

STATE OF THE ART ASSESSMENT OF ENDOCRINE DISRUPTERS Final Report

内分泌攪乱化学物質の最新の評価方法 最終報告書

Project Contract Number

プロジェクト契約番号

070307/2009/550687/SER/D3

執筆者 : Andreas Kortenkamp, Olwenn Martin, Michael Faust, Richard Evans,
Rebecca McKinlay, Frances Orton, Erika Rosivatz

2011 年 12 月 23 日

This information was first published in English by the European Union (on the European Union's official web site 'Europa' -

(http://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/pdf/sota_edc_final_report.pdf) ©

European Union, 2011.

The Japanese Translation by Tox/NIHS, 2015, 2016.

(http://www.nihs.go.jp/edc/files/sota_edc_final_report_jpn.pdf).

Responsibility for the Japanese translation lies entirely with the Division of Cellular and Molecular Toxicology, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences.

この情報は、EUから英語により出版されたものである。日本語への翻訳に関する責任のすべては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にある。2016年3月31日

目次

0. 概要	6
1. 序論	8
1.1 委託事項、報告書の範囲	8
1.2 報告書の構成.....	10
2. 内分泌攪乱化学物質の定義.....	11
2.1 内分泌系	11
2.2 有害性.....	13
2.2.1 定義	13
2.2.2 試験法の要件.....	14
2.2.3 生態毒性作用.....	14
2.3 作用機序 (Mode of Action)	14
2.4 因果関係の証明.....	15
2.5 潜在的な内分泌攪乱化学物質および内分泌攪乱の可能性のある物質の定義.....	16
2.6 内分泌調節、内分泌活性、内分泌調節活性.....	16
3. 規制目的の試験およびスクリーニングの枠組み.....	18
3.1 OECD の概念枠組み(Conceptual Framework)	18
3.1.1 概念枠組みに関するガイダンス文書.....	21
3.1.2 新規の試験およびエンドポイントに関する詳細な総括文書	23
3.1.3 低レベルと高レベルにおける試験結果の相関	24
3.2 段階的 (Tiered) 試験戦略.....	27
4. 規制に対して有意義な科学的結論.....	29
4.1 証拠の重み付け(WoE)アプローチ	29
4.1.1 因果関係の推論の疫学的基準	29
4.1.2 毒性学的研究の品質基準.....	30
4.1.3 証拠の重み付け評価に関する ECHA ガイダンス	31
4.1.4 内分泌攪乱化学物質に対する WoE アプローチの実例.....	32
4.1.4.1 WHO/IPCS による内分泌攪乱化学物質の科学の現状の包括的評価.....	32
4.1.4.2 RPS-BKH 内分泌攪乱化学物質データベース.....	32
4.1.5 内分泌攪乱化学物質の規制に対する示唆.....	34
4.2 作用機序の証拠の評価のための概念枠組み.....	35
4.2.1 機構、作用機序、キーイベント	35
4.2.2 作用機序解析の方法.....	36
4.3 低用量効果と閾値.....	37
4.3.1 低用量への外挿に利用できる作用機序のカテゴリー	38
4.3.2 ヒト集団レベルでの閾値の非存在と既往暴露の重要性.....	39
4.4 感受性の臨界期と不可逆的効果.....	39
4.4.1 試験および規制への意義.....	40

4.5	混合物	40
4.6	毒性学的懸念の閾値	41
4.7	エンドポイント、作用機序および試験	41
4.7.1	ヒトの健康	42
4.7.1.1	生殖健康	42
4.7.1.1.1	男性生殖健康	42
4.7.1.1.2	女性生殖健康	42
4.7.1.2	ホルモン性癌	43
4.7.1.3	代謝と発達	43
4.7.2	野生動物	44
4.7.2.1	無脊椎動物	44
4.7.2.2	魚類	46
4.7.2.3	両生類	47
4.7.2.4	爬虫類	47
4.7.2.5	鳥類	48
4.7.2.6	哺乳類	49
4.8	懸念される化学物質と暴露	50
4.8.1	多塩化ビフェニル(PCB)	52
4.8.2	多塩化ジベンゾジオキシン(PCDD)および多塩化ジベンゾフラン(PCDF)	52
4.8.3	多臭化ビフェニルエーテル(PBDE)	53
4.8.4	過フッ化物(PFC)	53
4.8.5	農薬	54
4.8.5.1	ジカルボキサミド	54
4.8.5.2	アゾール系殺菌剤	55
4.8.5.3	トリアジン	56
4.8.6	重金属	56
4.8.7	ビスフェノール A	57
4.8.8	フタル酸エステル	57
4.8.9	パラベン	59
4.8.10	その他の化学物質	59
5	ヨーロッパにおける規制の枠組み	60
5.1	分類と表示	60
5.1.1	発癌性物質	60
5.1.1.1	定義とカテゴリー分類	60
5.1.1.2	十分な証拠と限定的な証拠	62
5.1.1.3	効力 (potency) の考え方の導入	63
5.1.2	生殖毒性および発生毒性物質	63
5.1.2.1	定義とカテゴリー分類	63

5.1.2.2	作用効力 (potency) に関する考慮の採用	65
5.1.3	特定標的臓器毒性 - 反復暴露(STOT-RE)	66
5.1.3.1	定義とカテゴリー分類	66
5.1.3.2	作用効力に基づくカットオフ指針値	66
5.1.4	環境危険性	68
5.2	REACH	69
5.2.1	現行の試験要件	70
5.2.1.1	STOT-RE	70
5.2.1.2	発癌性物質	71
5.2.1.3	変異原性	71
5.2.1.4	生殖発生毒性物質	73
5.2.1.5	環境毒性物質	74
5.2.2	同等の懸念と内分泌攪乱性	76
5.2.2.1	T 基準	76
5.2.2.2	CMRs	77
5.2.2.3	内分泌攪乱の特性	77
5.3.1	現行の試験要件	79
5.3.1.1	ヒト健康	79
5.3.1.2	野生動物	81
5.3.2	危険性 (Hazard) に基づくカットオフ基準	81
5.4	殺生物性製品規制	82
5.5	試験要件に関するまとめ	84
6	利害関係者および加盟国当局から提案	91
6.1	ECETOC	91
6.2	英国英国化学物質規制委員会 CRD	92
6.3	ドイツ BfR, BAuA, UBA	94
6.4	独英共同ポジションペーパー	97
6.5	フランス ANSES	97
6.6	デンマーク EPA	98
6.7	CHEM Trust	100
6.8	PAN Europe	101
6.9	主要論争点の要約	102
6.10	文献リスト	102
7	試験法の要件と判定基準：選択肢と勧告	105
7.1	内分泌攪乱作用を持つ化学物質の同定のための試験の実施 - 要件および試験戦略	106
7.1.1	PPPR における内分泌攪乱作用の試験の実施	106
7.1.1.1	一般的原則	106
7.1.1.2	ヒトおよび哺乳類に対する毒性試験における内分泌攪乱性	107

7.1.1.3	生態毒性および非哺乳類に対する毒性	107
7.1.2	REACH における内分泌攪乱作用の試験の実施	108
7.1.2.1	一般的原則	108
7.1.2.2	ヒトおよび哺乳類における内分泌攪乱性に関わるエンドポイント	108
7.1.2.3	野生動物における内分泌攪乱性に関わるエンドポイント	108
7.2	内分泌攪乱性を持つ物質の規制のための判定基準	109
7.2.1	判定基準	109
7.2.2	決定樹（デシジョンツリー）	110
7.2.3	作用効力は最終的判定基準か	112
7.2.4	規制のための各種クラス分けにおける内分泌攪乱化学物質の取り扱いの選択肢	114
7.2.4.1	STOT-RE の一部としての内分泌攪乱化学物質	114
7.2.4.2	内分泌攪乱化学物質の CMR への包含	114
7.2.4.3	独立のクラス ED としての内分泌攪乱化学物質	114
7.2.5	規制措置および更なる試験のためのカテゴリー分類とインセンティブ	114
7.3	勧告事項	115
8	研究開発の必要性	116
8.1	暴露評価と内分泌攪乱性を持つ物質の同定	116
8.2	試験法の開発	116
8.3	ヒト疫学	117
9	付録	117
9.1	内分泌攪乱に関する科学の現状の要約（付録 1）	117
9.2	内分泌攪乱化学物質の規制上の評価へのアプローチに関する専門家への諮問の要約（付録 2）	117
9.3	ヒト健康および野生動物に関わるエンドポイントによるエンドポイントと試験法の比較分析（付録 3）	117

0. 概要

この報告書は欧州委員会環境総局(European Commission, DG Environment)の競争入札により委嘱されたプロジェクト「内分泌攪乱化学物質の現状評価」(State of the Art Assessment of Endocrine Disrupters)の結果を述べるものである。

2002 年以降の研究の進捗状況を要約し、EU の主要化学品規制（たとえば Plant Protection Product Regulation, PPPR (1107/2009)、新しい Biocide Regulation、化学品規制 REACH (1907/2006) など）における内分泌攪乱化学物質の取り扱い方を精緻にまとめたものである。

過去 20 年の間に、ヒトにおける内分泌関連障害の増加傾向の証拠が強化されている。統一的な診断基準が欠けているため、疾患の年次推移を正確に記述することは困難であるが、そのような問題を克服し得た場合には好ましくない傾向が明らかに現れている。それは、正常な生殖や発達の能力に対する悪影響である。野生生物も影響を受けている明らかな証拠があり、影響が広範囲に及んでいる場合もある。

このような傾向の原因は多岐にわたるが、化学物質への暴露が関与している証拠が蓄積されつつある。しかしリスクに寄与する特定の化学物質を挙げることは容易でない。特に、暴露時点以後長時間滞留しない物質については、暴露量の測定が敏感な期間をカバーしていない限り関連性を知ることは不可能である。

ヒトおよび野生動物の内分泌障害に化学物質の暴露が寄与していることは、広範な実験的研究によって証拠立てられている。発達中の臨界期 (critical period) に暴露を受けると、不可逆的な、かつ後の段階になって初めて発現する遅発性の効果が生ずることがある。このような毒性学的性質のため、内分泌攪乱化学物質は発癌物質、変異原、生殖毒性物質、更には難分解性、生体蓄積性および有毒化学物質と同等に警戒すべき物質として扱う必要がある。

WHO/IPCS による内分泌攪乱化学物質の定義は、ヒト健康にも生態毒性の危険性およびリスク評価にも適用できるものとして一般に受け入れられている。

内分泌攪乱化学物質の同定のための国際的に合意され検証された試験方法(OECD)は一般に有用と見なされているが、これらの方法で検出できるのは既知の内分泌攪乱作用の範囲のごく一部にすぎないことも認められている。野生動物の各分類群に影響する可能性のある内分泌攪乱化学物質を同定することについてはなお相当のギャップがあり、比較的費用効率の高いスクリーニングレベルの試験で陽性の物質であっても、そこから有害作用の可能性を推論することは今までのところ不可能である。

広範囲の内分泌攪乱作用について、合意され検証された試験方法は未だに存在せず、試験法開発の基礎となるべき学術的研究モデルすら欠けている場合も多い。このため不確実性が著しく、ヒトあるいは野生動物への有害作用が見逃されている可能性がある。より良い試験方法が利用可能になるまでは、危険性およびリスクの同定には疫学的アプローチを併用せざるを得ない。

EU の化学物質規制の重要な部分に規定されている情報および試験の要件は、国際的に合意され検証された試験方法で測定し得る内分泌攪乱作用の全範囲をカバーするものではない。現在利用し得る最も高感度で適切な試験方法を用いた、生活史上の重要な臨界的段階における特別な高感受性を示すの時期をカバーする計画的暴露による試験は行われていない。

EU 加盟国およびその他の団体による内分泌攪乱化学物質の規制案を概観した結果、いくつかの共通性と一致点が見出された。物質および混合物のクラス分け・表示・包装に関する規制 No. 1272/2008(CLP)から導かれ

る作用効力基準のカットオフ値に基づいて内分泌攪乱化学物質を扱う提案には議論がある。このような値は多くの場合恣意的であり、科学的に正当化することはできない。

規制の目的で内分泌攪乱化学物質を定義するには、有害性と内分泌関連作用機序の判定基準に依拠しなければならない。加盟国やその他の ECETOC を含む団体による従前の提案に基づいて、有害作用を生ぜず内分泌関連の作用機序を示すこともない物質を排除してゆく段階的決定樹法が開発された。ヒトにも野生動物にも無関係な作用を示す物質は決定樹から排除してもよいが、証拠がない場合は関係があるものと仮定する。規制のための最終決定は証拠の重み付けを用いた物質の毒性プロファイルを考慮して行う。この「証拠の重み付け」アプローチでは、作用効力をその他の要因、たとえば重篤度や特異性、あるいは不可逆性などと共に考慮する必要があり、作用効力に基づく固定的なカットオフ値を決定的な判定基準とすることは好ましくない。データにギャップがある場合にデータの提供を促進する動機づけとなるような手順を提案した。内分泌攪乱化学物質の規制に関する決定は証拠の重みづけに基づかねばならないが、その手順は今後開発しなければならない。

知識のギャップはなお大きく、研究開発プロジェクトを通じてこれを埋めてゆかねばならない。特に内分泌攪乱化学物質の同定方法の開発は急を要する。環境およびヒト体内組織中の内分泌攪乱化学物質の全容を知るためには各分野の共同作業が必要である。

勧告した項目は以下のとおりである。

- 最近アップデートまたは改良され、検証され、国際的に承認された試験方法を PPPR および REACH に対する試験および情報要求に組み入れること
- 試験データの解釈のためのガイダンス文書を更に拡充すること
- 規制のクラスとして「内分泌攪乱化学物質」(ED)の新設を検討すること
- 「有害性」と「作用機序」を判定基準として既知の証拠の重み付けを行う手順を開発すること。両基準の重み付けは平行して行うものとし、両基準を順次適用して物質を評価対象から外すことはしない。
- 証拠の重み付けアプローチに置いては、作用効力を、先行毒性 (lead toxicity, 7.2.1 参照)、特異性、重篤度、不可逆性などの判定基準と共に考慮すること。内分泌攪乱化学物質に関しては、「作用効力」を固定的かつ決定的なカットオフ基準とすることは、純科学的な基準に基づく合意が得られる見込みがないので放棄すべきである。
- 必要なデータの生成を刺激するような規制カテゴリー（たとえば未検証の、あるいは OECD 概念枠組みに含まれない試験方法）を設けること。

1. 序論

EC の法規には、内分泌攪乱化学物質を明示的に扱っているものとして、植物保護製品規制(Plant Protection Product Regulation, PPPR) (1107/2009)、化学品規制 REACH (1907/2006)、新しい殺生物剤規制(Biocidal Product Regulation, BPR) (交渉中) の 3 つがある。

PPPR の規定によれば、ヒトに有害作用を及ぼす可能性のある、内分泌攪乱性を持つ活性物質・毒性緩和剤・共力剤は、現実的使用条件においてヒトの暴露が無視できない限り使用を認可してはならない。しかし PPPR では、この規制のために内分泌攪乱化学物質をどのように定義するかの詳細が示されておらず、そのような判定基準の策定は欧州委員会の責任として、2013 年 12 月 14 日までに草案を提示することが求められている。

REACH 規制においては、第 57 条(f) に定める高懸念物質(substances of very high concern, SVHC)に該当すると判断される内分泌攪乱化学物質は認可手続きの対象に含めることができる。2006 年の法制化当時は内分泌攪乱化学物質の影響に関する科学的知見が不十分と認められたため、欧州委員会が内分泌攪乱化学物質に関する REACH の条項 (第 138 条(7)) を 2013 年 6 月 1 日までに見直すよう要求されている。

殺生物剤規制(BPR)の条文に関する委員会と議会との交渉は終了している。この規制によれば、ヒト健康に有害な可能性のある内分泌攪乱作用を持つと考えられる物質、あるいは REACH 第 57 条(f)および第 59 条(1)によって同定された物質は、ヒトへの危険性が無視できない限り認可してはならない。欧州委員会は、内分泌攪乱性を持つ殺生物剤の同定の科学的判定基準を 2013 年 12 月 13 日までに策定することを求められている。

本報告書「内分泌攪乱化学物質の最新の評価方法」は、内分泌攪乱化学物質の判定基準を定めるための科学的基礎を提供する目的で、欧州委員会環境総局より競争入札を通じて委託されたもので、過去 10 年間の進展の結果としてのこの分野の科学の現状を述べ、内分泌攪乱化学物質に関する加盟各国の専門家、利害関係者、国際機関の見解を要約し、内分泌攪乱作用を持つ可能性のある物質の、対応する EU 規制における取り扱いの選択肢を明確化する。

1.1 委託事項、報告書の範囲

本プロジェクトの総合目的は、物質の内分泌攪乱性の分野における科学的論争の規制への妥当性を分析し、その結果を総括すること、および拡大 OECD 概念枠組みにおける異なったレベル間の関連性を特定することである。入札公募時の仕様書に示された下記の 3 つの課題が即ち本報告書の委託事項である。

課題 1：内分泌攪乱化学物質に関する学術文献の分析

2002 年に発効された WHO の報告書「内分泌攪乱化学物質の科学の現状の全体的評価」(Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors)を出発点として、最近の学術文献を検索し、妥当性のある結果を総括することが求められた。WHO 報告書に集められた知識は本報告書に収録し、かつ 2002 年当時は考慮されなかった知見を補うこととされた。

この条件に従って文献検索を実施し、EU のプロジェクト・会議録・関連の EU 科学委員会の見解から抽出した情報を追加した。

この作業の結果が「内分泌攪乱に関する科学の現状の要約」(付録 1)である。

この要約は WHO (2002)の「内分泌攪乱化学物質の科学の現状の全体的評価」の構成に従い、ヒト健康に関わるエンドポイントと野生動物に見られる影響を記述している。文献検索は WHO (2002)の報告書の刊行以後に発

表されたものを対象とした。WHO 報告書では實際上 2000 年までの文献しか考慮されていないので、発効日が 2000～2010 年である文献が主な対象となった。2010 年 12 月以後に発行された文献は原則として対象外としたが、一方でより古い文献も必要に応じて参照した。要約の対象範囲および文献の検索戦略の詳細は付録 1 に記載されている。

この要約は 2011 年 1 月に完成し、欧州委員会の関係部局に提出され、プロジェクトの以後の作業で規制に関して意味のある結果を強調するために使用された（下記課題 3 を参照）。これによって文献の再検討が必要になることは当初から明らかであり、本報告書作成時点までの学術研究を要約する作業は反復的なものにならざるを得なかった。したがって 2011 年 1 月に完成した状態での要約は予備的なものであり、プロジェクト完了に至るまでは未成品と見なされなければならない。

要約は環境総局およびその他の EU 諸機関の校閲を受け、2011 年 4 月にそのコメントが受理された。2011 年夏に欧州委員会が要約を刊行し、その結果として、欧州の化学企業の連合体である CEFIC および欧州作物保護協会(ECPA)の加盟企業が合同コメントを発表した。これらのコメントは 2011 年 9 月に公表され、また英国環境省(DEFRA)も同じく 2011 年 9 月にコメントを寄せた。

2011 年 1 月の要約は 2011 年夏を通じて拡張・修正され、その結果が本報告書の付録 1 である。ここには EC の専門家、CEPIC、ECPA、DEFRA からのコメントを参照して行った変更・追加も含まれている。

課題 2：物質の内分泌攪乱性を評価するために、いくつかの EU 加盟国、EU 内で競合関係にある主要企業、および国際団体の用いているアプローチの分析

EU 加盟国、EU 内で競合関係にある主要企業、および国際団体の内分泌攪乱化学物質の取り扱いのアプローチを収集・分析することが求められた。EC の担当官との協議により、利害関係者や NGO に属する専門家にも諮問することが合意された。

専門家への諮問はすべてインタビューにより行った。インタビューは規制のアプローチに関連する主要な問題をカバーするように計画された構造的質問票に基づいて行った。インタビューの目的は下記のとおりである。

- 現在の最新の試験法において、内分泌攪乱化学物質の同定・試験・評価・規制管理に関する EU 加盟国内の現行または計画中の活動およびアプローチをすべて考慮されていることを確認すること
- 欧州委員会への最終報告書に、加盟国の専門家が重要と考えるすべての点が適切に反映されていることを確認すること

インタビューは、予め作成し環境総局の承認を得たインタビュー指針に基づいて行った。この指針の基本的な部分は EU 加盟国の専門家とのインタビューのために作成したもので、他機関へのインタビューに際しては必要な修正を加えた。全部で 18 人の専門家に諮問を行い、その結果を本報告書の付録 2 に手順の詳細と併せて記載した。

課題 3：結論の導出と政策に関連する問題への回答

「科学の現状の要約」に基づいて規制に対して妥当性のある科学的知見を概観することが求められた。すなわち内分泌攪乱性の評価へのアプローチを集積し特に長所と短所に注目して比較・分析すること、内分泌攪乱性の同定のための試験方法の適切性・利用可能性、特に種々の内分泌攪乱機構をカバーするか否かを分析すること、OECD 概念枠組みにおける種々のレベルの関連を記述し分析することである。

課題 3 の活動の中核は、EU 規制における内分泌攪乱化学物質の扱いに関する EU 加盟国の提案の比較分析で

あった。

課題 3 の成果物は即ち本報告書である。補充試料を付録 3 に収録した。

1.2 報告書の構成

本報告書は大きく 7 部分に分かれている。

最初に内分泌攪乱化学物質の定義、および EU 規制の文脈でのその妥当性を考察する（第 2 章）。

第 3 章では、内分泌攪乱化学物質の試験に関する OECD 概念枠組みを説明し、米国・日本で開発された段階的試験法をも扱っている。

第 4 章では、内分泌攪乱化学物質の取り扱いの規制に対し妥当性のある科学的知見の要約を示し、証拠の重み付けアプローチ、作用機序評価のコンセプト、低被曝効果および閾値に関する問題、感受性の臨界期、効果の不可逆性などの問題をカバーする。内分泌攪乱性の確認に関わるエンドポイントや試験法を分析し、懸念される化学物質の概要を示す。

第 5 章は現行の欧州の規制枠組みにおける内分泌攪乱化学物質の扱いの概観であり、3 種の規制、クラス分けと表示、REACH と PPPR が主な主題である。

PPPR と REACH の枠組みで内分泌攪乱化学物質を扱うための EU 加盟各国当局による提案を第 6 章で説明し分析する。

第 7 章では、内分泌攪乱化学物質の扱い、特にスクリーニングおよび試験の戦略に関する選択肢と勧告事項を、規制の意味における内分泌攪乱化学物質の判定基準の形で概観する。

最後に、内分泌攪乱化学物質の分野の研究開発の必要性を考察し、特に規制の文脈に直接役立つ研究を強調する（第 8 章）。

第 9 章は 3 つの付録であり、付録 1 に内分泌攪乱に関する科学の現状の要約、付録 2 に専門家への諮問の要約、付録 3 に規制に対し妥当性のある知見に関する追加情報を収録した。

2. 内分泌攪乱化学物質の定義

WHO/IPCSによる定義¹⁾は「内分泌攪乱化学物質に関するECの戦略」²⁾において「実務的」定義とされ、本プロジェクトの課題2に関連して諮問を受けた加盟国の専門家に、ヒト健康と生態毒性学的危険性およびリスク評価との両方に適用できるトップレベルの定義として総体的に受け入れられている（付録2参照）。

「内分泌攪乱化学物質とは、健全な生物個体またはその子孫または（亜）集団の内分泌系の機能を変化させることにより、その健康に有害な影響を及ぼす外因性物質またはそれらの混合物をいう」

この定義には、内分泌攪乱化学物質の規制に関する重要な意義について解釈の余地があることから、「内分泌攪乱に関する科学の現状の要約」（付録1）において、また諮問を受けた専門家によって（付録2）強調されている規制上の意義について本章で更に検討を加える。ある物質を内分泌攪乱化学物質と定義するためには、明らかに2つの条件、すなわち有害作用と内分泌攪乱の作用機序の証明とが必要である。またこの定義には、観察された有害作用と内分泌攪乱の作用機序との因果関係の証明が必然的に含まれる。

2.1 内分泌系

WHO/IPCSの定義は、それ自体としては内分泌系を定義しておらず、これが内分泌攪乱の範囲が文献によって異なる原因となっている。内分泌攪乱の概念が最初に発展したのは、環境中の化学物質の中に性ホルモンであるエストロゲンとアンドロゲンの作用を模倣するものがあることが見出されたときであったが、その後拡大されて内分泌腺から血液中に直接分泌される多くのホルモンや、その受容体、輸送タンパク質、関連する酵素などが関係する種々の機構を包含するに至った。内分泌腺には下垂体、甲状腺、副腎のほか腎臓・肝臓・心臓・生殖腺の一部が含まれ、相互に順次交信することで内分泌軸を形成する。

内分泌軸としては、視床下部－下垂体－生殖腺(HPG)軸、視床下部－下垂体－副腎(HPA)軸、視床下部－下垂体－甲状腺(HPT)軸の3つが重要である。古典的な内分泌学の視点からは、内分泌系も内分泌攪乱も、一つの内分泌軸の内部で起こると考えられる。しかし受容体の情報伝達や分子生物学の知識の進歩に伴って神経系・免疫系・内分泌系の境界線は次第に曖昧になっている。受容体情報伝達に関する現在の知識は「内分泌攪乱に関する科学の現状の要約」（3.1章、付録1）に概観されている。シグナル伝達に関する次のような知見が、内分泌系の定義に曖昧さが生ずる原因の一部である。

- 同じホルモンまたは化学的メッセンジャーが「古典的」内分泌による遠隔組織への情報伝達と共に、傍分泌または自己分泌による局所的調節、更には神経伝達にも関与する場合がある。興味ある実例としてアセチルコリンがある。アセチルコリンの神経伝達物質としての役割は十分確認されているが、傍分泌または自己分泌的な非神経伝達物質として働くこと、および非神経細胞と内分泌ホルモン・成長因子・サイトカインおよび神経系との相互作用を媒介することを示す証拠も存在する。更にある種の植物ではアセチルコリンが光の生物学的効果を媒介している。³

¹ International Programme on Chemical Safety. 2002. Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

² Commission of the European Communities. 1999. Community Strategy for Endocrine Disruptors. COM(1999)706. Brussels, Belgium.

³ Grando SA, Kawashima K, Kirkpatrick CJ, Wessler I. 2007. Recent progress in understanding the non-neuronal cholinergic system in humans. Life Sciences 80(24-25): 2181-2185.

- 「古典的」ホルモンの作用が核内受容体だけでなく膜受容体によっても媒介されることが見出されている。そのような膜受容体としては G タンパク質共役受容体(リガンドはカテコールアミン、プロスタグランジン、副腎皮質ホルモン、グルカゴン、副甲状腺ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、黄体形成ホルモンなど)、サイトカイン受容体(リガンドは腫瘍壊死因子 α 、成長ホルモン、レプチンなど)、固有の酵素活性を有する受容体(リガンドはインスリン、上皮成長因子、心房性ナトリウム利尿ペプチド、形質転換成長因子 B など)、リガンド制御輸送体(リガンドはアセチルコリンなど)が挙げられる。このような細胞表面の受容体は高速シグナル伝達に関与しており、このことが内分泌攪乱に関連することは、たとえば遺伝子の発現を制御する古典的な遺伝応答に対して種々の作用効力を持つ外因性エストロゲンがエストラジオールの迅速効果を攪乱することが示されていることから明らかである。現在ではすべてのステロイドホルモンに対して迅速効果が生ずることが確認されている。ステロイドの迅速効果は環境化学物質による攪乱に敏感であるが、この効果は OECD の試験枠組みで利用できる試験法では通常測定されない(下記 3 項を参照)。
- 受容器と結合した後のリガンドの効果は多様であり、作用物質とも拮抗物質ともなり得るし、逆作用物質・部分的作用物質または拮抗物質・作用物質と拮抗物質の混合物として、あるいは調節因子として働く可能性がある。それらの効果はリガンドの性質だけでなく組織の種類や活性化状態によっても異なる。
- 核内受容体の活性化が、作用物質としてのリガンドとの結合によらず、二次情報伝達系によって起こることがある。内分泌系での例としては、複数の細胞内作用におけるエストロゲン受容体のリガンドに依存しない活性化、雄性に典型的な脳や行動の性分化、雌性の性行動におけるプロゲステロン受容体の役割などがある。リガンドに依存しない活性化は多重シグナル伝達経路の統合や化学的調節の機会を増すことにもなる。すなわちリガンドの結合していない状態で機能を持つ受容体は、リガンドによってその活性化の生理的な役割が変化するために、機能を攪乱されることになる。このようなリガンド依存性を考察することで、共役リガンドを持たずリガンドと結合していない受容体として働く、いわゆる「オーファン受容体」の役割が示唆される。たとえばアリル炭化水素受容体は既知のリガンドが存在しない状態で重要な生理学的役割を演ずることが知られている。

したがって内分泌系ないし内分泌シグナル伝達については、内分泌系の古典的定義から受容体の介在するシグナル伝達すべてを包含する定義まで様々の理解が可能である。今ひとつ環境毒性の観点から提起される重要な問題は、「内分泌系」という語を脊椎動物のホルモン系という極めて狭い意味に解すべきか、それとも無脊椎動物や微生物、植物まで含むものとすべきかである。この問題は何人かの加盟国の専門家がインタビューにおいて農薬・殺生物剤の規制の文脈で極めて重要な影響を持つことが指摘された。なぜならばある種の除草剤(植物成長調節剤)は植物体のシグナル伝達を攪乱することで雑草を駆除しようとしているからである(付録 2)。

2.2 有害性

有害性はWHO/IPCSの定義における重要な概念の一つであり、単なる内分泌調節物質（内分泌系のホメオスタシスに適応的な可逆的応答を惹き起こすもの）と内分泌攪乱化学物質とを区別する主要な判定基準である。

2.2.1 定義

このためWHO/IPCSの定義には「健康に有害な影響を及ぼす」との文言があり、ここから内分泌攪乱に関連して「有害性」(adversity)とは何を意味するかを注意深く定義する必要があるが出てくる。WHO/IPCSは「有害性」をも定義しており¹、その定義はドイツ連邦リスク評価研究所(BfR)が2009年11月にベルリンで開催したワークショップ(Federal Institute for Risk Assessment, 2009)において内分泌攪乱化学物質に適用された²。このワークショップでは生殖に対する影響に関して、更に次のように規定された。

「機能的能力、即ち、余分なストレスや他の環境由来の有害影響に対する感受性の増加を打ち消す能力を損なう結果となるような生物個体の形態・生理・成長・生殖・発達または寿命の変化」

ある特徴を持つ化学物質を規制の対象とするには、その特徴（ここでは内分泌攪乱性）を科学的に妥当な形で定義することが不可欠であるが、その定義を実際の規制においてどう適用するかについてはなお別の努力が必要である。特に、特定の試験結果を、証拠の確実さの度合いを反映したカテゴリーに変換するための基準が求められる。そのような基準は内分泌攪乱化学物質の定義から直接導出されるわけではなく、また有害性の定義から規制方法を直接導くこともできないことに注意しなければならない。このことから、内分泌攪乱化学物質を定義することと、この定義を実際の規制に適用することとを区別するのが適当である。たとえば「余分なストレスや他の環境由来の有害影響に対する感受性の増加を打ち消す能力」の評価に必要な追加的試験の要請は、内分泌攪乱化学物質の（科学的）定義の埒外にある因子の一つである。このような因子は、試験を行う際に要求されるよく管理された実験条件や動物福祉への配慮と対立する可能性がある。また、もう一つの問題は、内分泌攪乱化学物質による有害作用が他の作用機序による有害作用とは異なった規制上のアプローチを必要とするかどうかである。

¹ International Programme on Chemical Safety. 2004. IPCS Risk Assessment Terminology. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

² Federal Institute for Risk Assessment. 2009. Establishment of assessment and decision criteria in human health risk assessment for substances with endocrine disrupting properties under the EU plant protection product regulation - Report of a Workshop hosted at the German Federal Institute for Risk Assessment (BfR) in Berlin, Germany, from Nov. 11th till Nov. 13th 2009. Berlin.

最後に、WHO/IPCSの定義に内在する難点は、それが記述的（発癌物質の定義のように）でなく、作用機序と強く結びついていることである。諮問を受けた加盟国の専門家の何人かは、規制は作用機序でなく試験の結果に基づくべきであること、内分泌攪乱化学物質に関係づけられている有害作用は発癌物質や生殖毒性物質と重なっていることを指摘した（付録2）。しかし作用機序に基づく規制の先例として変異原性物質がある。変異原性の証拠が発癌物質の遺伝毒性の有無の区別に用いられており、遺伝毒性の場合は無閾値効果が仮定され、導出無毒性量(DNEL)の算出は行わない¹。

2.2.2 試験法の要件

WHO/IPCS の定義に従えば、健全な生物体に有害作用が認められなければならない。このことは規制上の要件としては、*in vivo* 試験の結果が陽性であることと解するほかはない。したがって反復または長期的暴露の試験計画が必要になり、特に精巣または卵巣を切除した実験動物による簡易なスクリーニング試験は排除されることになる。

古典的な毒性試験によって有害作用の十分な証拠が得られると主張する専門家もあるが、反対論もあり、その論拠は、内分泌攪乱化学物質について懸念されるのが、発達の臨界期における暴露以後に複数の標的器官または組織に及ぶ遅発性かつ不可逆的な効果であることである（付録2）。そのような臨界期の存在の証拠や、各種の標準的な毒性試験の暴露計画に発達の適切な期間が含まれるかどうかについては、4.7 章で更に検討する。

また効果が暴露された動物の子孫に至って初めて現れる場合もあるので、2 世代以上にわたる暴露試験が必要になる可能性がある。これによる費用負担はかなり大きなものになるであろうが、その問題は試験に対する科学的要求とは別に考えるべきであり、学術的論議には含まれない。

2.2.3 生態毒性作用

WHO/IPCS の定義は当初ヒト健康に対する影響を考慮して作成されたことは明らかであるが、「健康への有害な影響」を「（亜）集団」にまで拡張することで生態学的標的の保護にも適用できると一般に考えられている（付録2）。生物多様性の維持ないし促進に関する立法では、有害作用を個体についてでなく個体群について示す必要がある。このことから生態学的文脈において有害性の概念をどのように考えるかが問題になる。実験室的な試験では一般に、1 つの種の生存、成長、発達、生殖に対する影響が、野生動物の個体数維持に関わる生態学に意味があると見なされる。また行動や天然のストレスに対する感受性の増大など、より微妙なエンドポイントも妥当性のある有害作用に含まれる可能性がある（付録2）。

「内分泌系」の解釈に関して、これを脊椎動物のホルモン系に限定するか、植物・微生物・無脊椎動物を含めるかの問題も、諮問を受けた加盟国の専門家から提起された。このことは植物の内分泌系または有害生物を標的とし、標的以外の生物に許容できないリスクを及ぼす可能性のある農薬や殺生物剤の規制に重要な意味を持つ。

2.3 作用機序（Mode of Action）

WHO/IPCS の定義においては、どの作用機序が「内分泌系の機能を変化させる」と考えるべきかの解釈は必ずしも明確でないが、エストロゲン性/抗エストロゲン性、アンドロゲン性/抗アンドロゲン性、および甲状腺障害以外の作用機序の証拠は OECD 概念枠組みに現在記載されている試験法では十分に扱えないことは一般

¹ European Chemicals Agency. 2007. Guidance for the preparation of an Annex XV dossier on the identification of substances of very high concern. ECHA. Helsinki, Finland.

