

付 属 資 料

とりまとめ案

環境省の取組みに関連した主な出来事

- 1996年3月 シーア・コルボーンらが「Our Stolen Future」を刊行。
- 1997年1月 環境庁、厚生省、通商産業省、農林水産省、労働省による情報交換会を設置。
- 1997年3月 環境庁、外因性内分泌攪乱化学物質問題に関する研究班（座長：鈴木継美元国立環境研究所所長）を設置。
- 1997年5月 第5回環境大臣会合（於：米国マイアミ）が開催され、「子供の環境保健に関する8か国の環境指導者の宣言書」を採択。
- 1997年7月 外因性内分泌攪乱化学物質問題に関する研究班が中間報告書を公表。
- 1997年9月 「奪われし未来」（「Our Stolen Future」の邦訳）の刊行。
- 1997年12月 OECDが内分泌攪乱化学物質の試験・評価方法を確立するためにワーキンググループ（EDTA）を設置。
- 1998年4月 情報交換会を内分泌かく乱化学物質問題関係省庁担当者連絡会議に改名。
- 1998年5月 環境庁、「環境ホルモン戦略計画SPEED'98」を公表。
- 1998年6月 内分泌かく乱化学物質問題関係省庁担当者連絡会議を内分泌かく乱化学物質問題関係省庁課長会議に改名。
- 1998年6月 環境庁、内分泌攪乱化学物質問題検討会（座長：鈴木継美元国立環境研究所所長）を設置。
- 1998年8月 米国の環境保護庁（EPA）に設置
- された「内分泌かく乱化学物質スクリーニング・試験諮問委員会」（EDSTAC）が内分泌攪乱化学物質のスクリーニングプログラムに関する報告書を発表。
- 1998年11月 厚生省、「内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会中間報告書」公表。
- 1998年12月 環境庁、京都で第1回内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウムを開催。
- 1999年3月 G8環境大臣会合において、真鍋環境庁長官（当時）と英国ミーチャー環境大臣（当時）が会談、内分泌攪乱化学物質問題について共同研究を実施することを合意。
- 1999年4月 農林水産省、内分泌かく乱物質の農林水産物への影響問題検討会中間報告書を公表。
- 1999年6月 建設省、下水道における環境ホルモン対策検討委員会中間報告書を公表。
- 1999年7月 米国学術研究会議・国立科学アカデミー（NRC・NAS）専門家委員会、Hormonally Active Agents in the Environmentを発表。
- 1999年12月 内分泌かく乱化学物質問題に関する日英共同研究実施取り決め締結。
- 1999年12月 環境庁、神戸で第2回内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウムを開催。
- 2000年1月 通商産業省、化学品審議会・試験判定部会内分泌かく乱作用検討分科会中間報告書を公表。
- 2000年3月 環境庁、名古屋大学生物分子応

- 答研究センター及び(財)化学物質評価研究機構、第1回内分泌かく乱化学物質メダカ試験国際シンポジウムを開催。
- 2000年10月 米国環境保護庁(EPA)、米国毒性計画・内分泌かく乱化学物質低用量問題評価会議を開催。
- 2000年11月 環境庁、SPEED'98、2000年11月版を公表。
- 2000年12月 環境庁、横浜で第3回内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウムを開催。
- 2001年6月 環境省、名古屋大学生物分子応答研究センター及び魚類系統・管理飼育国際ワーキンググループ、名古屋で第2回内分泌かく乱化学物質メダカ試験国際シンポジウムを開催。
- 2001年12月 環境省、つくばで第4回内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウムを開催。
- 2002年11月 国際学術連合評議会環境問題化学委員会(SCOPE)/国際純正応用化学連合(IUPAC)、横浜で内分泌活性化学物質のヒトおよび野生生物に及ぼす影響国際シンポジウム・ワークショップを開催。
- 2002年11月 環境省、広島で第5回内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウムを開催。
- 2003年2月 環境省、(財)化学物質評価研究機構及び岡崎国立共同研究機構と共催にて、岡崎で第3回内分泌かく乱化学物質メダカ試験国際シンポジウムを開催。
- 2003年10月 環境省、環境ホルモン戦略計画SPEED'98改訂ワーキンググループ設置。
- 2003年12月 環境省、仙台で第6回内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウムを開催。
- 2004年3月 環境省及び東和科学、広島で両生類における内分泌かく乱化学物質試験法に関する国際ワークショップを開催。OECDは、このワークショップを変態試験に関する両生類専門家会合として正式に承認。
- 2004年7月 WHOグローバル・アセスメント日本語訳(環境省版)を作成。
- 2004年12月 環境省、名古屋で第7回内分泌攪乱化学物質問題に関する国際シンポジウムを開催予定。

