

プロトコール概要 (アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル)

被験物質	被験動物	使用動物数	投与方法	用量設定	投与量	試験方法の形式	母動物の観察項目	児動物の観察項目	備考
アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル	ラット Wistar Imamichi	雄 50 匹 雌 100 匹 各群 (雌) 15 匹×6 群	強制経口 コーン油 に溶解	0 15 150 1,500 15,000 μg/kg/day 英国ヒト最大 摂取量推 定値 8.2 mg/60kg/day に安全係数 100 すると、 14,000 μg/kg/day 600 mg/kg/day 陽性対照	1 mL/kg/day	妊娠 0 日目から 哺育 21 日目まで の期間投与を継 続。 哺育 4 日目に各 腹雌雄各 5 匹と なるよう哺育児 を無作為選抜。	一般状態 体重測定 摂餌量測定 分娩・哺育状態の観察 剖検 器官重量測定、保存 ☆重量測定は、下垂体、肝 臓、卵巣、子宮。保存は、 これらに異常が認められ た器官組織を追加。	○分娩時検査 (児数、性、外表異常、死亡児剖検) ○一般状態 ○体重 (生後 0, 4, 7, 14, 21 日目) ○AAGD (生後 4 日目) ○4 日齢剖検、骨格検査、保存 (各腹雌雄各 1 匹) ○乳頭発現 (生後 12 日目)、臍開口、包皮分離 ○21 日齢剖検、保存 (各腹雌雄各 1 匹) ☆下垂体、甲状腺、副腎、精巣、精巣上 体、精囊、前立腺腹葉、卵巣、子宮、腫が対 照。卵巣、子宮精巣については、病理組織学 的検査も実施。雄の血中 testosterone 濃度測 定、雌の血清凍結保存。 ○性周期 ○70 日齢剖検、保存 (各腹雌雄各 2 匹) ☆21 日齢剖検とほぼ同様に実施する他、mRNA 解析 (精巣 AR および卵巣 ERα と β)、性的 二型核測定を雌雄各 1 匹で実施。 ○生殖能力検査、精子検査 (各腹雌雄各 2 匹) ☆10-12 週齢において、同居日数、交尾率、受 胎率。交尾 13 日目雌の剖検、妊娠の確認、妊 娠黄体数、着床数、生存胚数。 ○精子検査 (各腹雄 2 匹) ☆交尾期間終了後、右尾精巣上体尾部中精子の 活動性、生存性、形態、数。	

試験結果のまとめ表（案）
アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル

(1) 生体内 (*in vivo*) 試験

実施機関	試験区分	用量		備考
		μg/kg/day	mg/kg/day	
環境省	1 世代試験	15	1.5	600
		D	C	A
経済産業省	子宮増殖アッセイ ハ-ジコバ-ガ-アッセイ	F0 母動物：体重増加量の低値		F1 雄：血中テストステロン濃度の低値
		F1 雄：血中テストステロン濃度の低値		

注) A：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)付近で有意な所見が認められた。

B：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未満で有意な反応が認められた。

C：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)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。

D：有意な反応は認められなかった。

S：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未満で有意な反応が認められ、追加試験を実施中。

P：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)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とする。

経済産業省が行った試験結果（-：陰性、+：陽性）

< Aで認められた所見 >

* F0 母動物：肝臓（絶対・相対）重量の高値

* F1 哺育児：死産児数の高値、離乳率の低値

* F1 雄：血中テストステロン濃度の低値、総奇形精子率・頭部奇形精子率の低下

* F1 雌：子宮 ER mRNA 発現量の低値

（下線部は、報告例の得られた所見）

(2) 試験管内 (*in vitro*) 試験

実施機関	試験区分	試験結果	試験濃度範囲
環境省	ER 競合阻害	4.5 × 10 ⁻⁷ M において 8%	10 ⁻¹¹ ~ 10 ⁻⁴ M
	ER 競合阻害	10 ⁻⁶ M において 3%	10 ⁻¹¹ ~ 10 ⁻⁴ M
	E-screen	-	10 ⁻⁹ ~ 10 ⁻⁴ M
	ARレポ-タージ-ン(アゴニスト)	-	10 ⁻⁶ ~ 10 ⁻⁵ M
	ARレポ-タージ-ン(アンタゴニスト)	-	10 ⁻⁶ ~ 10 ⁻⁵ M
	AR 親和性	10 ⁻³ M において 13%	10 ⁻⁵ ~ 10 ⁻³ M
	TR	-	<10 ⁻⁴ M
	TR	-	<10 ⁻⁴ M