に認められている。3.1章において、OECDによる「内分泌攪乱化学物質評価のための新規なin vitroおよびin vivoスクリーニングおよび試験法とエンドポイントの科学の現況に関する詳細展望」について更に検討する。

この定義はまた、間接的な内分泌毒性すなわち内分泌機能への影響が他の器官あるいは系統における明白な毒性に対して二次的に認められる効果を対象とするかどうかを明示していない。このことは内分泌攪乱が他の毒性機構よりも低い用量で起こることを示す「特異性」あるいは「先行毒性」に関連する。先行毒性の概念は、WHO/IPCSの定義に明示されている混合物の規制と無関係ではない。これを積極的に評価する向きもあるが、ある専門家は、この概念はクラス分けと表示のみに意味があり、物質指向の規制には関係がないと主張した。しかしCLP規制における混合物は意図的な混合物のみを意味しており、環境的暴露の特徴である非意図的な混合物を考慮していない。同時に複数の物質に暴露されることによる累積的リスクの評価のための分類は目下論議の対象となっている。

同じく注意すべきこととして、ある物質の作用機序が一通りとは限らず、また有害作用を発現させる作用機序が暴露の時期（発達の臨界期）や生物体の内分泌系の状態（年齢、性別に関係する）によって異なる可能性もある。

2.4 因果関係の証明

WHO/IPCSの定義の「…（変化）させることにより（…影響を）生ずる」との文言は、内分泌系の機能の変化と有害作用との間の関係について詳細な情報を要求する意味であると解釈されている。この定義では証明の水準が高すぎて規制の場での有用性が損なわれる虞があり、その含意を制限的に使用すれば規制の実効が妨げられる可能性があるとの懸念が表明されている¹。

内分泌攪乱化学物質の試験・評価・管理に関するOECD諸国のワークショップ²において、WHO/IPCSの定義を改訂して有害作用の代わりに上流側の事象を考慮する案が検討されたが、合意には至らなかった。これに関する専門家の見解としては、新たな毒性学的方法を考慮する可能性が開けたとするものと、国際レベルでの多年にわたる検討の結果合意された定義を現段階では変更すべきではないとするものがある。またEUの現行規制で用いられている「内分泌攪乱性」の語をWHO/IPCSの定義と同義に解することは不適當であるとの指摘もある。

内分泌攪乱性が疑われる物質の大部分については、因果関係を確証するような有害作用の経路またはキーイベントの分析に必要な情報が得られる可能性は極めて乏しい。更に内分泌系の攪乱の結果が効果の複雑なパターンである可能性も問題を複雑にしている。しかしながらエストロゲンやアンドロゲンのようなモデル化合物の作用のフィンガープリントは十分に特定されている。化学的カテゴリーの形成における機構的情報の利用に関して最近開催されたOECDワークショップ³で示唆されたように、化学物質のカテゴリー分類に生物活性または上流側の事象を利用することは可能であろう。コンピュータによる、あるいは高スループットのスクリーニングの利用

CHEMTrust. 2011. CHEM Trust's Contribution to the Ongoing Debate on Criteria for EDCs. United Kingdom.

¹ Danish Centre on Endocrine Disrupters. 2011. Report on Criteria for Endocrine disrupters. Copenhagen, Denmark.

² Organisation for Economic Co-operation and Development. 2009. Workshop Report on OECD Countries Activities regarding testing, assessment and management of endocrine disrupters. Advisory Group on Endocrine Disrupters Testing and Assessment (EDTA) of the Test Guidelines Programme (ed.). Copenhagen, Denmark.

³ Organisation for Economic Cooperation and Development. 2011. Report of the Workshop on Using Mechanistic Information in Forming Chemical Categories. Series on Testing and Assessment No. 138. Paris, France.

を促進するような動きは米国にも見られ¹、実験動物の必要個体数に関する倫理的な考慮や、上記のような高水準の証明に必要となる莫大なコストにも関連する。動物個体数に関しては、標準的な試験方法の統計的信頼度や、生殖管奇形のような比較的稀な事象の検出力に関連する疑問も提起されている（3.2 章参照）。

この文脈において考慮に値するのは、**REACH**（化学物質の登録・評価・認可・制限に関する規制(EC) No 1907/2006）において、内分泌攪乱性を持つ物質が認可を必要とする高懸念物質(SVHC)に指定されるためには、重大な結果を惹き起こす虞がある(cause probable serious effects)ことが必要としていることである。また **PPPR**（植物保護製品の市販に関する規制(EC) No 1107/2009）では、ある化学物質の農薬としての利用の認可を拒絶するためには、有害作用の可能性がある(may cause adverse effects)ことの十分な証拠が必要としている。このことからして WHO/IPCS の定義ほど明確でない有害性であっても REACH や PPPR の規定を満たし、多少の不確実性はあるとしても REACH によって EDC SVHC に指定され、あるいは PPPR によって認可を拒絶し得るかどうかは解釈の問題である。

いずれにせよ WHO/IPCS の定義はこのような法律上の微妙な点を考慮していないし、そもそもそれを目的としたものでないことを理解することが重要である。この定義はむしろ、科学的観点から問題にアプローチするものであり、科学において用いられるような極めて厳格なレベルでの証明を必要とする。

これらの（科学的）判定基準を規制の場面に直接適用することは不可能であり、「重大な結果の虞」の意味を実務的なものにするためには更に考察を加えなければならない。

2.5 潜在的な内分泌攪乱化学物質および内分泌攪乱の可能性のある物質の定義

WHO/IPCS の定義に並んで、潜在的な内分泌攪乱化学物質(potential endocrine disruptor)の定義も与えられている。

「潜在的な内分泌攪乱化学物質とは、健全な生物またはその子孫または（亜）集団の内分泌系を攪乱すると考えられる性質を有する外因性物質または混合物をいう」

最近の動向として、2011 年 4 月の OECD EDTA 会議²において内分泌攪乱の可能性のある物質(possible endocrine disruptor)の定義が導入された。

「内分泌攪乱の可能性のある物質とは、内分泌系の機能を変化させ得るが、その変化が健全な生物に有害作用を及ぼす可能性についての確実な情報がない物質をいう」

内分泌機構に関する既存の証拠が in silico/in vitro のデータから、多世代試験によっても有害作用の証拠の得られない in vivo スクリーニング試験まで多岐にわたっていることに対応して、潜在的な内分泌攪乱化学物質の定義は更に細分化された。

結論として、WHO/IPCS による定義は内分泌攪乱化学物質の取り扱いにおいて有用な基礎となり得るものと広く認められている。しかしながらこの定義を規制の目的に適用することは、定義の精密化とは別に考えなければならない、更に考察を加える必要がある。

2.6 内分泌調節、内分泌活性、内分泌調節活性

ステロイド受容体と相互作用する（内分泌活性）ことが知られている化学物質は少なくないが、それが有害作

¹ National Research Council. 2008. Science and Decisions: Advancing Risk Assessment. Washington D.C., United States.

² Organisation for Economic Cooperation and Development. 2011. Draft Summary Record of the Second Meeting of the Advisory Group on Endocrine Disrupter Testing and Assessment. OECD Paris, France.

用を惹き起こすかどうかは明らかでないことが多い。有害性と結びつく「内分泌攪乱」と区別するために「内分泌調節」「内分泌活性」「内分泌調節活性」などの語が用いられる。

これらの語の定義として一般的に合意されたものはない。「内分泌調節」(endocrine modulation)は内分泌系の主要な特徴、すなわち外部からの影響にフィードバック機構で応答し、化学物質による攪乱を補償する能力に注目した語である。EFSA科学委員会は毒性懸念閾値(thresholds of toxicological concern, TTC)の概念の内分泌調節物質への適用に関する意見書草案¹において、「高レベルの補償的フィードバックを特徴とする内分泌系のホメオスタシスの可塑性」を強調し、次のように述べている。「身体は内分泌系の暴露に対してまず適応的ホメオスタシス機構で対処する。ホメオスタシスの限界内で暴露を制御できなくなったときに有害性の閾値が超えられたことになる。これによって起こる有害作用が屡々内分泌攪乱と呼ばれるものである。内分泌攪乱に関連する毒性は特に注目すべき特徴を呈することがある（たとえば長期の発達プログラムの感受性の増大）」

身体が内分泌系の暴露に対してまず適応的ホメオスタシス機構で対処するという見方は、暴露が高感受性期に生じた場合には必ずしも適用できない。「有害性の閾値」を超える点は市場は定義されていない。

¹ EFSA Scientific Committee 2011, Draft Scientific Opinion on exploring options for providing preliminary advice about possible human health risks based on the concept of Thresholds of Toxicological Concern (TTC), Draft Scientific Opinion endorsed for public consultation.

3. 規制目的の試験およびスクリーニングの枠組み

3.1 OECD の概念枠組み(Conceptual Framework)

OECD は加盟国および産業諮問委員会(Business and Industry Advisory Committee, BIAC)の要請に従って、内分泌活性物質の試験と評価のためのアプローチに国による実質的な差異がないことを確実にするため、内分泌攪乱化学物質の試験と評価に関する特別行動計画(Special Activity on Endocrine Disrupter Testing and Assessment, EDTA)を 1996 年に発足させた。

OECD概念枠組みは、潜在的な内分泌攪乱化学物質の試験と評価を支援するために策定されたもので、既存物質にも新規物質にも、また医薬・農薬・工業用化学品など各分野を通じて適用できるように考えられている。策定に際しては、質問票を用いて集められた加盟国の見解が考慮された。重視されたものとしては、OECDの性ホルモン攪乱物質の試験方法の評価¹、米国EPAの内分泌攪乱化学物質のスクリーニングおよび試験諮問委員会(EDSTAC)など各国の活動の一環として開発・提案された試験方法、日本の研究活動、欧州化学工業会(CEFIC)その他の業界の活動などがある。

最初の枠組みはOECD加盟国の見解を反映させるためのEDTAタスクフォースの会合で改訂された。最終版の概念枠組みを表 1 に示す。5 つのレベルに分かれているが、これは段階的な試験戦略として用いることを想定したものではなく、物質の潜在的な内分泌攪乱作用の危険性に関して得られる情報の相違を示すための便宜的な分類である。レベル 1 は既存のデータに関わり、本報告の範囲外である優先順位付けに属するものと考えてよい。2009 年 9 月 22～24 日にコペンハーゲンで開催された「内分泌攪乱化学物質の試験・評価・管理に関するOECD 諸国の活動」ワークショップ²は、化学物質の内分泌攪乱性の評価に関するガイダンス文書をEDTA AGが作成するよう勧告した。EDTA AGは 2010 年 5 月 17～18 日の会合でこれを承認した。ガイダンス文書は現在公開されている³。本章ではガイダンス文書の目的と構成原則を簡単に述べる。

¹ Organisation for Economic Cooperation and Development. 2002. Appraisal of Test Methods for Sex Hormone Disrupting Chemicals. OECD Series on Testing and Assessment No. 21. Paris, France.

² Organisation for Economic Co-operation and Development. 2009. Workshop Report on OECD Countries Activities regarding testing, assessment and management of endocrine disrupters. EDTA. Copenhagen, Denmark.

³ Organisation for Economic Cooperation and Development. 2011. Guidance Document on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption - Version 11. OECD. Paris, France.

表 1：ガイダンス文書草案に収録された OECD 概念枠組み。以後 TG 456, TG 234, TG 443 が採用されていることに注意

哺乳類および非哺乳類の毒性学		
レベル 1 既存データおよび試験 以外の情報		● 物理的・化学的性質（分子量、反応性、揮発性、生分解性など） ● 標準的および非標準的試験で得られた（生態）毒性データすべて ● リードアクロス、化学的カテゴリー、QSAR およびその他の in silico 予測、ADME モデルによる予測
レベル 2 いくつかの内分泌機構/ 経路のデータを提供す る in vitro 試験 （哺乳類用・非哺乳類用 試験法）		● エストロゲンまたはアンドロゲン受容体との親和性 ● エストロゲン受容体の転写活性化(TG 455) ● アンドロゲンまたは甲状腺の転写活性化（TG がある場合） ● In vitro でのステロイド合成 ● MCF-7 細胞増殖試験（ER 作動/抗作用物質） ● その他必要な試験
	哺乳類毒性学	非哺乳類毒性学
レベル 3 いくつかの内分泌機構/ 経路のデータを提供す る in vivo 試験	● 子宮肥大試験(TG 440) ● Hershberger 試験(TG 441)	●アフリカツメガエル胚甲状腺シグナル伝達試験（TG がある場合） ●両生類変態試験(TG 231) ●魚類生殖スクリーニング試験(TG 229) ●魚類スクリーニング試験(TG 230) ●雄性化雌トゲウオによるスクリーニング(GD 140)
レベル 4 内分泌関連エンドポイントへの有害作用のデータを提供する in vivo 試験	● 反復投与 28 日試験(TG 407) ● 反復投与 90 日試験(TG 408) ● 1 世代試験(TG 415) ● 雄思春期試験（GD 150 [当 GD] C4.3 章参照）⁽³⁾ ● 雌思春期試験（GD 150 [当 GD] C4.4 章参照）⁽³⁾ ● 無傷成熟雄による内分泌系スクリーニング試験(TG 414) ● 出生前発達毒性試験(TG 414) ● 慢性毒性・発癌性試験(TG 451-3) ● 生殖スクリーニング試験(TG	● 魚類性的発達試験（TG 234 案） ● 魚類生殖部分ライフサイクル試験（TG がある場合） ● 両生類幼生成長・発達試験（TG がある場合） ● 鳥類生殖試験(TG 206) ● 軟体動物部分ライフサイクル試験（TG がある場合）⁽⁴⁾ ● ユスリカ毒性試験(TG 218～219)⁽⁴⁾

	421 強化版) ● 28 日/生殖組み合わせスクリーニング試験 (TG 422 強化版) ● 発達神経毒性(TG 426)	
レベル 5 より長いライフサイクルにわたり内分泌関連エンドポイントへの有害作用に関する一層包括的なデータを提供する in vivo 試験	● 延長 1 世代生殖毒性試験 (TG 443 案) ● 2 世代試験 (TG 416 最新版)	● FLCTT (魚類ライフサイクル毒性試験) (TG がある場合) ● メダカ多世代試験(MMGTT) (TG がある場合) ● 鳥類 2 世代生殖毒性試験 (TG がある場合) ● アミライフサイクル毒性試験 (TG がある場合) ⁽⁴⁾ ● カイアシ類生殖・発達試験 (TG がある場合) ⁽⁴⁾ ● 堆積物内水中ユスリカのライフサイクル毒性試験(TG 233) ⁽⁴⁾ ● 軟体動物全ライフサイクル試験 (TG がある場合) ⁽⁴⁾ ● ミジンコ生殖試験 (雄性誘導を伴う) (TG 211) ⁽⁴⁾ ● ミジンコ多世代試験 (TG がある場合) ⁽⁴⁾

- (1) 試験法によっては有害作用の証拠が得られることもある。
- (2) 効果が複数の機序に敏感で内分泌攪乱以外の原因による可能性もある。
- (3) 用いたガイドラインまたはプロトコルによっては、試験において物質がホルモン系と相互作用する可能性があっても、その物質の使用によりヒトまたは生態系に有害作用が生ずるとは必ずしも言えない。
- (4) 現状では、利用できる無脊椎動物の試験は内分泌攪乱化学物質にもそれ以外の物質にも応答し得る最終的 (apical) エンドポイントのみを扱っている。レベル 4 の試験は部分ライフサイクル試験、レベル 5 の試験は全ライフサイクルまたは複数ライフサイクル試験である。

OECD 概念枠組み改訂版への注記

- 注 1：既存情報の性質、試験・評価のニーズに応じて、すべてのレベルで開始・中止が可能である。
- 注 2：各物質の評価は、利用できる情報をすべて考慮し、枠組みのレベルを念頭に置いて個別に行うべきである。
- 注 3：この枠組みは現時点ではすべてを尽くしているものではない。レベル 2～5 には利用できる方法もバリデーション途上の方法も含まれており、後者は暫定的に収録したものである。

3.1.1 概念枠組みに関するガイダンス文書

ガイダンス文書は、内分泌攪乱性に関するスクリーニングを通過した物質の有害性特定に関連する規制上の決定を支援する目的で作成されている。規制上の決定がなされる文脈は加盟国ごとに異なり、また試験される物質の用途によっても異なるので、概念枠組みでは結果の解釈について柔軟なアプローチを採用している。ガイダンス文書には、特定の試験結果や利用可能な証拠に対して、いくつかのシナリオが記載されており、その各々に対して、物質が内分泌攪乱化学物質であるか否かの証拠を増やすために必要がある場合には次に行うべき試験が推奨されている。

考えられるシナリオは無数にあり、ガイダンスが作成されているのは一部の試験にすぎない。考慮されているのは内分泌攪乱性の検出可能性に関してバリデーションが終了したもの、または予定されているものである。ガイダンス作成済みの試験法は付録3に掲載されている。またガイダンス文書の対象はOECD概念枠組みに含まれるモダリティと同一、すなわちエストロゲン受容体、アンドロゲン受容体または甲状腺ホルモン受容体により媒介されるもの、およびステロイド産生障害である。

視床下部－下垂体－副腎軸、アリル炭化水素受容体(AhR)経路、および神経内分泌系発達に対する影響は枠組みに含まれていないためガイダンスも作成されない。また *in vitro* の機構試験や *in vivo* のスクリーニングおよび試験はヒトまたは野生脊椎動物に関するエンドポイントをカバーするもので、無脊椎動物に対する試験ガイドラインの結果は含まれていない。これは現状では無脊椎動物の大部分については内分泌の知識が不十分であり、また明らかに内分泌攪乱に関するスクリーニングのエンドポイントが知られていないためである。

レベル2：いくつかの内分泌機構/経路のデータを提供する *in vitro* 試験

レベル2に収められた*in vitro*スクリーニング試験は特定の作用機序に関する定性的な情報を提供するものである。エストロゲンまたはアンドロゲン受容体との結合を検出するための試験法、およびステロイド産生の攪乱を検出できる試験法のいくつかはバリデーション済みである。これらの試験法は偽陰性よりも偽陽性に偏りを示すが、これは偽陰性のリスクを避けるためである。エストロゲンまたはアンドロゲン性の作用機序に関しては一般に*in vitro*試験と*in vivo*試験（レベル3）との間に良好な相関がある（下記をも参照）。*In vitro*試験における偽陰性（または偽陽性）の原因の一つは代謝系が存在しないことにあると考えられる。これらの*in vitro*スクリーニングの適用範囲を拡大する目的で、代謝系を含めることを詳細に検討した報告書¹もあるが、細胞毒性の懸念があるため、そうした代謝系はバリデーションがなされておらず、一般に使用されてもいない。一つの解決策はレベル2の試験に先立って*in vitro*の代謝試験を行うことであろうが、*in vitro*での異物代謝酵素の相対的活性は、補因子の利用可能性、酵素の安定性あるいは細胞内コンパートメントの消失などのため、*in vivo*での活性とはなお異なる。

レベル3：いくつかの内分泌機構/経路のデータを提供する *in vivo* 試験

このレベルの試験は、物質が *in vivo* においてエストロゲン受容体、アンドロゲン受容体および甲状腺ホルモン受容体に媒介されるモダリティと相互作用する能力について、スクリーニングを行うためのものである。甲状腺ホルモンのヨウ素化の阻害やステロイド産生阻害などの受容体を介さないモダリティにも検出されるものがある。

¹ Organisation for Economic Cooperation and Development . 2008. Detailed Review Paper on the Use of Metabolising Systems for In vitro Testing of Endocrine Disruptors. No. 97. OECD. Paris, France.

る。また試験化合物の活性に対する代謝的変換の影響を捕捉できる場合もあり、これはレベル 2 の *in vitro* 試験では不可能なことである。

Hershberger 試験、子宮肥大試験では、スクリーニングの感度を向上させるため、それぞれ精巣、卵巣を切除した動物を使用する。これにより被験動物の内因性ホルモンによって化学物質の影響が不明瞭になることが避けられる。暴露計画は動物の全ライフサイクルのごく一部に限られ、効果の全体が現れる可能性のある発達の臨界期を必ずしも含んでいない。このため、これらの試験法は化学物質がホルモン受容体に作用する能力を見出すには有効であるが、必ずしも有害性を示すものではないと考えられる。またある物質が、精巣あるいは卵巣を切除した動物に対して陽性と認められても、WHO/IPCS の定義では無傷動物に対する影響の実証が求められている以上、内分泌攪乱化学物質に分類することはできないとの指摘もなされている。

この条件は未成熟の動物を使用する際に問題となる。HPG 軸に内分泌系の異常を補償する力がまだないため、発達の臨界期での暴露に対して有害作用が示されたものと解釈される可能性がある。魚類短期生殖試験 TG 229 には内分泌系にも他の作用機序にも影響され得る最終エンドポイントが含まれている。反対にレベル 3 の試験では、対象物質が別の内分泌系媒介機構によって内分泌攪乱性を示す可能性を排除していない。

レベル 4：内分泌関連エンドポイントへの有害作用のデータを提供する *in vivo* 試験

このレベルの試験法では多くのエンドポイントの情報が得られ、レベル 3 の試験では認識できない内分泌モダリティを検出できる可能性もある。レベル 4 には、反復投与試験のように元来は内分泌攪乱を検出するためのものではなく、またそのためのバリデーションを経ていない試験法も少なからず含まれている。28 日反復投与毒性試験(TG 407)は例外であるが、バリデーション結果によれば、エストロゲンまたはアンドロゲン受容体を介して働く弱い内分泌攪乱化学物質に対してはこの方法はあまり敏感ではない。このレベルでの陽性は有害作用を示すと見てよいが、測定されるエンドポイントの数が少なく、発達の臨界期における暴露がなされない場合もあるなどのため、これらの試験法の有用性は限られている。

レベル 5：より長いライフサイクルにわたり内分泌関連エンドポイントへの有害作用に関する一層包括的なデータを提供する *in vivo* 試験

このレベルで得られる有害作用のデータは内分泌攪乱によるものも他の機構によるものもあるが、影響のパターンによって内分泌系に媒介される毒性が示されることがある。ただし 2 世代生殖試験(TG 416)の結果の解釈には慎重を要する。内分泌系に敏感なエンドポイントのいくつかは 2001 年に技術ガイダンス改訂によって追加されたものである。これ以前に行われた試験では内分泌攪乱化学物質の検出力は限られていたが、これは単に関連するエンドポイントがなかったためである。また乳頭遺残、出生時の肛門性器間距離、甲状腺ホルモン測定など内分泌系に関連するエンドポイントで 2 世代生殖試験の改訂版にも含まれていないものがある。新しい拡張 1 世代生殖試験にはこれらのエンドポイントおよび神経発達・免疫毒性モジュールが含まれ、現在他のバリデーション済み試験方法には含まれていない有害作用を検出することが可能である。またこの試験法はより多くの仔を観察することを要求しており、2 世代試験よりも感度が高いものと期待される。加齢とともに出現する遅延効果、たとえば生殖機能の早期老化などは現行のガイドラインに記載されている試験には含まれていない。多世代環境毒性試験によって内分泌攪乱性が検出できるという見方が強まっており、レベル 5 の最新のガイダンスも内分泌攪乱化学物質に関連するエンドポイントをカバーするという点では依然として大きなギャップを残していることが認められる。

概念枠組みガイダンス文書の適用性をテストする目的で、プロクロラズ、パークロレート、4-tert-オクチルフェノールを用いた3種の事例研究が行われた。これらの物質は比較的大きなデータベースを持ち、かつ概念枠組みの対象となっているのと同じモダリティをカバーすることから選ばれた。4-tert-オクチルフェノール¹およびパークロレート²の事例研究報告案が2011年10月に公表されている。両者ともガイダンス文書に記載されている推奨事項がデータの解釈および考えられる次の段階に関して適切なものと認めている。よく研究されている物質についても完全なデータセットが得られないことは注目に値する。特にパークロレートの事例は、利用できるすべての証拠の重み付け評価が重要であることを示すものであると言える。またこれらの事例研究は、レベル5には包括的な試験方法が存在しないため決定的な結論が得られないことを示している。

3.1.2 新規の試験およびエンドポイントに関する詳細な総括文書

コペンハーゲンのワークショップ³の今ひとつの成果は、他の内分泌経路に対する化学物質の影響を評価し、また内分泌毒性に関して重要な他のシグナル伝達系（グルコルチコイド受容体、AhR、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(PPAR)、その他概念枠組みへの採用を考慮すべき内分泌関連核内受容体）のin vitroおよびin vivo試験法を概観するための詳細な総合報告の作成を勧告したことである。その草案は現在2011年11月までの期限でコメントを募集するために公開されており⁴、本章で簡単に紹介する。これに含まれるエンドポイントや試験法の詳細は付録3に示す。

この詳細総合報告書は、比較的最近発見されたエストロゲン、アンドロゲンおよび甲状腺シグナル伝達経路、たとえば膜受容体を介するシグナル伝達経路や、神経内分泌経路に対する化学物質の内分泌攪乱作用を検出するために用いられた試験法を記載している。後者の経路は上流側で機能して核内受容体と相互作用するホルモンの産生を制御する場合も、あるいはペプチドホルモンの産生を通じて内分泌系のシグナル伝達に直接寄与するように働く場合もある。2.1章に述べたとおり、脊椎動物の核内受容体としてはコルチコステロイド受容体（鉱質コルチコイド、グルコルチコイド）、レチノイン酸受容体(RAR)、レチノイドX受容体(RXR)、ビタミンD受容体(VDR)、PPARなどがあり、それらのリガンドであるビタミンD、レチノイド、脂肪酸などは古典的なホルモン観には適合しない。この報告書では死刑内分泌経路のすべてが扱われているわけではなく、攪乱への感受性について得られている証拠、およびプロトコルの標準化とバリデーションのために十分に開発されている試験手順に重点を置いている。構成は経路別となっており、視床下部-下垂体-副腎軸、成長ホルモン軸、レチノイドシグナル伝達経路、視床下部-下垂体-甲状腺軸、ビタミンDシグナル伝達経路、PPAR信号伝達経路を扱っている。経路は通常直線的でなく分岐しており、経路間にも種々の相互作用がある。この状況は上記報告書から採った図

¹ Organisation for Economic Co-operation and Development. 2011. Guidance Document (GD) on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption (No. 150). Case Studies using example chemicals (4-Tert-Octylphenol). Draft v1. Document n° ENV/JM/TG/EDTA(2011)13. EDTA. Paris, France.

² Organisation for Economic Co-operation and Development. 2011. Guidance Document (GD) on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption (No. 150). Case Studies using example chemicals (Perchlorate). Draft v1. Document n° ENV/JM/TG/EDTA(2011)14. EDTA. Paris, France

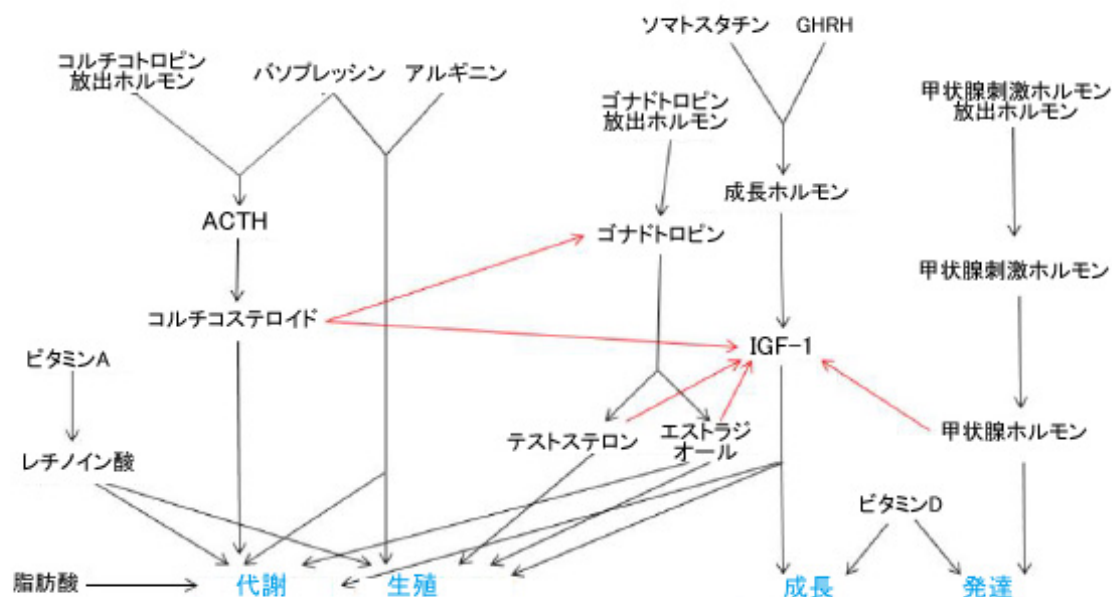
³ Organisation for Economic Co-operation and Development. 2009. Workshop Report on OECD Countries Activities regarding testing, assessment and management of endocrine disrupters. EDTA. Copenhagen, Denmark.

⁴ RTI International. 2011. Draft Detailed Review Paper State of the Science on Novel In Vitro and In Vivo Screening and Testing Methods and Endpoints for Evaluating Endocrine Disruptors. OECD. Paris, France.

1に明瞭に示されている¹。

同報告書の別の章では内分泌調節におけるエピジェネティクスの役割が論じられ、遺伝子の発現におけるエピジェネティック過程とその多くは不可逆的な効果に焦点を当てている（付録1, 3, 4をも参照）。

図1：内分泌攪乱化学物質に影響され代謝症候群と生殖・成長・発達を攪乱することが知られている神経内分泌経路



3.1.3 低レベルと高レベルにおける試験結果の相関

Dang et al. (2009)²は現在OECD概念枠組みのレベル5に位置づけられている哺乳類多世代試験のパラメータ感受性について遡及的分析を行った²。カテゴリー1および2の生殖毒性物質161種に関して、2世代試験の公開文献をECBデータベースとPubMedで検索したところ、そのような情報の存在する物質は18種にすぎず、OECD概念枠組みのレベル2の試験(in vitro試験)とレベル5の試験の結果の相関を分析するにはデータの不足が主要な障害であることが明らかになった。これに対して(抗)エストロゲン作用または(抗)アンドロゲン作用については、より多くの化合物がin vitroでスクリーニングされている。Dang et al.の見出した18種の化合物についてin vitroスクリーニングの結果をEndocrine Disrupter Knowledge BaseおよびEU EDS データベースで検索すると、9種についてはin vitroのデータと多世代試験の結果が見出される。両タイプの試験の結果の比較を表2に示す。

¹ RTI International. 2011. Draft Detailed Review Paper State of the Science on Novel In Vitro and In Vivo Screening and Testing Methods and Endpoints for Evaluating Endocrine Disruptors. OECD. Paris, France.

² Dang Z-C, Rorije E, Hogen Esch T, Muller A, Hakkert BC, Piersma AH. 2009. Retrospective analysis of relative parameter sensitivity in multi-generation reproductive toxicity studies. Reproductive Toxicology. 28:196-202.