国際的な動向

・国際機関の動向

1. 経済協力開発機構 (OECD)

1996年 11月 内分泌かく乱化学物質の試験及び評価法に関する特別作業に着手。

1998年 3月 OECD加盟国及び経済産業諮問委員会 (BIAC) の要請により、内分泌かく乱化学物質の試験とアセスメントのための専門家会議 (EDTA) を設置。目的は、試験重複の回避、実験動物を含めた省資源化、規制の目的で使用される国際的に認知された試験指針・試験評価戦略の提供。

哺乳類試験法のバリデーションのためのマネージメントグループ (VMG-mammalian) 設置。

1999年 7月 子宮肥大試験検証開始。

2000年 7月 ハーシュバージャー試験検証開始。

生態影響試験法のためのマネージメントグループ (VMG-eco) 設置。

2001年 3月 改訂 TG407 (改良 28 日間反復投与毒性試験) 検証開始。

2002年 6月 第6回 EDTA 会議を東京で開催し、フレームワーク及び対応方針を策定。非動物試験法のためのマネージメントグループ (VMG-non animal) 設置。環境省が行った哺乳類及び魚類を用いた内分泌かく乱作用に関する有害性評価結果を提出。

とりまとめられたフレームワークは下記の5つのレベルにより構築されている。

- ・レベル1：情報を根拠とした化学物質の分類と優先順位の決定。
- ・レベル2：メカニズムのデータを提供する *in vitro* 試験。
(ER、AR、TR 受容体結合試験、転写活性試験、HTPA 等)
- ・レベル3：単一の内分泌メカニズムのデータを提供する *in vivo* 試験。

(子宮肥大試験、ハーシュバージャー試験、魚類ビテロジェニン試験等)

- ・レベル4：複数の内分泌メカニズムについてのデータを提供する *in vivo* 試験。
(改訂 TG407、カエル変態試験等)
- ・レベル5：リスクアセスメントのための内分泌やその他のメカニズムから悪影響データを提供する *in vivo* 試験。
(哺乳動物の1世代繁殖試験、2世代繁殖試験、魚類、鳥類、両生類、無脊椎動物のパーソナルライフ及びフルライフサイクル試験)

2003年 3月 魚類ビテロジェニン産生試験 (Fish Screening Assay) 検証開始 (日本がリーダーを務める)。

9月 両生類変態試験 (Amphibian Metamorphosis Assay) 検証開始。

2. 世界保健機関 (WHO) / 国際化学物質安全性計画 (IPCS=International Program on Chemical Safety)

2002年 8月 世界保健機関 (WHO)、国際労働機関 (ILO) 及び国連環境計画 (UNEP) の連名で、内分泌かく乱化学物質に関する世界規模の包括的な科学文献レビューの報告書「Global Assessment of the State-of-the Science of Endocrine Disruptors (日本語訳：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)」を公表。

3 .国際学術連合評議会環境問題化学委員会/国際純正応用化学連合 (SCOPE/IUPAC)

泌活性化学物質のヒト及び野生生物に及ぼす影響国際シンポジウム・ワークショップ開催。

2000年 国際学術連合評議会環境問題化学委員会(SCOPE/ICSU)と国際純正応用化学連合(IUPAC)が共同して「SCOPE/IUPAC 内分泌活性化学物質(EAS)プロジェクト」(SCOPE/IUPAC Project on Endocrine Active Substances)プロジェクトを発足。

2003年 プロジェクト終了。最終報告書として「内分泌活性化学物質がヒト及び野生生物に対してもつ意味」“Implications of Endocrine Active Substances for Humans and Wildlife : Executive Summary”を Pure and Applied Chemistry 誌に(2003年 75巻 11-12 特集号)公表。

2002年 横浜で SCOPE/IUPAC 主催による内分泌

としまとめ家

. 主要諸国の動向

1. 米国

1996年 内分泌かく乱化学物質スクリーニング及び試験法諮問委員会(EDSTAC=Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee)を米国環境保護庁(US EPA=United States Environmental Protection Agency)内の諮問委員会として設置。

1996年10月 第1回EDSTAC全体会議を開催。全体会議は、1998年6月まで計10回開催。

1998年8月 EPAは、内分泌かく乱化学物質スクリーニング及び試験法プログラム(EDSTP=Endocrine Disruptor Screening and Testing Program)策定の最終報告書を公表。