注) IC₅₀ 値(標識されたホルモンと受容体との結合を 50%阻害する濃度)、PC₅₀ 値(E2 等が誘導する化学発光強度の 50%の活性を誘導する濃度)、ECx₁₀ 値(バックグラウンド値の 10 倍の化学発光強度比を示す濃度)等が得られた場合はその値を記載し、得られなかった場合は最大反応値とその濃度を示した。

ただし、有意差検定を行い、有意な反応が認められなかった場合は、 とした。

プロトコール概要 (塩化トリブチルスズ)

被験物質	被験動物	使用動物数	投与方法	用量設定	投与量	試験方法の形式	母動物の観察項目	児動物の観察項目	備考
塩化トリブチルスズ	ラット Wistar Imamichi	雄 50 匹 雌 90 匹 各群 (雌) 15 匹 × 6 群	混餌 EtOH に 溶解	0 0.15 0.45 1.5 4.5 30.0 mg/L ラット 4 週 間混餌試験 で 25mg/L で 免疫毒性。	自由摂取	妊娠 0 日目から 哺育 21 日目まで の期間投与を継 続。 哺育 4 日目に各 腹雄雌各 4 匹と なるよう哺育児 を無作為選抜。 3 : 5 匹も可。	○一般状態観察、体重測定、摂餌量 測定、摂食効率算出 ○分娩・哺育行動観察 (分娩状態観 察、分娩終了確認、受胎率、出産 率、妊娠期間、着床数、出生率) ○妊娠 20 日目剖検 (各群 3 例) お よび哺育 22 日目剖検 (各群 3 例) を除く生存全例)、器官重量測定 (相対および絶対重)、保存 ☆重量測定は、脳 (大脳と小脳)、 下垂体、胸腺、甲状腺 (上皮小体 含、左右)、副腎 (左右)、肝臓、 脾臓、腎臓 (左右)、卵巣 (左右)、 子宮 (左右角部と頸部)。剖検お よび保存は、これらに心臓、膀胱、 膈、乳腺 (原則として右腹部)、 肉眼的異常部位を追加。	○全例の一般状態観察、体重測定、算出 (産児 数、性比、生存率)、AGD 測定 (哺育 0 およ び 4 日目) ○雌雄 (各腹各 1 例) の反射反応検査、学習試 験 (シャトルボックス) ○雌 (1 例を除く全例) の性周期 ○10 週齢 (雌雄各 1 例) のホルモンレベル測定、 mRNA (ER α 、ER β 、AR) 測定 ○雄 (生存全例) の精巣状態中精子の数、運動 能、形態 ○22 日齢および 10 週齢 (雌雄生存例のそれぞ れ半数) の部検、器官重量測定、組織学的検 査、病理学的検査、保存 ☆重量測定は、母動物と同項目に加え、精巢 (左右)、精巢上体 (左右)、精囊 (凝固腺 と分泌物含)、前立腺 (腹葉) を追加。病理 組織学的検査は、これらに膈、乳腺、胸骨、 腸管膜リンパ節、下顎リンパ節を追加。剖 検および保存は、更に眼球、ハーダー腺な ど細目に及ぶ。	

試験結果のまとめ表 (案)
トリブチルスズ (塩化トリブチルスズ)

(1) 生体内(in vivo)試験

実施機関	試験区分	用量	μg/kg/day			mg/kg/day			備考
			10	30	100	300	2	20	
環境省	1世代試験	0.15	0.45	1.5	4.5	30	300	3,000	ppm
		D	D	C	C	A*			
経済産業省	子宮増殖テスト								皮下3日間

注) A: 影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)付近で有意な所見が認められた。

B: 影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未満で有意な反応が認められた。

C: 影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)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。

D: 有意な反応は認められなかった。

S: 影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未満で有意な反応が認められ、追加試験を実施中。

P: 影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)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とする。

経済産業省が行った試験結果 (-: 陰性, +: 陽性)

<※Aで認められた所見>

*F0 母動物: 体重・胸腺 (絶対・相対) 重量・脾臓 (絶対・相対) 重量・卵巣 (絶対・相対) 重量・子宮 (絶対・相対) 重量の低値

*F1 雄: 脾臓 (絶対・相対) 重量の低値

*F1 雌: 体重・胸腺 (絶対・相対) 重量の低値

(下線部は、報告例の得られた所見)