表 2 : OECD 概念枠組みのレベル 2 とレベル 5 の試験結果の比較

	レベル 2	レベル 5 — 多世代試験	
物質名 生殖毒性カテゴリー	In vitro 試験の種類と結果	LOAEL (mg/kg bw/day)	重要な生殖影響
1,2,3-トリクロロプロパン (カテゴリー1B : 生殖能力)	ER 遺伝子レポーター : Log(RP) = -1000	30	P1: 平均発情周期 ↑
ビンクロゾリン (カテゴリー1B:生殖能力、 発達)	ER 遺伝子レポーター : Log(RP) = -10000 ER 結合 Log (RBA) = -100 (マウス) Log(RBA) = -10000 (ラット) AR 結合 Log(RBA) = -2.5; -5 Ki > 700 μM 代謝産物 M1 : Ki = 92 μM、M2 : Ki = 9.7 μM ビンクロゾリン、M1、M2 : サル 腎臓の COS-1 および CV1 細胞 に対する (抗) アンドロゲン作用 の効果	12	F1 : 包皮分離日 ↑、♂乳頭異常発 達 P1 : 前立腺重量 ↓、前立腺組織構 造 F2 : ♂肛門性器間距離 ↓、♂乳頭 異常発達
二クロム酸カリウム (カテゴリー1B : 生殖能 力、発達)	ER 遺伝子レポーター : Log(RP) = -10000	> 86	生殖毒性の LOAEL は決定でき なかった。 F1 : ♂仔体重 ↓ 9~15%、♀仔体 重 ↓ 11% (14 および 21 日齢お よび最高投与レベル) 、いずれも 統計的には有意でない。
DEHP (カテゴリー1B : 生殖能 力、発達)	ER 遺伝子レポーター : Log(RP) = -100, -10000 (いずれ も酵母) ER 結合 : Log(RBA) = -10000 AR 結合 : Log(RBA) = -5000	14	P1 : 精巣萎縮、精巣形成不全、精 巣上体萎縮、精囊萎縮、精囊低形 成 F2 : 精巣萎縮、精巣上体萎縮
BBP (カテゴリー1B : 発達)	ER 結合 : Log(RBA) = -1.8 (ヒト) 、-2.5	250	F1, F2 : ♂肛門性器間距離 ↓

	(マウス)、-10000 (ラット) E スクリーン : $\text{Log(RPP)} = 3.6$ 増殖(ZR-75) : 10 μM ER 遺伝子レポーター (酵母) : $\text{Log(RP)} = -3.4, -4.2, -10000$ 1 μM (MCF7) AR 結合 : $\text{Log(RBA)} = -2.1$		
DBP (カテゴリー2:生殖能力、 カテゴリー1B:発達)	ER 結合 : $\text{Log(RBA)} = -2.58$ (マウス)、 -10000 (ラット) 増殖(ZR-75) : 10 μM 増殖(MCF7) : $\text{Log(RPP)} = -4.08$ ER 遺伝子レポーター : $\geq 10 \mu\text{M}$ (MCF7) $\text{Log(RP)} = -100, -10000$ (酵母) AR 結合 : $\text{Log(RBA)} = -1.95$ (ラット)	♂52、♀80	P0 : 授乳期の母獣体重↓ F1 : 同腹の仔の生産数↓ F2 : 生産の仔の体重↓
ノニルフェノール (カテゴリー2:生殖能力、 発達)	ER 結合 : $\text{Log(RBA)} < -3.3$ (ER α), -3 (ER β); $\text{Log(RBA)} = -0.5$ (ヒト)、 -0.5 (マウス)、-1.05 (ヒト)、 -1.03 (ヒト)、-1.5 (ラット) E スクリーン : 10^{-13}M $\text{Log(RRP)} = -2.5, -3.5$ ER レポーター遺伝子 : $\text{Log(RP)} = -0.2$ (ヒト)、-1.7 (酵 母)、-2.7 (酵母) AR 結合 : $\text{Log(RBA)} = -1.7$ (ラット)	150	P0, P1, P2, F3 : 卵巣重量↓
BPA (カテゴリー2:生殖能力)	ER 結合 : $\text{Log(RBA)} = -0.5, -0.7, -1.25,$ -1.4, -1.3, -1.3, -2, -2, -2.1, -3, -3.3, -3.9, -4.2, -4.6 E スクリーン : $\text{Log(RPP)} = -2, -2.8, -3.4, -4, -4.1$ ER レポーター遺伝子 : $\text{Log(RP)} = -2, -2.2, -2.3$ (酵母)、	50	P0 : 妊娠・哺育中の母獣の体重↓ F1 : 包皮分離日↑ P1 : 哺育中の母獣の体重↓ F2 : 包皮分離日↑ P2 : 妊娠・哺育中の母獣の体重↓

	-4 PR 誘導(MCF7) : Log(RP) = -4, -3.3, -3.4 AR 結合 : Log(RBA) = -2.4		
アクリルアミド (カテゴリー2:生殖能力)	ER レポーター遺伝子 : Log(RP) = -10000	5	P0:妊娠・哺育中の母獣の体重↓、 29%着床 P1:妊娠中の母獣の体重↓、35% 着床 F1:同腹の仔の生産数↓、♂仔の 授乳中の体重増加率↓9% F2:生産の仔の体重↓7%

この分析から明らかなように、OECD 概念枠組みにおける低レベルと高レベルの試験の有意な相関を見出すためにはデータが不足している。上記のような限られたデータでは、有害作用の特定の表現型での発現と特定の内分泌機構とを関連付けることはできない。REACH あるいは PPPR における試験法の要件が実現されれば、そのような分析も可能となるであろう。

3.2 段階的 (Tiered) 試験戦略

OECD 概念枠組みは試験の枠組み (ツールボックス) として策定されたものであり、段階的試験戦略ではない。しかし OECD 加盟の 2 ヶ国はこれとほぼ同様の段階的試験戦略を作成している。

米国では食品品質保護法(Food Quality Protection Act)に基づき、環境保護局(USEPA)がヒト健康に対する内分泌攪乱性物質の影響を決定するためのスクリーニングおよび試験プログラムを策定するよう要求され、その実行のため 1996 年に内分泌攪乱化学物質スクリーニングおよび試験に関する諮問委員会(Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee, EDSTAC)が設立された。EDSTACは 1998 年に最終報告書¹を発表し、ついで勧告が内分泌攪乱化学物質スクリーニングプログラム(EDSP)に取り入れられた。この一連のスクリーニングはHPT軸およびHPT軸で制御される発達・生殖過程の変化を検出するために設計されている。第 1 段階の試験結果の証拠の重み付け分析に基づいて、陽性の物質は潜在的な内分泌攪乱化学物質と見なされ、第 2 段階の試験の対象とされることになる。

日本でも内分泌攪乱作用検討小委員会が潜在的内分泌攪乱化学物質の試験の枠組みとして、in silico, in vitro, in vivoを含むスクリーニング試験と、最終的試験の 2 段階から成るものを策定した²。

日米いずれの方式でも、第 1 段階の目標は十分な感度を持つスクリーニング試験によって内分泌攪乱化学物質を検出することであり、用量作用関係、暴露経路の有意性、生涯の中の臨界期、有害性などの問題は第 2 段階で解決すべきものである。USEPAが哺乳類に対する第 2 段階の試験を最初に提案した時点では、発達に関して重

¹ Endocrine Disruptor Screening and Testing Committee. 1998. Final Report, U.S. Environment Protection Agency.
² Organisation for Economic Co-operation and Development .2009. Workshop Report on OECD Countries Activities regarding testing, assessment and management of endocrine disrupters. Advisory Group on Endocrine Disrupters Testing and Assessment of the Test Guideline Programme. Copenhagen, Denmark.

要なライフステージを含む適切な暴露期間を持つ試験法は多世代（2 世代）試験法しかなかった。このことから示唆されるように、このような方式では用量作用関係や作用効力の評価に適した試験法はOECD概念枠組みでレベル5とされているものに限られることになる。発達の臨界期の問題はあるものの、多世代試験もその設計に起因する限界がある。すなわち、観察される一腹の仔の数が限られているため、生殖管形成不全のように発生率25%程度の内分泌系媒介効果を検出するには統計的件出力の不足が懸念される¹。

このような考察は試験に対する REACH および PPPR の現行の要件のもとで内分泌攪乱化学物質を検出できる範囲を評価する上で重要な意味を持つ（第5章）。

¹ Hotchkiss AK, Rider CV, Blystone CR, Wilson VS, Hartig PC, Ankley GT, Foster PM, Gray CL and L. Earl Gray. 2008. Fifteen Years after “Wingspread”-Environmental Endocrine Disruptors and Human and Wildlife Health: Where We are Today and Where We Need to Go. Toxicological Sciences. 105(2): 235-259.

4. 規制に対して有意義な科学的結論

4.1 証拠の重み付け(WoE)アプローチ

証拠の重み付け(weight-of-evidence, WoE)なる用語の意味について一致した解釈がないことはよく知られている。この語は科学論文の査読における証拠の総合に関して用いられ、またクラス分けと表示のためにも用いられている。また欧州化学機関(ECHA)はREACH規制の実施に関連して証拠の重み付けの使用法に関するガイダンス¹を公表している。本章ではこのガイダンス文書と、特に内分泌攪乱化学物質の評価に利用されたその他のWoEアプローチとを検討する。WoEは極めて一般的には、系統の異なる証拠の総合ないしプールを意味する。本報告書の文脈で具体的には、特定の化学物質への暴露の後に現れる有害作用の証拠について言われ、これまでに方法的アプローチが明確でない危険性評価の結果の記述、体系的な総合報告、判定基準による因果関係推論方法、メタ分析などの定量的統計手法、あるいは概念枠組みのラベルなどとしてこの語が使用されている²。作用機序の証拠の評価の概念枠組みについては別途 4.2 章で述べる。

歴史的にはWoEは「証拠の強さ」(strength of evidence)と呼ばれるアプローチと区別されている。後者は、統計的に有意な結果を示した主要な研究の集合から得られる陽性の証拠の程度を分析するものである³。これに対してWoEはすべての証拠の総合を要求するものであり、そのためには異なる次元にまたがって証拠を分析する必要がある。すなわち大小・強弱・新旧を問わず、ヒトの集団から細胞システムに至る広範囲にわたる研究を対象としなければならない、特にヒトと動物の両方の研究結果を結びつける必要がある。伝統的に疫学的因果関係の判定基準を用いるアプローチと毒性学的品質の基準を用いるアプローチがあり、以下にそれぞれを簡単に説明するとともに、学術文献に論じられている内分泌攪乱化学物質の評価に関連するいくつかの側面についても述べる。

4.1.1 因果関係の推論の疫学的基準

因果関係の推論の疫学的基準としてはほぼ常にいわゆるBradford-Hillの基準またはそれを修正したものが用いられる。1965年に英国の疫学者・統計学者Austin Bradford-Hillは職業病の原因に関する論文を発表し、その中で統計的に有意な疫学的証拠と毒性試験による証拠が与えられた場合について、因果関係に関する9つの観点を列挙した³。

- 関連の強さ — 相対的リスクの推定値の定量的尺度
- 地理的・社会的・時間的スケールを通じての観察の一貫性
- 暴露と疾患との関連の特異性
- 時間的關係 — 暴露が疾患に先立つ証拠
- 生物学的勾配 — 応答が用量と共に増大する証拠
- 疾患に関する既存の知識に照らして見た関連の蓋然性
- 疾患の自然的経過・生物学との整合性
- 暴露停止後の実験または回復
- 類推 — 類似の要因の既知の効果の考慮

¹ European Chemicals Agency. 2010. Practical guide 2: How to report weight of evidence. ECHA.Helsinki, Finland.

² Weed DL. 2005. Weight of evidence: A review of concept and methods. Risk Analysis 25(6): 1545-1557.

³ Hill AB. 1965. The environment and disease: Association or causation? Journal of the Royal Society of Medicine, 58(5):295-300.

これらの観点のうちいくつかについては、疫学的研究の質および因果関係の推論の両面から見て、病因論における還元主義的な単一原因論に通じるもので、多原因の複雑な生物学的過程の説明には適切でないという指摘がある。Gee (2008)は、規制におけるWoE評価の適用に関してこれら対立する見解の意味を整理した¹。彼によれば、交絡因子に対する統計的修正を行う際に、実際には同時に因果関係にある要因を交絡要因として除去してしまうことにより関連が見えにくくなることがある。Bradford-Hillの基準に関しては、疫学研究への適用において非対称性が存在する。すなわち、ある基準の存在が関連の確実な証拠となることはあるが、その逆は真ではなく、存在しないことが即ち因果関係のない確実な証拠とはならない。特定の基準に関しては、潜在的な内分泌攪乱物質への暴露に続く効果の証拠を評価する場合に、複数の原因を説明し得る証拠を検討するとき下記を考慮すべき場合がある。

時間的關係：同時に働く原因のうち1つの影響によって、他の原因の影響が現れる前に生物学的エンドポイントの全体的な傾向が定まることがある。

整合性：複雑な生物系・生態系では変動の結果として非整合的な結果が予想される。

回復：ある種の化学物質の残留または潜伏性、あるいは発達毒性物質の世代効果によって、暴露停止後の回復が遅れることがある。

生物学的勾配：暴露量よりも暴露時期が重要である場合があり、また非単調あるいは低用量効果が存在すれば生物学的勾配の証拠は更に曖昧になる。

特異性：複数の原因と複数の効果を考えている場合には、この基準は適用できないことがある。

関連の強さ：複数の原因を持つ疾患の場合、低い相対リスクが一貫して再現されればロバストな証拠となり得る。

Gee (2008)は更に、Bradford-Hillの基準のうちで類推により大きな重みを持たせるべきであるとし、この類推と生物学的蓋然性とを一種のリードアクロスのように併用すれば、「類似物質」の毒性についての知見が欠けている場合に或る程度補うことができると主張している。しかし内分泌攪乱化学物質には複数の受容体システムに作用して、単一のホルモンへの干渉とは必ずしも同じでない複雑な影響プロファイルを生じさせるものがあるので、この方法の適用には慎重を期する必要がある。

4.1.2 毒性学的研究の品質基準

毒性学的研究の質の評価には、Klimisch et al. (1997)²の開発したアプローチ^①が最も普通に用いられている。研究は評価によって次のいずれかの信頼性カテゴリーに分類される。

1. 問題なく信頼できる：GLP またはその他の品質基準に適合する研究
2. 条件付きで信頼できる：一般的には十分な根拠が示され科学的に妥当であるが、一部 GLP に適合しない点がある。
3. 信頼できない：用いた方法が十分に説明されていないか、または不適當である。
4. 分類不能：資料自体が評価のためには不十分である（抄録のみなど）

OECDはKlimischがデータの品質について用いた3つの用語について下記のとおりに説明している³。

¹ Gee D. 2008. Establishing evidence for early action: The prevention of reproductive and developmental harm. Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology 102(2): 257-266.

² Klimisch HJ, Andreae M, Tillmann U. 1997. A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 25:1-5.

³ Organisation for Economic Co-operation and Development. 2007. Manual for investigation for High Production Volume Chemicals. Paris, France.

「信頼性：なるべく標準化された方法論による試験報告または論文について、固有の品質と、実験方法と結果の記述による所見の明確さと蓋然性の証拠の評価

妥当性：データおよび試験が特定の有害性同定またはリスク特定のために適切な範囲をカバーしている程度

適切性：危険性/リスク評価に対するデータの有用性の定義。SIDS（スクリーニング情報データセット）の各要素に複数の研究があるときは、信頼性・妥当性の最も高い研究に最大の重みを付与する。主要な研究(key study)、すなわち最も品質の高い研究について確実な要約を作成する」

このアプローチは品質評定に近いものであるが、すべての証拠を利用し、そのいくつかをより信頼性の高いものとして重みを付与する点でWoEに通じる。学術的な研究は本来非標準的な方法を必要とするという理由で、GLPを重視することはアカデミックな最新の研究を除外することになるという主張もあるが、その一方で、内分泌攪乱に関連するエンドポイントの研究のためには専門的な訓練と知識が必要であり、委託研究機関ではGLPを遵守していたとしても必ずしもそのような知識があるとは限らないとも指摘されている。

更に、この方式ではヒトに関するデータの取り込みの可能性が限られており、化学物質のクラス分けにおいてヒトに関する証拠にはより大きな重みが与えられるにも関わらず、相対的にヒトのデータが軽視されることになる。欧州化学物質生態毒性および毒性センター(European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals, ECETOC)はこのことを認識して、ヒトおよび動物のデータを統合するための枠組みを提案している¹。

4.1.3 証拠の重み付け評価に関する ECHA ガイダンス

REACH法の付属書XIにおいて、WoEアプローチは付属書VII～Xの情報ないし試験の要求を回避するオプションの一つとして提示されている。WoEの報告方法に関するECHAガイダンス文書では、WoEを「ある物質の性質に関する結論を獲得・支持するための、種々の情報の長短を考慮する過程」と定義している²。

このガイダンスでは、疫学的研究における因果性評価のためのBradford-Hillの基準、内分泌系への作用の可能性による化学物質の順位付け³、生態リスクの評価⁴にも触れているが、ある程度詳述されているのはKlimischの評価だけである。その他に既存情報の評価に関するR.4章⁵でヒトに関するデータ、in vitroおよびin silicoデータに対する適切性の要件が述べられている。しかし強調されているのは標準的な動物実験および主要な研究の同定である。このことは当ガイダンスが内分泌攪乱性の証拠の重み付けを評価するために特に作成されたものでないことを考えれば理解できる。

特に、主要な研究として評価するのが不適当な研究の例が挙げられている。

- 「問題のある試験：暴露濃度を適切に推定することができない研究の結果は、WoE アプローチの一部とし

¹ European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals. 2009. Framework for the Integration of Human and Animal Data in Chemical Risk Assessment. Technical Report No. 104. Brussels, Belgium.

² European Chemicals Agency. 2010. Practical guide 2: How to report weight of evidence. ECHA.Helsinki, Finland.

³ Calabrese EJ, Baldwin LA, Kostecki PT and Potter TL. 1997. A toxicologically based weight-of-evidence methodology for the relative ranking of chemicals of endocrine disruption potential. Regulatory Toxicology and Pharmacology 26:36–40.

⁴ Menzie CA, Henning MH, Cura J, Finkelstein K, Gentile J, Maughan J, Mitchell D, Petron S, Potocki B, Svirsky S, Tyler P. 1996. Special report of the Massachusetts weight-of-evidence workgroup: A weight-of-evidence approach for evaluating ecological risks. Human and Ecological Risk Assessment. 2(2):277–304.

⁵ European Chemicals Agency. 2008. Guidance on information requirements and chemical safety assessment Chapter R.4: Evaluation of available information. ECHA.Helsinki, Finland.

て以外は慎重に扱わなければならない。

- Klimisch による評点が(2), 3, 4 の研究
- 標準的ガイドラインに従っていない研究

特に最後の基準「標準的ガイドラインに従っていない研究」に従えば、REACH における化学物質の WoE 評価の現状では内分泌攪乱性の検出は困難である。

4.1.4 内分泌攪乱化学物質に対する WoE アプローチの実例

因果関係の推論のための疫学的基準、および内分泌攪乱性の評価のための毒性研究の品質基準の好例として、それぞれ 2002 年の WHO/IPCS の「内分泌攪乱化学物質に関する科学の現状」¹に集められた証拠への WoE 枠組みの適用、および EU 環境総局の委託により RPS BKH Consultants が実施した、内分泌攪乱における役割の評価のための優先候補リスト²に収録された物質のカテゴリー分類に用いられた方法について、各々上記の基準を中心に簡単に説明する。

4.1.4.1 WHO/IPCS による内分泌攪乱化学物質の科学の現状の包括的評価

WHO/IPCS のグローバル評価報告書第 7 章において、Bradford-Hill の基準を修正したものを用いて、潜在的な内分泌攪乱化学物質への暴露と健康上の結果との関連の定量的評価が行われている。ある程度の科学的判断が含まれていると認められれば、2 つの明確な仮説、すなわち懸念される結果（特定の健康上の、または環境中の種に対する結果）とストレスと想定される物質との関連、およびストレスへの暴露と最終的に懸念される結果に至る可能性のある内分泌系媒介変化との関連を検討する。

両仮説の妥当性は科学的証拠の次の 5 つの側面から判定する。

- 時間的關係
- 関連の強さ
- 観察の一貫性
- 効果の生物学的蓋然性
- ストレス減少後の回復の証拠

評価の後、結果・ストレスとの関連・内分泌系を含む作用機序の証拠の強さに対してそれぞれ弱・中・強の評点を付与する。

このような枠組みによれば、多様な分野の知識を取り入れ、特定の健康上の影響や微妙な、あるいは間接的な生態学的影響についての最新の医学知識を総合することができる。このような全体論的アプローチはその幅広さから体系性は弱くなり、専門家の判断に頼ることが多くなるのは避けられず、したがって透明性に欠けるという批判を招くこともあろうが、証拠のグローバルな評価の目的には、特定の専門分野や特定の種類の研究に特化したアプローチよりも適している。

4.1.4.2 RPS-BKH 内分泌攪乱化学物質データベース

ここで RPS-BKH 内分泌攪乱化学物質データベースに言及するのは毒性学的 WoE 基準の適用の一例としてで

¹ International Program on Chemical Safety. 2002. Global Assessment of the State-of-the-Science of Endocrine Disruptors. WHO, Geneva, Switzerland.

² Okkerman PC, van der Putte I. 2002. Endocrine disruptors: study on gathering information on 435 substances with insufficient data. DG Environment, Brussels, Belgium.

ある。共同研究センター健康・消費者保護研究所(JRC-IHCP)はこれまでの成果を基に Web ベースの内分泌活性物質(EAS)情報システムの構築を進めている。EU の優先リストに収録されている、データの不十分な 435 物質について、内分泌攪乱作用の証拠を規制情報および査読済み論文から収集し、またそれらの全身毒性の情報も検索した。このようにして集めた証拠が 1999 年 9 月 27～28 日および 2002 年 9 月 9～10 日に開催された EU の専門家委員会で評価された。

この専門家による評価は、主要研究の同定とその質の評価、内分泌攪乱性の証拠による化合物のカテゴリ分類を含み、更に内分泌攪乱の作用効力や全身毒性のデータが得られる場合には上記の情報との比較もなされた。

主要研究の同定においては、内分泌攪乱の肯定的または否定的証拠を示す研究 3 点（もしあれば）が選択された。もし主要研究に該当するものがなければ、問題の物質が CAT3a または CAT3b のカテゴリに分類された。

主要研究の評価は次の判定基準によって行われた。

効果パラメータの有意義性：内分泌攪乱作用と機構的原因との関係などの角度から

試験の信頼性：

- 検証済みのプロトコル（分析、試験手順）
- 実験計画：対照群、濃度範囲
- 試験に用いた種：適切性、健康状態、ライフステージ
- 結果の解析：統計
- 用量作用関係

評価コメント：内分泌攪乱に関連する諸試験の整合性

その他の考慮点：

- データの入手可能性（他の内分泌攪乱試験）
- 全身毒性との比較
- 内分泌攪乱の作用効力

評価結果においてはデータの品質に下記の 4 つのレベルが区別される。

- DQ1：データの品質は良好、すべての（重要な）判定基準を満たしている
- DQ2：データの品質は十分、研究は大部分の（重要な）判定基準を満たしている
- DQ3：データの品質は不十分、研究は同定のためには利用できない
- DQ4：評価せず

RPS-BKH は、主要研究と認められた研究とそのデータの品質に基づいて、化学物質を下記の 4 つのカテゴリのいずれかに分類した。

- カテゴリー1：少なくとも 1 件の研究が健全な動物に対する内分泌攪乱の証拠を示している（正規の WoE アプローチではない）
- カテゴリー2：内分泌攪乱の可能性がある。健全な動物に対する内分泌攪乱の可能性が *in vitro* データによって示されている。内分泌攪乱が介在するか否か不明な *in vivo* の効果も含まれる。構造解析や代謝の考察も含む。
- カテゴリー3a：リストに記載する科学的根拠がない（内分泌攪乱に関する研究はあるが、内分泌攪乱作用は示されていない）
- カテゴリー3b：データが存在しないか、あるいは不十分な物質

データベース内の情報の一貫性について、たとえば次のような「評価コメント」も付与することができた。

- 「内分泌攪乱の他の証拠によって支持される」
- 「これ以外に証拠がない」
- 「他に矛盾する証拠がある」

最後に、証拠の質、内分泌系への効果の作用効力、全身毒性との比較に関するコメントを加えることも行われた。

このアプローチは毒性学的証拠に重点を置いたものであり、化学品規制で現在用いられているアプローチよりも首尾一貫している。データの信頼性の評価にKlimischの評点を利用していないが、使用されている判定基準は多少とも同様なもので、標準化されたプロトコルにより大きい重みを与えている。データの有意義性・適切性も明示的には取り上げられていないが、そのような考察は少なくとも部分的には試験対象とした種の適切性の考察や、恐らくは主要研究の選定に含まれている。主要研究の選定については、WoEの方法に一致しないことが指摘でき、詳細ではあるが専門家の判断に頼っていることは事実である。この方法の主な利点は、既存の証拠ないしその一部に基づいて内分泌攪乱性物質を何らかの形でカテゴリーに分類できることである。実際、このような「ボトムアップ的手法」ではヒトまたは生態系で問題となりそうなエンドポイントが広く考慮されることは稀である。

4.1.5 内分泌攪乱化学物質の規制に対する示唆

特定の化学物質とそれが持つとされる内分泌攪乱性との関連に関する論争は、本章で取り上げる種々の証拠に対してなされる異なった解釈や種々の利用可能な証拠に付与される定性的または定量的な重みに直接関連づけることができる。化学物質の有害性特定において疫学的証拠の統合を改善する必要性が認識されている。ヒトおよび野生動物における内分泌攪乱に関連づけられる疫学的証拠が存在すること自体が、ある物質の毒性が正確に予測できていないことを示している。毒性学的証拠へのWoEアプローチにおいては、予測しようとする疾病についての医学的知識、比較内分泌学、集団ないし生態系のダイナミクスなどを今以上に活用しなければならない。

毒性研究の質の評価に際しては、標準化され検証された試験法やGLPが重視されてきたが、もし最も妥当性の高い敏感なエンドポイント、あるいは発達の臨界期での暴露を調べていなければ、GLPも標準的プロトコルも何ら品質を保証するものではない。よりよい判定への努力なしにそのような品質基準を一貫して使用するならば、重要な証拠を無視することになり、適時に予防策を講じることを妨げる虞がある。また信頼性だけでは十分でなく、資金源とは独立に一連の基準を用いて研究が信用できるか否かを判定する必要があるとの指摘もある。そのような基準群については最近Conrad and Becker (2011)が概観している¹。

また現状ではWoE評価の結果を分類する方式として一般に受け入れられているものはまだない。国際癌研究機関(IARC)は発癌物質の証拠の特徴付けに「ヒトに対し発癌性(human)」「おそらく発癌性(probable)」「発癌性が疑われる(possible)」「おそらく発癌性でない(unlikely)」の4つのカテゴリーを用いている。その他のアプローチとしては世界保健機構(WHO)による大気汚染に関するもの、国連の気候変動に関する政府間パネル(IPCC)によるものなどがある²。内分泌攪乱化学物質のカテゴリー分類にも同様に証拠をクラス分けする方式や、因果

¹ Conrad JW, Jr., Becker RA. 2011. Enhancing Credibility of Chemical Safety Studies: Emerging Consensus on Key Assessment Criteria. Environmental Health Perspectives 119(6): 757-764.

² World Health Organisation. 2005. Effects of Air Pollution on Children's Health and Development. A Review of the Evidence. WHO, European Office, Bonn, Germany.

Intergovernmental Panel on Climate Change. 2007. Summary for policy makers. Climate Change: the

関係に関して一貫した概念と用語を適用するためのガイダンスを構築する必要がある。

4.2 作用機序の証拠の評価のための概念枠組み

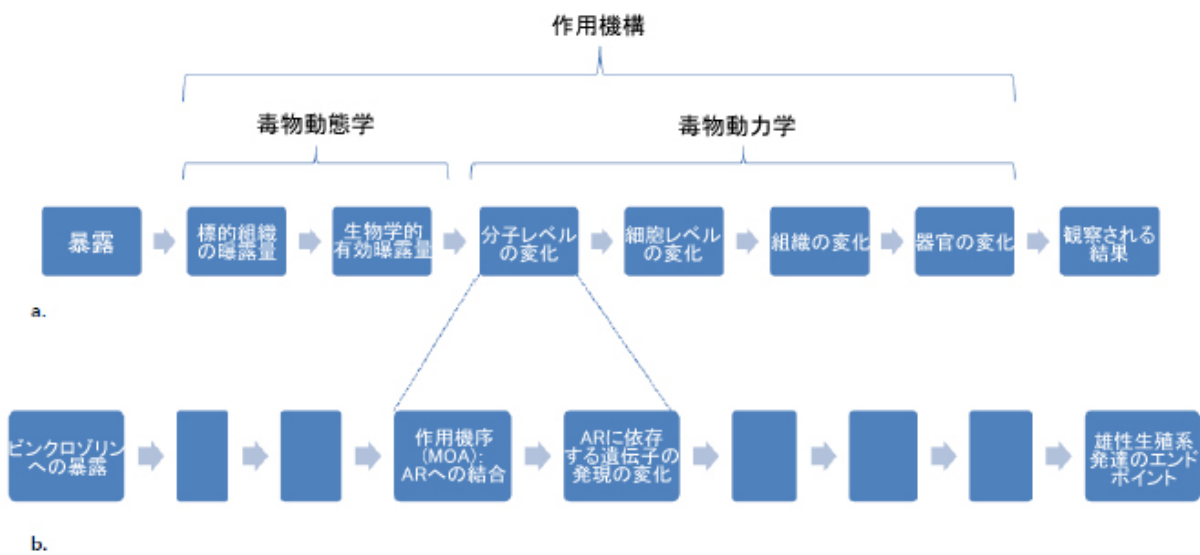
WoE アプローチの具体的な応用例の一つが、毒性学的作用機序の証拠に基づく概念枠組みである。IPCS/WHO の定義に明示されている内分泌攪乱の作用機序を確認する必要からみて、既存のアプローチをその利用可能性や限界と共に概観するのは興味あるところである。

4.2.1 機構、作用機序、キーイベント

「作用機序」(mode of action)という用語は「作用機構」(mechanism of action)と同義に用いられることも多いが、最近の出版物では両者を区別するものも現れている。「作用機構」が一般に機構的段階の総和として定義されるのに対して、「作用機序」はそれほど詳細なものではなく、機構の中のキーイベントの系列を意味する。キーイベントとは測定可能で、かつ最終的な毒性作用を生じさせるのに必要なイベントである¹。

両定義の差は毒物動態学的段階を含めるか否かにある。これらの概念はGuyton et al. (2008)²の図を改変した図 2 によれば理解しやすいであろう。

図 2：作用機序および作用機構の定義の図解。(a)作用機構は暴露と結果との間のすべての段階を含む。作用機序はキーイベントである。(b)作用機序の例、農薬ビンクロゾリンと雄ラットの生殖系発達への影響。アンドロゲン受容体(AR)への結合がキーイベントである。(Guyton et al., 2008 より改変)



¹ Guyton KZ, Barone S, Brown RC, Euling SY, Jinot J, Makris S. 2008. Mode of action frameworks: A critical analysis. Journal of Toxicology and Environmental Health-Part B-Critical Reviews 11(1): 16-31.

² Guyton KZ, Barone S, Brown RC, Euling SY, Jinot J, Makris S. 2008. Mode of action frameworks: A critical analysis. Journal of Toxicology and Environmental Health-Part B-Critical Reviews 11(1): 16-31

作用機序に関する情報は、用量作用曲線の形状（特に低用量での）、実験動物で認められた影響のヒトへの妥当性、感受性の高い亜集団を含むヒト集団内部での応答の変動に関する決定に役立つ。混合物の累積的リスク評価にも利用することができる。

4.2.2 作用機序解析の方法

作用機序に対するデータの解析のための枠組みはまず実験動物における発癌作用機序とそのヒトへの妥当性を WoE で評価するために開発された¹。最近になって癌以外の作用機序についても同様の枠組みが開発され²、内分泌攪乱作用についてヒトへの関連性を評価するドイツ・英国提案でも言及されている（6.4 章を参照）。

この概念は更に拡張され、用量作用関係を、特に低用量におけるその形状の推定に利用できるキーイベントについて定量的に記述することも含まれている。この推定は毒性応答に関連する動態的・動力学的過程における用量依存性の変化の考慮に基づいて行われる³。

この WoE アプローチでは、試験対象物質の毒性作用の原因と考えられる作用機序に Bradford-Hill の基準を適用している。要約すれば、キーイベントの用量作用関係と毒性応答との一致、キーイベント間の時間的關係、毒性応答とキーイベントの関連の強度・一貫性・特異性、および作用機序の生物学的蓋然性と整合性を具体的に検討する。

想定された作用機序のヒトへの意義を評価するには、枠組み内の証拠を照合し、証拠が実験動物における作用機序を確立するのに十分であるかどうかを順次検討し、ヒトと実験動物とのキーイベントの基本的な定量的相違に基づいてこの作用機序のヒトへの関連を否定できるか否か、またヒトと実験動物との動態または動力学的の基本的な定量的相違に基づいてこの作用機序の動物への関連を否定できるか否かを考察する。既定の仮説の不成立を判断するために説得力のある主要データを要求するのであるから、この仮説は安全側のものと言える。しかしながら、この作用機序の枠組みも他の WoE アプローチと同じく、十分な証拠とは何かの定義がないか、あったとしても不十分であることが批判されることは避けられない。ヒトとの関連性の判定の根拠に多少の透明性は得られるとしても、その判定には依然として専門家の判断が不可欠である。

このアプローチがライフステージ固有の有害性特定にも適用された⁴ことは興味深い。観察された結果に対する臨界期、ライフステージ固有の毒物動態・毒物動力学データ、作用機序の情報、効果の変動や潜在性を知るため、ヒトおよび実験動物に関する関連データを検討する。目的は、基礎データの適切性、確実性、完全性に基づいて、幼若時の暴露と有害な結果との関連の全体的な WoE を決定することである。内分泌攪乱化学物質への暴露

¹ Boobis AR, Cohen SM, Dellarco V, McGregor D, Meek ME, Vickers C, et al. 2006. IPCS framework for analyzing the relevance of a cancer mode of action for humans. *Critical Reviews in Toxicology* 36(10): 781-792, Meek ME, Bucher JR, Cohen SM, Dellarco V, Hill RN, Lehman-McKeeman LD, et al. 2003. A framework for human relevance analysis of information on carcinogenic modes of action. *Critical Reviews in Toxicology* 33(6): 591-653, Sonich-Mullin C, Fielder R, Wiltse J, Baetcke K, Dempsey J, Fenner-Crisp R, et al. 2001. IPCS conceptual framework for evaluating a mode of action for chemical carcinogenesis. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 34(2): 146-152.

² Boobis AR, Doe JE, Heinrich-Hirsch B, Meek ME, Munn S, Ruchirawat M, et al. 2008. IPCS framework for analyzing the relevance of a noncancer mode of action for humans. *Critical Reviews in Toxicology* 38(2): 87-96.

³ Guyton KZ, Barone S, Brown RC, Euling SY, Jinot J, Makris S. 2008. Mode of action frameworks: A critical analysis. *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part B-Critical Reviews* 11(1): 16-31.

⁴ U.S. EPA. 2006. A framework for assessing health risk of environmental exposure to children. Office of Research and Development, National Center for Environmental Assessment, Washington, DC; EPA/600/R-05/093F.