2000年8月 EDSTACは、EDSTPの進捗状況を米議会へ報告した報告書を公表し、解散。米議会への報告書に記載された検証(Validation)終了までの予定は下表のとおり。Validationの結果については、現時点(平成16年11月)まで未公表。

第1段階 (Tier 1 Screen/Test)	Pre-validation	Validation
エストロジェン受容体結合	2000	2001
アンドロジェン受容体結合		
ステロイド産生	2001	2002
アロマトーゼ	2001	2002
子宮肥大	2000	2001
ハーシュバーガー	2000	2001
思春期の雌	2001	2002
思春期の雄	2001	2002
子宮内・授乳期	2001	2003
カエル甲状腺	2001	2002
魚類繁殖スクリーン	2001	2002

第2段階 (Tier 2 Test)	Pre-validation	Validation
哺乳類二世代	2001	2003
鳥類	2002	2003
魚類	2001-2002	2004
両生類	2002-2003	2005
無脊椎動物	2003-2004	2004

2000年 EPAは、動物実験代替法に関する多省庁の共同組織(ICCVM=Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods)に対し、試験管内試験(*in vitro*試験)方法の妥当性評価の現状を再検討するように指示。ICCVMは、代替法評価に関する毒性学プログラム省庁間センター(NICEATM=National Toxicology Program Interagency Center for Evaluation of Alternative -

Toxicological Methods)と協同して作業を実施。

2001年4月 EPAは、EDSTACから提案を受けた試験法の開発が予定通り進展していないことから、内分泌かく乱化学物質の試験法の検証に関する小委員会(EDMVS=Endocrine Disruptor Methods Validation Subcommittee)を設置。EDMVSは、2003年12月まで計9回の全体会議を開催。

2002年9月 ICCVAM/NICEATM は、報告書 (Expert Panel Evaluation of the Validation Status of *In Vitro* Test Methods for Detecting Endocrine Disruptors) を公表。

2002年10月 ICCVAM/NICEATM は、報告書 (Proposed substances for Validation of Estrogen Receptor(ER) and Androgen Receptor (AR) Binding and Transcriptional Activation (TA) Assays) を公表し、試験検証のための試験物質として、78物質を提案。

2002年12月 EPA は EDMVS での検討をうけ、EDSTP における Tier1 スクリーニングの化学物質選定アプローチの提案を公表。提案の概略は以下のとおり。

- ・ Tier1 スクリーニングに先立つ優先度設定において、87,000 化学物質の中から 50 ~ 100 化学物質を選定する方針。
- ・ Tier1 スクリーニングは農薬及び高生産物質 (HPV) を対象。具体的な化学物質名の公表は、2004 年末の予定。
(HPV は米国内の全生産量及び輸入量が 100 万ポンド/年 (約 453ton/年) 以上の化学物質)
- ・ ハザードデータではなく、曝露データに基づいた分類を実施。
- ・ 曝露の可能性のある物質に限定 (食物、飲料水、住環境、職業を通じた曝露経路)。
- ・ 内分泌かく乱活性ポテンシャルの低い物

質、混合物及び米国において未生産・未使用の物質を除外。
・ 選抜法に関する意見を公募。

2003年5月 ICCVAM/NICEATM は、報告書 (ICCVAM Evaluation of *In Vitro* Test Methods for Detecting Potential Endocrine Disruptors: Estrogen Receptor and Androgen Receptor Binding and Transcription Activation Assays (NIH Publication 02-4503)) において、78 物質の試験進捗状況を公表。未試験物質についても試験実施の必要性を勧告。試験が終了した物質名については、現時点 (平成 16 年 11 月) まで未公表。

2004年6月 EPA は、EDMVS を内分泌かく乱化学物質試験法検証諮問委員会 (EDMVAC= Endocrine Disruptor Methods Validation Advisory Committee) に移行する予定であると公表。また、EDSTP も内分泌かく乱化学物質スクリーニングプログラム (EDSP= Endocrine Disruptor Screening Program) に変更。EDMVAC が EDSP に対する取り組みとして、試験方法開発計画を継承しているが、いずれの測定法についても Validation の結果は、現時点 (平成 16 年 11 月) では未公表。

2. 欧州連合 (EU = European Union)

1998年8月 欧州委員会(EC)は、内分泌かく乱化学物質の問題に対応すべく、委員会招集を決議。決議の主な内容は、法的枠組みの改良、調査研究の促進及び各国民に対する情報提供の改善。

1999年12月 EC は、報告書「ヒト及び野生生物のホルモン系をかく乱するおそれがある広範な化学物質 内分泌かく乱化学物質に対する共同体戦略 (Community Strategy for Endocrine

