

内分泌攪乱化学物質の魚類等への影響評価のための試験体系の概況について (平成 12 年度第 3 回内分泌攪乱化学物質問題検討会資料(平成 13 年 3 月 14 日))

1. 基本的な考え方

内分泌攪乱化学物質の魚類への影響評価のための試験体系については、エストロゲン及びアンドロゲン様作用を評価するものとして、スクリーニングの位置づけで FLF・d-rR メダカ試験、繁殖試験、ビテロジェニンアッセイ及びメダカを用いたパーシャルライフサイクル試験を実施するとともに、確定試験の位置づけでフルライフサイクル試験を実施することが平成 12 年 10 月 31 日の本検討会において了承された。

なお、文献調査等で甲状腺などに異常を与えることが示唆されれば、適宜、物質ごとに試験を追加することと、これらの試験結果を補完する目的で試験管内試験を実施することもあわせて了承された。

これらの試験の方法については、文献調査等から投与濃度を設定するとともに、これまでの生態毒性を基本とし、陽性対照物質での試験結果等も踏まえてエンドポイントを設定している。また、そのプロトコルや実施状況、試験結果等については、生態系の専門家からなる検討会において、評価・助言を行うこととする。

なお、鳥類については、日本ウズラを試験動物としたスクリーニング手法を開発するとともに、確立された手法を用いて優先 8 物質の評価を行う。また、確定試験として OECD が提唱した「二世世代繁殖毒性試験」のエンドポイントを設定するため、各種基礎的研究を実施する。

2. 我が国における取り組み状況

(1) 魚類について

スクリーニング手法

ア. FLF・d-rRメダカ

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メダカを用いたアーリーライフステージ試験法を開発中。

イ. ビテロジェニンアッセイ

化学物質を投与し、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・程度を把握する。

本アッセイについては、OECDにおいてスクリーニングとして提唱されており、我が国では陽性対照物質での検証が終了。現在、優先 8 物質について試験を実施し、結果を評価中。

ビテロジェニン：肝臓で合成される卵黄タンパク前駆体。繁殖期の雌成魚で特に産生される。

ウ. 繁殖試験

化学物質を成魚に投与することにより、主に繁殖機能への影響を把握する試験であり、産卵数、受精率、生殖腺異常、孵化率、孵化後の生存、性比等をエンドポイントとする。

本アッセイについては、現在、OECDにおいて陽性対照物質として提唱されている物質を用いて検証中。

エ．パーシャルライフサイクル試験

化学物質を受精から成熟期を通して投与することにより、主に性分化への影響を把握する試験であり、二次性徴、生殖腺異常、ビテロジェニン、孵化率、生存率等をエンドポイントとする。

本アッセイについては、OECDにおいて陽性対照物質として提唱されている物質を用いた検証が終了。現在、優先 8 物質について試験を実施し、結果を評価中。

試験法

フルライフサイクル試験

少なくとも 2 世代にわたる曝露を行い、生涯を通しての影響をみる試験であり、産卵数、受精率、生殖腺異常、次世代の孵化率、孵化後の生存、性比、二次性徴、ビテロジェニン、孵化率、生存率等をエンドポイントとする。

本アッセイについては、OECDに米国が確定試験として提案中であるが、メダカを用いたフルライフサイクル試験のプロトコル案を作成すべく、OECDにおいて陽性対照物質として提唱されている物質を用いて検証中。

試験管内 (in vitro) 試験

in vivo の試験結果を補完し、作用機序を確認するものとして、試験管内試験を実施。

ア．メダカのエストロゲン受容体結合アッセイ

化学物質のメダカエストロゲンレセプターへの結合能力を測定するアッセイを開発し、陽性対照物質を用いた検証ののち、現在、優先 8 物質について試験を実施し、結果を評価中。

イ．メダカの遺伝子転写活性アッセイ

レセプター遺伝子及びレポーター遺伝子を導入した培養細胞を用いることにより、化学物質のメダカエストロゲンレセプターへの結合能力を測定するアッセイを現在開発中。

(2) 鳥類について

スクリーニング手法

超低密度リポタンパク質 (VLDL)、ビテロジェニンを用いたアッセイを開発し、陽性対照物質を用いた検証ののち、優先 8 物質について試験を実施し、現在、結果の評価を行うとともに、より感度を上げた試験系を開発中。

試験法開発

「二世世代繁殖毒性試験」のエンドポイント、投与量・方法等を設定するため、内分泌攪乱作用との関連性が指摘される 性分化・発達、受精機能、発生、中枢神経機能・行動についての基礎的研究を実施中。

また、「試験管内試験」、「バイオマーカー」の開発に向けた取組も進行中。

4．評価体制

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、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・評価を行っており、今年度は 3 回開催している。