(2) 試験管内(in vitro)試験

実施機関	試験区分	試験結果	試験濃度範囲	備考
環境省	ERα 競合阻害	IC ₅₀ =4.0×10 ⁻⁶ M	10 ⁻⁹ ~10 ⁻⁵ M	毒性影響と区別することが困難であった
	ERβ 競合阻害	IC ₅₀ =6.3×10 ⁻⁶ M	10 ⁻⁹ ~2.2×10 ⁻⁵ M	毒性影響と区別することが困難であった
	E-screen	10 ⁻¹² MにおいてE2の8%	10 ⁻¹⁴ ~10 ⁻⁹ M	10 ⁻⁹ ~10 ⁻⁴ Mにおいて細胞毒性
	ARレポーター遺伝子(エスト)	-	10 ⁻⁸ ~10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁶ ~10 ⁻⁵ Mにおいて細胞毒性
	ARレポーター遺伝子(アンチエスト)	-	10 ⁻⁸ ~10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁶ ~10 ⁻⁵ Mにおいて細胞毒性
	AR親和性	IC ₅₀ =4.1×10 ⁻⁶ M	10 ⁻⁶ ~10 ⁻³ M	毒性影響と区別することが困難であった
	TRα	-	<2×10 ⁻⁵ M	
	TRβ	-	<2×10 ⁻⁵ M	

注) IC₅₀ 値 (標識されたホルモンと受容体との結合を 50%阻害する濃度)、PC₅₀ 値 (E2 が誘導する化学発光強度の 50%の活性を誘導する濃度)、EC_{x10} 値 (バックグラウンド値の 10 倍の化学発光強度比を示す濃度) 等が得られた場合はその値を記載し、得られなかった場合は最大反応値とその濃度を示した。

ただし、有意差検定を行い、有意な反応が認められなかった場合は、一とした。

プロトコール概要 (塩化トリフェニルスズ)

被験物質	被験動物	使用動物数	投与方法	用量設定	投与量	試験方法の形式	母動物の観察項目	児動物の観察項目	備考
塩化トリフェニルスズ	ラット Wistar Imamichi	雄 50 匹 雌 90 匹 各群 (雌) 12 匹×6 群	混餌 EtOH に 溶解	0 0.015 0.15 1.5 5.0 15.0mg/L ラット 2 週間 試験では 150mg/L に て免疫毒性。 検出限界 0.005mg/L。	自由摂取	妊娠 0 日目から 哺育 21 日目まで の期間投与を継 続。 哺育 4 日目に各 腹雄雌各 4 匹と なるよう哺育児 を無作為選抜。 3 : 5 匹も可。	○一般状態観察、体重測定、摂餌量 測定、摂食効率算出 ○分娩・哺育行動観察 (分娩状態観 察、分娩終了確認、受胎率、出産 率、妊娠期間、着床数、出生率) ○妊娠 20 日目剖検 (各群 3 例) お よび哺育 22 日目剖検 (各群 3 例) を除く生存全例)、器官重量測定 (相対および絶対重)、保存 ☆重量測定は、脳 (大脳と小脳)、 下垂体、胸腺、甲状腺 (上皮小体 合、左右)、副腎 (左右)、肝臓、 脾臓、腎臓 (左右)、卵巣 (左右)、 子宮 (左右角部と頸部)。剖検お よび保存は、これらに心臓、膀胱、 臍、乳腺 (原則として右腹部)、 肉眼的異常部位を追加。	○全例の一般状態観察、体重測定、算出 (産 児数、性比、生存率)、AGD 測定 (哺育 0 および 4 日目) ○雌雄 (各腹各 1 例) の反射反応検査、学習 試験 (シヤトルボックス) ○雌 (1 例を除く全例) の性周期 ○10 週齢 (雄雌各 1 例) のホルモンレベル測 定、mRNA (ER α 、ER β 、AR) 測定 ○雄 (生存全例) の精巢状態中精子の数、運 動能、形態 ○22 日齢および 10 週齢 (雌雄生存例のそれ ぞれ半数) の部検、器官重量測定、組織学 的検査、病理学的検査、保存 ☆重量測定は、母動物と同項目に加え、精 巢 (左右)、精巢上体 (左右)、精囊 (凝 固腺と分泌物含)、前立腺 (腹葉) を追加。 病理組織学的検査は、これらに臍、乳腺、 胸骨、腸管膜リンパ節、下顎リンパ節を 追加。剖検および保存は、更に眼球、ハ ーダ腺など細目に及ぶ。	

試験結果のまとめ表（案）
トリフェニルスズ（塩化トリフェニルスズ）

（１）生体内(in vivo)試験

実施機関	試験区分	用量	μg/kg/day		備考
			mg/kg/day	ppm	
環境省	1世代試験	1.1	107	370	A F0 母動物：摂餌効率の高値 F1 雄：体重の低値 F1 雌：血中 T ₃ 濃度の低値
		0.015	1.5	5	
		D	C	C	
		D	C	P	

