

資料 3 - 1

## 哺乳類を用いた人健康への内分泌攪乱作用に関する試験結果まとめ表（案）

試験結果のまとめ表（案）に環境省及び経済産業省が実施した生体内(*in vivo*)試験及び環境省が実施した試験管内(*in vitro*)試験結果を記載した。実施中の試験については、その旨記載した。

### 生体内(*in vivo*)試験結果のとりまとめについて

環境省が実施した試験結果を「内分泌攪乱作用が疑われる物質のスクリーニング・試験法（哺乳類）評価検討会」の評価・助言に従い、以下の項目に分類し、投与量ごとに「A」<sub>1</sub>、「B」<sub>1</sub>、「C」<sub>1</sub>、「D」<sub>1</sub>、「S」<sub>1</sub>、「P」<sub>1</sub>を記載した。

「A」に分類された試験結果については、まとめ表の欄外に記載するとともに、信頼性の認められた既報告において報告されている結果については下線を付した。また、「B」<sub>1</sub>、「C」<sub>1</sub>、「S」<sub>1</sub>、「P」<sub>1</sub>に分類された試験結果については、表中に結果を記載した。

備考欄には、投与方法、投与期間について記載した。

- A：影響が既に認められている用量(LOEL, LOEL)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, LOEL)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, LOEL)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, LOEL)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, LOEL)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。

なお、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(座長：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)における審議の結果、悪影響とは考えられなかった試験結果(体重の高値等)については、統計学的に有意な反応が認められた場合においても、とりまとめに採用しなかった。

経済産業省が実施した試験結果については、同省が公表した試験結果の評価(陰性、陽性)を記載した。

### 試験管内 (*in vitro*) 試験結果のとりまとめについて

試験濃度範囲を記載し、試験結果欄には、 $IC_{50}$  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)、 $PC_{50}$  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)、又は  $Ec_{10}$  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。また、細胞毒性が認められた場合及び毒性影響と区別することが困難であった場合は、その旨、備考欄に記載した。

プロトコル概要(ビスフェノール A)

被験物質	試験機関	被験動物	使用動物数	投与方法 投与期間	用量設定	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
ビスフェノール A	株式会社 化合物安全研究所	Wistar Hannover ラット  BrlHan: WIST@Jcl (GALAS)	購入 雄 40 匹 雌 110 匹  交尾成立 母動物 各群 13 匹 ×6 群	低用量域: 混飲料水投与  妊娠 0 日～哺 育 21 日連続	0 2 10 50  250 ppb (公比 5) (予想被験物質 摂取量約 0.4、 2、10、50 μg/kg/day)  環境濃度測定結 果から試算したヒ トの推定最大暴 露量は 12 μg/kg/day である ことから、この量 に近似した 50 ppb(予想被験物 質摂取量約 10 μg/kg/day)を中 間用量とし、その 上下に 2、10 お よび 250 ppb を 設定する。	哺育児数の調整 は行わない。  離乳児は各群 6 腹の全ての F1 児を育成児とし、 残りは全て剖検 に供する。	一般状態 体重測定 体重増加量 摂餌量測定 飲水量測定 分娩および哺育行動 ☆受胎率、出産率、妊 娠期間、着床数、 分娩率  剖検 器官重量測定 ☆脳、下垂体、甲状 腺、胸腺、肝臓、腎 臓、脾臓、副腎、卵 巣、子宮 器官保存 ☆重量測定器官の 他、臍、乳腺、肉眼 的異常部位 病理組織学的検査 (必要に応じて)	各生育段階において 一般状態、体重測定、体重増加量、摂餌量測定  哺育児(0～21 日齢) 出産児数、性比、生存率、AGD(4 日齢)、身体発達 (耳介開展、切歯萌出、眼瞼開裂)、初期行動発達 (正向反射、背地走性、空中正向反射)、保存(死亡 児)  21 日齢児 剖検、血清凍結保存、前立腺・子宮凍結保存 器官重量測定 ☆脳、下垂体、甲状腺、胸腺、肝臓、脾臓、腎臓、副 腎、精巣、精巣上体、前立腺、精囊、卵巢、子宮 器官保存 ☆重量測定器官の他、臍、乳腺(右腹部)、皮膚、胸 骨、右大腿骨、脊椎、リンパ節(腸間膜、下顎)、 肉眼的異常部位 病理組織学的検査 ☆下垂体、甲状腺、胸腺、肝臓、副腎、精巣、精巣 上体、精囊、凝固線、前立腺、卵巢、子宮、臍  3～6 週齢 性成熟(包皮分離、陰開口)、性周期(陰開口日から 30 日または 3 周期)、行動観察(open field)、自発運 動量測定  10～12 週齢雌 性周期観察  12 週齢 剖検、血清凍結保存、前立腺・子宮凍結保存、器官 重量測定、器官保存、病理組織学的検査(胸腺を 除き、21 日齢児と同じ)、精子検査(精巣精子頭部 数、精巣上体精子数、運動能、形態)	
				高用量:胃ゾン デを用いる強 制経口  1%CMC-Na 水 溶液に懸濁(投 与容量 10 mL/kg)  妊娠 0 日～哺 育 20 日連続	500 mg/kg/day  混餌投与による 3 世代繁殖毒性 試験の報告か ら、確実に繁殖 への影響が現わ れると予測される 用量とする。				