後の懸念は発達におけるホルモンの重要な組織的役割に起因するのであるから、このようなアプローチの適用は内分泌攪乱化学物質の有害性特定において特に関心が持たれるところである（4.4章を参照）。またこの枠組みの応用の1つの事例研究によれば、実験動物において或る作用機序によって現れる複数の結果を検討した結果、ヒトに関連するエンドポイントとそうでないものがあることが見出された。このことは特定の作用機序の証拠があっても適切な動物実験モデルが存在しないようなヒトの疾病を考えると重要である¹（4.7章をも参照）。

大部分のアプローチでは一つの結果に対して複数の作用機序を考慮しているが、それら複数の作用機序を統合することを考えていないという批判が屢々聞かれる。実際、現在までのアプローチで相互作用が考慮されていないのは、異なる作用機序が相互に排他的であるとの根本仮定があるためと思われる。いま一つの問題点は、ヒトの疾患の既知の原因や化学物質への暴露がバックグラウンドの暴露、疾患、内因性過程に累加されることが考慮されていない点である。

最後に、化学物質の有害性特定にこのようなアプローチを有意義に適用するために必要とされる広範囲のデータが、大部分の化学物質については得られないことを認識しなければならない。したがって知識ベースの拡充に大きな努力を払う必要がある。しかしながらこのアプローチは、低用量や発達の臨界期での暴露など、内分泌攪乱化学物質についての懸念の理由となる危険性の評価という観点からは興味あるものである。またこの枠組みを種間の相違の評価のために利用できれば、ヒトに関する毒性学と生態毒性学のそれぞれで得られる証拠の統合にも利用することができよう。

4.3 低用量効果と閾値

内分泌攪乱化学物質に伴うリスクの特定に関して、内分泌攪乱化学物質の影響が規制のための試験法で通常使用されているよりも遥かに低い用量で現れることから、現在のリスク評価のパラダイムが修正を要する、あるいは適用できないとする議論がある。この「低用量仮説」²は、互いに関連はあるが2つの異なる側面を提起している。

1. 動物実験に対する内分泌攪乱化学物質の影響がヒトと同程度の暴露量で報告されていることから、ヒト健康に対するリスクが現在の暴露量でも懸念される。
2. いくつかのエンドポイントについて、高用量での効果を低用量領域へ外挿できるという現行のリスク評価での暗黙の仮定に反して、内分泌攪乱化学物質の用量作用関係が非単調であることが観察されている。用量作用曲線が非単調であれば上記の根本仮定は成立せず、ヒトに対する基準暴露量を求める基礎として、より安全な出発点（NOAEL、ベンチマーク用量など）を得るために「低用量試験」を定常的に行うことが提案されている。

「低用量現象」が研究されているのは種々の作用機序を示す少数の内分泌攪乱化学物質に限られ（付録I、3.2章）、その観察結果についても主として再現性をめぐる論争が絶えない（付録I、3.2章および文献³における討論を参照）。この議論は当面続くものと思われ、その帰趨はまだ予測できないが、今後得られる実験的証拠が鍵を

¹ Seed J, Carney EW, Corley RA, Crofton KM, DeSesso JM, Foster PMD, et al. 2005. Overview: Using mode of action and life stage information to evaluate the human relevance of animal toxicity data. *Critical Reviews in Toxicology* 35(8-9): 663-672.

² vom Saal FS and Hughes C. 2005. An extensive new literature concerning low-dose effects of bisphenol A shows the need for a new risk assessment. *Environ Health Perspect* 113:926-933.

³ Witorsch RJ. 2002. Low-dose in utero effects of xenoestrogens in mice and their relevance to humans: an analytical review of the literature. *Food Chem Toxicol* 40: 905; Kamrin MA. 2007. The “low dose” hypothesis: Validity and implications for human risk. *Int J Toxicol* 26: 13-23; Hayes TB. 2004. There is no denying this: Defusing the confusion about atrazine. *BioScience* 54: 1138-1149

握ることになる。

内分泌攪乱化学物質の低用量問題とは全く別の分野で広く行われた低用量での用量作用関係の推定に関する議論¹も、内分泌攪乱化学物質の規制に重要な意味がある。極めて大きな集団（数十万人に及ぶ）に対して最近行われた疫学研究において、癌またはそれ以外の結果についての分析で閾値が認められず、低用量においてもリスクが用量と共に増大することが認められたことから、この議論は白熱したものとなった。これはオゾン、煙草の煙、一酸化窒素、二酸化硫黄、粒状物質、鉛の影響の研究において得られた結論である。この疫学研究の結果によって、非発癌性物質に対しては閾値を仮定し、発癌性物質のリスクについては閾値に無関係に暴露量と共に減少するとする現行のリスク評価における二分法には次第に疑問が呈されるようになり、これに代わって非発癌性物質についても閾値に無関係な作用を仮定することができるように、汚染物質を統一的に扱うことが提案されている。

この議論から、内分泌攪乱化学物質の規制にとって重要な2つの観点が認められるようになった。すなわち(1)低用量への外挿に利用できる作用機序を明確に定義すること、および(2)ヒト集団に対して閾値の適用が不可能になる条件の考察である。

4.3.1 低用量への外挿に利用できる作用機序のカテゴリー

暴露量の閾値の存在は実験的アプローチによっては証明も否定もできない。なぜなら効果を測定する方法はいずれも検出限界を持ち、閾値が存在するとしても明確には検出できないからである。また通常の生物学的変動や、毒性試験で通常用いられる暴露群の大きさによる検出力の限界も問題を複雑にする²。このような理由から、ある種の汚染物質に対して閾値からの独立を仮定する判定基準は作用機序の考察から導かれることになる。たとえば生態毒性を持つ発癌物質については少数の不可逆的イベント（変異）が悪性の出発点になると仮定される。

しかしながら大部分の環境汚染物質、より具体的には内分泌攪乱化学物質については、暴露から疾病までの間にある種々のイベントやそれに関係する作用機序が十分に理解されているわけではない。関与している機構すべてを解明することは膨大なデータの集積を要するので、リスク評価への利用は不可能ではないとしても遠い目標である。反対に、リスク評価における作用機序の概念は現状では一般的に過ぎて、低用量領域への外挿には有効でない。

このような困難があるため、キーイベントの可逆性、可逆的であれば回復速度、主要段階の不可逆性などを検討することにより、低用量の影響を受けやすい作用機序のカテゴリーを提案する動きが盛んになっている。事象の一般的なカテゴリーとして、(a)低用量で可逆的（刺激性物質など）、(b)低用量で不可逆的（変異原など）、(c)長期にわたり累積的・不可逆的（パーキンソン病での神経損耗など）の3つが低くされている³。

このようなカテゴリーを内分泌攪乱化学物質に適用するには、「低用量で不可逆的」または「長期にわたり累積的・不可逆的」カテゴリーの証拠が存在するかどうかを検討することが必須である。この問題については後述

¹ NRC 2009. Science and decisions. Advancing risk assessment. The National Academies Press. Washington DC. ISBN – 1: 0-309-12046-2; White et al. 2009. State-of-the-science workshop report: Issues and responses in low dose extrapolation for environmental health risk assessment. Environ Health Perspect 117: 283-287.

² Slob W. 1999. Thresholds in Toxicology and Risk Assessment. International Journal of Toxicology 18:259-268; Scholze M and Kortenkamp A. 2007. Statistical power considerations show the endocrine disrupter low dose issue in a new light. Environ Health Perspect 115 Suppl 1: 84-90.

³ White et al. 2009, ibid

する（4.4章）。

4.3.2 ヒト集団レベルでの閾値の非存在と既往暴露の重要性

曝露に関係した疾病に至るまでの事象が低用量では非線形である可能性があっても、ヒト集団レベルでの解析では閾値の存在を明確に知ることはできない。個体に閾値が存在すると仮定した場合でも（閾値は存在するとしても個体レベルでは証明できないから、これは仮説にとどまるが）、集団レベルでは感度が個体間で変動すること、およびバックグラウンド暴露または内因性暴露が同様にエンドポイントに影響することによって、閾値は不明瞭になる¹。このため集団レベルでは低用量領域での用量作用関係は個体レベルでの閾値が存在したとしても直線的に見え、閾値の証拠は見出されない。集団の用量作用関係は多数の個体の閾値を反映しており、集団としての閾値は確立されない（この問題についての優れた考察としてSlob (1999)²を参照）。

内分泌攪乱化学物質に直接関係するのは、疾病の経過に影響するバックグラウンド暴露および内因性暴露である。内因性ホルモン、たとえばエストロゲンの作用を模倣する汚染物質の場合にこのシナリオがあてはまる。既に体内でステロイド性エストロゲンへの暴露が生じているため、外部からのエストロゲン性物質への暴露は内部負荷へ累加され、閾値に関わらない活性を示すことになる。これは乳癌（付録1、5.1を参照）および神経内分泌系と思春期のタイミングのプログラミング（付録1、4.2）におけるエストロゲンの役割、カメ卵の性決定への外因性エストロゲンの影響³を考えると重要な問題である。

4.4 感受性の臨界期と不可逆的效果

ホルモンは多数の器官系や組織の正常な発達において極めて重要な要因である。そのことは生殖管・脳・神経内分泌系において特に顕著である。したがって当然、生態が発達中の臨界期にホルモンの正常な作用に干渉する可能性のある化学物質への暴露に対して強い感受性を持つことについては多くの証拠がある。干渉する化学物質の作用は多くの場合不可逆的であり、作用を受けた器官と共に以後の生涯にわたって残る。また暴露の時点から作用が表面化するまでにかなりの時間遅れがある場合も少なくない。

顕著な例として次のようなものが挙げられる。

- アンドロゲンに干渉し得る化学物質の、胎生期の雄性プログラミング期における作用：ある種のジカルボキサミド系、イミダゾール系、アゾール系農薬、ある種のフタル酸エステルのようなアンドロゲン受容体拮抗物質がこれに属する。実験動物のアンドロゲンの作用の低下（生殖器官の形成不全など）は成熟後になって初めて観察される。この効果は代替において不可逆的である（付録1、4.1）。
- 疫学的研究により、周産期におけるダイオキシン(TCDD)への暴露によって精子の質が低下することが示されている。暴露が思春期ならば逆の効果を生じ、成熟期ならば精子への影響はない⁴。
- エストラジオールおよびエストロゲン性化学物質は齧歯類の新生仔の KiSS ペプチド系に干渉することがあり、思春期の開始時期が影響を受ける（付録1、4.2）。

¹ NRC 2009, ibid

² Slob 1999, ibid

³ Sheehan DM et al. 1999. No threshold dose for estradiol induced sex reversal of turtle embryos: how little is too much? Environ Health Perspect 107: 155-159.

⁴ Mocarelli P, Gerthoux PM, Patterson DG, Milani S, Limonta G, Bertona M, Signorini S, Tramacere P, Colombo L, Crespi C, Brambilla P, Sarto C, Carreri V, Sampson EJ, Turner WE, Needham LL. 2008. Dioxin exposure, from infancy through puberty, produces endocrine disruption and affects human semen quality. Environmental Health Perspectives 116:70-77.

- 雌の生殖系は子宮内でプログラムされ、この段階で DES などの化学物質による異常なシグナル伝達の影響で複数の不可逆的な結果を生ずることがある（付録 1、4.5.3）。
- 乳癌、前立腺癌、精巣癌、卵巣癌、子宮内膜癌など、ホルモン性の癌の多くは胎生期または思春期に起源を持つと考えられ、これらのライフステージでは、上記の癌の原因となる化学物質への暴露への感受性が高まっている（付録 1、5）。
- 子宮内での発達において、脳や神経内分泌系など発達の多くの指標にとって甲状腺ホルモンの作用は本質的な重要性を持つ。この段階での化学物質への暴露による攪乱は不可逆的な有害作用をもたらす（付録 1、6.1）。
- ロブスター、両生類、爬虫類などの野生生物は内分泌攪乱化学物質に対して極めて敏感であり、危険性の高いライフステージの例が多く知られている（付録 1、7）。

4.4.1 試験および規制への意義

内分泌攪乱化学物質の効果を確定するには、必要なエンドポイントを含む試験が臨界期をカバーしていることが必要である。発癌性物質や生殖・発達毒性物質の同定に現在使用されている試験法の多くは、内分泌攪乱に最も敏感なエンドポイントを含んでおらず、また臨界期における試験対象物質の投与が必ずしも規定されていない（4.7 章をも参照）。この点でフタル酸エステル抗アンドロゲン作用の発見に至った下記の事例は教訓的である。

当時米国 NTP で用いられていた、生殖・発達毒性試験のための標準的な給餌計画には、雄性プログラミングの臨界期における対象物質の投与が含まれていなかった。また抗アンドロゲン作用の実証には一腹の雄仔すべてを試験する必要があるが、NTP の催奇形性に関する標準プロトコルでは一腹の仔のうち 1 頭のみの試験しか規定されていなかった。このような状況の直接的な結果として、フタル酸エステルの抗アンドロゲン作用は永年にわたって気づかれず、「偶然」明らかになったのである¹。

REACH 第 57 条において、物質を高懸念物質(SVHC)のカテゴリーに分類するための判定基準に残留性と生体蓄積性を加えることになった理由の一つは、不可逆性の観点である。そのような物質は一旦環境中に放出されると回収することができない。後になって危険性が判明すれば、ヒトや野生動物の健康への危険性をもはや排除することができない。

同様の考慮によって、第 57 条(a～e)に規定されている物質と同様に、内分泌攪乱化学物質を第 57 条の懸念物質に加えることが正当化される。すなわち、決定的なライフステージにおいて発達・生殖に干渉する可能性があり、かつその結果は屢々不可逆的であるので、その原因となる暴露から長時間を経過した後に危険性が判明しても集団を保護することはもはや不可能であるとの主張である。

4.5 混合物

内分泌攪乱化学物質によっては、複数種が同時に作用して協働効果を生ずることに十分な証拠がある。特に同一エンドポイントに対して作用し得る複数の化学物質に同時に暴露された場合には、それぞれの物質単独では効果が検出できないような暴露量であっても協働効果が現れる可能性がある。したがって規制の観点からすれば、問題となる暴露シナリオにおいて存在する内分泌攪乱化学物質の範囲についての情報が得られることが極めて重要である。現状ではそのような情報は断片的であり、こうした情報不足のために内分泌攪乱化学物質のリスクが

¹ NRC, 2008. Phthalates Cumulative Risk Assessment – The Tasks Ahead. Committee on Phthalates Health Risks, National Research Council, National Academy of Sciences, Board on Environmental Science and Technology, National Academy Press, Washington, DC

過小評価されている面があると思われる。

4.6 毒性学的懸念の閾値

毒性学的懸念の閾値(TTC)のアプローチは、食品中に低レベルで存在する毒性未知の物質を、その物質の化学構造とヒトの暴露に関する情報から評価するために開発されたスクリーニングの手法であり、化学構造および毒性の可能性に従って分類させた化合物群について確立された、ヒトの暴露に関する一般的な閾値 (TTC 値ともいう) を使用する。ヒトの暴露に関する閾値のクラス分けに最もよく用いられている Cramer et al. (1978)の分類で、当時得られていた代謝と毒性の情報に基づいたものである。

EFSA学術委員会はTTCアプローチの意義と信頼性を評価し、意見公募に向けての意見書草案を最近公表した¹。それによればこのアプローチは、化学構造が既知であるが関連する毒性データが存在しないか、存在しても僅かであるような物質に適用可能であり、クラス分けの体系の見直しと精密化を早急に行うべきである。また生殖・発達・甲状腺機能などに対する、内分泌系に媒介される有害作用の多くは既存のTTC値で対応できる。ただし毒性データの提出が法的に義務づけられている場合にはTTCアプローチは通常適用できないので、本報告書の文脈においては限られた意味しか持たない。

4.7 エンドポイント、作用機序および試験

化学物質の内分泌攪乱性に関する科学的な議論の、規制上の意味のある結論を分析するための準備として、2002年のWHO/IPCSの「内分泌攪乱化学物質に関する科学の現状」刊行後に発表された関連ある知見の要約が行われた。上記報告書の構成に従い、ヒト健康に関するエンドポイントと野生動物への影響を主として扱っている。この「科学の現状の要約」は2011年1月に完成し、刊行後に寄せられたコメントに従って改訂された。改訂版は本報告書の付録1に収録されている。

エンドポイント、作用機序および試験法が学術文献でどの程度まで検討されているかを規制面から評価できるようにするため、科学的結果の分析を個別のエンドポイントごとに配列した。この目的のために、付録1に収めた「要約」、OECD概念枠組み文書²、新規なエンドポイントと試験法に関する詳細総合報告³の3つの資料に含まれる関連情報を照合した。OECD概念枠組みと「詳細総合報告」とに言及されている試験のエンドポイントと、「要約」で考察されているヒト健康および野生動物に関するエンドポイントとを照合することで、概念枠組みとそれに関連するガイダンスの包括性を検証することを試み、その過程で「要約」に含まれている他の情報も考慮した。1つまたは複数の作用機序や感受性の臨界期の証拠、更にヒト健康に関するエンドポイントについては実験モデルのヒトへの意義、野生動物に関するエンドポイントについては効果または作用機序の集団レベルの効果への意義を検討した。結果は本報告書付録3の表に示した。以下では「要約」に用いられているヒト健康エンドポイントと野生動物エンドポイントの二分構成に従って、種々の知識状況および規制のための試験法の能力に関する特に顕著な情報を要約する。

¹ EFSA Scientific Committee. 2011. DRAFT Scientific Opinion on Exploring options for providing preliminary advice about possible human health risks based on the concept of 5 Threshold of Toxicological Concern (TTC). European Food Standard Agency. Parma, Italy.

² Organisation for Economic Cooperation and Development. 2011. Guidance Document on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption - Version 11. OECD. Paris, France.

³ Organisation for Economic Cooperation and Development. 2008. Detailed Review Paper on the Use of Metabolising Systems for In vitro Testing of Endocrine Disruptors. No. 97. OECD. Paris, France.

4.7.1 ヒトの健康

4.7.1.1 生殖健康

4.7.1.1.1 男性生殖健康

内分泌攪乱化学物質の早急な規制が求められるに至った主な理由は、男性生殖機能の減退、特に精子の質の低下が報じられ、精巣性発育不全症候群が提起されたことであった。これに続いて多くの研究がなされ、この分野の科学に顕著な進歩が見られた。胎児の男性プログラミング期において、**Leydig** 細胞へのステロイドホルモン前駆体の吸収への干渉、アンドロゲン受容体の閉塞、ステロイド転換酵素の阻害などによってアンドロゲン作用が抑制されることについては一貫した証拠がある（付録 1 の 4.1 および付録 3 の表 1, 2 を参照）。ヒトとラットではステロイド産生が異なるが、雄性発達の基本的過程は全体としてよく似ているので、ラットはヒトに生じ得る効果のモデルとして適当と考えられている。またラットのモデルでは肛門性器間距離や乳頭遺残などの敏感かつ特異的なエンドポイントが利用できる。このことは後に示すように、内分泌攪乱の分野において、また恐らくは毒性規制全般において、比較的稀な状況である。しかし上記のエンドポイントの測定が必要なのは、最近導入された延長単世代生殖試験(TG 443)においてのみである。規制の観点からすると、これらのエンドポイントを試験の要件に加えるについての障害は動物福祉上の問題と哺乳類を用いる多世代試験のコストのみである。

更に最近になって、胎生期のアンドロゲン抑制、特に PGD2 合成の阻害を生ずる他の機構や、**Sertoli** 細胞の分化におけるその役割、あるいは精子形成におけるレチノイドと IGF1 の役割についての証拠も見出されている。

4.7.1.1.2 女性生殖健康

対照的に女性生殖障害に関しては、内分泌攪乱が関係していることを示唆する疫学的・毒性学的実験データは存在するが、内分泌攪乱の機構は十分立証されるに至っていない（付録 1 の 4.2～4.7 章、付録 3 の表 4, 5, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 16, 17 を参照）。たとえば思春期ないし生殖能力の早期発現に関して、内分泌攪乱化学物質の潜在的な効果が女性の生殖サイクルの制御中枢の攪乱によるものか、卵巣や乳腺における局所的効果によるものかはまだ明らかになっていない。多嚢胞性卵巣症候群などいくつかの障害については、医学的・過剰アンドロゲンが胎生期のプログラミングに影響していることが疫学的証拠から示唆されている。また妊娠に関わる障害についても、着床時の内分泌家庭の攪乱の結果として起こる酸化性損傷に関連する証拠が増えつつある。更に子宮内膜症や子宮筋腫が **Hox** 遺伝子のエピジェネティック制御に関係している可能性もある。結果としての疾患に内分泌家庭が関与していることは、障害に関する医学的知識から結論されることが多い。エストロゲン、アンドロゲンに限らずプロゲステロン、グルココルチコイド、プロスタグランジン、レチノイド、**AhR**、キスペプチンなど多数の化学的メッセンジャーや受容体が関与することから、攪乱の経路としては多数が考えられる。シグナル伝達経路の冗長性によって女性生殖系が化学的障害に対してより敏感になるか抵抗性が増すかは、現段階では推測の域を出ない。子宮内に限らず前思春期・思春期を含め発達の臨界期において、疾患が影響を受ける可能性についての証拠は、医学による間接的なものも毒性試験による直接的なものもある。しかしそれらの疾患の病因が十分理解されていない現状では、発達の臨界期を明瞭に定義した説得力ある証拠は限られている。更に問題を複雑にしているのは、疾患によっては適切なモデルが存在しないことである。これは齧歯類とヒトとの決定的な相違点（特に幼若齧歯類における卵巣ステロイドによる視床下部へのネガティブフィードバック、更には齧歯類が発情性であって月経がないこと）のためである。しかしながら齧歯類においては、エストロゲン様物質への暴露後の膣開口年齢の早期化や子宮重量の増大など、試験法の開発に利用されてきた特定のエンドポイントと内分泌活性を持つ化学物質への暴露との間に一貫した関連性が認められる。雌性生殖器の他のエンドポイント、たとえば試験対象

の器官の組織病理学や巨視的な形態などは一般に必ずしも内分泌攪乱に特異的ではない。延長単世代生殖毒性試験(TG 443)では、妊娠障害に関係するエンドポイントは親世代についてのみ測定されるので(第2世代でも誘発された場合は測定)、妊娠中でなく発達の臨界期に経験した暴露が妊娠に及ぼす影響は見逃される可能性がある。生殖機能の老化は検証済みの試験法では監視されない。卵巣または胎盤の化学物質への暴露の効果を検出する *in vitro* 試験法が最近いくつか開発されているが、それらは内分泌攪乱化学物質の効果を検出することはできても、毒性作用の機構を明らかにすることはできない。

要約すれば、知識の現状では *in vitro* 試験で検出される内分泌モダリティと *in vivo* での有害作用との因果性は、多世代試験においても大部分のエンドポイントについては確立することができない。

4.7.1.2 ホルモン性癌

ホルモンの敏感な癌の適切な動物モデルをめぐる問題も、ホルモンに媒介される発癌の検出を困難にしている。この問題については、ホルモンの要因や化学物質への暴露の影響と共に医学的理解の進歩によって、乳癌、前立腺癌、精巣癌、およびある程度までは甲状腺癌に内分泌攪乱化学物質への暴露が何らかの役割を演じている蓋然性が支持されている。ホルモンに媒介される発癌に関して関心を惹くモダリティはエストロゲン、アンドロゲン、および甲状腺癌の場合は甲状腺刺激ホルモンである。また少なくとも精巣および前立腺については、胎児の形態形成期が攪乱に対して特に敏感な時期であることについても説得的な証拠が存在する。乳癌については思春期やおそらく哺乳期も敏感である可能性がある。前立腺癌・精巣癌・甲状腺癌については現在のところ適当な動物モデルがない(付録1の5章、付録3の表19, 20を参照)。ACI ラットは、HRT に用いられる DES、エストラジオールなどのステロイド系エストロゲン、または馬エストロゲンに暴露されたとき高い発症率で乳腺腫瘍を生ずる唯一のラット系統であるが、他の種類の新生物には特に罹患しやすくないので、検証済みの発癌性試験には常用されない。Noble ラットはホルモン誘導性前立腺癌の研究のためには優れたモデルであるが、転移は稀にしか起こらない。反復投与毒性試験(TG 407)および多世代生殖毒性試験(TG 416, TG 443)では代理マーカーとして乳腺の組織病理学的変化、Leydig 細胞の結節過形成、または前立腺形成不全を測定しており、これらは OECD 概念枠組みのためのガイダンス文書草案に取り入れられている。しかし動物が感受性の臨界期に暴露を受けるのは多世代試験においてのみである。甲状腺ホルモンおよび甲状腺刺激ホルモンの追跡測定は延長単世代生殖試験(TG 443)でのみ行われる。

4.7.1.3 代謝と発達

神経毒性試験はそれ自体としては新しいものではないが、発達中の神経内分泌系の化学物質への暴露に関心が持たれるようになったのは比較的最近のことである。これは脳も胎児もいわゆる血液脳関門によって化学物質への暴露から比較的良好に保護されていると長年考えられてきたことにも関連するであろうが、この考えは次第に疑問視されるようになっていく。そのような状況の結果として、反復投与毒性試験(TG 407, TG 408)には一群の機能行動的エンドポイントが含まれているが、これによって脳の発達中の暴露の効果を検出することはできない。同様に、免疫系の神経内分泌調節に関心が向けられるようになったのもごく最近のことである。こうした動向をふまえて、発達神経毒性および免疫毒性のモジュールが延長単世代生殖試験(TG 443)に追加された。OECD 概念枠組みのガイダンス文書には試験結果の解釈についてのガイダンスが含まれているが、この2つのモジュールに含まれるエンドポイントにまでは拡張されていない。内分泌攪乱化学物質が神経発達に及ぼす影響については、甲状腺障害に関連して以前から関心が寄せられていたが、ガイドラインに収録されている検証済みの試験法では

甲状腺を評価できるものはまだ少ない。この場合も、発達の臨界期における血清中の甲状腺ホルモン・甲状腺刺激ホルモンの濃度の測定を規定しているのは延長単世代生殖試験(TG 443)のみである。同様に、神経系または免疫系の組織の機能変化は、明瞭な構造変化として現れるとは限らず、組織内のホルモンその他の因子に対する受容体の調節を特徴とするので、所定の組織病理学検査では判定できないことがあるが、これに加えて免疫組織化学的手法やプロテオミクスを適用すれば、受容体の発現の変化を測定することができよう。神経系も免疫系も個体の全寿命を通じて大きく変化するが、上記の試験に用いる動物は親世代も含め比較的早い時期に塗擦されるので、老化・高齢化の問題はカバーされない。

オビーソゲンの評価についても、科学的関心の高まりはごく新しいことで、関連するエンドポイントは規制に利用される試験法にはまだ存在しない。さらに体重変化は化学物質の影響の可能性を無視して適用されていることが多く、たとえば食餌を通じて暴露を受けた動物の体重減少は、単に化学物質によって餌が不味くなったためと解することもできる。トリグリセリドやコレステロールの濃度など興味あるエンドポイントも存在するが、現状では 28 日反復毒性試験(TG 407)で任意選択とされているにすぎない。

4.7.2 野生動物

4.7.2.1 無脊椎動物

今日までに認められている無脊椎動物の内分泌関連エンドポイントの概要を表 3 に示す。無脊椎動物の大部分の門について、内分泌の知識はゼロではないとしても極めて僅かしか得られていない。現状では無脊椎動物の内分泌系の研究は軟体動物と節足動物が主であり、その範囲も限られていて水生軟体動物・昆虫類・甲殻類の生殖、および昆虫類と甲殻類の脱皮が中心である。昆虫の脱皮を阻害する化合物は殺虫剤として開発されており、それらが標的以外の昆虫集団に作用し、また昆虫と甲殻類の脱皮過程が生化学的に近いため甲殻類の脱皮にも影響する可能性がある（付録 1, 7.1.2, 7.1.2.1 を参照）。

表 3：無脊椎動物に認められる内分泌関連エンドポイント（付録 3、2.1、表 28）

生殖	成長・発達	行動
ステロイド合成/代謝	胚・幼生・幼若成体の成長速度	水生軟体動物の穿孔行動（サギガイモドキ）
ビテロゲニン産生	幼生・生体の生存率、体長、体重	
卵の受精率、受精卵の生存率	脱皮の年齢、頻度、完全さ	
子孫の生存率	殻/外骨格の成長・発達	
	性比	
生殖不能・間性の誘発		
仔放出までの時間	エクジソン濃度	
	レチノイン酸経路の機能	
仔の数		
交尾成功率	代謝障害（O:N 比）	

野外における無脊椎動物における内分泌攪乱の最もよく知られた例は、有機錫系防汚塗料によって軟体動物の雌の生殖不能が誘発されることである。石油流出や工業廃水で汚染された海域に生息する海生軟体動物には間性や卵胞閉鎖が観察されている（付録 1.7、1.1.2）。下水放流口付近では甲殻類の性比の偏りや精巣卵が見出され、イガイの卵黄形成が誘導される可能性がある（付録 1、7.1.1.2）。幼若ホルモン様物質の使用によって甲殻類幼生の死亡率が上昇し、変態が妨げられ、生殖能力が減退することが示唆されている（付録 1、7.1.1.2）。実験によれば節足動物も軟体動物も脊椎動物の性ステロイドの影響を受け、節足動物の幼生の形態や成体の生殖能力に悪影響が見られ、軟体動物の生殖が妨害される（付録 1、7.1.1.2）。有機錫化合物による軟体動物の性分化への影響は当初は酵素の阻害によりテストステロンが増加するためと考えられていたが、最近になってRXR経路の誘導のためである可能性が高いとされるようになった¹。

OECD 概念枠組みには無脊椎動物のエンドポイントは含まれていない。これは診断的スクリーニングのエンドポイントが欠けており、またエンドポイントの利用の経験が蓄積されていないことが理由である。ユスリカライフサイクル試験(TG 233)とミジンコ生殖試験(TG 211)が最近検証された。ユスリカライフサイクル試験は2世代にわたり、両世代の卵と仔の数と生存率、両世代の発達速度、第1世代の卵の受精率を測定する。ミジンコ生殖試験は21日間で行われ、親の死亡率、繁殖率、幼生の生存率を測定する。成長の測定も可能であるが自由選択とされている（付録 3、7.1、表 29, 30, 32）。アミを用いる多世代試験およびカイアシ類を用いる全ライフサイクル試験も開発中である。アミの試験は内分泌系に媒介される生殖関連エンドポイント、ステロイド産生およびエクジステロイド関連エンドポイントをカバーすることを目的としており、カイアシ類の試験は卵形成および胚ないし新生幼生の発達に影響するエストロゲン性、アンドロゲン性または抗アンドロゲン性の同定を目的とする（付録 1、7.1.1.4、付録 3、7.1、表 29, 30, 32）。これらの試験は内分泌攪乱化学物質の効果を感度のあるエンドポイントすべてについて包括的に見るものではなく、厳密に節足動物（主として甲殻類）に限定されている。より広範囲な文献に見られる、種々の軟体動物や昆虫を用いる試験法を更に多くのエンドポイントや効果をカバ

¹ Lima D, Reis-Henriques MA, Silva R, Santos AI, Castro LF, Santos MM. 2010. Tributyltin-induced imposex in marine gastropods involves tissue-specific modulation of the retinoid X receptor. *Aquat Toxicol.* 2011. 101:1:221-227

一するように開発することは不可能ではないが、無脊椎動物の他の門に関する知識不足を補うことはできない(付録 3、7.1、表 29, 30, 32)。

要約すれば、無脊椎動物の内分泌系とそれに対する内分泌攪乱化学物質の影響の知識は節足動物と軟体動物にほぼ限られている。野外での集団への内分泌攪乱化学物質の影響については十分に記録された実例が存在するが、これまでに詳細に研究されたエンドポイントは軟体動物・節足動物の生殖および昆虫の脱皮に関するもののみである。甲殻類と軟体動物を用いる試験法が開発中であるが、それ以外の門はまだカバーされていない。

4.7.2.2 魚類

環境エストロゲンの魚類に対する影響が 1970 年代に初めて発見されて以来、実験室および野外で内分泌攪乱のマーカーとして利用できる内分泌攪乱に敏感なエンドポイントがいくつか見出されている。たとえば性ステロイドに媒介される生殖および生殖系の発達(付録 1、7.2.1)、甲状腺ホルモンの合成と輸送に見られる変化(付録 1、7.2.2.2) などである。野外では、下水処理場廃液によって魚類に間性や雄の生殖障害が生ずることが知られている(付録 1、7.2.1.1.1)。紙パルプ工場の廃液にも同様の性質が認められ(付録 1、7.2.1.1.3)、また農場からの流出液に暴露された野生種には一次および二次生殖特性の雄性喪失が起こることが知られている(付録 1、7.2.1.1.4)。過塩素酸塩に汚染された水路から得られた魚類には甲状腺異常が見られ、PCB への暴露を甲状腺ホルモンの周皮的脱ヨウ素化の低減に結び付ける研究もある(付録 1、7.2.2.2)。実験的にはエチニルエストラジオールを用いて雌の卵子産生を促進し、雄を脱雄性化し、性比を変化させることができる。発達の初期に暴露された雌は以後にエストロゲンへの感受性が増大する。天然のエストロゲンであるエストラジオールやエステロンも同様の効果を示し、エストラジオールの作用効力が最も大きい(付録 1、7.2.1.2.1)。実験的に抗アンドロゲン、アンドロゲン性薬物、アロマターゼ阻害剤を用いて雌雄の性的特性を操作することも可能である(付録 1、7.2.1.2.2)。コルチゾールへの暴露により雄性化が起こる証拠もいくらか存在する。これは魚類において重要なアンドロゲンである 11-ケトテストステロンとの構造上の類似性が高いことによるものと思われる(付録 1、7.2.2.4)。HPA 軸およびその他の性ステロイドや甲状腺ホルモンに媒介されない過程の化学物質への暴露の影響は、特に野生集団に対しては依然として十分に研究されていない。OECD 概念枠組みには魚類における内分泌攪乱化学物質の効果の評価に利用できる試験法がいくつか含まれている。短期生殖試験(TG 229)、21 日魚類試験(TG 230)とその変形である雄性化雌トゲウオ試験、および魚類性的発達試験(TG 234 草案)では生殖関連エンドポイントを測定する(付録 1、7.2.1.4、付録 3、7.2、表 35)。また生殖および一部の発達関連エンドポイントを含むメダカを用いる多世代試験も草案の段階にある(付録 3、7.2、表 35, 38)。短期生殖試験および 21 日魚類試験では発達の臨界期における効果は評価されない。性的発達試験およびメダカ多世代試験は複数の生殖・発達エンドポイントを含んでいる。器官外形、成熟所要期間、甲状腺ホルモン濃度は OECD 概念枠組みには含まれないが、米国 EPA が検証した魚類ライフサイクル毒性試験には含まれている。OECD の新規エンドポイントおよび試験法に関する詳細総合報告草案には、考慮すべきエンドポイントとしてレチノイド系への影響、成長ホルモン濃度、または幼生の変態が挙げられている。行動、特に生殖行動の変化が注目される(付録 3、2.2、表 35、38)。