注) A：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)付近で有意な所見が認められた。

B：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未滿で有意な反応が認められた。

C：影響が既に認められている用量(LO

EL, LOAEL)未滿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。

D：有意な反応は認められなかった。

S：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未滿で有意な反応が認められ、追加試験を実施中。

P：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未滿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とする。

経済産業省が行った試験結果（-：陰性、+：陽性）

< Aで認められた所見>

* F0 母動物：摂餌量の低値

* F1 哺育児：生存率の低値

（下線部は、報告例の得られた所見）

（２）試験管内(in vitro)試験

実施機関	試験区分	試験結果	試験濃度範囲	備考
環境省	ER 競合阻害	2.2 × 10 ⁻⁵ M において 38%	10 ⁻¹¹ ~ 2.2 × 10 ⁻⁵ M	
	ER 競合阻害	1.8 × 10 ⁻⁵ M において 13%	2.2 × 10 ⁻¹¹ ~ 10 ⁻⁴ M	
	E-screen	-	10 ⁻¹⁴ ~ 10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁹ ~ 10 ⁻⁴ M において細胞毒性
	ARレポーター遺伝子(アゴニスト)	-	10 ⁻⁶ ~ 10 ⁻⁵ M	>0.3 × 10 ⁻⁶ M において細胞毒性
	ARレポーター遺伝子(アンタゴニスト)	-	10 ⁻⁶ ~ 10 ⁻⁵ M	>0.3 × 10 ⁻⁶ M において細胞毒性
	AR 親和性	IC ₅₀ =1.3 × 10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁵ ~ 10 ⁻³ M	毒性影響と区別することが困難であった
	TR	-	<2 × 10 ⁻⁵ M	
	TR	-	<2 × 10 ⁻⁵ M	

注) IC₅₀値(標識されたホルモンと受容体との結合を 50%阻害する濃度)、PC₅₀値(E2 等が誘導する化学発光強度の 50%の活性を誘導する濃度)、EC_{x10}値(バックグラウンド値の 10 倍の化学発光強度比を示す濃度)等が得られた場合はその値を記載し、得られなかった場合は最大反応値とその濃度を示した。

ただし、有意差検定を行い、有意な反応が認められなかった場合は、とした。

プロトコール概要 (ベンゾフェノン)

被験物質	被験動物	使用動物数	投与方法 投与期間	用量設定	投与量	試験方法の形式	母動物の観察項目	見動物の観察項目	備考
ベンゾフェノン	Wistar Imamichi ラット	購入 雄 60 匹 雌 100 匹 各群 (雌) 12 匹×6 群	強制経口 コーン油 に溶解 妊娠 0 日 目から哺 育 21 日 目までの 期間投与 を継続。	0	1 mL/kg/day	哺育 4 日目に各 腹雌雄各 6 匹と なるよう哺育児 を無作為選抜。	一般状態(臨床症状) 体重測定 摂餌量・摂水量の測定 分娩・哺育状態の観察 解剖 (着床痕数)	○哺育児 分娩日の新生児数、体重、AOD 体重 (哺育 4, 7, 14, 21 日) 発育分化の指標 (切歯萌出、眼瞼開裂、胸部残存 乳頭の有無、精巣下降) 間引き児の肉眼解剖 ○離乳児 一般状態 (臨床症状)、体重測定、性成熟 (膈開口、 包皮分離) ○3 腹/群について 3 週齢解剖 ○3 腹/群について 10 週齢解剖 ☆秤量および保存臓器は、脳、下垂体、甲状腺、 副腎、肝臓、腎臓、脾臓、精巣、精巣上体、精 囊、凝固腺、前立腺、輸卵管、膨大部腺、肛門 拳筋、陰茎、球海綿体筋、卵巢、子宮。必要に 応じて病理組織検査。 ☆10 週齢解剖においては血中ホルモン濃度 (E2, testosterone, FSH, LH) も測定。 ○3 腹/群について 10 週齢において交尾行動検査 (対照群雌に対する乗駕、挿入、射精、潜時。雌 は交尾後 7 日目に解剖し着床数、子宮重量の測定) ○3 腹/群について 10 週齢において生殖能検査 (同 群内交配、妊娠 21 日目に開腹。精巣上体中精子の 運動性、数、奇形率)	
				2 10 50 μg/kg/day 環境中検出限 界値 1 μg/kg。 可能摂取量値 6.6 μg/kg/day を推定。 20 100 mg/kg/day 陽性対照。混餌 28 日間試験の LOAEL 100 mg/kg/day。					

