花岡知之	国立がんセンターがん予防・検診研究センター予防研究部ゲノム予防研究室長
本城凡夫	九州大学大学院農学研究院教授
村田幸雄	(財)世界自然保護基金ジャパン シニア・オフィサー
森 千里	千葉大学大学院医学研究院教授
森田昌敏	(独)国立環境研究所統括研究官
安野正之	滋賀県立大学環境科学部教授
若林明子	淑徳大学国際コミュニケーション学部教授
和田 勝	東京医科歯科大学教養部教授

○「内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウム」プログラム検討会名簿

青山博昭	(財)残留農薬研究所毒性部副部長兼生殖毒性研究室長
有園幸司	熊本県立大学環境共生学部教授
井口泰泉	大学共同利用機関法人自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター教授
伊藤尚史	旭化成ケミカルズ(株)RC・コンプライアンス室主幹研究員
井上 達	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター長
岩本晃明	聖マリアンナ医科大学医学部教授
奥野泰由	住友化学工業(株)生物環境科学研究所
菅野 純	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター毒性部長
鈴木継美	東京大学名誉教授
遠山千春	(独)国立環境研究所環境健康研究領域長
長濱嘉孝	大学共同利用機関法人自然科学研究機構基礎生物学研究所生殖研究部門教授
名和田新	九州大学大学院医学研究院教授

森 千里	千葉大学大学院医学研究院教授
森田昌敏	(独)国立環境研究所統括研究官
安野正之	滋賀県立大学環境科学部教授
横田弘文	(財)化学物質評価研究機構安全評価技術研究所
若松佑子	名古屋大学生物機能開発利用研究センター教授

○「環境ホルモン戦略計画 SPEED '98」改訂ワーキンググループ名簿

青山博昭	(財)残留農薬研究所毒性部副部長兼生殖毒性研究室長
有田芳子	全国消費者団体連絡会事務局
井口泰泉	大学共同利用機関法人自然科学研究機構岡崎統合バイオサイエンスセンター教授
井上 達	国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター長
鈴木継美	東京大学名誉教授
長濱嘉孝	大学共同利用機関法人自然科学研究機構基礎生物学研究所生殖研究部門教授
花岡知之	国立がんセンターがん予防・検診研究センター予防研究部ゲノム予防研究室長
森田昌敏	(独)国立環境研究所統括研究官
中園 哲	北九州市環境科学研究所所長
山口孝明	住友化学工業(株)レスポンスブルケア室

開催状況	第1回	H15.10.28	第5回	H16.6.15	第9回	H16.11.19
	第2回	H16.3.9	第6回	H16.9.8		
	第3回	H16.4.27	第7回	H16.10.5		
	第4回	H16.6.1	第8回	H16.11.2		

敬称略、五十音順
：座長