魚類の生殖関連エンドポイントに対する内分泌攪乱化学物質の影響は、野外でも実験室でも十分に記載されているが、その他の、特に HPG 軸・HPT 軸に直接関与しないエンドポイントはそれほど注目されていない。生殖関連エンドポイントを含む試験法としては、利用可能なものも検証に近いものも存在するが、内分泌関連の他のエンドポイントは軽視されており、それらを表樹的な検証済み試験法に組み込むことを考慮しなければならな

い。

4.7.2.3 両生類

工業廃水・農業廃水に暴露された両生類集団に間性や雄性性徴の消失が見られることは多く報告されている。この現象における内分泌攪乱化学物質の役割については議論があるが、工業地域・農業地域において間性の発生率が時と共に増大している証拠は蓄積されており、またライフサイクル中の臨界期における除草剤単独または除草剤混合物への暴露の効果を測定した研究から、暴露と甲状腺ホルモン濃度の増加、間性、雄生殖腺の発育不全との間に関連があることが見出されている（付録 1、7.3.1.1）。過塩素酸塩やオイルサンド抽出工場の残留物に暴露されたカエルに成長阻害、甲状腺ホルモン濃度増加、甲状腺過形成が見出され、下水処理場廃液に暴露されたカエルでは変態の遅れや阻害が報告されている（付録 1、7.3.2.1）。石炭燃焼生成物で汚染された地域に生息するヒキガエルの野生集団にはコルチコステロン濃度の増大が見られ、コルチコステロン濃度を人為的に上昇させると交尾行動に障害を生ずることがあり、オタマジャクシのコルチコステロン濃度が増加すると自然の応答として変態までの期間が短縮される。しかし両生類の HPA 軸に対する化学物質の効果はあまり注目されていない（付録 1、7.3.3）。天然および合成エストロゲン、アンドロゲン、抗エストロゲン薬、抗アンドロゲン薬を実験的に投与したときの生殖関連エンドポイントには、化学物質の影響の試験で見られるのと同様の変化が認められる（付録 1、7.3.1.2）。甲状腺機能および変態は、既知の内分泌攪乱化学物質、エストロゲン、甲状腺ホルモンおよびその阻害剤に対しても敏感であることが示されている（付録 1、7.3.2.3、付録 1、7.3.2.2）。現行の OECD 概念枠組みの中では、アフリカツメガエル変態試験(TG 231)が甲状腺攪乱物質のスクリーニングに利用できるが、観察されるのは組織病理学と四肢の発達のみである。両生類幼生の成長・発達試験が現在起案中の段階にあり、生殖腺の組織病理学、卵黄形成、二次性徴の特性、性比の変化、発達、変態までの時間、および甲状腺ホルモン濃度が測定されることになっている。アフリカツメガエル変態試験(TG 231)に他のエンドポイントを追加して成長・発達をカバーすることも可能であろう。これまでは性ホルモン濃度は概念枠組みから排除されており、またその他の内分泌関連エンドポイントもいかなる形でも含まれていない（付録 7、2.3、表 41）。

要約すれば、内分泌関連物質が生殖および甲状腺関連エンドポイントに影響することは野外でも実験室でも確認されているが、行動関連エンドポイントは規制のレベルではまだ考慮されるに至っていない。

4.7.2.4 爬虫類

爬虫類における内分泌攪乱は十分には研究されていない。これまでの研究はアメリカワニに集中しており、カメ類の研究も少数あるが、トカゲ類（ヘビ類と併せて爬虫類の種の 96%を占める）については 1 件の研究があるのみである（付録 1、7.4）。野外での証拠の大部分は、フロリダ州のアポプカ湖が大量の残留性有機汚染物質で汚染された後に観察されたものである。同地域のアメリカワニの集団に生殖およびステロイド産生の異常が多く報告されており、汚染後の時間経過と共に個体数がかなり減少している。汚染地区から卵を採集し両性発生温度で孵化させた結果、雌に偏った性比が見られた。しかし他の地域でのアメリカワニの研究ではこのような結果が再現できない例も少なくない（付録 1、7.4.1.1）。五大湖周辺での淡水性カメの野外研究では、残留性内分泌攪乱化学物質で汚染された地域で自由生活しているカメ、および捕獲して孵化させた仔では雌雄とも生殖器の性的二形性が減退していることが示唆された。その他の内分泌攪乱の指標、たとえば血清中テストステロンや陰茎の形態などには変化がなく、また雌は雄よりも敏感である可能性がある（付録 1、7.4.1.1）。カメの卵内にエストラジオールとテストステロンを投与することで、陰茎の形態に影響を与えることなく性比を人為的に変化させる

ことが試みられた。予想外の結果というべきであろうが、テストステロンによって雌性化が誘発された。これは卵内での芳香族化によるものと推測される。アロマターゼ阻害剤で処理すると雄性化が生じた。アメリカワニを性ステロイドまたはアロマターゼ阻害剤で処理した場合も同様に陰茎の形態や血漿中テストステロンに影響なく性比に類似の変化が見られる。日本での研究によれば、少なくとも1種のカメについては卵黄形成がエストロゲン性のバイオマーカーとしては好ましくないことが示された(付録1、7.4.1.2)。アメリカワニにおいて、ビスフェノールAおよびPCB類が性比を雌に偏らせ、雄形成温度において卵の血漿中テストステロン濃度が減少すること、アトラジンが両性形成温度においては性比を雌に偏らせるが雄形成温度では影響がないことが示されている。同様の変化がエストロゲン性内分泌攪乱化学物質に暴露されたカメについても認められた。アトラジンとエンドスルファンがカイマンの精巣・卵巣の形態に異常を来すことが見出されている(付録1、7.4.1.3)。爬虫類の生殖以外のエンドポイントに対する内分泌攪乱化学物質の影響については事実上研究がない。フロリダ州の高度に汚染された地域から得られたアメリカワニではT4濃度が増大していたがT3濃度は正常であった。同じ湖の別の地区では甲状腺濾胞コロイド濃度の減少が見られたが、他地区の研究ではT4の現象が見出された(付録1、7.4.2)。行動関連エンドポイントは野外でも実験室でも調査されていない。OECD概念枠組みは爬虫類に対する内分泌攪乱化学物質の影響をカバーしていない(付録3、7.3、表41)。

爬虫類における内分泌攪乱はあまり研究されていない分野であり、内分泌攪乱化学物質の規制のために検証されている現行の試験方法の対象にもなっていない。既存の研究もごく少数の種と化合物に関するものに限られているが、性比や生殖腺の組織病理学に対する集団レベルの効果についての知見には蓋然性があると考えられる。更に、これらのデータの解釈および内分泌攪乱効果の確認は、爬虫類の内分泌に関する知識が不十分であること、野生集団におけるホルモン濃度や身体形状の自然の変動によっても妨げられている。

4.7.2.5 鳥類

野鳥集団に対する内分泌攪乱化学物質の影響を評価した研究の大部分は、有機塩素系農薬、PCB、PBDEなど残留性の、多くは過去に使用された化合物に関するものである。海鳥の性比の偏りが種々の残留性有機化合物の体内負荷量と関連付けられたが、これが内分泌攪乱の影響か否かは明らかでない。いくつかの種について、生殖管の奇形、ホルモンに誘導される生理的過程の変化、生殖率の減退がPCB、その他の塩素化炭化水素、メチル水銀系化合物への暴露と関連付けられている(付録1、7.5.1.1)。甲状腺に関係する卵の発達阻害は卵中の多ハロゲン化芳香族炭化水素濃度と関係づけられている(付録1、7.5.2.1)。残留性有機化合物に汚染された地域における食物連鎖の最上位またはそれに近い位置を占める捕食鳥類で甲状腺および甲状腺ホルモンの異常の発生率が増加しており、生殖行動にも変化が認められる(付録1、7.5.3.1)。性ホルモンを用いて実験的に鳥類の生殖系の発達を改変した結果、これらのエンドポイントが内分泌攪乱化学物質に敏感であることが示された。抗エストロゲンおよび抗アンドロゲンの作用は、それらが阻害すべきホルモンの血中濃度を増大させる場合も見出されており、必ずしも明瞭ではない(付録1、7.5.3.2)。甲状腺ホルモン、そのアナログ、または拮抗薬によるHPT軸の改変は今までのところ詳細には研究されていない(付録1、7.5.2.2)。TCDD、DDTその他のエストロゲン性内分泌攪乱化学物質を卵に投与すると雌生殖管の奇形が誘発され、成鳥の性ホルモン濃度に異常が生じ、生殖適応度が低下することが見出された(付録1、7.5.1.3)。同性交尾の増加のような顕著な性行動変化も誘導されることがある(付録1、7.5.3.3)。甲状腺ホルモン濃度および関連エンドポイントへの影響はPBDE類、TCDD、ダイゼイン、PCB類の投与で誘導される。PBDE類により継代的効果を誘導したとする研究もある(付録1、7.5.2.3)。OECD概念枠組みには検証済み試験として鳥類生殖試験(TG 206)のみが含まれており、鳥類2世代試験が起草段

階にある。両者とも卵に関連した生殖エンドポイントと甲状腺の全体的病理学を含んでいるが、甲状腺の組織学とホルモン濃度関連のエンドポイント、性ステロイド濃度、生殖管の病理、精液の質、副腎の組織学、ある範囲の求愛行動は2世代試験のみがカバーしている。コルチコステロイド濃度、性的選好および求愛に関連しない行動、骨変形、思春期、子孫の生存率、卵黄滞留はいずれの試験でもカバーされていない（付録3、7.4、表44、45、47）。

結論として、野鳥に対する内分泌攪乱化学物質の影響に関する野外研究は大部分が残留性化学物質を対象としている。生殖管の異常、甲状腺の機能とホルモンに敏感な行動関係エンドポイントが野鳥に関して報告されており、内分泌攪乱化学物質およびホルモンのモデル物質を用いて実験室的に誘導することもできる。鳥類2世代試験が検証され採用されればエンドポイントの範囲は広がるが、EAT以外の物質、多くの行動・発達関係エンドポイントは依然として含まれていない。

4.7.2.6 哺乳類

海生哺乳類は残留性の内分泌攪乱化学物質の影響によって特に危険に曝されている。海生哺乳類はヒトと同様に寿命が長く、高い栄養段階を占めている。また大量の体脂肪を蓄え、親油性化合物を貯蔵し、妊娠・授乳中あるいは飢餓の際に大量に放出する。しかし野生での研究は難しく、また水生生息環境、長距離でかつ多くは知られていない移動、場合によっては体躯の大きさや希少性などのため、捕獲して研究することも不可能な場合がある。PCBおよびその他の残留性有機汚染物質(POP)の身体負荷量が高いことは屢々記録されており、他の海生・陸生の種であれば生殖異常を惹き起こすことが知られているレベルに達していることもある。鯨類はクジラ類よりも注目されており、比較的小型で個体数も多いことから、給餌研究に用いた例もある。POPに汚染された地域の野生集団における生殖の異常や障害が報告されており、一部は汚染物質の身体負荷量と関係づけられている。汚染海域から得られた魚を実験的にアザラシに与えたところ生殖障害が増加した。野生集団では、甲状腺の異常、骨の病変、甲状腺ホルモンおよびレチノールの血清中濃度の低下が汚染と関係づけられることが見出された。汚染された海域で摂食したクジラの集団において生殖障害の発生率、CYP1A1の発現の増加、排卵障害を示す卵巣嚢胞が見出され、ある海域では捕鯨後の個体数の回復が予想より遅く、あるいは全く生じていなかった。高度に汚染されたクジラの脂肪を含む食餌を与えられたマウスには生殖異常が見られた。クジラの血清中甲状腺ホルモン濃度の低下もPOPの身体負荷量と関係づけられ、ホッキョククジラに関する一研究では体長と或る種のPCP同族体の身体負荷量との間に、雌雄で異なる相関が見出されている。これまでのところ、海生クジラ類についてはEAT以外に媒介されるエンドポイントの研究はなされていない。第二次大戦後にPOPに暴露されたアザラシの野生集団ではCushing病様の現象に関連する副腎の障害が現れ始めており、DDTやPCBメチルスルホンへの暴露との相関が見出されている。その他の非EAT効果は研究されておらず、鯨類・クジラ類いずれについても、非残留性ないし疑似残留性汚染物質の影響は未知である。これらの動物を実験室的環境に保つことは現実的でないため、モデルEDCあるいはホルモンを用いた研究は存在しない。OECD概念枠組みに含まれる試験法で海生哺乳類のエンドポイントをカバーしているものはなく、ヒトに関するエンドポイントをカバーする試験法が海生哺乳類その他の野生哺乳類の保護にも有効であるものと仮定されている。しかし齧歯類を用いた研究では寿命の長い生物種の老齢における内分泌攪乱化学物質の影響、すなわち脂肪層内での変化で生ずる代謝産物の影響についての知見を得ることは不可能である。

海生哺乳類の内分泌攪乱については詳細な研究はなされていないが、野生集団において内分泌関連のエンドポイントがPOPに影響されており、生存にとって危険である可能性があることは強く示唆される場所である。

非 EAT エンドポイントおよび非残留性・疑似残留性化合物の影響はほとんど研究されていない。

4.8 懸念される化学物質と暴露

過去 10 年間のうちに内分泌攪乱に関連して懸念される化学物質の数も、それらと結び付けられるエンドポイントの数も増加した。しかしそれらの範囲は性ステロイドの作用に支配される生殖関連エンドポイントに大きく偏っており、文献の中でも DDT とその代謝産物や PCB など過去に使用されたが現在広くは使用されていない化合物に関するものが大きな部分を占めている。

現在までに研究された化合物群とそれに関連して研究されたエンドポイントの概況を表 4 に示す。

表 4：懸念される化学物質とヒト健康または野生動物に関するエンドポイントとの関連表

懸念される化学物質	研究に関連するエンドポイント															
	ヒト健康に関するエンドポイント												野生動物のエンドポイント			
	男子生殖健康	女子思春期早発	女子生殖能力	多嚢胞性卵巣症候群	女子受胎能力	子宮内膜症	子宮筋腫	乳癌	前立腺癌	精巣癌	甲状腺癌	発達神経毒性	メタボリック症候群	無脊椎動物	魚類	両生類
PCB、PCDD、PCDF*	●	●	●		●	●	●	●	●	●	●	●	●		●	●
多臭化ビフェニルエーテル (PBDE)	●	●					●			●		●	●			●
過フッ化合物(PFC)			●									●	●		●	●
DDT/DDE	●	●	●		●	●	●	●	●	●		●	●		●	●
その他の有機塩素系農薬	●		●		●	●		●		●	●	●	●		●	●
有機燐系農薬					●			●			●				●	●
カルバメート系農薬					●			●			●			●	●	
アゾール系農薬	●										●					
ピレスロイド系農薬								●								
トリアジン系除草剤															●	●
その他の農薬	●		●		●			●			●	●		●	●	●
重金属	●	●	●		●			●	●			●				●
アルキルフェノール、ビスフェノール A、パラベン		●		●	●	●		●			●	●	●	●	●	●
フタル酸エス	●	●			●	●	●			●		●	●		●	●

テル																		
エストロゲン 製剤	●				●	●	●	●	●	●	●	●	●	●			●	
植物エストロ ゲン		●	●			●	●	●	●		●	●					●	
有機錫化合物												●	●	●				

* 多塩化ビフェニル(PCB)、ダイオキシン(PCDD)、フラン(PCDF)

4.8.1 多塩化ビフェニル(PCB)

暴露と疾病の関連の証拠

胎内においても成人後も、PCBに暴露されたヒトにおいて精子の質の低下が観察されている。PCBの高い身体負荷量と不可逆的な生殖関連エンドポイント（女子の思春期早発、妊娠損失、出生時の低体重など）との間に暫定的な関連付けがなされている（付録1、4.4.3、4.5.3.3）。また子の性比の偏りとの関連についても若干の証拠があるが、このエンドポイントの研究結果には矛盾がある（付録1、4.5.3.3）。ある種のCYP多形を持つ女性のPCBへの暴露と乳癌リスクの増大との間には説得的な関連が見出されており、子宮筋腫・甲状腺癌・前立腺癌の発生率が増加することにも多少の証拠がある（それぞれ付録1、4.7.3、5.4.2.4、4.5.3.3）。神経発達のエンドポイントもPCB暴露の標的であることが知られており、認知・運動・感覚機能への重篤かつ不可逆的な影響と関連付けられている（付録1、6.1.3）。暴露された各種の野生脊椎動物にエストロゲン関連の発達障害、甲状腺異常、甲状腺ホルモン合成の阻害の例が見出されている（付録1、7.2.1.1.2、7.3.1.1、7.4.1.1、7.5.1.1、7.6.1.1）。

内分泌攪乱機構の証拠

簡潔に言うと、広範囲の受容体および酵素への影響を通じて内分泌系・神経内分泌系に媒介されたエンドポイントがPCBの標的となることが知られている。具体的な標的は化合物ごとに、構造の共平面性（コプラナリティ）によって異なる。コプラナーPCBおよびその代謝によるヒドロキシル化物では、甲状腺受容体およびHPT軸が標的であり¹、ノンプラナーPCB（およびそのヒドロキシル化代謝産物）ではエストロゲンおよびアンドロゲン受容体、HPG軸、AhRおよびCYP1A1に誘導されるステロイド代謝が標的である²。

4.8.2 多塩化ジベンゾジオキシン(PCDD)および多塩化ジベンゾフラン(PCDF)

PCDDおよびPCDFの作用機序は部分的にはコプラナーPCBと同様で、AhRと結合して甲状腺機能を攪乱するが、エストロゲン受容体を活性化することはない。幼児期のTCDDへの暴露により精子の運動性や濃度が低下することが認められているが、思春期に暴露された男子に逆の影響が認められていることが注目される（付録1、4.1.3.3.2）。またこれらの化合物は女性の生殖関連エンドポイントや両性の神経発達にも不可逆的な影響を及ぼす可能性がある。女性の思春期の遅れが出生前および周産期の暴露と関連付けられ（付録1、4.2.3）、PCDD/PCDFもPCBと同様に神経発達に有害作用を及ぼす（付録1、6.1.3.1.1.2）。成人女性の閉経の早まり

¹ Patrick L. 2009. Thyroid disruption: mechanism and clinical implications in human health. Altern Med Rev 14:326-346.

² Bradshaw TD, Bell DR. 2009. Relevance of the aryl hydrocarbon receptor (AhR) for clinical toxicology. Clin Toxicol (Phila) 47:632-642.

が暴露と関連づけられている（付録 1、4.3.3.2）。PCDD/PCDF への高度の暴露と乳癌との間に関連があり、甲状腺癌との間には有意に近い関係がある（付録 1、7.5.1.3）。

4.8.3 多臭化ビフェニルエーテル(PBDE)

暴露と疾病の関連の証拠

胎内または発達初期における暴露は神経発達に重大かつ不可逆的な影響を及ぼすことがある。ヒトにおいてはこの影響は低い IQ と関係づけられており、また未だ研究中の段階ではあるが、暴露が自閉症のリスク因子であることを示唆する証拠もある¹。更にヒトに関する疫学調査からの証拠によれば、PBDE が生殖障害の原因である可能性がある。ヒトの胎内暴露が精巣に不可逆的な組織変化を生じさせ、精巣生殖細胞癌のリスクを増大させることに多少の証拠があり（付録 1、5.3.3.2）、また化合物によっては女子の身体負荷量と子宮筋腫との関連が見られる（付録 1、4.7.3）。生殖関係のエンドポイントも影響される可能性があり、最近の疫学研究では PBDE の身体負荷量と糖尿病および代謝症候群のリスク増加との関連が示されている²。これらの化合物の野生動物に対する影響は十分研究されていないが、野生アザランの仔における甲状腺ホルモン濃度の増加が PBDE の身体負荷量に關係づけられている（付録 1、7.6.3.1）。

内分泌攪乱機構の証拠

PBDE は甲状腺ホルモン受容体や、甲状腺ホルモンおよびレチノールの輸送タンパク質であるトランスサイレチンと結合するだけでなく、グルクロン酸化、トランスサイレチン下方制御、甲状腺ホルモン輸送の下方制御などに関連する酵素を誘導することで内分泌攪乱作用を生ずることが機構研究から示唆されている。少量の実験的投与によって、両生類の甲状腺異常、変態の遅滞（付録1、7.3.2.3）、鳥類の甲状腺ホルモン合成阻害、卵の質や甲状腺ホルモン成分の劣化（付録1、7.5.1.3、7.5.2.1）が生ずることがある。求愛行動その他の生殖関連行動の減少など、不可逆的な行動変化が生ずる場合もある。PBDE はトランスサイレチンに作用するためレチノイン酸シグナル伝達を攪乱する可能性もある。神経発達の臨界期における暴露が神経系の発生や脳の発達に有害作用を及ぼすという疫学的証拠は、多数の *in vivo* および *in vitro* 研究によって支持されている（付録1、6.1.3.1.2）。神経発達への影響は少なくとも部分的には甲状腺ホルモン攪乱作用によるものであるが、ドーパミン吸収の阻害とフリーラジカル生成も一定の役割を演じている可能性がある。PBDE はまたアンドロゲン受容体作動薬、エストロゲン受容体拮抗薬としても働き、スルホトランスフェラーゼの活性を阻害してエストロゲンのクリアランスを遅らせる。実験的に TCDD を投与した雛鶏には卵巣の異常が誘発され、成長後はプロゲステロン濃度の低下が見られ、生む卵が小さくなる。動物モデルの証拠から、これらの化合物は思春期を遅らせる効果があり（付録1、4.2.3）、精巣の発達に毒性作用を及ぼすことが示唆される（付録1、4.1.3.1.4）。しかしヒトにおけるこれらのエンドポイントに関するデータは少なく、得られているデータもまだ決定的というには遠い状況である。

4.8.4 過フッ化物(PFC)

暴露と疾病の関連の証拠

¹ Messer A. 2010. Mini-review: Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants as potential autism risk factors. *Physiology & Behavior* 100:245-249

² Bruggeman V, Onagbesan O, Dumez L, De Ketelaere B, Decuypere E. 2005. Effects of early prenatal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on postnatal reproduction in the laying hen (*Gallus gallus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 141:349-355.

ヒトについては小児の血清 PFC 濃度と ADHD との関連が見出されている（付録 1、6.1.3.1.6）。ペルフルオロオクタン酸(PFOA)とヒトの甲状腺ホルモンとの関連の研究では、T3 について陽性、遊離 T4 について陰性の結果が得られており、これらの化合物が甲状腺ホルモン転換に干渉することが示唆される（付録 1、6.1.3.6）。因果関係はまだ確立されていないが、PFC の身体負荷量とコレステロールの増加との間に一貫して正の関連があることが機構的および疫学的研究によって示されており、代謝症候群その他の代謝異常の病因に影響していることが示唆される（付録 1、6.2.3.2.2）。しかしその関連の強さについてはまだ議論がある。生殖関連エンドポイントも影響を受ける可能性があり、大規模疫学調査において、妊娠までの期間の増加が正の用量作用関係に従うパターンが認められ（付録 1、4.3.3.2）、また母体の身体負荷量の大きさと出生時の低体重が関連付けられている。野生動物への PFC の影響は確認されていない。

内分泌攪乱機構の証拠

懸念される主な化合物クラスは過フッ化カルボン酸（PFOA が最も注目されている）、過フッ化ホスフィン酸塩およびアルキルホスホン酸塩、過フッ化シクロヘキサンスルホン酸塩である。これらの化合物はすべて、ヒトにおいても実験動物（哺乳類、魚類を含む）においても *in vivo* の甲状腺機能を阻害し、血清中の甲状腺ホルモン濃度を低下させることが知られている。またこれらの物質が神経発達毒性を有し、胎生期に神経系に不可逆的な変化を生じさせることが *in vitro* および *in vivo* の実験によって示されている。子宮内で暴露された齧歯類では周産期の肺の発達が遅延し、出生後の成長・発達にも遅れが見られる。雌ラットとその仔には長期または短期の暴露の後に T3 濃度の低下が認められる（付録 1、6.1.3.6）。代謝への影響として、PPAR α および RXR を介してインスリン濃度に影響するとしている研究もあるが、これについては論争がある（付録 1、6.2.3.2.2）。

4.8.5 農薬

DDT とその代謝産物、HCH などの有機塩素系農薬は、内分泌攪乱性の研究された最初の物質群に属するが、その他にも内分泌攪乱性が知られ、あるいは疑われている化合物クラスが存在する。ここでは過去 10 年の間に注目を集めるようになった 3 つの化合物クラスを取り上げる。

4.8.5.1 ジカルボキサミド

暴露と疾病の関連の証拠

ヒトについても野生動物についても、暴露と疾病との直接の関連を示す証拠はまだ得られていない。

内分泌攪乱機構の証拠

動物実験によってビンクロゾリンが雄の生殖障害に寄与する可能性が見出されている。ラットの *in vivo* 試験では、出生前のビンクロゾリンへの暴露によって雄の性分化に不可逆的な有害作用が及ぶ。胎児が性分化中に暴露されるとアンドロゲン依存の過程が阻害され、AGD の減少、生殖器の奇形が生ずる。暴露された雄は成長後に精巣の異常と精子産生の過少、前立腺の炎症や疾病、胸部腫瘍、更には腎臓疾患や免疫異常を示す。ジカルボキサミド系農薬のうちではビンクロゾリン、イプロジオン、プロシミドンの 3 種の殺菌剤が特に注目されている。中でもビンクロゾリンの抗アンドロゲン作用は、雄の生殖管への出生前暴露の影響が 2 世代以上続くことから大きく懸念されている（付録 1、4.1.4）。ビンクロゾリンの影響とされるものの大部分はアンドロゲン受容体の拮抗剤としての性質で説明されるが（付録 1、4.1.4）、それに加えて全ゲノムにわたって遺伝子のメチ

ル化に変化を生じさせることによって世代を超えた影響を及ぼす可能性がある。ただし遺伝レベルでの正確な作用機序は確定されていない（付録 1、3.4.3.1）。ビンクロゾリンはまたマウスの *in vivo* 実験において、プロゲステロン受容体の発現に影響し雌の雄性化を惹き起こすことが示されている。イプロジオン、プロシミドンも AR 拮抗物質であり、ビンクロゾリンと同様に雄の生殖異常を生ずるが、その影響が次世代に及ぶかどうかは知られていない（付録 1、4.1.4）。

野生動物については、環境上問題になる程度の濃度のビンクロゾリンが前鰓類の雄の生殖機構に有害作用を及ぼすことがある（付録 1、7.1.1.4）。魚類の成熟を阻害し産卵数を減少させることもあり、おそらく雄に比べて内因性アンドロゲンの力価が遥かに低いため、また濾胞形成においてアンドロゲンが決定的な役割を果たすため、雌の方が雄よりも敏感である（付録 1、7.2.1.3.4）。卵内で暴露された鳥類の雄性行動も阻害され、成長した雄は血中テストステロン濃度が低く精巣も小さいが（付録 1、7.5.3.3）、爬虫類の卵内暴露実験では血漿中性ステロイド濃度や性比に相違は見出されていない（付録 1、7.4.1.2.）。

4.8.5.2 アゾール系殺菌剤

暴露と疾病の関連の証拠

アゾール系殺菌剤はトリアゾール系とイミダゾール系に大別される。イミダゾール系で内分泌攪乱作用に関して最もよく研究されているのはプロクロラズである。トリアゾール系にはビテルタノール、シプロコナゾール、フェブコナゾール、エポキシコナゾール、ヘキサコナゾール、メトコナゾール、ミクロブタニルなどがある。これらはいずれもジカルボキサミドと同様に非残留性であるため、臨界的な時期の暴露量の測定や推定は、特にヒトの場合困難である。ヒトにおけるこれらの物質の活性は疫学的にはあまり注目されていない。農業労働者に関する調査において、妊娠中に農薬に暴露された女性の子には生殖異常の有意な増加が見出されており、たとえば最近デンマークで行われた調査によれば、園芸業に従事して農薬に暴露された母親のコホートについて、男児の停留精巣の発生率が園芸およびそれ以外の職業で暴露を受けていないコホートに比べて有意に増大していることが見出された¹。しかしこのような調査では農薬の具体的な化合物あるいは化合物クラスが明示されていないため、個々の農薬ないし農薬クラスとの因果関係を推定することができない。ジカルボキサミド類の野生動物集団への影響についてはほとんど知られていない。

内分泌攪乱機構の証拠

器官形成期におけるプロクロラズへの暴露は、他の抗アンドロゲン物質と同様に雄性生殖管の形成に不可逆的な影響を及ぼす。他のアゾール類についても同様な作用の証拠がある（付録 1、4.1.4）。プロクロラズやトリアゾール類は AR 拮抗物質であるとともに、ステロイド合成にも干渉する。プロクロラズの場合、プロゲステロンからテストステロンへの転換を阻害し、アルドステロン合成を低用量では刺激、高用量では阻害する。またアロマターゼ阻害剤としても働き、エストラジオール濃度を低減させる。他のアゾール類も同様の性質を示すが、プロゲステロン転換の阻害やアロマターゼへの作用の程度は様々である（4.1.2）。非ステロイド的作用も確認されている。またアゾール類は甲状腺ホルモンの肝代謝と排泄を促進する（付録 1、4.1.4）。かなりの種類のアゾール系殺菌剤について混合実験が行われており、暴露量が累加的との予想どおり加成的効果を持つようである（付録 1、3.3.1.2）。両生類のステロイド産生への影響が実験室的に知られているが（付録 1、7.3.1.3）、野外で同様の

¹ Gabel P, Jensen MA, Andersen HR, Baelum J, Thulstrup AM, Bonde JP, Toft G. 2011 The risk of cryptorchidism among sons of women working in horticulture in Denmark: a cohort study. *Environmental Health* 10:100.