試験結果のまとめ表（案）
ベンゾフェノン

(1) 生体内(in vivo)試験

実施機関	試験区分	用量		mg/kg/day										備考		
		2	10	1	2	5	10	20	50	100	200	500				
環境省	1世代試験	F0母動物:摂取量の高値	F0母動物:摂取量の低値					A ¹								強制経口 42日間
			F1雄:血中LH濃度の高値	F1雄:前立腺背葉(絶対、相対)重量の低値							A ²					
経済産業省	子宮増殖アッセイ															皮下7日間 卵巣摘出
	エストロゲン作用															
	子宮増殖アッセイ															皮下7日間 卵巣摘出
	抗エストロゲン作用															皮下3日間
	エストロゲン作用															強制経口 10日間、 去勢
	エストロゲン作用															強制経口 10日間、 去勢
	2世代繁殖毒性試験															実施中(設定用量は未公開)

注) A : 影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)付近で有意な所見が認められた。

B : 影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未満で有意な反応が認められた。

C : 影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)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。

D : 有意な反応は認められなかった。

S : 影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未満で有意な反応が認められ、追加試験を実施中。

P : 影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)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とする。

経済産業省が行った試験結果 (- : 陰性、 + : 陽性)

< Aで認められた所見 >

< A¹で認められた所見 >

* F0母動物: 飲水量の高値

* F1雄: 腎臓(絶対、相対)重量・血中LH濃度の高値、血中エストロジオール濃度・血中FSH濃度の低値(ただし、下線部はF0での報告例)

* F1雌: 副腎(絶対、相対)重量・血中LH濃度の高値、血中エストロジオール濃度の低値

< A²で認められた所見 >

* F0母動物: 摂餌量・出産児数の低値、妊娠期間の延長

* F1哺育児: 生存出生率・生存率の低値

* F1雄: AGD(絶対、相対)長・血中LH濃度の高値、胸部残存乳頭・血中FSH濃度の低値、精細管変性

* F1雌: 腎臓(絶対、相対)重量・血中LH濃度の高値(ただし、下線部はF0での報告例)

(下線部は、報告例の得られた所見)

(2) 試験管内(*in vitro*)試験

実施機関	試験区分	試験結果	試験濃度範囲
環境省	ER 競合阻害	10 ⁻⁴ Mにおいて5%	10 ⁻⁹ ~ 10 ⁻⁴ M
	ER 競合阻害	10 ⁻⁵ Mにおいて5%	10 ⁻⁹ ~ 10 ⁻⁴ M
	E-screen	PC ₅₀ =3.7 × 10 ⁻⁵ M	10 ⁻⁹ ~ 10 ⁻⁴ M
	ARレポーター遺伝子(アゴニスト)	-	10 ⁻⁶ ~ 10 ⁻⁴ M
	ARレポーター遺伝子(アンタゴニスト)	IC ₅₀ =1.1 × 10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁶ ~ 10 ⁻³ M
	AR 親和性	IC ₅₀ =4.9 × 10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁶ ~ 10 ⁻³ M
	TR	-	<10 ⁻⁴ M
	TR	-	<10 ⁻⁴ M

注) IC₅₀値(標識されたホルモンと受容体との結合を50%阻害する濃度)、PC₅₀値(E2等が誘導する化学発光強度の50%の活性を誘導する濃度)、EC_{X10}値(バックグラウンド値の10倍の化学発光強度比を示す濃度)等が得られた場合はその値を記載し、得られなかった場合は最大反応値とその濃度を示した。

ただし、有意差検定を行い、有意な反応が認められなかった場合は、とした。

プロトコール概要 (オクタクロロステレン)