哺乳類を用いた人健康への内分泌攪乱作用に関する試験結果まとめ表

試験結果のまとめ表

37. ビスフェノールA

(1) 生体内 (*in vivo*) 試験

実施機関	試験区分	用量	ppb				mg/kg/day						備考	
			2	10	50	250								
			$\mu\text{g/kg/day}$				2	20	40	50	200	500		1,000 →600
環境省	1世代試験		D	D	D	D						A*		低用量群は 飲水42日間、 最高用量群 は強制経口
経済産業省	子宮増殖アッセイ (エストロゲン様作用)						-	+			+			皮下投与 3 日間、20日齢
	ハシバネガアッセイ (アンドロゲン様作用)									-	-		-	強制経口 10 日間、去勢
	ハシバネガアッセイ (抗アンドロゲン作用)									-	-		-	
	改良28日間反復投 与毒性試験									-		+	+	強制経口 28 ~32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 (- : 陰性または有意な反応が認められなかった、+ : 陽性または有意な反応が認められた、? : 判定困難)

<\*Aで認められた所見>

\*F0 母動物 : 摂餌量・体重の低値、一般状態検査における外尿道口周囲被毛汚染個体数・腎臓相対重量の高値、体重増加量の低値または高値、全哺育児の死亡 (1/13 例 : 有意差なし)

\*F1 雄 : 精巣相対重量・精巣上体相対重量の高値

\*F1 雌 : 肝臓相対重量の低値

(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	ER $\alpha$ 競合阻害	IC <sub>50</sub> =4.0×10 <sup>-6</sup> M	10 <sup>-11</sup> ~10 <sup>-4</sup> M	
	ER $\beta$ 競合阻害	10 <sup>-4</sup> M において 35%	10 <sup>-11</sup> ~10 <sup>-4</sup> M	
	E-screen	10 <sup>-6</sup> M において E2(10 <sup>-8</sup> M)の 37%	10 <sup>-9</sup> ~10 <sup>-4</sup> M	10 <sup>-4</sup> M において細胞毒性
	AR レポーター遺伝子(アンゴニスト)	—	3.0×10 <sup>-8</sup> ~10 <sup>-4</sup> M	10 <sup>-4</sup> 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)	IC <sub>50</sub> =5.7×10 <sup>-6</sup> M	3.0×10 <sup>-8</sup> ~10 <sup>-4</sup> M	10 <sup>-4</sup> M において細胞毒性
	AR 親和性	IC <sub>50</sub> =7.3×10 <sup>-6</sup> M	10 <sup>-5</sup> ~10 <sup>-3</sup> M	
	TR $\alpha$	—	<10 <sup>-5</sup> M	
	TR $\beta$	—	<10 <sup>-5</sup> M	

注) IC<sub>50</sub> 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)、PC<sub>50</sub> 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)、EcX<sub>10</sub> 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。

プロトコール概要表 (p, p'-DDT)