影響があるか否かは不明である。これらの化合物による魚類へのリスクも示されており、実験室的な知見として、暴露された成魚の生殖率の減少や生殖腺異常、発達期の暴露による性比の雄への偏り・間性の増加・雄における卵黄形成の増加が報告されている^{1,2}。他の野生動物集団に関するデータは存在しない。

4.8.5.3 トリアジン

暴露と疾病の関連の証拠

トリアジン系除草剤としてはアトラジンとシマジンの2つが最も広く使用されており、中でもアトラジンは内分泌攪乱性の点で最も注目されている。その主な理由は、汚染地域から得られた野生のカエルに二次性徴の雌性化、間性、生殖器発育不全が認められたことである（付録1、7.1.1.4）。

内分泌攪乱機構の証拠

両生類ではアトラジンへの暴露はテストステロン濃度の低下と関係づけられ、雌ラットでは思春期前後でのアトラジンへの暴露により黄体形成ホルモン(LH)およびプロラクチンの濃度が減少し思春期の開始に遅れが見られる。しかしその作用機序は正確には分かっていない。アトラジンがホルモン受容体と直接相互作用する事例は知られていないが、ステロイド産生酵素に干渉する（付録1、7.3.1.3）。意外ではあるが、アロマターゼには影響を与えないようである。野生雄カエルに見られたのと同様な性的異常は実験室的にも誘導されており、極めて低い用量で影響が見られた場合もある（付録1、7.2.1.3.4）。しかし観察された影響は種により系統によって一様ではない。甲殻類にも生殖系がトリアジン類に敏感な例が見られる（付録1、7.3.1.3）。実験的条件下でアトラジンに暴露された産卵期のミジンコの仔には雄が異常に多かった。魚類を用いた試験では、暴露された雄にビテロゲニン産生の増大、雌に産卵率や放卵回数の減少が見られたものがある（付録1、7.2.1.3.4）。それらの試験では処理した魚の生殖腺には精巣卵母細胞、卵母細胞閉鎖その他の組織学的変化が見られたが、その程度は用量には依存しない。野生爬虫類・鳥類・哺乳類に対するこれらの化合物の影響はあまり知られていない。アメリカワニの卵の性比に対する影響を調べた予備的な研究では、雄性または雌性形成温度では影響は見られなかった。しかし最も敏感である両性形成温度での試験は行われていない（付録1、7.4.1.3）。鳥類では卵内で暴露された雄の求愛行動や排出腔腺の形成が抑制される場合がある（付録1、7.5.3.3）。哺乳類に対する影響はまだほとんど知られていない。

4.8.6 重金属

暴露と疾病の関連の証拠

重金属化合物は残留性かつ生体蓄積性であるため、依然として懸念される物質である。メチル水銀が神経発達に及ぼす不可逆的影響は、発達の主要指標に見られる遅延や認知・運動・聴覚・視覚機能の障害と暴露との関連が疫学調査で明らかにされているため、現在大きな関心を集めている（付録1、6.1.3）。鉛もこれらのエンドポイントを攪乱することが古くから知られており、多くの製品において規制の対象となっている。カドミウムの生

^{1,2} Ankley GA, Jensen KM, Durhan EJ, Makynen EA, Butterworth BC, Kahl MD, Villeneuve DL, Linnam A, Gray LE, Cardon M, Wilson VS. 2005 Effects of Two Fungicides with Multiple Modes of Action on Reproductive Endocrine Function in the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*). *Toxicological Sciences* 86(2):300-308

Kinnberg K, Holbech H, Petersen GI, Bjerregaard P. 2006 Effects of the fungicide prochloraz on the sexual development of zebrafish (*Danio rerio*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology* 145(2): 165-170

殖系への影響も調査されており、職業的暴露と乳癌との間の弱い関連を見出した疫学調査もある(付録 1、5.1.3.2)。月経異常や妊娠の遅延に寄与する可能性についても多少の証拠が存在するが(付録 1、4.3.3.2)、子宮内膜症との関連は見出されておらず(付録 1、4.6.3)、暴露と子宮筋腫発症率との関連を検討した研究では矛盾した結果が得られている(付録 1、4.7.3)。暴露と前立腺癌との間にも弱い関連が認められ、重症であるほど関連が強まる傾向がある。野生動物の内分泌に対するカドミウムの攪乱作用についてはよく研究されていない。カドミウムの生体蓄積は野生脊椎動物でも無脊椎動物でも広く報告されており¹⁾、様々な種について実験室でも野外でも個体の体内過程が記録されているが、集団レベルのデータは欠如している。

内分泌攪乱機構の証拠

メチル水銀は内分泌系に対して複数の作用機序を示す。すなわちTSH濃度を増大、T3濃度を減少、T4濃度を増大させることにより甲状腺ホルモンのホメオスタシスを攪乱し、更に内分泌器官へ直接毒作用を及ぼし、ステロイド産生に干渉し、性ホルモンと直接相互作用してホルモン濃度を変化させる¹⁾。古くから神経毒として知られている鉛もメチル水銀と同様に、下垂体からのTSH放出を促進することによって内分泌系に媒介される作用を及ぼす。子宮肥大試験を利用した研究によって、カドミウムへの暴露量と子宮重量との用量作用関係が示されている。カドミウムが齧歯類の前立腺癌を誘発することを支持する証拠がある(付録 1、5.2.3.3)。カドミウムが動物のERαに及ぼす影響に関する詳細な研究によれば、カドミウムの挙動はエストロゲンに酷似しており、*in vivo*で行われた研究のほとんどは再現性があることが確認されている。しかし*in vitro*の試験はより混乱している。エストロゲン感受性細胞の培養における増殖促進効果を報告している研究もあるが、そうでない研究もある。同様に、カドミウム誘発ERαおよび転写の研究からは相反する結果が得られており、カドミウムへの暴露がHEK293, HeLa, MCF7, HepG2の各細胞においてERαに媒介されるErk1,2 キナーゼのリン酸化を誘発することを示した研究は、いくつかの実験室では再現できなかった。カドミウムとエストラジオールに関する研究の多くは、ERαがカドミウムによってエストラジオールに敏感になることを示しているが、反対の結論を得ている研究もある。

4.8.7 ビスフェノール A

ビスフェノール A は過去数年の間に極めて詳細に研究された。その影響は多岐にわたり、ER および PR への結合力および抗甲状腺ホルモン物質としての性質に媒介される。器官形成期の暴露により生殖系の発達に有害作用が及び、前立腺過形成や以後の生涯におけるエストロゲン感受性の増大(付録 1、3.2.4.1.1)、乳腺組織の構造変化(付録 1、3.2.4.1.2)の生することが示されている。ビスフェノール A への暴露に関連する発癌リスクの可能性や神経発達への有害作用に関する研究も現れている(付録 1、3.2.4.1.3)。

4.8.8 フタル酸エステル

暴露と疾病の関連の証拠

胎児期におけるフタル酸エステルへの大量暴露と、性分化の主要特徴の変化として現れる不可逆的影響との関連を最もよく証拠立てるのは、米国で行われた男児に関する 2 件の主要の研究である。尿中のフタル酸エステル代謝産物濃度の総体的評価と肛門性器間距離指数(AGI)の減少との間に関連が見出された。AGI の短さと他の健

¹ Burger J. 2008. Assessment and management of risk to wildlife from cadmium. Science of the Total Environment 389(1):37-45

康に関する結果、たとえば精巣下降や性器の形状との関連も研究され、不完全な精巣下降の確率、陰嚢が小さいと判定される、あるいは陰茎の短小な男児の比率と AGI との間に密接な関係が見出された。フタル酸エステルへの出生前の暴露と ADHD 関連の症候群や IQ 低下との関連が見出され、あるいは暴露が肥満・インスリン抵抗性・糖尿病のリスク因子であることを示唆する研究があることから、神経発達や代謝に関するエンドポイントもフタル酸エステルへの暴露との関連で注目されつつある（付録 1、6.2.3.2.6）。野生動物への影響は現在でもほとんど研究されていない。

内分泌攪乱機構の証拠

統制された実験条件下で妊娠したラットにフタル酸エステルを投与すると、雄の仔に「フタレート症候群」と名付けられる一連の不可逆的影響が現れる。この症候群はヒトにおける精巣発育不全症候群(TDS)に類似したものと考えられる（付録1、4.2を参照）。ラットでは、生殖器の発育不全、外性器の奇形（尿道下裂に類似）、精巣下降の困難（精巣停留）、肛門性器間距離の変化、乳頭遺残など一連の生殖管異常が特徴的である。これらは胎生期のアンドロゲン作用の攪乱、すなわち明らかな内分泌的機構に起因するものと考えられる。

雄の発達に対する影響は、Leydig 細胞へのテストステロン前駆体吸収をフタル酸エステルが妨害することでテストステロン合成に直接干渉するためと考えられる。アンドロゲン合成を抑制するのは、オルト構造を持ちエステル側鎖の炭素数が 4~6 個であるエステルにほぼ限られるようである。フタル酸ジエチル(DEHP)のような短鎖エステルはラットに経口投与しても影響を示さない（付録 1、4.1.2）。フタル酸ジエチルが魚類やカエルにおいてエストロゲン性であることが示唆されている（付録 1、7.2.1.3.2、7.3.1.3）。

ラットでは雄の仔と同様な機構が雌でも働いている。DEHP の活性代謝産物であるフタル酸モノエチルヘキシル(MEHP)は *in vitro* 試験において、ラットの顆粒膜細胞のエストラジオールの産生を減少させることがある。これは主として産生と代謝への干渉の結果である。DEHP はまたアロマターゼ（テストステロンをエストラジオールへ転化させる酵素）の濃度を減少させることでエストラジオール産生を減少させる場合もある。フタル酸ベンジルブチル(BBP)や DEHP のように ER 拮抗剤として働くフタル酸エステルもある⁽¹⁾。甲状腺ホルモン機能の攪乱は、甲状腺レベルで齧歯類に見出されているように組織病理学的変化を生じて T4 産生が減少することによっても、また甲状腺ホルモンに応答する組織自体のレベルで T3 受容体に結合して機能を抑制することによっても生ずる。あるものは GR に親和性を有し、*in vitro* で脂質生成を促進する。既知の COX-1 および COX-2 阻害剤（アスピリンなど）に構造的に類似するフタル酸エステルもあり、プロスタグランジン合成に干渉する可能性がある（付録 1、3.5.2.2）。抗アンドロゲン作用の *in vivo* 試験に用いられたフタル酸エステル混合物は全体として暴露量累加モデルに一致する作用を示した（付録 1、3.3.1.2）。

実験的アプローチと作用効力データ

ある種のフタル酸エステルに妊娠中に暴露されたラットに誘発される最も敏感な効果としてテストステロン合成の抑制、乳頭遺残、AGD の変化が代表的である。これらは母体毒性や何らかの全身的影響の徴候がなくても出現する。より高い用量では奇形その他性器に対する影響が見られる。

DEHP の作用効力は DBP、BBP よりも高く、DINP は最も作用効力の低いフタル酸エステルである。雄の性分化の主要段階に基づいて、NOAEL は DEHP が 3~5 mg/kg bw/day、DBP および BBP が約 50 mg/kg bw/day、DINP が 300 mg/kg bw/day と算定されている。

4.8.9 パラベン

暴露と疾病の関連の証拠

パラベンはヒトの組織や体液に広く見られる汚染物質であることから懸念が抱かれるようになっている。現在までの研究の多くは *in vitro* 試験か動物実験である。パラベンは体内で非常に速く代謝されるので、特に *in vitro* 研究に関しては、まだ試験されていない代謝産物が暴露後の内分泌攪乱作用に重要な役割を演じている可能性があることに注意しなければならない。ヒトに関する疫学的証拠はごく限られたものしかない。

閉経後の女性において血清中パラベン濃度とマンモグラフィによる乳腺密度との関連が最近報告されているが、暴露が乳癌リスクを高める証拠は存在しない。

内分泌攪乱機構の証拠

パラベンがエストロゲン性・抗アンドロゲン性を持つことは、受容器との結合に関する *in vitro* 試験で明らかにされている^②。エストロゲン性はアルキル直鎖が長いほど、あるいは側鎖が分岐しているほど強く、抗アンドロゲン性もおそらく同様である。ラット成体にパラベンを投与すると、投与量に応じてテストステロン濃度が低下し、精子産生が減退する。また前立腺の重量増加が報告されている。出生前および周産期の暴露によって、精子減少、精巣や前立腺の重量減少など雄性発達に対して不可逆的な有害作用が現れるとする研究も存在するが、このような研究の数は少なく結果も一致していない。パラベン混合物は累加的なエストロゲン作用を持つことが示されており、内因性エストロゲンの分泌を阻害することでスルホトランスフェラーゼを阻害することもある。また *in vitro* では TR に対する拮抗作用が見出されており、神経発達に対する不可逆的影響の可能性が懸念されているが、この分野の研究はそれほど進展していない（付録 1、6.1.2.1）。フタル酸エステルと同様パラベンも COX 阻害剤として働く可能性がある。物質によっては *in vitro* でプロスタグランジン合成を阻害し、その作用機序は COX 阻害と推定される^③。パラベン混合物の *in vivo* での効果、野生種への影響などの研究はほとんどない。全体としてパラベンの内分泌攪乱性に関する知識は不足しており、ヒトあるいは環境の健康に対してリスクを及ぼすか否かを決定するにはなお多くの研究が必要である。

4.8.10 その他の化学物質

過去数十年の間に多くの化学物質（群）が懸念される物質に加わった。パラベン以外にも紫外線吸収剤や合成ムスクが多くの化粧品やパーソナルケア製品に使用されている。いずれもヒトに対して内分泌攪乱効果を持つという直接的な証拠は今のところ得られてないが、動物実験や *in vitro* 試験では内分泌攪乱の可能性について多少の証拠を示す物質もある。紫外線吸収材には多様な化合物が含まれ、その中には妊娠中のラットに高濃度で投与したとき仔に不可逆的なエストロゲン作用・抗甲状腺作用を誘導することが見出されているものがある。エストロゲン性はレポーター遺伝子試験でも見出されており、エストロゲン性であることが示された化合物の大部分は AR、TR または PR 拮抗性をも示す^④（付録 1、3.1.3.3）。ただし観察される活性プロファイルは化合物ごとに大きく異なる。合成ムスクはヒトおよび野生動物の組織に蓄積されることが見出されており、あるものは *in vitro* において極めて弱いエストロゲン性、抗アンドロゲン性、抗プロゲステロン性化合物として働く。しかし *in vivo* での挙動はまだほとんど調べられていない。珪素系化合物シロキサンは皮膚や毛髪の柔軟化、平滑化、加湿のための化粧品に屢々用いられるが、その一部であるシクロシロキサン類は残留性であり、生体蓄積の可能性も示されていて、ヒトでも野生動物でも組織内に見出されているが、ヒトに対する影響に関しては今までのところデータがない。この群に属する化合物のいくつかは、齧歯類による試験でエストロゲン効果を示し、またヒト以外の

霊長類およびウサギによる試験では妊娠中の雌に投与すると雄性生殖機能に不可逆的障害が現れる。雄犬の生殖器官への影響も報告されている。In vitro ではエストロゲン受容体への親和性を示す¹⁾。抗菌石鹸に広く使用されているトリクロカルバンとトリクロサンは in vitro 試験において、アリル系炭化水素、エストロゲンおよびアンドロゲン受容体に媒介される弱い応答を示し、甲状腺ホルモン機能を攪乱する可能性もある（付録 1、6.1.2.1）。またトリクロカルバンはテストステロンと相互作用する可能性が提起されており、ラットの in vivo 試験では若い雄の副性器の過形成を誘発する可能性が示されたが、ヒトに関するデータはない。

ドライクリーニング用溶剤として用いられるグリコールエステルおよびその代謝産物は、職業的暴露の研究において生殖毒性（女性の流産や低妊孕率、男性の精子減少）と関係づけられた。これらの知見は動物実験でも支持されており、エストロゲンシグナル伝達の促進は in vitro でも観察されている。これらの化合物はすべて、これまで研究されてきた内分泌攪乱化学物質と同様に、主としてエストロゲン、アンドロゲンおよび甲状腺に媒介される過程の攪乱を通じて作用するもののようである。しかしこれ以外の経路で作用する物質もあり、ヒトの健康に影響する可能性があるとして最近注目を集めている。たとえば有機錫化合物は軟体動物に生殖不能や間性を生じさせることが以前から知られていたが、哺乳類の細胞でペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 γ /レチノイド X 受容体経路を介して脂質生成を促進することが見出された（付録 1、6.2.3.2.4）。今後は非 CMR エンドポイント（代謝、骨の健康、神経免疫系、神経発達など）に影響する化合物の効果の同定および定量化が重要な研究分野となろう。

5 ヨーロッパにおける規制の枠組み

5.1 分類と表示

国際的な化学物質の分類の体系として、Globally Harmonised System for the Classification and Labelling of Chemicals (GHS)（いわゆる Purple Book）が国連の後援のもとに作成され 2007 年に公表されている。この分類体系を欧州での規制に適用したのが Regulation No 1272/2008 (classification, labelling and packaging of substances and mixtures、以下 CLP という) である。CLP は危険物質指令(67/548/EEC)および危険配合物規制(99/45/EC)を修正してこれらに代わるものであり、REACH 規制に対する修正でもある。この分類体系には特に内分泌攪乱化学物質を示す項目はない。この章では、内分泌攪乱化学物質に対する「同等の懸念」(equivalent concern)および規制上の決定の提案の法的基礎を検討するため、発癌性物質、生殖毒性物質、有害および毒性物質、環境毒性物質に関する現行の分類の概要を示す。

CLP 第 13 条により、ある物質がその固有の性質に基づいて複数の危険性クラスに分類される可能性があることに注意しなければならない。

5.1.1 発癌性物質

5.1.1.1 定義とカテゴリ分類

発癌性物質は次のように定義されている。

「癌を誘起し、あるいは癌の発生率を増加させる物質。適切な動物実験において良性または悪性の腫瘍を誘発した物質も、腫瘍形成機構がヒトとは異なることの強い証拠がない限り、ヒトに対しておそらく発癌性のある物質、あるいは発癌性を疑われる物質と見なす」

発癌性物質は2つの主要カテゴリー、すなわちカテゴリー1「発癌性であることが知られている、あるいはおそらく発癌性である物質(known or presumed carcinogens)」とカテゴリー2「発癌性の疑いのある物質(suspected carcinogens)」に分類される。カテゴリー1は更に、主として発癌性の証拠となる研究の対象がヒトであるか動物であるかによって、カテゴリー1A（発癌性であることが知られている物質）とカテゴリー1B（おそらく発癌性である物質）に細分される。この分類体系と各カテゴリーに対する証拠の強さの種類を表5に再録する。

総合的な懸念レベルを評価する上で考慮すべき主要因のうち、内分泌攪乱化学物質に対しては下記も妥当である可能性がある。

- (f) 応答が見られる種が1つであるか複数であるか
- (g) （発癌性の）十分な証拠のある物質と構造が類似しているか
- (h) 暴露経路
- (i) 実験動物とヒトの吸収、分配、代謝、排泄の比較
- (j) 実験での投与量における過剰な毒性が交絡効果を現す可能性
- (k) 作用機序とそのヒトに対する妥当性

表5：発癌性物質の分類

分類	定義	判定基準	試験方法
カテゴリー 1	ヒトに対する発癌性が知られている、あるいはおそらく発癌性の物質。疫学データまたは動物実験データに基づき分類。	カテゴリー1A ヒトに対する発癌性が知られているもの。分類は主としてヒトに関する証拠による。	ヒトにおける暴露と癌発症との因果関係を立証した研究（既知のヒト発癌性物質）。
		カテゴリー1B ヒトに対しておそらく発癌性と判断されるもの。分類は主として動物実験の証拠による。	動物に対する発癌性の十分な証拠のある動物実験（ヒトに対しておそらく発癌性の物質）。 更に、ヒトに対する発癌性の限定的な証拠と実験動物に対する発癌性の限定的な証拠とを共に示す実験から科学的判断により、ヒトに対しておそらく発癌性の物質であるとの分類が認められることがある。
カテゴリー2	ヒトに対する発癌性の疑	カテゴリー2 への分類	

	いのある物質。	は、ヒトまたは動物に対する実験において、証拠の強さその他から見てカテゴリー1Aまたは1Bに分類するには十分な説得力を持たないときになされる。そのような証拠はヒトに対する、または動物に対する発癌性の限定的な証拠に由来することがある。	
--	---------	---	--

5.1.1.2 十分な証拠と限定的な証拠

証拠の強さに関して CLP では、十分な証拠と限定的な証拠の定義を、IARC の定義と矛盾しない形で次のように示している。

「発癌性の十分な証拠：(a)2 つ以上の動物種に対して、または(b)1 つの種に対して、異なった時点に、または異なった実験室で、または異なったプロトコルにより実施された 2 つ以上の独立の試験において、被験物質と悪性新生物または良性と悪性新生物を適切に合わせたの発生率の増加との間に因果関係が確立されていること。適切に（理想的には GLP に従って）実施された試験において、1 つの種の両性において腫瘍の発生率の増加が認められた場合も十分な証拠と見なされる。1 つの種の一方の性に対する 1 回の試験であっても、悪性腫瘍の発生率、発生部位、腫瘍の種類あるいは発症年齢が異常である場合、あるいは複数部位に腫瘍が発生する十分な所見がある場合には、十分な証拠と見なされることがある。

発癌性の限定的な証拠：(a)発癌性の証拠が 1 回の実験でのみ得られている場合、(b)実験の計画、実施または解釈の適切性に関して未解決の問題がある場合、(c)被験物質により発生率が増加するのが良性新生物のみである場合、あるいは病変が腫瘍性であるか否かが不確実な場合、(d)発癌性の証拠が、狭い範囲の組織または器官に対しての発癌の促進作用（promotion）しか示していない実験でのみ得られている場合、などのデータは発癌性を示唆するが決定的な評価を下すためには限定的である」

4.1 で論議したように、内分泌攪乱性の証拠に同様な定義を与えるとすれば、GLP を含めることには種々の影響があると思われる。

5.1.1.3 効力 (potency) の考え方の導入

加盟国、業界、労組およびノルウェーの専門家で構成されるいわゆるCMRワーキンググループは、発癌性物質に関する具体的な濃度限界を設ける際に「効力 (potency)」の考え方を含めることについての報告書¹を発表している。効力に基づくカットオフ値は内分泌攪乱化学物質に関しても提案されており (第6章)、発癌性物質の効力グループを導出する方法には関心が持たれるところである。ただしこれらのグループは分類された発癌性物質を含む意図的な混合物の分類に関して考えられているものである。上記報告書は発癌性物質を、25%発癌用量 T25 (暴露されたヒト集団の腫瘍発症率が25%となる暴露量)、または自然発生率に対する補正を施した動物実験データに基づいて、次のとお効力高・中・低の3つのグループに分けることを提案している。

- 効力高の発癌物質 : $T25 \leq 1 \text{ mg/kg 体重/日}$
- 効力中の発癌物質 : $1 \text{ mg/kg 体重/日} < T25 \leq 100 \text{ mg/kg 体重/日}$
- 効力低の発癌物質 : $T25 > 100 \text{ mg/kg 体重/日}$

カットオフ値を1および100 mg/kg 体重/日と定めた根拠は、関連する50%腫瘍発生量TD50 (標準的寿命の終わりまで腫瘍を示さない確率を半減させるために必要な一日暴露量) の、発癌性物質492種のデータベースにおける分布にある。

5.1.2 生殖毒性および発生毒性物質

5.1.2.1 定義とカテゴリー分類

分類の目的のため、生殖毒性は次のように定義する。

「成体の雄または雌の性機能と受胎能に対する有害作用、および子 (児) における発生毒性」

「生殖毒性」という危険性クラスは性機能と受胎能または発達に対する有害作用と、乳汁分泌に対する影響が授乳を介しての影響かによって更に細分される。

法文においても「有害作用」が、IPCS/EHC Document No. 225²で合意された作業定義に基づいて次のように定義されている。

¹ Commission Working Group on the Classification and Labelling of Dangerous Substances (日付なし) Guidelines for setting specific concentration limits for carcinogens in annex I of Directive 67/548/EEC - inclusion of potency considerations. [オンライン、<http://ec.europa.eu/environment/chemicals/dansub/pdfs/potency.pdf>. 2011年12月15日閲覧]

² International Programme for Chemical Safety. 2001. Principles For Evaluating Health Risks To Reproduction Associated With Exposure To Chemicals. Environmental Health Criteria No 225. WHO. Geneva, Switzerland.

性機能および受胎能に対する有害作用

「性機能および受胎能に干渉する可能性のある物質による何らかの作用。これには雌雄生殖器系の病変、思春期の開始、配偶子の形成および輸送、生殖サイクルの正常性、性行動、受胎能、分娩、妊娠結果に対する有害作用、早期の生殖老化など、および生殖器系の健全性に依存するその他の機能の病変が含まれる」

子孫の発達に対する有害作用

「最も広い意味での発生毒性には、受胎前における両親のいずれかの暴露、または発達中の仔の周産期または出生後性的成熟までの期間における暴露に起因する、受胎産物の出産前または出産後の正常な発達に対する何らかの効果を含む。しかし発生毒性への分類が主として意図するものは、妊婦および生殖能力を有する男女への危険性の警告であると考えられる。したがって分類の実際目的に照らせば発生毒性とは本質的に、妊娠中に誘発された、あるいは親の暴露に起因する有害作用を意味するものである。これらの作用は生体の全寿命のなかのどの時点でも発現する可能性がある。発生毒性の主な発現形態としては (1) 発達中の生体の死、(2) 構造的異常、(3) 成長過程の変化、(4) 機能障害が挙げられる」

生殖毒性物質は発癌性物質に準じて 2 つの主要カテゴリーに分けられる。カテゴリー1 はヒトに対する生殖毒性が知られているか、おそらく存在する物質、カテゴリー2 はヒト生殖毒性が疑われる物質である。カテゴリー1 は更にカテゴリー1A (既知のヒト生殖毒性物質) とカテゴリー1B (おそらくヒト生殖毒性を持つ物質) に細分される。その主な根拠は証拠がヒトと実験動物のいずれに由来するかである。乳汁分泌に対する影響または授乳を介する影響は別に扱われる。この分類体系と、各カテゴリーに対応する証拠の強さのタイプを表 6 に示す。

表 6：ヒト生殖毒性物質のカテゴリー分類

カテゴリー	定義	判定基準
カテゴリー1	ヒト生殖毒性が知られているか、恐らく生殖毒性と考えられる物質	性機能および受胎能またはヒトの発達に対する有害作用を生じたことが知られている物質、あるいは動物実験の結果（および可能ならば他の情報）からヒトの生殖に干渉する可能性があるとして十分に推定される物質はカテゴリー1 に分類される。
カテゴリー1A	既知のヒト生殖毒性物質	カテゴリー1A への分類は主としてヒトから得られた証拠に基づく。
カテゴリー1B	おそらくヒト生殖毒性と考えられる物質	カテゴリー1B への分類は主として動物実験のデータに基づく。ただしそのようなデータは、他の毒性要因がないとき性機能および受胎能に悪影響を及ぼす明らかな証拠となるか、あるいは

		は他の毒性要因が共存するならば、生殖への有害作用が他の要因の二次的・非特定のな影響ではないことを示すものでなければならない。ヒトへの妥当性が疑わしいとする機構的信息が存在するならば、カテゴリー2に分類する方が適切なこともあり得る。
カテゴリー2	ヒト生殖毒性が疑われる物質	ヒトあるいは実験動物により（できれば他の情報と共に）、性機能および受胎能、あるいは発達に対する有害作用の多少の証拠が見出されるが、カテゴリー1に分類できるほどの確実さはない物質がカテゴリー2に分類される。証拠の説得力が実験の不備により損なわれている場合には、カテゴリー2への分類が適切である。 有害作用は他の毒性効果のない条件で観察されるか、他の毒性効果が共存する場合には生殖への有害作用が他の要因の二次的・非特定のな影響ではないことを示すものでなければならない。

分類は証拠の重み付け評価（weight-of-evidence）に基づいて行う。評価に関連性のある因子として、対象物質と化学的関連のある物質に関する証拠、動物実験における母胎毒性の存在、ヒトに対する摂取経路の妥当性、ヒトに対する作用機序の妥当性が挙げられる。

5.1.2.2 作用効力（potency）に関する考慮の採用

国連のGHSに関する専門家小委員会は混合物中の生殖毒性物質の相対的作用効力の問題を検討し、OECDの勧告では、現状の知識では相対的作用効力を暴露量のカットオフ値で表現することは正当化されないとしている¹。

¹ Organisation for Economic Co-operation and Development .2005. Health hazards, Toxic to reproduction substances, Scientific issue on reproductive toxicity potency. Sub-Committee of Experts on the Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals, Ninth session, 11-13 July 2005, Item 2 (b) (iv) of the provisional agenda.

5.1.3 特定標的臓器毒性 - 反復暴露(STOT-RE)

5.1.3.1 定義とカテゴリー分類

STOT-RE 分類は「健康への有害作用を持つ可能性のある」物質を特定するものであって、下記のように定義される。

「ある物質または混合物への反復暴露に起因する特定の標的臓器への毒性。可逆的・不可逆的を問わず、また即時性・遅延性を問わず、機能を損なう可能性のある有意的な健康影響すべてを包含する」

この分類では、暴露濃度が低いか中程度であるかを区別するカットオフ指針値によって 2 つのカテゴリーに分ける。分類表を表 7 に示す。カットオフ指針値については 5.1.3.2 で更に検討する。

表 7：STOT-RE カテゴリー分類

カテゴリー	判定基準
カテゴリー1	反復暴露によって、ヒトに対して顕著な毒性作用を及ぼすことが知られている、あるいは動物実験の証拠に基づいてヒトに対する顕著な毒性作用を及ぼす可能性があると考えられる物質。 物質は下記のいずれかに基づき標的臓器毒性（反復暴露）のカテゴリー1 に分類される。 － ヒトの症例または疫学調査から得られた信頼性および品質の高い証拠 － 実験動物において一般に低い暴露濃度によって、ヒト健康にも妥当する顕著ないし重篤な毒性作用の発現を見た適切な研究における知見
カテゴリー2	動物実験の証拠から、反復暴露によりヒト健康に有害である可能性があると考えられる物質。物質は、実験動物において一般に中程度の暴露濃度によって、ヒト健康にも妥当する顕著ないし重篤な毒性作用の発現を見た適切な研究における知見に基づいて標的臓器毒性（反復暴露）のカテゴリー2 に分類される。ただし例外的に人に関する証拠に基づいてカテゴリー2 への分類がなされることもある。

5.1.3.2 作用効力に基づくカットオフ指針値

CLP 規制には、90 日反復投与試験で観察される毒性作用に適用できる、作用効力に基づくカットオフ指針値が示されている。カテゴリー1 およびカテゴリー2 に適用されるカットオフ指針値をそれぞれ表 8、表 9 に示す。

表 8：カテゴリー1 への分類に用いる指針値

暴露経路	単位	指針値（投与量/濃度）
経口（ラット）	mg/kg 体重/日	C ≤ 10
経皮（ラットまたはウサギ）	mg/kg 体重/日	C ≤ 20
ガス吸入（ラット）	ppmV/6h/日	C ≤ 50
蒸気吸入（ラット）	mg/L/6h/日	C ≤ 0.2

ダスト/ミスト/フューム吸入（ラット）	mg/L/6h/日	$C \leq 0.02$
---------------------	-----------	---------------

表 9： カテゴリー2 への分類に用いる指針値

暴露経路	単位	指針値（投与量/濃度）
経口（ラット）	mg/kg 体重/日	$10 < C \leq 100$
経皮（ラットまたはウサギ）	mg/kg 体重/日	$20 < C \leq 200$
ガス吸入（ラット）	ppmV/6h/日	$50 < C \leq 250$
蒸気吸入（ラット）	mg/L/6h/日	$0.2 < C \leq 1.0$
ダスト/ミスト/フューム吸入（ラット）	mg/L/6h/日	$0.02 < C \leq 0.2$

CLP には「これら指針値を提案する主な理由は、すべての物質は潜在的に有毒であり、それを超えたときある程度以上の毒性作用が認められるような適切な暴露量/濃度を定めることが必須である。また実験動物を用いる反復暴露試験は、その目的に適するように最高の暴露量において毒性作用が認められるように設計されるものであり、それゆえ大部分の試験では少なくともその最大暴露量において何らかの毒性作用が認められている」と述べられている。これらの指針値を内分泌攪乱化学物質のカテゴリー分類に適用することについて挙げられた、これと平行する論拠は、内分泌系は通信システムであるから、どのような物質も十分大きい暴露量で試験すれば内分泌系に影響を及ぼすはずである、ということである（第 6 章参照）。

これらの値の選択は実際的なものとされ、科学的な根拠は規制関連文献には見出されないという。英国の毒性委員会(COT)もその提案において「これらの値は（中略）欧州の規制枠組みにおいて危険性分類に 1967 年以来使用されており、十分確立し受容されている値である」と述べている（6.2 章参照）。しかし危険物質指令に示されている、物質を有毒あるいは有害として分類するための指針値は、対応するカテゴリー1 および 2 の経口および経皮暴露に対する指針値の半分である（表 10、11 を参照）。このように保護閾値が倍になっている根拠は示されていない。

表 10： 危険物指令における、物質を有毒と分類するための指針値（GHS-CLP の STOT-RE カテゴリー1 に相当）

暴露経路	単位	指針値（投与量/濃度）
経口（ラット）	mg/kg 体重/日	$C \leq 5$
経皮（ラットまたはウサギ）	mg/kg 体重/日	$C \leq 10$
吸入（ラット）	ppmV/6h/日	$C \leq 0.025$

表 11： 危険物指令における、物質を有害と分類するための指針値（GHS-CLP の STOT-RE カテゴリー2 に相当）

暴露経路	単位	指針値（投与量/濃度）
経口（ラット）	mg/kg 体重/日	$5 < C \leq 50$
経皮（ラットまたはウサギ）	mg/kg 体重/日	$10 < C \leq 100$
ダスト/ミスト/フューム吸入（ラット）	mg/L/6h/日	$0.025 < C \leq 0.25$

5.1.4 環境危険性

CLP-GHS の体系では、環境危険性のクラスとしては水生環境に対して危険性のある物質群の 1 クラスがあるのみで、これが更に急性水生毒性と慢性水生毒性に細分されている。基本的な分類体系には急性カテゴリーが 1 つ、慢性カテゴリーが 3 つあり、更に入手できるデータからは正式の判定基準による分類に含まれないが何らかの懸念すべき理由がある場合のための「セーフティネット」として慢性カテゴリー4 が設けられている。物質が慢性カテゴリーに分類されるのは、慢性毒性データが得られる場合、または急性水生毒性データと環境内運命のデータ（分解性および生体蓄積のデータ）の組み合わせが存在する場合である。各危険性カテゴリーへの分類はいずれの型のデータにも適用されるカットオフ値に基づいて行う。水生環境への危険性を持つ物質の分類カテゴリーを表 12 に示す。

分類が急性毒性データに依存することから、内分泌攪乱性物質は難分解性・生体蓄積性・急性毒性の少なくともいずれかでない限り、水生環境に有害な物質には分類されない可能性がある。

表 12：水生環境に対して危険性のある物質の分類カテゴリー

水生環境への急性（短期的）危険性	
急性カテゴリー1	96 hr LC50（魚類） ≤ 1 mg/l および/または 48 hr EC50（甲殻類） ≤ 1 mg/l および/または 72 または 96 hr ErC50（藻類またはその他の水生植物） ≤ 1 mg/l.
水生環境への慢性（長期的）危険性	
慢性カテゴリー1	(i) 妥当な慢性毒性データの存在する、急速分解性でない物質 慢性 NOEC または ECx（魚類） ≤ 0.1 mg/l および/または 慢性 NOEC または ECx（甲殻類） ≤ 0.1 mg/l および/または 慢性 NOEC または ECx（藻類またはその他の水生植物） ≤ 0.1 mg/l (ii) 妥当な慢性毒性データの存在する、急速分解性の物質 慢性 NOEC または ECx（魚類） ≤ 0.01 mg/l および/または 慢性 NOEC または ECx（甲殻類） ≤ 0.01 mg/l および/または 慢性 NOEC または ECx（藻類またはその他の水生植物） ≤ 0,01 mg/l (iii) 妥当な慢性毒性データの存在しない物質 96 hr LC50（魚類） ≤ 1 mg/l および/または 48 hr EC50（甲殻類） ≤ 1 mg/l および/または 72 または 96 hr ErC50（藻類またはその他の水生植物） ≤ 1 mg/l、かつ物質は急速分解性でないこと、および/または実験的 BCF ≥ 500（存在しなければ log Kow ≥ 4）
慢性カテゴリー2	(i) 妥当な慢性毒性データの存在する、急速分解性でない物質 慢性 NOEC または ECx（魚類） > 0,1 to ≤ 1 mg/l and/or 慢性 NOEC または ECx（甲殻類） > 0,1 to ≤ 1 mg/l and/or 慢性 NOEC または ECx（藻類またはその他の水生植物） > 0,1 to ≤ 1 mg/l

	(ii) 妥当な慢性毒性データの存在する、急速分解性の物質 慢性 NOEC または EC _x (魚類) > 0.01 ~ ≤ 0.1 mg/l および/または 慢性 NOEC または EC _x (甲殻類) > 0.01 ~ ≤ 0.1 mg/l および/または 慢性 NOEC または EC _x (藻類またはその他の水生植物) > 0.01 ~ ≤ 0.1 mg/l (iii) 妥当な慢性毒性データの存在しない物質 96 hr LC ₅₀ (魚類) > 1 ~ ≤ 10 mg/l および/または 48 hr EC ₅₀ (甲殻類) > 1 ~ ≤ 10 mg/l および/または 72 または 96 hr ErC ₅₀ (藻類またはその他の水生植物) > 1 ~ ≤ 10 mg/l、かつ物質は急速分解性でないこと、および/または実験的 BCF ≥ 500 (存在しなければ log K _{ow} ≥ 4)
慢性カテゴリー3	(ii) 妥当な慢性毒性データの存在する、急速分解性の物質 (注 3) 慢性 NOEC または EC _x (魚類) > 0.1 ~ ≤ 1 mg/l および/または 慢性 NOEC または EC _x (甲殻類) > 0.1 ~ ≤ 1 mg/l および/または 慢性 NOEC または EC _x (藻類またはその他の水生植物) > 0.1 ~ ≤ 1 mg/l (iii) 妥当な慢性毒性データの存在しない物質 96 hr LC ₅₀ (魚類) > 10 ~ ≤ 100 mg/l および/または 48 hr EC ₅₀ (甲殻類) > 10 ~ ≤ 100 mg/l および/または 72 または 96 hr ErC ₅₀ (藻類またはその他の水生植物) > 10 ~ ≤ 100 mg/l、かつ物質は急速分解性でないこと、および/または実験的 BCF ≥ 500 (存在しなければ log K _{ow} ≥ 4)
セーフティネット分類	
慢性カテゴリー4	データからは前記判定基準による分類はなされないが何らかの懸念すべき理由がある場合。たとえば難溶性で水への溶解度までの急性毒性データが得られない物質で、急速分解性でなく実験的 BCF ≥ 500 (存在しなければ log K _{ow} ≥ 4) すなわち生体蓄積性と考えられるものは、他に分類を不要とする科学的証拠が存在しない限りこのカテゴリーに分類する。そのような証拠としては慢性毒性 NOEC > 水への溶解度または > 1 mg/l、あるいは環境中で急速に分解する証拠などがある。