被験物質	被験動物名	使用動物数	投与方法	用量設定	投与量	試験方法の形式	母動物の観察項目	児動物の観察項目	備考
オクタクロロステレン	ラット Wistar Imamichi	雄 50 匹 雌 86 匹 各群 (雌) 12 匹×6 群	強制経口 コーン油 に溶解	0	1 mL/kg/day	妊娠 0 日目から 哺育 21 日目まで の期間投与を継 続。 哺育 4 日目に各 腹雌雄各 4 匹と なるよう哺育児 を無作為選抜。	一般状態 体重測定 摂餌量測定 分娩と哺育状態の観察 剖検、器官重量測定、保 存、病理組織学的検査 ☆重量測定は、下垂体、 甲状腺、胸腺、脾臓、卵 巣、子宮。剖検と保存 は、これらに脳、膈、 ☆病理組織学的検査は、 下垂体、甲状腺、胸腺、 脾臓、腎臓、副腎、卵 巣、卵巣、子宮子宮頸 部、膈、病変部位の H+E 染色標本を作成。	○分娩時と出生児の検査 (出生児数、着床痕数、 死産児数、死産児の剖検と保存、性比、体重、 外表検査)、AGD (生後 0.4 日)、体重 (生後 0、 4、7、14 日)、乳頭発現 (生後 12 日)、発育分化 検査 (耳介展開、切歯萌出、閉眼、臍開口、包 皮分離)、機能検査 (種々反射試験)、一般状態 ○生後 22 日 (3 腹の雌雄) の血中ホルモン濃度 (T3、 T4、TSH)、剖検、器官重量、組織病理学的検査 ☆重量測定は、精巣、精巢上体、卵巢、子宮 (頸 部含)。剖検および組織病理学的検査は、下垂 体、甲状腺、副腎、肝臓、腎臓、精巣、精巢 上体、精囊、凝固腺、前立腺、卵巢、卵管、 子宮、子宮頸部、膈、病変部位。 ○生後 22 日 (3 腹の雌雄) の学習能力検査 (迷路試 験)、血中ホルモン濃度測定 (LH, FSH, E2, testosterone)、剖検、器官重量測定、組織病理 学的検査 ○生後 70 日 (3 腹の雌雄) の性周期検査、血中ホル モン濃度測定、mRNA 量測定 (前立腺 AR およ び子宮 ER α と β)、剖検、器官重量測定、組織 病理学的検査 ☆重量測定は下垂体、甲状腺、副腎、肝臓、腎 臓、精巣、精巢上体、精囊、前立腺、卵巢、 子宮、肛門拳筋。他は生後 22 日と同じ。 ○10-12 日齢 (各腹の雌雄各 1 匹) の性周期検査、 生殖能力検査 (交配所要日数、交尾率、受胎率、 妊娠動物体重と一般状態観察、親動物剖検、精 子検査、帝王切開時検査)	
				2.4 12 60 300 μ g/kg/day H10 年度調 査の魚類中 最高検出値 12 μ g/kg。 50 mg/kg/day 陽性対照					

試験結果のまとめ表（案）
オクタクロロrostレン

(1) 生体内(in vivo)試験

実施機関	試験区分	μg/kg/day			備考
		2.4	12	60	
環境省	1世代試験	C F1 雌：妊娠黄体数の高値	D	C F1 雌：子宮（絶対・相対）重量の低値 P F1 雌：子宮 ER mRNA 発現量の高値	200
				C F1 雄：精巣上体（絶対・相対）重量の高値 P F1 雌：子宮 ER mRNA 発現量の高値	50 A
経済産業省	子宮増殖アッセイ ハッシュバールアッセイ				- - - - - -

注) A：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)付近で有意な所見が認められた。

B：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未満で有意な反応が認められた。

C：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)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。

D：有意な反応は認められなかった。

S：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未満で有意な反応が認められ、追加試験を実施中。

P：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)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とする。

経済産業省が行った試験結果（-：陰性、+：陽性）

< Aで認められた所見>

* F0 母動物：小葉中心性肝細胞肥大、乳腺小葉の弱い増殖、摂餌量・着床数の低値

* F1 哺育児：生存率の低値（哺育9日までに全児死亡）

* F1 雌：体重の低値

（下線部は、報告例の得られた所見）

(2) 試験管内(in vitro)試験

実施機関	試験区分	試験結果	試験濃度範囲	備考
環境省	ER 競合阻害	10 ⁻⁴ Mにおいて20%	10 ⁻¹¹ ~10 ⁻⁴ M	
	ER 競合阻害	10 ⁻⁵ Mにおいて19%	10 ⁻¹¹ ~2.2×10 ⁻⁵ M	
	E-screen	10 ⁻⁵ MにおいてE2の22%	10 ⁻¹⁰ ~10 ⁻⁵ M	
	AR レポーター(アゴニスト)	10 ⁻⁶ Mにおいて13%	10 ⁻⁶ ~10 ⁻⁴ M	10 ⁻⁵ ~10 ⁻⁴ Mにおいて細胞毒性
	AR レポーター(アンタゴニスト)	2×10 ⁻⁵ Mにおいて35%	10 ⁻⁶ ~10 ⁻⁴ M	3×10 ⁻⁵ ~10 ⁻⁴ Mにおいて細胞毒性
	AR 親和性	10 ⁻⁴ Mにおいて21%	10 ⁻⁶ ~10 ⁻³ M	
	TR	-	<2×10 ⁻⁵ M	
	TR	-	<2×10 ⁻⁵ M	