Disruptors—a range of substances suspected of interfering with the hormone systems of humans and wildlife” COM (1999) 706)」を公表。共同体戦略は、内分泌かく乱化学物質に対する短期的取り組み(優先化学物質リストの作成)、中期的取り組み(内分泌かく乱化学物質の同定と評価)、長期的取り組み(法的措置)により構成。進捗状況は、欧州委員会から欧州理事会及び欧州議会への報告書 COM (2001) 262final として公開。

短期的取り組み	化学物質の内分泌かく乱における役割を解明するための優先順位リスト作成 第一段階：内分泌かく乱影響、ヒト及び野生生物影響に関する個別文献の点検 第二段階：利害関係者と委員会内諮問委員会による諮問情報交換及び国際協調
中期的取り組み	内分泌かく乱化学物質の同定及び評価研究開発
長期的取り組み	既存法規の点検及び適用

2000年6月 EC 及び欧州環境総局は、報告書「化学物質の内分泌かく乱における役割を解明するための優先順位リスト作成に向けて (Towards the establishment of a priority list of substances for further evaluation of their role in endocrine disruption - preparation of a candidate list of substances as a basis for priority setting)」を作成。

2000年10月 EC は、内分泌かく乱化学物質に関する決議案を採択。委員会に対し、速やかに化学物質を選定するよう要請。

2000年11月 EC は、利害関係者の会議を開催し、優先順位設定に向けた委員会の取り組みについて議論。(潜在的) 内分泌かく乱の科学的根拠があるが法規制対象外の9化学物質及びエストロン、エチニルエストラジオール、エストラジオールの12化学物質の詳細な評価及び知見が不十分であった435化学物質を対象とするデータ・情報収集を優先課題とした。

2003年10月 EC は、「内分泌かく乱化学物質の総合監視に関する基準報告書(案)(Draft Baseline Report on Integrated Monitoring of Endocrine” COM (2003) 338 final)」を公表。

* 数値の記載については準備・精査中

これまでの環境実態調査結果の概要

平成10年度～15年度
：検出 ND：検出せず -：調査未実施(平成15年度環境実態調査結果については本年12月開催予定の内分泌攪乱化学物質検討会^{※1}の承認後に追加)

	環境実態調査				室内空気調査	水生生物調査(魚類・貝類)	野生生物調査 ^{注2)}	食事調査
	水質	底質	土壌	大気				
アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル			ND			ND		
アトラジン		ND		-	-	ND	ND	-
アミトロール		ND	ND	-	-	ND	-	-
アラクロール		ND	ND	-	-	ND	-	-
アルドリノ			ND		-		ND	-
エスフェンバレレート ^{注3)}	ND	ND	ND	-	-	ND	-	-
エチルパラチオン	ND	ND	ND	-	-	ND	-	-
インドスルファ(ベンゾ)ピロン	^{注7)}	ND	ND	ND	-	ND	-	-
エンドリン			ND		-			-
オキシクロルデン					-			-
オクタクロロスチレン	ND	ND	ND	ND	-			-
4-オクチルフェノール			ND	ND	-			-
クロルデン					-			-
ケルセン		ND	ND	ND	-		-	-
2,4-ジクロロフェノ酢酸		ND	ND	-	-	ND	ND	-
2,4-ジクロロフェノール			ND		-			-
1,2-ジブトモ-3-クロロピロン	ND	ND	ND	ND	-	ND	-	-
シベルメトリン	ND	ND	ND	-	-	ND	-	-
ジネブ ^{注4)}				-	-	ND	-	-
ジラム			ND	-	-	ND	-	-
ダイオキシン類	-	-	-	-	-	-		-
ディルドリン			ND		-			-
2,4,5-トリクロロフェノ酢酸	ND	ND	ND	-	-	ND	-	-
トリフェニルスズ			ND	ND	-			-
トリブチルスズ			ND	ND	-			-
トリフルラリン		ND	ND	-	-			-
4-ニトロトルエン					-		ND	-
ニトロフェン	ND	ND	ND	-	-	ND	-	-
trans-ノナクロル			ND		-			-
ノニルフェノール			ND	ND	-			-
ビスフェノール A					-			-
ビンクロゾリン	ND	ND	ND	-	-	ND	-	-
フェンバレレート	ND	ND	ND	-	-	ND	-	-
フタル酸ジエチル			ND			ND	ND	ND
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル								
フタル酸ジシクロヘキシル	ND		ND			ND	ND	ND
フタル酸ジ-n-ブチル								
フタル酸ジプロピル	ND	ND	ND			ND	ND	ND