5.2 REACH

REACH 規制第 57(f)条では内分泌攪乱化学物質を、発癌性・変異原性・生殖および発生毒性物質(CMR)、難分解性・生体蓄積性・毒性物質(PBT)、高度に難分解性・生体蓄積性物質(vPvB)と「同程度に懸念される物質」と位置付けている。ECHA は REACH 規制実施のため、業界および当局向けに REACH の手順および方法に関するガイダンス文書を発表している。情報の要件および化学的安全評価に関するガイダンス文書は、データが希少または存在しない物質に適用される可能性のある試験要件についての合意を得るべく改訂された。ここではまず現行の試験要件と OECD 概念枠組みに含まれる試験とを比較し、ついで特に内分泌攪乱化学物質に関連する、同程度の懸念レベルに関するガイダンスを検討する。

5.2.1 現行の試験要件

13.3 条によれば、新規の試験は「EC 規制に定められた試験方法または（中略）EC あるいは規制当局が妥当と認めた他の国際的試験方法に従って」行わなければならない。ここで参照されている規制とは試験方法規制 (EC No 440/2008) である。OECD の採用している試験との同等性が試験方法規制で明記されている試験法もあるが、そうでない方法もある。しかし ECHA ガイダンスでは OECD の試験法が屢々参照されている。

REACH への登録のために必要な試験の要件は物質の供給量によって異なるが、供給量の少ない物質に対する試験の要件は一般に、明示的に否定されている場合を除き供給量の多い物質にも適用できる。反復暴露毒性 (STOT-RE)、発癌性物質、生殖毒性物質、環境毒性物質の試験に関しては、OECD 概念枠組みに含まれている当該試験方法が言及されている。査読付き雑誌、OECD 概念枠組みに含まれる研究、REACH における研究の比較検討を付録 3 に示す。この章では付録 3 に含まれる表を随時参照する。試験要件の解釈は实际的に名既存データの証拠の重み付け評価に依存し、ここで一般的に述べる最小限の要件とは異なる可能性があることに注意されたい。

5.2.1.1 STOT-RE

反復暴露毒性の試験に対する最小限の要件を表 13 に示す。

表 13 : REACH における供給量別 STOT-RE 試験要件

	供給量			
	≥ 1 t/年 付録 VII	≥ 10 t/年 付録 VIII	≥ 100 t/年 付録 IX	≥ 1000 t/年 付録 X
必要な試験		28 日反復暴露試験(TG 407)	90 日反復暴露試験(TG 408)	90 日反復暴露試験(TG 408)

ヒトの暴露については特に断らない限り、経口暴露が最も代表的であると仮定されるが、経皮暴露あるいは吸入がより重要と考えられる場合には別の試験方法を使用してもよい。ただし経皮暴露に対する同等の短期（28 日）および亜慢性（90 日）毒性試験には、内分泌を介した毒性に対応する幾つかのエンドポイントが含まれておらず、また内分泌攪乱化学物質が検出できるかの検証も行われていない。

短期および亜慢性毒性試験（TG 407, TG 408）は共に OECD 概念枠組みのレベル 4 に含まれているが、内分泌攪乱化学物質の検出に関して検証されているのは TG 407 のみである（3.1 章参照）。これらの試験では、下垂体・副腎・卵巣・腹側前立腺の重量および組織病理のように、内分泌を介する毒性に対応するパラメータを測定する。また神経毒性に関連するエンドポイント、脳の重量と組織病理も含んでいる。しかしこれらエンドポイントの或るもの、特に甲状腺に関するエンドポイントの測定は任意であり、また必要なエンドポイントの不足について言えば、精巣形成不全症候群に最も重要なエンドポイントが欠けていることが特に注目される（付録 3 の表 1～3 参照）。3.1 章で論じたように、内分泌攪乱性のスクリーニングに関するこれら試験法の限界は、成体の暴露のみを扱っていること、および全体的な内分泌関連エンドポイント自体の感度が低いことに関係し

ている。特に付録 VIII の化合物（供給量 100 t/年未満）については、発癌性または生殖毒性の可能性に関して他の試験が一般に要求されていないので、この点が特に重要である。

5.2.1.2 発癌性物質

生産量または輸入量が 1000 t/年未満の物質（付録 VII～IX）については、標準的な情報要件は存在しない。生産量または輸入量が 1000 t/年以上の物質（付録 X）についての発癌性試験は、毒性情報が既に存在し、かつ用途の詳細やヒトの暴露の可能性から見て根拠がある場合のみ要求される。そのような高生産量化学品(HPV)の発癌性試験の必要性の判定基準は下記のとおりである。

- その物質が広範囲に分散する用途を持つか、ヒトが高頻度または長期的に暴露される証拠があること、かつ
- その物質が変異原性物質カテゴリー3 に分類されるか、反復暴露実験によって過形成または前癌病変を誘発し得ることの証拠があること。
- その物質が変異原性物質カテゴリー1 または 2 に分類されるならば、通常は遺伝毒性的な発癌機構が想定される。このような場合には発癌性試験は通常不要である。

したがって、反復暴露試験にはホルモンを介した癌に該当するいくつかのエンドポイントが含まれるわけであり（付録 3 の表 19～21 参照）、用途およびヒトの暴露を考えて正当性があれば発癌性試験を行うことになる。標準的な反復暴露試験（TG 407 および TG 408）の、暴露時期およびエンドポイントの感度に関わる限界は既に述べたとおりであり（3.1 項参照）、ここでも、そのような試験のみでホルモンを介した発癌性が検出できるかどうかはかなり疑わしい。

5.2.1.3 変異原性

変異原性試験の要件は、発癌性または生殖毒性の遺伝毒性的機構の可能性の検出と具体的に関連している。その限りにおいて、要求される試験は内分泌攪乱性の検出には関与しない。とはいえそれは、特定の試験の結果と以後の試験とを結びつける、特定の作用機序を検出するための詳細な試験戦略の興味ある実例といえる。このことは ECHA ガイダンスに示されている変異原性試験のフローチャート（図 3）によって明らかである。

内分泌攪乱は一つの作用機序であって、それ自体がエンドポイントではないことが屢々強調されている。また内分泌攪乱化学物質が及ぼす可能性のある有害作用は発癌性や生殖毒性と重なる部分が多いことも事実である。したがって物質の内分泌攪乱性を検出するために、これと同様に階層的な試験戦略を適用することは特に関心の持たれるところであり、考察を必要とする。

ここで決定的な問いは、このクラスに対する現行の試験方法が内分泌攪乱に最も敏感なエンドポイントを含んでいるかどうか、発達のすべての臨界期と内分泌攪乱に関連する有害作用として可能性のあるものをカバーしているかどうかである。標準的な発癌性試験に用いられる動物の系統はヒトのホルモン癌の動物モデルとしては一般的には貧弱である（付録 1 第 5 項、付録 3 表 19）。ある物質への子宮内および新生仔期の暴露による何らかの影響によって、その物質が発生毒性物質に分類される可能性も考えられるが、二世代生殖試験では内分

泌攪乱に関連する鋭敏なエンドポイント（肛門性器間距離、乳頭遺残、神経毒性、免疫毒性など）が必ず測定されるとは限らないことにも注意が必要である。更に思春期前も内分泌攪乱に関する臨界期の一つと認められているが標準的生殖試験には含まれていない（5.1.2.1 参照）。内分泌系による発達の制御が攪乱される機構が多様であることも問題を複雑にしている。内分泌攪乱性を検出するための類似の試験戦略を考案するとすれば、これらの問題を解決しなければならない。

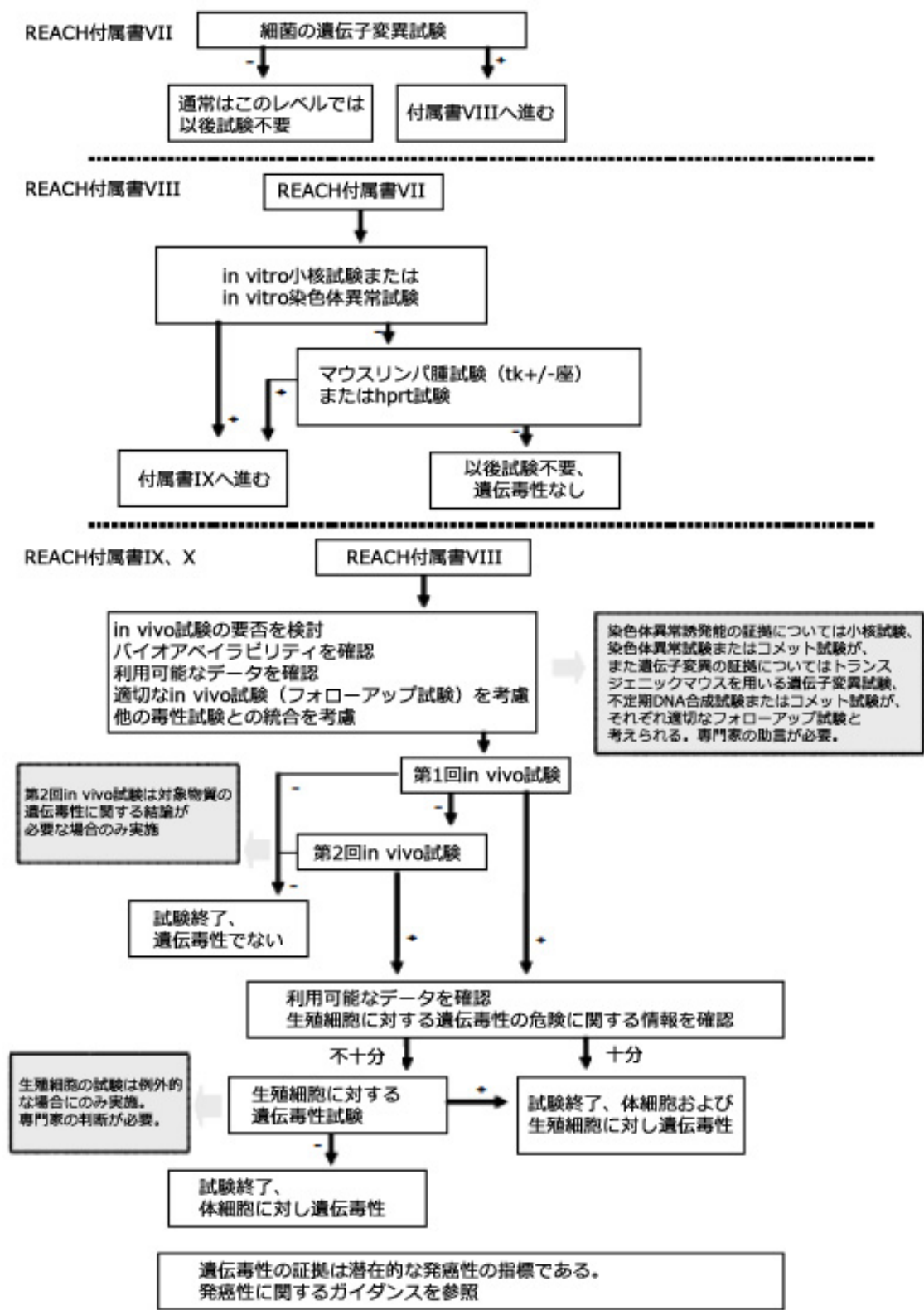


図.3：変異原性試験のフローチャート

5.2.1.4 生殖発生毒性物質

生殖毒性試験の最小限の要件を表 14 に示す。

表 14 : REACH における供給量ごとの生殖毒性試験要件

	供給量			
	≥ 1 t/年 付録 VII	≥ 10 t/年 付録 VIII	≥ 100 t/年 付録 IX	≥ 1000 t/年 付録 X
必要な試験		反復暴露/生殖毒性併合スクリーニング試験(TG 421 または 422)	反復暴露/生殖毒性併合スクリーニング試験(TG 421 または 422) 1 種（可能ならば 2 種）に対する出生前発生毒性試験(TG 414)	1 種（可能ならば 2 種）に対する出生前発生毒性試験(TG 414) 2 世代生殖試験 (TG 416)

反復暴露/生殖毒性併合スクリーニング試験(TG 421/422)と出生前発生毒性試験(TG 414)は OECD 概念枠組みのレベル 4 試験に、2 世代生殖毒性試験(TG 416)はレベル 5 に含まれているが、いずれも内分泌攪乱化学物質の検出に関してはまだ検証されていない。反復暴露／生殖毒性併合スクリーニング試験の結果の解釈については、OECD ガイダンス文書の付録に多少の指針が示されているが、出生前発生試験については現在のところそのような指針は存在しない。これら指針試験において測定されるエンドポイントを、特にヒト健康に関連するエンドポイントと共に付録 3 の表 3、6、9、12、15 に示す。

動物への暴露は、出生前発生試験(TG 414)においては着床から出生予定日の 2 日前まで、反復暴露／生殖毒性併合試験(TG 421/422)においては交尾の 2 週間前から出生 4 日後までの曝露が行われる。これら標準的試験は妊娠中の曝露を含んではいるが、受胎能や妊娠維持に関連するエンドポイントが測定されるのは親についてであって、後続世代については測定されない。したがってこれらのエンドポイントに関しては、これらの試験法は発達の臨界期をカバーしているとは言えない。親の発生毒性の試験では、中絶した仔の全体的な異常の有無を検査するが、ヒトと齧歯類の発達の節目が異なることを常に念頭に置かなければならない。ラットの新生仔に生ずる発達過程の中にはヒトでは妊娠第 3 期に起こるものもあるからである。したがってこれらの試験法は、妊娠維持や幾つかの発達障害に関するエンドポイントを含んでいるものの、曝露の時期に関しては反復暴露毒性試験と同じ限界がある。また反復暴露／生殖毒性併合試験に用いられる動物の数が少ない（親世代で雌雄 8 ～10 頭）ため統計的な感度も低い。このような点から現行の試験要件については、供給量 1000 t/年以下の物質（付録 X）の物質に対して内分泌攪乱性を適切にスクリーニングする能力が疑問視される。

供給量が 1000 t/年を超える化学物質に対しては、一般に 2 世代試験が要求され、更に発達神経毒性試験(TG 426)が推奨されることもある。OECD 概念枠組みのガイダンス文書には 2 世代生殖試験の結果の解釈が含まれてい

る。最近検証された拡張一世代試験(TG 443)に比べて、内分泌攪乱化学物質の有害作用を検出する上でこの試験に欠陥があることについては既に 3 章で簡単に論じた。

5.2.1.5 環境毒性物質

環境毒性試験の最小限の要件を表 15 に示す。

表 15 : REACH における供給量ごとの生殖毒性試験要件

	供給量			
	≥ 1 t/年 付録 VII	≥ 10 t/年 付録 VIII	≥ 100 t/年 付録 IX	≥ 1000 t/年 付録 X
外洋性生物毒性 測定に必要な試験	無脊椎動物に対する短期毒性試験(ミジンコ)(TG 202) 水生植物に対する成長阻害試験 (TG 201 藻類 または TG 221 アオウキクサ類)	無脊椎動物に対する短期毒性試験(ミジンコ)(TG 202) 水生植物に対する成長阻害試験 (TG 201 藻類 または TG 221 アオウキクサ類) 魚類に対する短期毒性試験(TG 203)	無脊椎動物に対する短期毒性試験(ミジンコ)(TG 202) 水生植物に対する成長阻害試験 (TG 201 藻類 または TG 221 アオウキクサ類) 魚類に対する短期毒性試験(TG 203) 無脊椎動物に対する長期毒性試験 (TG 211) 魚類に対する長期毒性試験：魚類 初期生活階層試験(TG 210)、魚類 の胚および卵黄 嚢仔魚に対する短期毒性試験(TG 212)、稚魚成長試験(TG 215)のいずれか	無脊椎動物に対する短期毒性試験(ミジンコ)(TG 202) 水生植物に対する成長阻害試験 (TG 201 藻類 または TG 221 アオウキクサ類) 魚類に対する短期毒性試験(TG 203) 無脊椎動物に対する長期毒性試験 (TG 211) 魚類に対する長期毒性試験：魚類 初期生活階層試験(TG 210)、魚類 の胚および卵黄 嚢仔魚に対する短期毒性試験(TG 212)、稚魚成長試験(TG 215)のいずれか
底性生物毒性の 測定に必要な試験				底質添加ユスリカ毒性試験(TG 218, 219)

以上のほか、汚泥処理プラントの微生物に対する毒性試験の要件がある。

上の表を OECD 概念枠組みに含まれる試験方法と比較すると、REACH の現行試験要件と、内分泌攪乱化学物質の検出に関して検証済みまたは検証中の試験方法との間に重複がほとんどないことが明らかになる。両者に共通の試験は水生無脊椎動物に対する長期毒性試験(TG 211)のみであるが、これに関しては概念枠組みガイダンス文書にはまだガイダンスが提供されていない。情報要件に関する ECHA ガイダンスには「REACH 付録 VII～X では、物質の水生生物に対する内分泌攪乱性についても生殖毒性または特定の発生毒性についても情報提供の要件は示されていない」と明記されている。しかし同ガイダンスの付録 7.8-5 には、物質の水生生物に対する内分泌攪乱の可能性または発生ないし生殖に対する長期的有害作用に関して既存のデータを評価するための指針が示されており、QSAR やリードアクロスなど試験以外のデータ、in vitro スクリーニングのデータ、脊椎動物・無脊椎動物に関する in vivo データなど、利用可能な情報すべてを含めることが推奨されている。利用可能な情報の総合的な評価方法として推奨されているものを表 16 に示す。

表 16：水生生物に対する内分泌攪乱の可能性の総合的評価（REACH の要件に含まれない既存情報の評価に基づく）

1) 水生生物に対する内分泌攪乱性の兆候		
エストロゲン／アンドロゲン軸： － 分子構造 － 哺乳類毒性 － in vitro スクリーニング	甲状腺： － 分子構造 － 哺乳類毒性	無脊椎動物： － 分子構造
→ 利用可能なすべての情報（環境内運命、暴露を含む）の WoE を用いて物質の内分泌作用機序の可能性を決定 → 著しく懸念される物質については、EC ローリング・アクション・プランに当該物質を含めることを規制当局が要請することも考えられる		
2) 健康な水生生物に対する内分泌関連作用機序の証拠		
エストロゲン／アンドロゲン軸： － 生化学的マーカー － 形態変化 （－ 性腺の組織病理）	甲状腺： － 甲状腺の組織病理	無脊椎動物： － 稀な個別的事象
試験の種類： 魚類スクリーニング試験 魚類性的発達試験 魚類生殖試験 魚類全寿命試験	試験の種類： 両生類変態試験	
→利用可能なすべての情報（環境内運命、暴露を含む）の WoE を用いて健康な水生生物に対する		

物質の内分泌作用機序の可能性を決定 → 著しく懸念される物質については、EC ローリング・アクション・プランに当該物質を含めることを規制当局が要請することも考えられる (3) 長期的有害作用の特徴付け		
エストロゲン／アンドロゲン 軸： － 魚類の（性的）発達 － 魚類の生殖	甲状腺： － 両生類の発達	無脊椎動物： － 発達 － 生殖
試験の種類： － 魚類性的発達試験 － 魚類生殖試験 － 魚類全寿命試験	試験の種類： 両生類変態試験	試験の種類： 無脊椎動物生殖または全寿命試験
→ PBT 試験および化学品安全性試験では慢性 NOEC の利用を考慮 → セーフティネット・カテゴリー(R52, R53)による分類・表示を考慮 → 有害作用と内分泌関連作用機序が因果関係で結ばれれば CA が付録 XV を考慮することもあり得る		

5.2.2 同等の懸念と内分泌攪乱性

ECHAは付録XV文書に関するガイダンス文書¹をも公表しており、「REACH規制第 57 条(a)～(e)に含まれる物質に由来するものと同等以上の、ヒトあるいは環境に対する顕著な悪影響の可能性に関する科学的証拠」の必要性を強調している。

したがって「同等の懸念」については、考えられる影響と CMR あるいは PBT または vPvB の判定基準との比較を基礎としてよい。以下ではまず影響と CMR および PBT 基準（より具体的には T 基準）の同等性に関する資料について述べ、続いて特に内分泌攪乱性に関するガイダンスの要約を記す。

5.2.2.1 T 基準

低用量の内分泌攪乱化学物質の曝露影響の不確実性に関して、内分泌攪乱化学物質によって生じ得る遅延性不可逆効果と難分解性・生体蓄積性との類比が論じられている（4.4.1 章参照）。PBT 物質による懸念レベル上昇について ECHA ガイダンスには次のように述べられている。

「この懸念の主要な要素の一つは、ヒトまたは環境に対する有害作用が最終的に観察されたとして、その時点での規制によって原状を回復することは困難だということである。したがって、問題の物質がどのレベルまで安全であるかを確言することと、そのことから重大な結果が生ずる可能性があることとの二重の不確実性が存在することから、そのような物質のリスク評価には新たなアプローチを考えなければならない」

¹ European Chemicals Agency. 2007. Guidance for the preparation of an Annex XV dossier on the identification of substances of very high concern. ECHA. Helsinki, Finland.

この関連において T 基準について簡単に検討しておくことが有用である。PBT および vPvB 物質に対する T 基準は REACH 規制付録 XIII に示されており、下記のように定義されている。

「物質は以下のいずれかの場合に毒性基準 (T 基準) を満たす。すなわち

- 海洋または淡水生物に対する長期的な無作用濃度(NOEC)が 0.01 mg/l 未満である
- 発癌性 (カテゴリー1 または 2)、変異原性 (カテゴリー1 または 2)、生殖毒性 (カテゴリー1、2 または 3) のいずれかに分類されている
- 他に、指令 67/548/EC による分類 T, R48 または Xn, R48 で示される慢性毒性の証拠が存在する」

ここにいう分類は危険物質指令による分類を指し、GHS-CLP 分類における発癌性カテゴリー1、変異原性カテゴリー1、生殖毒性カテゴリー1 および 2、STOT-RE カテゴリー1 および 2 に相当する。

WoE アプローチにおける同等の懸念レベルに関連して高い毒性の可能性を示すのに用い得る他の情報として、内分泌攪乱性が明示されている。

「長期的有害作用の実質的な証拠：そのような証拠の例としては内分泌攪乱作用（従来の危険性評価手法では評価できない場合）が挙げられよう。このような場合は個別的に考慮する必要がある」

ここで注意すべき重要な点は、T 基準のカットオフ値は PBT と内分泌攪乱化学物質との類推の結果、生殖毒性および STOT-RE において現在様々に提案されている値より低くなっていることである（6 章参照）。しかしある物質を PBT 物質とするためには、難分解性・生体蓄積性・毒性に関する判定基準すべてに適合しなければならぬことに留意すべきである。

5.2.2.2 CMRs

T 基準とは対照的に、懸念の同等性は CMR カテゴリー1 に基づく。同等の懸念の根拠となる重大な影響の例が多く挙げられており、それらは STOT-RE 試験で測定されるエンドポイントと整合している。同等の懸念に関しては、作用効力に基づくカットオフ値には言及されていない。

5.2.2.3 内分泌攪乱の特性

付録 XV 資料作製に関する ECHA ガイダンスは、内分泌攪乱性による同等の懸念の評価のために WoE アプローチを推奨している。

「内分泌活性物質に考えられる機構や効果は複雑であり、物質がヒトまたは野生生物に内分泌攪乱作用を及ぼす可能性があるか否かを確認するのに、孤立したスクリーニングの結果が十分であるとは考えられず、したがって WoE アプローチが必要である」

この論理は、規制上懸念の大きい内分泌攪乱化学物質の区分に用いられる、作用効力に基づくカットオフ値とは齟齬があると思われる。

利用可能なデータの評価については下記の判定基準が提案されている。

- in vitro および in vivo 試験で認められた陽性および陰性応答のバランス
- 危険性の同定と特徴づけのための試験で認められた生物学的効果の種類と範囲。エストロゲン性の可能性のある物質によって、エストロゲン関連の標的組織および発生関連エンドポイントに一貫した変化のパターンが生ずるか
- 用量応答曲線が存在するならばその形状。たとえば内分泌機構の in vivo スクリーニングでの用量応答曲線は内分泌関連の変化の用量応答曲線に対応するか
- 誘起された影響の重篤度と強度(magnitude)。たとえば強力なエストロゲン類は発情周期を停止させ、強力な抗アンドロゲン類は雄性生殖管の奇形を誘発する。いずれも受胎能および生殖への障害の例である。
- 複数の分類群での応答の有無。内分泌系は進化的に保存されており、内分泌的機構によって作用する物質は、そのような経路を持つ分類群の大部分ないしすべてを通じて内分泌関連効果を生ずることが期待される。たとえば真に内分泌機構を通じて作用する物質ならば、多くの場合脊椎動物のいくつかの綱にエストロゲン、アンドロゲンおよび甲状腺効果が現れると期待される。

5.3 植物保護製品規制

新しい植物保護製品規制(Plant Protection Product Regulation)には、活性物質・セーフナー・共力剤の認可について、物質の危険性に基づく「カットオフ」基準の提案が含まれている。活性物質の危険性に基づく下記のカットオフ基準（付録Ⅱ、3.6～3.7）に該当する物質は認可されない。

- 変異原性カテゴリー1
- 発癌性または生殖毒性カテゴリー1、ただしヒトの暴露が無視できる場合を除く
- 内分泌攪乱化学物質、ただしヒトの暴露が無視できる場合を除く
- 難分解性有機汚染物質(POP)
- 難分解性・生体蓄積性有毒物質(PBT)
- 高度に難分解性・生体蓄積性の物質(vPvB)

内分泌攪乱性物質については、付録Ⅱの3.6.5項に次のように述べられている。

「活性物質、セーフナー、または共力剤は（中略）ヒトに有害作用を及ぼす可能性のある内分泌攪乱性物質と見なされない場合に限り認可される。ただしヒトの暴露が（中略）提示されている実質的な用途において無視し得る場合（下略）を除く」

付録Ⅱの3.8.2項には非標的臓器に関して次の記述がある。

「活性物質、セーフナー、または共力剤は（中略）非標的臓器に有害作用を及ぼす可能性のある内分泌攪乱性物質と見なされない場合に限り認可される。ただし植物保護製品の当該活性物質への非標的臓器の暴露が、提示されている実質的な用途において無視し得る場合を除く」

農薬指令 91/414/EEC とは対照的に、活性物質および製品に関する詳細なデータの要件は、新規規制 (EC)1107/2009 には含まれず別途規定されている（活性物質および製品のデータ要件に関する EC 規制 (544/2011 および 545/2011)）。これらのデータ要件は、試験方法の OECD 概念枠組みとの重複、および認可のための試験により内分泌攪乱性が適切に検出できる可能性を検討するため、見直しが行われている。

5.3.1 現行の試験要件

5.3.1.1 ヒト健康

規制において、毒性および代謝試験におけるデータ要件に関して記載されている下記の試験法は OECD 概念枠組みに含まれている。

- 経口 28 日試験(TG 407)
- 経口 90 日試験(TG 408)、イヌ、ラットとも
- 慢性毒性／発癌性併合試験(TG 451～3)
- 2 世代生殖毒性試験(TG 416)
- 発生毒性試験(TG 414)

リプロダクティブヘルスに関しては常に 2 世代試験が要求される。この試験では内分泌攪乱に該当するエンドポイントを多数測定し（付録 3 の表 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 を参照）、動物の暴露は子宮内および新生児期に行われる。内分泌攪乱性物質を検出するという点についての 2 世代生殖試験の結果の解釈については OECD 概念枠組みガイダンス文書に詳述されている。内分泌攪乱化学物質の有害作用の検出に関するこの試験法の欠点、および最近検証された拡張一世代試験(TG 443)との比較については既に 3.1.1 章で述べた。

乳房、前立腺または精巣の組織などのエンドポイントはこれら標的臓器に対する発癌性を示す可能性があると考えられ、反復暴露毒性試験(TG 408)および慢性毒性/発癌性併合試験(TG 451～3)に取り入れられている（付録 3 の表 21 参照）。OECD 概念枠組みガイダンス文書に記載されている、これらの試験の結果の解釈についてのガイダンスは限られており、一般に発癌性よりは生殖毒性に適している。慢性毒性／発癌性併合試験においては、暴露期間は長い暴露されるのは健康な仔であるから、発達の臨界期が暴露期間に含まれない。更にそのような標準的試験においてホルモンを介する癌の検出に通常用いられる動物の系統が適切であるかどうかの問題視されている（付録 1 の 5 章および付録 3 の表 19 を参照）。

これらのことから、ホルモンを介する発癌に関連する効果を上記の試験のみで検出できるかどうかは極めて疑わしい。

90 日反復暴露試験(TG 408)は神経行動学的機能のスクリーニングバッテリーを含んでいる（付録 3 の表 24 参照）。しかし暴露期間には発達の臨界期が含まれず、この試験は発達神経毒性の検出のためのものではない。代謝症候群または発達免疫毒性に関するエンドポイントは現行の植物防護製品規制の試験要件では測定されない（付録 3 表 27）。

このような脱漏にもかかわらず、内分泌に敏感なエンドポイントが含まれていることから、2世代生殖試験(TG 416)は、現在まだ取り入れられていない或る種の有害作用と同じ作用機序を介しての内分泌攪乱作用を検出できると考えられるかもしれない。しかしここでも、学術的要約（付録1）および新規エンドポイントおよび試験法に関する詳細総合報告¹に示されているとおり、内分泌攪乱性物質による有害作用はエストロゲン、アンドロゲン、甲状腺の障害およびステロイド産生経路に限られるものではなく、OECD概念枠組みのレベル5の試験法も有害作用の検出力の点では限界があることを強調しておかねばならない。これらの点は、内分泌活性物質に関するEFSAタスクフォースの学術報告²と呼応するものである。

「しかしながら、既存の標準的プロトコルがEASによって誘起され得る効果のすべてをカバーしていないことも明らかである。たとえば胃腸ホルモンや生殖老化への影響はカバーされていない。同様に、既存プロトコルは多数の内因性ホルモンの測定を考慮しているが、測定は必ずしも実施されてはおらず、あるいはその結果がストレスや不規則な日内変動と交絡する可能性がある。（中略）これらの測定値のいくつかについては実験施設間検証によって不一致が明らかにされたため、標準試験プロトコルでは必須とされなかったのである」

EFSAのEASタスクフォースの報告書も、内分泌攪乱化学物質の危険性の同定におけるin vitroスクリーニングの潜在的価値に注目している。

「このような試験法は内分泌活性が疑われる物質、あるいは既知の内分泌活性物質と構造的に関連する物質のスクリーニングや機構的情報の取得に有用であるが、現在のところ食品や飼料に意図的に添加される物質については必須とはなっていない」

EFSAの植物保護製品およびその残留物に関するパネルは、植物保護製品の上市に関するEC指令91/414/EECの付録IIおよびIII（データ要件）の改訂に関して2006年・2007年に発表した意見書を見直した³。

「また植物保護製品の上市に関する新しい規制が実施されたならば、いくつかの問題、たとえば内分泌攪乱性を持つ可能性のある農薬、セーフナー、添加剤、共力剤などに対処するための追加的なデータ要件を定める必要があるであろう」

¹ RTI International. 2011. Draft Detailed Review Paper State of the Science on Novel In Vitro and In Vivo Screening and Testing Methods and Endpoints for Evaluating Endocrine Disruptors. OECD. Paris, France.

² European Food Standard Agency. 2010. Scientific report of the Endocrine Active Substances Task Force. EFSA Journal. 8(11):1932. [59 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2010.1932. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal.htm

³ Panel on Plant Protection Products and their Residues. 2009. Updating the opinion related to the revision of Annexes II and III to Council Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market. Toxicological and metabolism studies. EFSA Journal. 1166:1-7

5.3.1.2 野生動物

生態毒性試験のデータ要件に関する規制の項に記載されている下記の試験方法は OECD 概念枠組みに含まれている。

- 鳥類亜慢性毒性および生殖試験(TG 206)
- 魚類全寿命試験（生態濃縮因子または分解性試験により必要と判定された場合のみ）

データ要件に関する規制にはこの他にも野外実験、メソコスム実験、あるいはミミズ・ハナバチ・植物・微生物への影響など、多数の試験が含まれており、上記の小さなリストは OECD 概念枠組みとの対応が極めて悪いことを示すものである。両試験スキームの重複がこのようにほとんどない理由の一つは、規制におけるデータ要件が、野生動物の**集団**に対する内分泌攪乱化学物質の**有害作用**を証明するために必要な多世代試験でなく、短期の試験に依存していることである。たとえば無脊椎動物は寿命が短く倫理的に問題とされることも少ないので、哺乳類に比べると低コストで多くの多世代試験が実施できる。また或る種の分類群、たとえば両生類は、試験所要時間の不一致の有無にかかわらず完全に除外されている。要求されている試験で OECD 概念枠組みに含まれていないものを用いて内分泌攪乱効果を検出できる可能性もあるが、結果の解釈に関する指針は与えられていない。活性物質および製品のデータ要件に関する規制(544/2011, 545/2011)に示されている現行の試験要件においては、内分泌攪乱効果を検出できる見込みがあるのは鳥類のみ、議論の余地があるものは魚類、および哺乳類を試験に用いた場合は哺乳類であって、他の分類群では不可能である（付録 3 の表 30, 33, 36, 39, 42, 45, 48 を参照）。

5.3.2 危険性（Hazard）に基づくカットオフ基準

危険性に基づく「カットオフ」基準の導入は賛否両論を呼び起こした。一方では、リスク評価でなく危険性評価に基づいて規制を行うことで比較的安全な製品の使用も制限されることになり、このことは食品安全性のためには有益であろうと考えられる。英国農薬安全局(United Kingdom Pesticides Safety Directorate)が行ったカットオフ基準の影響評価によれば、活性物質の 5～15%は今後認可されないものと推定される¹。他方では、このように保護を強化したことによる健康上の利益は、最も暴露量の高い農業労働者の集団において今後 30 年間にわたって最大 35.68～71.6 億ユーロ増大すると試算されている²。しかし内分泌攪乱化学物質の評価基準が定義されていない状態では、このような数字も単なる憶測に過ぎないことを銘記すべきである。

危険性に基づくカットオフ基準を用いる根拠は一般的にも、また具体的に内分泌攪乱化学物質に関する場合にも、科学的な不確実さと、それに起因する安全と見なし得る暴露量の決定の困難に関係している。すなわちリスク評価が満足すべき確実性のレベルでは行えないからである。このことは 4.3 および 4.4 で論じた低用量、不可逆性、発達の臨界期などの問題と直接に関連する。

¹ Pesticides Safety Directorate. 2008. Assessment of the impact on crop protection in the UK of the 'cut-off criteria' and substitution provisions in the proposed Regulation of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products in the market. PSD. York, United Kingdom.