注) IC₅₀ 値(標識されたホルモンと受容体との結合を50%阻害する濃度)、PC₅₀ 値(E2等が誘導する化学発光強度の50%の活性を誘導する濃度)、EC₁₀ 値(バックグラウンド値の10倍の化学発光強度比を示す濃度)等が得られた場合はその値を記載し、得られなかった場合は最大反応値とその濃度を示した。

ただし、有意差検定を行い、有意な反応が認められなかった場合は、とした。

プロトコル概要 (フタル酸ジ-n-ブチル)

被験物質	被験動物	使用動物数	投与方法	用量設定	投与量	試験方法の形式	母動物の観察項目	児動物の観察項目	備考
フタル酸ジ-n-ブチル	ラット Wistar Imamichi	雄 60 匹 雌 100 匹 各群 (雌) 12 匹×7 群	強制経口 コーン油に 溶解	0	1 mL/kg/day	妊娠 0 日目から 哺育 21 日目まで の期間投与を継 続。 哺育 4 日目に各 腹雌雄各 5 匹と なるよう哺育児 を無作為選抜。	一般状態(臨床症状) 体重測定 摂餌量・摂水量の測定 分娩・哺育状態の観察 解剖 (着床痕数)	○哺育児 分娩日の新生児数、体重、AOD 体重 (哺育 4, 7, 14, 21 日) 発育分化の指標 (切歯萌出、眼瞼開裂、胸部残存乳頭の有無、精巣下降) 間引き児の肉眼解剖 ○離乳児 一般状態 (臨床症状)、体重測定、性成熟 (包皮反転、陰開口、性周期) ○雌雄各 1 匹/腹について 3 週齢解剖 ○雌雄各 1 匹/腹について 6 週齢解剖 ○雌雄各 1 匹/腹について 10 週齢解剖 ☆秤量および保存臓器は、脳、下垂体、甲状腺、副腎、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、精巣、精巣上体、精嚢、凝固腺、前立腺 (背葉、腹葉)、輸卵管、膨大部腺、肛門拳筋、陰茎、球海綿体筋、卵巣、子宮。必要に応じて病理組織検査。 ☆10 週齢解剖においては mRNA (子宮 ER、前立腺 AR、response gene)、血中ホルモン濃度 (E2, testosterone, FSH, LH) も定量。 ○雌 1 匹/腹について 10 週齢での交尾行動検査 (対照群雌に対する乗駕、挿入、射精、潜時。雌は交尾後 7 日目に解剖) ○雌雄各 1 匹/腹について 10 週齢での生殖能検査 (同群内交配、妊娠 21 日目に開腹。精巣上体中精子の運動性、数、奇形率)	
				250 mg/kg/day 陽性対照					

試験結果のまとめ表(案)
フタル酸ジ-n-ブチル

(1) 生体内(in vivo)試験

実施機関	試験区分	μg/kg/day					mg/kg/day				備考
		31	63	125	250	500	40	200	250	1,000	
環境省	1世代試験	F1雄：前立腺背葉(絶対・相対)重量の高値、包皮反転日の遅延、前立腺ER mRNA発現量の低値 F1雌：膈開口日数の低値	F1雄：下垂体(絶対・相対)重量の低値、前立腺背葉(絶対・相対)重量の高値	F1雌：甲状腺(絶対・相対)重量の低値	F1雄：甲状腺(絶対・相対)重量・精巣上体(絶対・相対)重量・前立腺背葉(絶対・相対)重量・陰茎(絶対・相対)重量の高値 F1雌：甲状腺(絶対・相対)重量の低値	S F1雄：下垂体(絶対・相対)重量の低値、前立腺ER mRNA発現量の低値 F1雌：膈開口日数の短縮			A		強制経口 42日間
経済産業省	子宮増殖アッセイ						-			-	皮下3日間 実施中

注) A：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)付近で有意な所見が認められた。

B：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未満で有意な反応が認められた。

C：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)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。

D：有意な反応は認められなかった。

S：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)未満で有意な反応が認められ、追加試験を実施中。

P：影響が既に認められている用量(LOEL, LOAEL)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とする。

経済産業省が行った試験結果 (-：陰性、+：陽性)

< Aで認められた所見 >

* F1 哺育児：生存率の低値

* F1 雄：AGD(絶対・相対)長・前立腺 ER mRNA 発現量の低値、生殖器及び副生殖器の欠損・低形成・萎縮

* F1 雌：体重・下垂体(絶対・相対)重量・甲状腺(絶対・相対)重量・子宮 ER mRNA 発現量・生存胎児数の低値、膈開口日の遅延

(下線部は、報告例の得られた所見)