被験物質名	試験機関名	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
p, p'-DDT	株式会社 日本バイオ リサーチセ ンター	Wistar Hannover ラット、 BrlHan: WIST@Jcl (GALAS)	各群 13 匹 全 6 群 計 78 匹	強制経口 投与 (溶媒: コーンオ イル)	0	1mL/kg/ day	離乳時(哺育 21 日)まで間引き は行わない。 離乳後は各腹 の児動物を各 検査に割り当 てる。	一般状態観察、 体重測定、体重 増加量、摂餌量 測定、分娩およ び哺育行動観 察、剖検、器官重 量測定(下垂体、 甲状腺、肝臓、 腎臓、副腎、卵 巣、子宮)。器 官・組織を 10% 中性緩衝ホルマ リンで保存。 血清凍結保存。	哺育期(全児/腹) 出生児数、死産児数、一般状態観察、体重 測定、AGD(4日)、乳頭発現(14日)。  21日齢児(♂2、♀2/腹) 剖検、器官重量測定(肝臓、腎臓、副腎、 精巣、精巣上部、前立腺、肛門挙筋+球海 綿体筋、卵巣、子宮)。器官組織を 10% 中 性緩衝ホルマリンで保存。前立腺凍結保 存。肝臓病理組織学的検査(♂1、♀1/腹)。  離乳から成熟まで(♂4、♀4/腹) 一般状態観察、体重測定、自発運動量測定 (♂1、♀1/腹)、膈開口、包皮分離、性周 期。  70日齢児(♂2、♀2/腹) 剖検、器官重量測定(下垂体、甲状腺、肝 臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上部、前立腺、 肛門挙筋+球海綿体筋、卵巣、子宮)。器 官・組織を 10% 中性緩衝ホルマリンで保 存。前立腺凍結保存。血清凍結保存。  交配(♂2、♀2/腹)  交配後(雌) 体重測定、妊娠 13 日剖検、胚の観察。  交配後(雄) 剖検、器官重量測定、精子検査。	
					0.2					

試験結果のまとめ表

18. p, p' -DDT

(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
			0.2	1	5	25	10	
環境省	1世代試験	D	C	D	D	A*	強制経口 42日間	
			F0母動物：摂餌量の高値					

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。

<\*Aで認められた所見>

\*F0母動物：肝臓絶対重量の高値

\*F1雄：肝臓(絶対、相対)重量・病理組織学的検査における肝臓小葉中心性の肝細胞空胞変性の出現頻度・生殖能検査における尾部奇形精子率の高値

\*F1雌：肝臓(絶対、相対)重量・病理組織学的検査における肝臓小葉中心性の肝細胞空胞変性の出現頻度の高値

(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	4.5×10 <sup>-6</sup> Mにおいて28%	10 <sup>-9</sup> ~10 <sup>-5</sup> M	
	ERβ競合阻害	4.5×10 <sup>-6</sup> Mにおいて13%	10 <sup>-9</sup> ~10 <sup>-5</sup> M	
	E-screen	10 <sup>-5</sup> MにおいてE2(10 <sup>-8</sup> M)の36%	10 <sup>-9</sup> ~10 <sup>-4</sup> M	10 <sup>-4</sup> Mにおいて細胞毒性
	ARレポーター遺伝子(73)テスト	-	3.0×10 <sup>-7</sup> ~5.0×10 <sup>-5</sup> M	
	ARレポーター遺伝子(73)テスト	IC <sub>50</sub> =1.8×10 <sup>-6</sup> M	3.0×10 <sup>-7</sup> ~5.0×10 <sup>-5</sup> M	
	AR親和性	IC <sub>50</sub> =9.5×10 <sup>-6</sup> M	10 <sup>-5</sup> ~10 <sup>-3</sup> M	
	TRα	-	<10 <sup>-6</sup> M	
TRβ	-	<10 <sup>-6</sup> M		

注) IC<sub>50</sub> 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)、PC<sub>50</sub> 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)、Ecx<sub>10</sub> 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。

プロトコル概要 (p,p'-DDD)