フタル酸ジヘキシル	ND		ND	ND		ND	ND	ND
フタル酸ジペンチル	ND		ND			ND	ND	ND
フタル酸ブチルベンジル							ND	
ヘキサクロロシクロヘキサン	ND	ND		-	-			-
ヘキサクロロベンゼン (HCB)					-			-
4-n-ヘキシルフェノール		ND	ND	ND	-	ND	-	
ベノミル ^{注5)}				-	-	ND	-	-
ヘプタクロル			ND		-			-
ヘプタクロルキサイド	ND	ND	ND	ND	-	ND		-
4-n-ヘプチルフェノール		ND	ND		-	ND	-	
ペルメトリン	ND			-	-		-	-
ベンゾ(a)ピレン					-	ND	ND	-
ベンゾフェノン				ND	-			-
ペンタクロロフェノール (PCP)	ND	ND			-			ND
4-ペンチルフェノール		ND		ND	-	ND		
ポリ塩化ビフェニル類 (PCB)					-			-
ポリ臭化ビフェニル類 (PBB)	ND	ND	ND	ND	-	ND	-	-
マイレックス	-	-	-	-	-	-	-	-
マラチオン		ND		-	-	ND	ND	-
マンゼブ (マンゼブ) ^{注4)}				-	-	ND	-	-
マンネブ ^{注4)}				-	-	ND	-	-
メソミル ^{注6)}		ND	ND	-	-	ND	-	-
メトキシクロル	ND	ND	ND	ND	-	ND	-	-
メトリブジン	ND	ND	ND	-	-	ND	-	-
C A T		ND			-	ND	ND	-
D D D					-			-
D D E					-			-
D D T					-			-
N A C		ND	ND	-	-	ND	ND	-

注1 平成11年度～16年度攪乱化学物質問題検討会資料及び平成14年度POPsモニタリング調査結果SPEED'98記載の65物質のうち、トキサフェン、アルディカーブ、キーボン(クロルデコン)については国内の登録実績がなく農薬以外の用途がないことから調査対象から除外した。メチラムについては水資料を対照とした場合、自然由来の夾雑物質との関係から定量性が得られる残留分析法がないことから調査対象から除外した。

注2 カワウ、カワウ卵、猛禽類、猛禽類卵、ドバト、トビ、シマフクロウ、鳥類、カエル類、アカネズミ、ニホンザル、クマ類、タヌキ、クジラ類及びアザラシ類の測定結果。

注3 フェンバレートに含まれるため参考としてフェンバレートの測定結果を示した。

注4 マンゼブ、マンネブ及びジネブについては、エチレンビスジチオカルバミン酸ナトリウムにした後、誘導体化して測定している関係上、その含量で測定された。また、同じナトリウム塩を生じる他の化学物質由来のものを検出している可能性がある。

注5 ベノミルは環境中で速やかにカルベンダジムに分解される。また、化学的に類似した構造を持つ化学物質は代謝物としてカルベンダジムを生成する。今回の調査ではカルベンダジムで定量しており、これらの類似化合物に由来するカルベンダジムとの含量として測定された。

注6 化学的に類似した構造を持つ化学物質は代謝物としてメソミルを生成する。このため、これらの物質に由来するメソミルの含量として測定された。

注7 平成10年度にエンドスルファンサルフェートが検出された

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、フタル酸ブチルペ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

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（試験法の有用性や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（17-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ゲンレセプター（ER及びER β ）への結合能力を測定するアッ

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 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。

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、フタル酸ジペンチル、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（ α -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、 α -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)。

1

1 - 3 . その他

i) 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ゲン様作用の有無・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動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ゲン様作用又は抗アンドロゲン様作用の有無・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-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-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及びER)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。

ii) 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

学物質のエストロゲン様作用の有無・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(17-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(ER)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K_d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>)

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、これまでには化学物質がミジンコの性比に与える影響について、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

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、内分泌かく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環境省が独自で開発した「げっ歯類を用いた1世代試験」(以下、1世代試験)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、OECDを中心に各国がバリデーションとして進行中であり、経済産業省にて実施された()子宮肥大試験()ハーシュバガー試験()改良28日間反復投与毒性試験の試験結果に加え、これらの結果を補完する目的で実施した試験管内試験結果も考慮した。対象とした化学物質は、1 - 1と同様とした。

・1世代試験のプロトコルの概要

陽性対象物質(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(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 μg/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)。トリプチルスズ、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。

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及びER)結合競合阻害試験(レセプターバインディ

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、コーン油または1%CMC水溶液等に混合した実質投与量も測定。

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及びTR)酵母試験を実施した。

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、フタル酸ジペンチルについては、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、フタル酸ジペ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>

【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