(2) 試験管内(*in vitro*)試験

実施機関	試験区分	試験結果	試験濃度範囲
環境省	ER 競合阻害	10 ⁻⁴ Mにおいて22%	10 ⁻⁹ ~ 10 ⁻⁴ M
	ER 競合阻害	10 ⁻⁴ Mにおいて7%	10 ⁻⁹ ~ 10 ⁻⁴ M
	E-screen	-	10 ⁻⁹ ~ 10 ⁻⁴ M
	ARレポーター遺伝子(アゴニスト)	-	10 ⁻⁶ ~ 10 ⁻⁵ M
	ARレポーター遺伝子(アンタゴニスト)	-	10 ⁻⁶ ~ 10 ⁻⁵ M
	AR親和性	10 ⁻⁴ Mにおいて17%	10 ⁻⁶ ~ 10 ⁻³ M
	TR	-	<2 x 10 ⁻⁵ M
	TR	-	<2 x 10 ⁻⁵ M

注) IC₅₀値(標識されたホルモンと受容体との結合を50%阻害する濃度)、PC₅₀値(E2等が誘導する化学発光強度の50%の活性を誘導する濃度)、EC_{X10}値(バックグラウンド値の10倍の化学発光強度比を示す濃度)等が得られた場合はその値を記載し、得られなかった場合は最大反応値とその濃度を示した。

ただし、有意差検定を行い、有意な反応が認められなかった場合は、とした。

プロトコル概要 (フタル酸ジ-n-ブチル 追加試験)

被験物質	被験動物	使用動物数	投与方法	用量設定	投与量	試験方法の形式	母動物の観察項目	児動物の観察項目	備考
フタル酸ジ-n-ブチル	ラット Wistar-Hannover, SPF	A 試験 雄：40 匹 雌：70 匹 B 試験 雄：継続使用 雌：70 匹 A, B 各試験 各群 (雌) 6 匹×7 群 予め各群 8 匹 を配分、後に 6 匹を確実に 確保。	強制経口 コーン油 に溶解	0 0.031 0.063 0.125 0.25 0.5 mg/kg/day 混餌 28 日試 験の LOAEL 5ppm。	5 mL/kg/day	妊娠 0 日目から 哺育 21 日目まで の期間投与を継 続。 腹児調整は実施 せず。	一般状態(臨床症状) 体重測定 摂餌量、摂水量の測定 受胎率 出産率 妊娠期間 着床痕数 剖検、組織採取 ☆採取対象は、 <u>肝臓、 腎臓、卵巣、子宮、 臍、脳(大脳、小脳)、 脾臓、下垂体、甲状 腺、副腎、肉眼的病 変部</u>	○出生日および哺育期の検査 児数、性比、外表 ○發育分化検査 耳介展開、AGD、切歯萌出、眼瞼開裂、胸部残存乳 頭の有無、精巣下降、陰開口、包皮分離 ○反応性検査 背地走性、正方向反射、自由落下反射 ○一般状態 ○体重、摂餌量、摂水量測定 ○性周期検査 ○生殖能力に関する検査 (10 週齢) 所要交尾日数、交尾数、受胎数、受精数、交尾不成 功雌雄の剖検と病理組織学的検査 ○F1帝王切開の検査 (妊娠 14 日目) 妊娠黄体数、F ₂ 胎児の着床数、吸収胚数、生存胎児 数、生存児性比 ○精子検査 精巣中精子(数)、精巣上体尾部精子(数、運動能、 形態) ○病理学的検査 (3 週齢および生殖能検査用動物) 剖検、組織採取、器官重量測定 ☆3 週齢動物の肝臓、腎臓、精巣、精巣上体、腹葉 前立腺、精囊(含凝固腺)、陰茎(長さも) 肛門拳筋と球海綿体筋、卵巣、子宮、臍、大脳、 小脳、脾臓、胸腺、肉眼的病変部。生殖能検査用 動物については、それらに精巣上体、腹葉前立腺、 精囊、大脳、小脳、下垂体、甲状腺、副腎を追加 ○病理組織学的検査 ☆3 週齢動物の肝臓、精巣、卵巣、子宮、臍、肉眼 的病変部。生殖能検査用動物については、それら に下垂体、甲状腺、副腎を追加 ○ホルモン測定用血清の採取 (生殖能検査用動物)	下線はパイロット試験プロトコルに修正・追加した項目