被験物質	試験機関	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	児動物の観察項目	備考
p, p' D D D	食品薬品安全センター	Wistar-Hannover ラット  BrlHan:WIST@Jcl(GALAS)	購入雄50匹 雌90匹  交尾成立母動物各群12匹以上 ×6群構成	強制経口	低用量群	1 mL/kg/day	哺育児数の調整は行わない  交尾は2週に分けて実施し、前半と後半で、それぞれ各群6匹以上の交尾成立動物を作出する	一般状態 体重測定 摂餌量測定 分娩・哺育状態 剖検 器官重量測定 ☆脳、下垂体、甲状腺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、卵巣、子宮 器官保存 ☆重量測定器官の他、膣、病変部  必要に応じて 病理組織学的検査	哺育児 一般観察(産児数、形態、AGD、一般状態、体重) 身体発達(耳介展開、切歯萌出、眼瞼開裂) 初期行動発達(正向反射、自由落下) 保存(死亡児、異常児)  離乳児(21日齢、半数腹の全児) 部検 器官重量測定 ☆脳、胸腺、肝臓、脾臓、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、子宮 器官保存 ☆重量測定器官の他、甲状腺、膣 病理組織学検査 ☆胸腺、肝臓、脾臓、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、子宮、膣 前立腺を凍結保存(遺伝子発現量の解析用)  離乳児(残り半数腹) 体重 性成熟観察(膣開口、包皮分離)、性周期観察 性成熟後剖検 器官重量の測定 ☆脳、下垂体、甲状腺、胸腺、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、子宮 器官保存 ☆重要測定器官の他、膣、病変部 病理組織学検査 ☆下垂体、甲状腺、副腎、肝臓、胸腺、脾臓、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、子宮、膣 精子検査(精子運動能解析装置) 血清保存(免疫学的検査用)	
				強制経口	最高用量群	1 mL/kg/day				



試験結果のまとめ表

19.  $p, p'$ -DDD

(1) 生体内 (*in vivo*) 試験

実施機関	試験区分	用量	$\mu\text{g/kg/day}$				mg/kg/day	備考
			0.2	1	5	25	300	
環境省	1世代試験		D	D	D	D	A*	強制経口 42日間

注) A: 影響が既に認められている用量 (LOEL, LOEL) 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, LOEL) 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, LOEL) 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, LOEL) 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, LOEL) 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。

<\*Aで認められた所見>

\*F0 母動物: 体重・摂餌量の低値、体重増加量の低値または高値、肝臓相対重量の高値、全哺育児の死亡 (3/15 例: 有意差なし)

\*F1 雄: 体重・耳介展開率の低値、肛門生殖突起間距離 AGD 相対長・肝臓相対重量・病理組織学的検査における肝臓門脈周囲性の空胞変性の出現頻度の高値

\*F1 雌: 体重・耳介展開率・脳絶対重量の低値、肝臓相対重量・脾臓相対重量の高値

(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 $\alpha$ 競合阻害	$2.2 \times 10^{-5}\text{M}$ において 28%	$10^{-11} \sim 2.2 \times 10^{-5}\text{M}$	
	ER $\beta$ 競合阻害	$4.5 \times 10^{-5}\text{M}$ において 14%	$10^{-11} \sim 4.5 \times 10^{-5}\text{M}$	
	E-screen	$10^{-5}\text{M}$ において E2( $10^{-8}\text{M}$ ) の 38%	$10^{-9} \sim 10^{-4}\text{M}$	$10^{-4}\text{M}$ において細胞毒性
	AR レポーター遺伝子(アゴニスト)	—	$3.0 \times 10^{-8} \sim 5.0 \times 10^{-5}\text{M}$	
	AR レポーター遺伝子(アンタゴニスト)	$\text{IC}_{50} = 2.0 \times 10^{-5}\text{M}$	$3.0 \times 10^{-8} \sim 5.0 \times 10^{-5}\text{M}$	
	AR 親和性	—	$10^{-5} \sim 10^{-3}\text{M}$	
	TR $\alpha$	—	$< 10^{-5}\text{M}$	
TR $\beta$	—	$< 10^{-5}\text{M}$		

注)  $\text{IC}_{50}$  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)、 $\text{PC}_{50}$  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)、 $\text{Ecx}_{10}$  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。