² Policy Department Economic and Scientific Policy. 2008. The benefits of strict cut-off criteria on human health in relation to the proposal for a Regulation concerning plant protection products. European Parliament's Committee on the Environment, Public Health and Food Safety. Brussels, Belgium.

これらのカットオフ基準を規制に使用するにあたっては、潜在的暴露やリスクと便益のバランスが全く考慮されないわけではないことに留意しなければならない。PPPR 第 7 条にはこのカットオフ基準に対する例外が規定されている（ただし、ヒト発癌性物質カテゴリー1A およびヒト生殖毒性物質カテゴリー1A を除く）。

「パラグラフ 1 の例外として、申請書に含まれる文書に記載された証拠に基づき、ある活性物質が、非化学的方法を含め他の可能な手段では防除できない植物の健康に対する顕著な危険を防除するために必要であるときは、当該活性物質の使用によるヒトおよび環境の暴露を最小限に抑えるリスク軽減策が適用されることを条件として、前記顕著な危険の防除に必要な期間に限って当該の活性物質を認可することがある。ただし同期間は、付録 II の 3.6.3, 3.6.4, 3.6.5 または 3.8.2 に示す判定基準が満たされない場合であっても 5 年を超えないものとする」

カットオフ基準は暴露が無視できると考えられる場合にも適用されない。無視できる暴露の基準は残留物の摂取による暴露が 0.01 mg/kg 未満と定義されるが、この値を選定した根拠は示されていない。また摂取以外の経路、たとえば農業従事者とその家族の職業的暴露や農村部滞在者の暴露などの場合についても、無視できる暴露の判定基準はまだ定義されていない。

以上の考察から、危険性評価またはリスク評価をリスク管理対策から分離するのは困難であることが明らかである。リスクをどこまで受忍できるかは究極のところ科学ではなく社会的・政治的決定であり、物質の具体的用途によって異なることもあり得る。内分泌攪乱性物質の評価に関して、危険性の同定が異なる個別の各種規制に共通する判定基準を考案することは可能であろうが、リスク管理のアプローチにおいて危険性とリスクのいずれに基づくかは提起されている用途によって異なり得る。

5.4 殺生物性製品規制

2012 年 1 月に欧州議会は非公式の三者折衝の妥協として得られた文言を公式に承認した。EC の承認も春には完了する予定である。最新の規制の第 5 条は、ある活性物質に対して認可を与えない除外基準を詳細に定めている。これらの基準は本質的には PPPR に関して前述したカットオフ基準と同等である。発癌性物質、変異原性物質または生殖毒性物質カテゴリー1、PBT、vPvB、ヒトに有害作用を及ぼす可能性のある内分泌攪乱化学物質（EC が 2013 年 12 月 13 日までに作成予定の判定基準による、または REACH 第 57(4)条および第 59(1)条の規定による）は、ヒトに対するリスクが無視できない限り認可されない。

付録 II には認可書類作成に必要な情報が示されている。これには中核的データセットの基礎となる必須データと、中核的データセットに「要注意（アラート）」が見出された場合に必要となる追加的データの 2 種がある。要求される中核的情報とそれに対応する OECD ガイドラインの試験を表 17 に示す。

表 17：反復暴露毒性、生殖毒性、発癌性および生態毒性試験に要求される中核的データセット

反復暴露毒性	28 日短期反復暴露毒性試験(TG 407)
--------	------------------------

	90 日亜慢性反復暴露毒性試験(TG 408)
生殖毒性	ウサギ出生前発生毒性試験(TG 414) 2 世代生殖毒性試験(TG 416)または拡張単世代発生毒性試験
発癌性	発癌性・長期反復暴露併合試験(TG 451～3) 第 2 の種における発癌性
水生生物毒性	魚類短期毒性試験(TG 203) ミジンコ短期毒性試験(TG 202)

中核的データセットの評価次第で追加的試験が必要になることもある。8.13.3 項には内分泌攪乱性が特記されており、「in vitro 試験、反復暴露試験または生殖毒性試験により、活性物質が内分泌攪乱性を持つことの何らかの証拠が得られたならば、追加情報または具体的な試験により

- － 作用様式または機序を明らかにすること
- － 該当する有害作用の十分な証拠を提供することが要求される」と述べられている。

更に神経毒性（発生神経毒性を含む）および免疫毒性（発生免疫毒性を含む）試験も要求される可能性がある。

また 9.10 項にも生態毒性試験に関連して内分泌活性の検出に触れられているが、具体的な試験や警告については述べられていない。内分泌攪乱化学物質の評価に関連のあるその他の生態毒性試験も（長期的暴露が予想される場合に）列挙され、表にまとめられている。

表 18：評価に関連のあるその他の生態毒性試験

魚類に対する長期的毒性	魚類初期生活段階試験 魚類胚および卵黄嚢仔魚に対する短期毒性試験 稚魚発達試験 魚類全寿命試験
無脊椎動物に対する長期毒性試験	ミジンコ成長および生殖試験 その他の種（アミ等）の成長および毒性試験 その他の種（ユスリカ等）の発達および羽化
底性生物に関する試験	
鳥類への影響	生殖への影響
節足動物への影響	ミツバチへの影響 その他の非標的節足動物（捕食者等）

最小限の情報要件は、少なくともヒト健康に関する限り、PPPR および REACH の高生産量化学品に対するものとはほぼ同様であり、それらの試験の限界も同様である。より詳細なデータ要件を付け加え、たとえば発達神経毒性および免疫毒性を明記しているのは、この欠点のいくつかを認識し対処しようとした結果である。しかし OECD 概念枠組みのレベル 5 に含まれているような臨界期の暴露を含む発癌性試験や多世代生態毒性試験は

なお欠けている。またこれら追加的要件が実際上どのように満たされるかもまだ明らかでない。成体に対する短期試験におけるアラートによる内分泌攪乱化学物質の検出の能力についての懸念は次節で更に検討する。

5.5 試験要件に関するまとめ

生態毒性の観点から見て、多くの敏感なエンドポイントや内分泌系作用機序に対して試験法が欠けていることは広く認められている。ヒト健康の観点からはこの点には種々の議論があり、ガイドラインにある試験で従来測定されていた内分泌器官のエンドポイントの多くが物質の内分泌攪乱性に関する毒性学的アラートを示すはずであり、それに従って追加試験の必要性が示されるとの主張がある。

本報告書付録3のエンドポイントごとの情報を以下の2つの表にまとめて示す。表19は現行の試験要件に従って定常的に測定されている内分泌関連のエンドポイント、表20は学術要約（付録1）のために調査した査読付き雑誌で示唆されているもの、あるいはOECDの新規エンドポイントおよび試験法に関する詳細総合報告¹で示唆されているものを示している。

表 19：現行試験要件の一部として測定されている内分泌関連エンドポイント

内分泌関連エンドポイント	OECD 試験法	コメント
外性器奇形	TG 414, TG 416	
内性器（精巣上体、精巣）奇形	TG 416	
精液の質の低下	TG 416	
血清中ホルモン量の変化	TG 407 で任意	成体暴露のみ
初発情年齢	TG 416	
乳腺発達	TG 408, TG 451-3, TG 416	成体暴露のみ
下垂体および副腎の重量	TG 407, TG 408, TG 451-3, TG 416	
子宮の重量	TG 408, TG 451-3, TG416	
卵巣の組織病理	TG 407, TG 451-3, TG416	
卵巣の重量	TG 408, TG 451-3, TG416	
発情周期	TG 416	
交尾成立前の期間	TG 421-422, TG 416	
着床、黄体、着床前および着床後死亡数	TG 421-422, TG 414, TG 416	
子宮の組織病理	TG 407, TG 408, TG 421-422, TG 451-3, TG 416	
妊娠期間	TG 414, TG 416	
異常分娩	TG 421-422, TG 416	
胎盤重量	TG 416	

¹ RTI International. 2011. Draft Detailed Review Paper State of the Science on Novel In Vitro and In Vivo Screening and Testing Methods and Endpoints for Evaluating Endocrine Disruptors. OECD. Paris, France.

仔の数・性別・体重	TG 421-422, TG 414, TG 416	
生産・死産仔数	TG 421-422, TG 414, TG 416	
全体的な異常の兆候	TG 414, TG 416	
腹側前立腺重量	TG 407, TG 408, TG 416	
前立腺の病理	TG 407, TG 408, TG 421-422, TG 451-3, TG 416	
Leydig 細胞結節／過形成	TG 407, TG 508, TG 451-3	成体暴露のみ
甲状腺の組織病理	TG 408, TG 421-422, TG 451-3, TG 416	
血清中 T3、T4、TSH	TG 407 および TG 408 で任意	成体暴露のみ
甲状腺重量	TG 408, TG 451-3, TG 416	
脳重量	TG 407, TG 408	成体暴露のみ
脳の組織病理	TG 407, TG 408	成体暴露のみ
神経行動学バッテリー	TG 407, TG 408	成体暴露のみ

- TG 407 : 28 日短期反復暴露毒性試験
- TG 408 : 90 日亜慢性反復暴露毒性試験
- TG 414 : 出生前毒性試験
- TG 416 : 2 世代生殖毒性試験
- TG 421-422 : 生殖および 28 日反復暴露併合試験
- TG 451-3 : 発癌性および長期反復暴露併合試験

表 20：現行試験要件の一部としては測定されていない内分泌関連エンドポイント

内分泌関連エンドポイント	検証済み試験方法	コメント
肛門性器間距離、乳頭遺残	TG 443	
レチノイドレベル、血漿レベル、または IGF1 の血液発現		詳細総合報告で示唆
膣開口年齢	雌性思春期試験	
ストレス応答コルチコステロン		詳細総合報告で示唆
卵胞数	TG 443	
生殖老化		
マーカー遺伝子：カルビンジン D9k、Hox 遺伝子、ギャップ結合タンパク質コネクシン 26 および 43		子宮重量より鋭敏なものとして提案
血清ビタミン D、ビタミン D 応答遺伝子		詳細総合報告で示唆
骨組織		詳細総合報告で示唆
ペルオキシソーム増殖		詳細総合報告で示唆
視索前野の性的二型核(SDN-POA)、前腹側脳		

室周囲核(AVPV)、青斑核		
神経毒性モジュール	TG 443	
甲状腺障害 — 追加的エンドポイント		詳細総合報告で示唆
免疫毒性モジュール	TG 443	

TG 443：拡張単世代生殖毒性試験

ここでの論点は通常測定されるエンドポイントの感度と特異性である。従来の内分泌関連エンドポイントは主として内分泌器官の重量と組織病理であり、その他に内分泌攪乱に対して特異的でない生殖関連エンドポイントがある。OECD詳細総合報告草案および査読付き文献に示唆されている新規なエンドポイントは特定の内分泌攪乱作用機序の証拠を求めることに傾いているが、有害作用の証拠が不十分とする意見もある。2 世代生殖毒性試験に限界のあることはOECDのEDTAでも認められているが（3.1.1 参照）、内分泌器官の重量および組織病理は比較的鈍感なエンドポイントと見なされる。これらのエンドポイントが発達への不可逆的影響の毒性的アラートを発すると考えると、問題は更に複雑になる。その好例はOECD概念枠組みガイダンス文書の支援のために行われた過塩素酸塩の事例研究¹で使用されたデータである。このデータのうち標準的試験法で得られたものを表 21、標準的ではないがガイドラインの試験法と類似と考えられる試験法で得られたものを表 22 に示す。2 世代生殖毒性試験において、甲状腺の重量と組織病理、および甲状腺ホルモン濃度への影響が全世代に認められた。短期または亜慢性反復暴露毒性試験は利用できなかった。非標準的試験で動物を 90 日間暴露させたものでは甲状腺の重量および組織病理への影響が検出されたが可逆的で、30 日後には回復した。甲状腺ホルモンの測定は亜慢性反復暴露試験では任意であるが、この試験では測定されており、すべての暴露レベル（したがって甲状腺の重量および組織病理に影響が現れる濃度以下でも）TSHと甲状腺ホルモンの変化が認められた。この事例研究には慢性毒性／発癌性併合試験に類似すると考えられる非標準的試験法 2 種も含まれているが、投与量が著しく大きいため、その結果に基づいて甲状腺攪乱効果の検出力を云々することはできない。また現行の試験方式では生態毒性試験がアラートを発することはなかった。したがって現行の試験要件に基づく限り、内分泌攪乱性が検出されない、あるいは無視される可能性が現実存在することが明らかである。

この問題の別の例として、現行の試験および情報要件によるデータに基づいて農薬の内分泌攪乱性を予測する試みが挙げられる。英国化学物質規制委員会(UK Chemicals Regulation Directorate, CRD)は農薬 15 種について内分泌攪乱の可能性を評価するための事例研究を実施し、次の結論を得ている。

「(上略) 多くの場合、エンドポイント表の詳細およびEFSAの結論は内分泌攪乱効果ないしその妥当性の評価を完結させるには不適當である。評価報告草案(DAR)まで遡っても十分な詳細情報、特に作用の重篤度についてのそれは得られなかった」²

¹ Organisation for Economic Co-operation and Development. 2011. Guidance Document (GD) on Standardised Test Guidelines for Evaluating Chemicals for Endocrine Disruption (No. 150).Case Studies using example chemicals (Perchlorate). Draft v1. Document n° ENV/JM/TG/EDTA(2011)14. EDTA. Paris, France

² CRD 2011, Evaluation of a selection of pesticides against the proposed ED criteria and flow chart, kindly provided by Dr Susie Brescia, CRD

以上の例全体を見ると、内分泌攪乱化学物質の検出のためには、哺乳類あるいは他の種による種々の試験法を要求し、または既存の試験に検証済みのエンドポイントを追加することにより試験要件を適正化する必要があることがわかる。そのような試験バッテリーを詳述することは本報告書の範囲を超える。また OECD 概念枠組みに含まれる標準的なガイドライン試験法からのデータが欠けているため困難でもある。

表 21：過塩素酸に関する事例研究で用いられたガイドラインによる試験法

野生動物によるスクリーニングまたは試験	
OECD TG 229：魚類短期生殖試験	生殖能力、孵化、雄の組織、VTG には影響なし。閉鎖卵胞数の増加、ステージ 1A の卵母細胞数の減少が見られるが(LOEC = 5.6 mg/l)、内分泌攪乱に起因するものかどうかは不明。
魚類全寿命毒性試験(USEPA OPPTS 850.1500)	F0、F1 世代とも、すべての濃度において最終エンドポイント (生殖、成長を含め) に顕著な変化なし(NOEC > 1090 µg/l)。しかし雌甲状腺濾胞肥大 (12 尾中 3 尾) および甲状腺コロイド枯渇 (14 尾中 6 尾) が見られ、総合 NOEC は F0 世代で 273 µg/l であった。
OECD TG 231：両生類変態試験(AMA)	過塩素酸塩への応答として X. laevis 幼生の全長、頭胴長、湿体重とも増加 (約 5~20%) し、NOEC は一般に 62.5~125 µg/l。後肢長は 20~30%減少(NOEC = 125 µg/l)。甲状腺組織は一般にすべての濃度で変化し(NOEC <62.5~62.5 µg/l)、甲状腺上皮細胞の高さおよび甲状腺体積／面積の増加が見られた。
OECD TG 206：鳥類生殖試験	大部分のエンドポイントには顕著な影響なし。ただし卵殻厚さが LOEC において対照値の 91%に減少(NOEC = 100 mg/飼料 kg)、雄体重増加が LOEC において対照値の 76%に減少 (NOEC = 500 mg/kg 飼料)。
哺乳類によるスクリーニングまたは試験	
思春期前後の雄ラット試験 (USEPA OPPTS 890.1500)	T4 は 125 mg/kg/日から暴露量に応じて減少、TSH は同時に増加、T3 は影響を受けない。甲状腺組織はすべての暴露量において顕著に変化し、コロイド面積の減少と濾胞上皮細胞の高さの増加は明らかに暴露量に依存的であった。包皮分離や生殖組織重量には影響なし。
思春期前後の雌ラット試験 (USEPA OPPTS 890.1450)	T3 と T4 は 125 mg/kg/日から暴露量に応じて減少、TSH は 250 および 500 mg/kg で増加。甲状腺組織はすべての暴露量において顕著に変化し、コロイド面積の減少と濾胞上皮細胞の高さの増加は明らかに暴露量に依存的であった。膣開口、子宮重量、卵巣重量には影響なし。発情周期には処理に関連する影響は見られない。
OECD TG 416:2 世代生殖毒性試験	生殖、妊娠期間には影響なく、死産・流産も見られない。P 世代・F1 世代とも交尾、受胎能、精子パラメータ、発情周期に影響を

	受けない。生産仔の数、生存率、性比、仔の体重にも変化なし。性的成熟に関するエンドポイント（VO、PPS など）、AGD は測定されていない。 すべての世代において甲状腺の重量・組織病理およびホルモン濃度に暴露量に応じた変化が見られた。P 世代では甲状腺の相対重量が♀では 30 mg/kg/日で、♂では 3 および 30 mg/kg/日で増加したのに対し、F1 世代の甲状腺重量には♀ですべての暴露量、♂では 3 および 30 mg/kg/日で増加が見られた。甲状腺濾胞上皮の肥大および過形成の発生率および重篤度は暴露量に応じて増加。T4、T3 の減少、TSH の増加も暴露量に従って生ずるが世代間・性間の一貫性は見られない。F1 世代の 30 mg/kg/日の群で♂2 頭が甲状腺腫を発症したが対照群には発症がなかった。この 2 頭は発症前に 19 週間暴露されていた。
--	---

表 22：非標準的試験 — 科学的には試験ガイドライン所載の方法に極めて近いが方法論的に大きく異なる試験法

野生動物によるスクリーニングまたは試験	
類似の試験法	
OECD TG 229：魚類短期生殖試験	ゼブラフィッシュ(Danio rerio)成魚を 18 および 677 mg/l の過塩素酸塩に最大 8 週間 暴露。両濃度とも 甲状腺血管新生 を誘発、低濃度では 甲状腺過形成 および コロイド枯渇 も生ずる。生殖能力（受胎能）は高濃度でのみ抑止（約 85%）（NOEC = 18 ml/g）。
OECD TG 234：魚類性的発達試験	ゼブラフィッシュ(Danio rerio)仔魚を受精 3 日後から 30 日間、名目 100 または 250 ml/g の過塩素酸塩に暴露。両濃度とも 甲状腺機能低下 を生ずるが外因性 T4 による同時処理により回復可能。また過塩素酸塩により 成長 （体長）が抑制され（LOEC において約 15%）、 性比 が♀側に偏る（対照群で 48%、LOEC で 58%、最高濃度で 65%）が、同じく外因性 T4 により回復。これらの作用の NOEC は< 100 mg/l であった。
魚類全寿命毒性試験 (FLCTT)(USEPA OPPTS 850.1500)	イトヨ(Gasterosteus aculeatus)を生殖活動気を含む最大 1 年間にわたり 30～100 mg/l の範囲の特定濃度の過塩素酸塩に暴露。濃度 18.6 mg/l 以下では 22 日間暴露された成魚に 生殖行動および生殖成果 の変化なし。発達の全期間にわたり暴露された魚体では 遊泳能力、生殖行動、生存率、補充 がすべての濃度で影響を受け（NOEC < 30 mg/l）、LOEC (30 mg/l)では仔魚を作れる♂は 25%のみ。100 mg/l では繁殖はほぼ完全に阻害され♂は仔魚を作らない。
OECD TG 231：両生類変態試	アフリカツメガエル(Xenopus laevis)の卵と幼生を 5～425,000

験	μg/l の範囲の特定濃度の過塩素酸塩に 70 日間暴露。すべての濃度で前肢の発生率の減少 (LOEC で約 50%) が見られる(NOEC < 5 μg/l)。後肢長減少、尾の吸収の減少の NOEC はいずれも 5 μg/ml。USEPA 標準スクリーニング試験では、ステージ 60 幼生を 19,800 μg/ml の過塩素酸塩に 14 日間暴露したとき尾の吸収は 96%から 17%へ減少。
OECD TG 231 : 両生類変態試験	アフリカツメガエル(<i>Xenopus laevis</i>)の幼生を 20 mg/l の過塩素酸塩に 12 日間暴露。この処理により発達が遅滞し、後肢長は約 50%減少。これらの変化には甲状腺組織病理、甲状腺ホルモンに制御される遺伝子発現の減少、甲状腺刺激ホルモン tshb-A mRNA の上方制御が伴う。
OECD TG 231 : 両生類変態試験	ステージ 51~54 のアフリカツメガエル(<i>Xenopus laevis</i>)の幼生を 16, 63, 250, 1000, 4000 μg/l の過塩素酸塩に 14 日間暴露。変態は著しく遅滞(NOEC = 63 μg/ml)、組織への影響は最低濃度で観察される(NOEC < 16 μg/ml)。同様の実験でステージ 51 の幼生を 8, 16, 32, 63, 125 μg/l に暴露したとき変態遅滞の NOEC は 63 μg/l、甲状腺肥大の NOEC は 32 μg/l であった。
両生類幼生成長発達試験 (LAGDA)	<i>X. tropicalis</i> の幼生 (孵化後 < 48 h) を 56, 167, 500, 1000 μg/l の過塩素酸塩に最大 40 週暴露。これらの濃度のいずれでも変態、成体の体寸法、生殖腺指数には顕著な影響は見られないが、ある程度の甲状腺組織病理(NOEC = 170 μg/l)が認められ、♀のビテログニンレベルは約 1.7 倍に増加した(NOEC = 56 μg/l)。
OECD TG 206 : 鳥類繁殖試験	産卵期のウズラ(<i>Cortunix japonica</i>)♀を飲料水中 2000 または 4000 mg/l の過酸化物質に暴露し胚の甲状腺の状態を観察。両処理群の成体には甲状腺機能低下が見られ(NOEC < 2000 mg/l)、高暴露量の群のみ産卵数が減少(NOEC = 2000 mg/l)。両群の胚は甲状腺肥大と甲状腺ホルモン貯蔵量の減少を示し、同じく甲状腺機能が低下していることを示す。これと平行して胚成長の減速、孵化の遅滞、孵化時死亡率の増加が認められる。
OECD TG 206 : 鳥類繁殖試験	コリンウズラ(<i>Colinus virginianus</i>)の♀成鳥を飲料水中 1.2, 11.7, 117 mg/l の過塩素酸塩に 30 日間暴露。各暴露量とも体重、器官重量、産卵率に影響しないが、最高暴露量では甲状腺形状変化が見られる(NOEC = 11.7 mg/l)。形状変化に伴いコロイド面積が約 50%減少、濾胞細胞高さが約 30%増加。
哺乳類によるスクリーニングおよび試験	
TG 408 : 90 日反復経口毒性試験	ラット(n = 10)に飲料水経由で過塩素酸アンモニウム 0.01, 0.05, 0.2, 1.0, 10.0 mg/kg/日を 90 日間投与。可逆性評価のため無投与 30 日の回復期間を置く。精子パラメータ、発情周期、血清ホル

	モンレベル(T3, T4, TSH)に対する影響も検討。生存率、臨床所見、体重、餌および水摂取量、血液学、臨床化学、発情周期、精子パラメータについては対照群と処理群との間に毒性学的有意差なし。10 mg/kg/日では雌雄とも甲状腺重量が増加、甲状腺の組織病理では主として濾胞上皮細胞の肥大、微小濾胞の形成、コロイド枯渇が見られるが、これらの変化は無処理 30 日の回復期間後に可逆的。すべての投与量でTSHおよび甲状腺ホルモンの変化が見られるが¹、≤ 1.0 mg/kg/日では甲状腺重量にも組織病理にも影響なし。
OECD TG 452-3：慢性毒性・発癌性併合試験	Wistar ラット♂に過塩素酸ナトリウム(1%)を飲料水経由で投与（約 1300 mg/kg/日に相当）、40, 120, 220, 730 日投与の後屠殺。全体を通じて対照群と処理群の体重はほぼ等しい。処理群の甲状腺重量はいずれの時点でも対照群より著しく大きい。40 日暴露後には濾胞細胞肥大、コロイド吸収、低グレードの間葉性反応が見られ、200 日後には線維症を伴う瀰漫性変性とコロイドの増加が認められた。2 年後には処理群 11 頭中 4 頭が良性甲状腺腫瘍を発症したが無処理 20 頭には甲状腺腫瘍は生じなかった。
	BALBc マウス過塩素酸ナトリウム(飲料水中 1.2%)を飲料水経由で投与（約 2100 mg/kg/日に相当）、46 週後に処理に関連して死亡。過塩素酸処理により甲状腺上皮細胞の肥大および過形成が生ずる。甲状腺濾胞癌の発生率増加が処理群 6 頭中 5 頭に見られたが対照群には無し。

¹甲状腺ホルモンレベルの測定は、反復暴露試験(TG 407, TG 408)では任意、拡張世代試験(TG 443)では定常的に実施される。

6 利害関係者および加盟国当局から提案

この章では、EU 法規制の枠内で 2011 年 9 月までに公表された、内分泌攪乱化学物質の評価のための判定基準および分類体系に関する諸提案を比較検討する。試験法の詳細には立ち入らず、一般原則およびアプローチに注目する。最後の項は関連文献の網羅的リストに充てられており、この章の参考文献はすべてそこに含まれている。

6.1 ECETOC

EU 法規制の枠内での内分泌攪乱化学物質の同定と評価の基準を初めて手起案したのは ECETOC の工学タスクフォースで、2009 年に最初のガイダンス文書(ECETOC 2009a)を公表している。この提案は同じ年に規制当局、産業界、学界からの研究者を招いたワークショップで討議され(ECETOC 2009b, 2009c)、その結果改訂されたガイダンス文書が作成されて、2010 年 9 月にオンラインで、2011 年に印刷版(Bars et al. 2011a, 2011b)で公表された。ECETOC は 2011 年 5 月に、内分泌攪乱化学物質の評価に関する第 2 回の非公開ワークショップを開催したが、その成果は ECETOC のウェブサイト上の簡単な要約(Galay-Burgos 2011)以外はまだ発表されていない。

改訂版の ECETOC 文書は、規制に関連する内分泌攪乱化学物質の評価のために、基本的に次の 6 つの判定基準を提案している。

- 有害性
- 作用機序
- 因果性
- 妥当性
- 特異性
- 作用効力

最初の 3 つの判定基準（有害作用、内分泌作用機序、両者間の因果関係の証拠）は内分泌攪乱化学物質の定義から導かれる。第 4 の基準（ヒトおよびまたは野生動物集団に対する妥当性）は実験室的試験法からの証拠の限界を反映している。残る 2 つの基準（特異性および作用効力の考慮）は追加的なものとして示唆されている。

同文書では、妥当な *in vitro*, *in vivo* スクリーニング、および *in vivo* の最終データが得られる可能性のある、現在利用可能な試験方法の範囲を検討している。利用可能な個別の試験方法は多数あるが、著者らは得られたデータすべてについて全体論的な評価が必要であることを強調し、その目的のために「客観的・系統的で構造化された WoE 評価」によって内分泌攪乱性の決定的照明を確立することが極めて重要としている。

ある物質が内分泌攪乱性であることの十分な証拠が得られたならば、次の評価段階として内分泌効果の特異性を考察することを著者らは提案し、ヒト健康の保護の観点から「特異性の評価によって、観察された有害作用が他の毒性形態（神経・肝臓・心臓などへの毒性）よりも低い暴露量で生ずるか否かを決定する必要がある、その結果が陰性であれば内分泌以外で最も感度の高いエンドポイントに基づいてリスク評価を行うべきである」

と主張している。野生動物保護の関連では種に関する特異性も考慮しなければならない。著者らの説明によれば、「一般的な毒性のエンドポイントに関連して、全体的なリスク評価を要する可能性のある他の分類群に対する内分泌効果の特異性も考慮すべきである。たとえば魚類に対する内分泌効果が、他の分類群（たとえば藻類）に対する毒性発現レベルより高濃度で生ずるならば、リスク評価に組み込まれた内在的安全マージンを考慮して、懸念の程度が低いとすることができる」

ある物質が内分泌攪乱性であることが証明され、その効果が特異的で、ヒトまたは野生動物集団に妥当し、特定の法規（たとえば植物保護製品規制）に従って暴露が無視できないと判定されたときは、評価の最終段階として**作用効力**を検討することが提案されており、「有害作用が生ずる暴露量または濃度、有害作用の誘発に必要な暴露期間、有害作用の種類・発生率・重篤度、および有害作用が実証されている種の数」など、作用効力に関する複数の記述を総合的に考慮すべきであるという。

作用効力評価の目的は、内分泌攪乱化学物質のうち懸念の程度の高いものと低いものを区別することである。しかし ECETOC の研究では独・英の規制当局の提案（後述）と異なり、作用効力に基づいて規制上の決定を行うための具体的なカットオフ値を示してはいない。著者らは危険性を唯一の判定基準とすることは不適切であるとし、作用効力に基づく因子を含む内分泌攪乱化学物質のリスク評価を主張している。

6.2 英国英国化学物質規制委員会 CRD

英国化学物質規制委員会(UK Chemicals Regulation Directorate, CRD) は内分泌攪乱化学物質の規制上の定義に関する 2 件の文書草案を作成している。いずれも毒性委員会(COT 2010)を含め英国政府内の横断的協議と承認に基づくものである。文書の一つはヒト健康への潜在的脅威に関連する定義を扱うもので、2010 年 12 月に発表された(CRD 2010)。他方は生態毒性的な内分泌攪乱化学物質の判定基準を定めたもので、2011 年 4 月に公表された(CRD 2011b)。前者は 2011 年 5 月に独英共同提案（6.4 項参照）に差し替えられたが、後者はなお規制委員会の見解を示すものとして存続している。

ヒト健康

ヒト健康に関する文書では、ある物質を内分泌攪乱性と判定することは「規制上も産業的にも大きな影響を持つ可能性がある」と考え、「したがって本文書の立場としては、内分泌攪乱性に分類すべき物質は、そのような性質が明瞭に確認され、作用効力を示し、かつ危険性プロファイルの中で支配的であるような場合に限定する」としている（パラグラフ 6）。WHO/IPCS の定義は極めて広範な記述であって、内分泌攪乱化学物質の懸念の程度の高低を区別することができないと考えられるため、同文書では「WHO の定義を出発点とし、規制を要する内分泌攪乱化学物質を定めるために必要ないくつかの判定基準を追加する」ことを目標としている（パラグラフ 17）。

この文書では ECETOC の提案（上述）とほぼ同様な判定基準の使用を推奨しているが、ECETOC の文書の言う「特異性」についてはやや異なった表現を取り、「最も敏感な毒性効果（または**先行毒性**）」あるいは「危険性プロファイルの主要特性」と呼んでいる。しかし重要な相違点は、CRD の文書では作用効力の基準を、内分泌攪乱性として規制すべき物質とそれ以外の物質とを区分する明確な**作用効力に基づくカットオフ値**に変換し

ていることで、この目的のために、EU の規制と世界調和システム(GHS)において危険物質の分類・表示・包装のために定められた STOT-RE 分類の閾値を利用することが推奨されている。すなわち「STOT-RE 危険性分類のカテゴリ1を適用するに必要な暴露量指針以下の暴露量において内分泌攪乱効果を生ずる物質のみを、規制上の内分泌攪乱物質として考慮する」ことが示唆されている（パラグラフ 32）。たとえば 90 日経口試験のデータでこのカットオフ値に相当する暴露量は 10 mg/kg 体重/日である。

要約すれば、本文書は物質を内分泌攪乱性として規制するか否かの判定基準として下記を提唱している（パラグラフ 43）。

- 少なくとも 1 件の、ヒトの暴露に妥当する投与経路で行われた妥当な品質の毒性試験において毒性作用が見られること。
- 内分泌攪乱に関連すると考えられる有害作用がデータセット内で先行毒性作用であるか、または先行毒性作用が最初に見られた暴露量に近い暴露量で生ずること。
- 内分泌攪乱に関連すると考えられる重篤な有害作用が、「特定標的臓器毒性 — 反復暴露 (STOT-RE)」分類・表示のカテゴリ1 の適用の該当指針値と同等あるいはそれ以下の暴露量で発現していること。
- 懸念される毒性作用と内分泌攪乱との間に作用機序による関係が確立されていること。
- 実験動物で観察された作業がヒト健康にも妥当する可能性があるとは判断されること。

前記のとおり、この文書草案に代わるものとして 2011 年 5 月に独英共同提案書が公表された。両者の主要な相違点は「先行毒性作用」の概念が採用されなかったことである（6.4 項参照）。

野生動物

野生動物に関連する第 2 の文書もヒト健康に関するものと同様の論拠と判定基準に従っているが、下記の点に相違がある。

- 作用効力に基づくカットオフ値は示されていない
- 先行毒性作用の基準は同様に適用されるが、「先行毒性作用」または「特異性」(ECETOC)という用語は用いられず、判定基準は次のように事例によって示されている。

「ある化合物が生態毒性学的に内分泌攪乱化学物質であるか否かを決定するに際しては、内分泌攪乱作用を生ずる濃度または暴露量を考慮する必要がある。たとえば魚類に対する試験、魚類全寿命試験における主要エンドポイントが他の主要エンドポイントより数桁大きいならば、規制対象としての内分泌攪乱作用の重要性は乏しいと考えられる。なぜならば規制上の決定、たとえば認可拒絶、緩衝地域の設定あるいはその他のリスク軽減措置などが、これよりはるかに低いエンドポイントに基づいて下されるからである。一例を挙げれば、ある新規の除草剤のアオウキクサに対する EC50 が 1.0 µg a.s./L であり、これが最低のエンドポイントとしてリスク評価の必要性を決定する。一方、魚類全寿命試験における NOEC は 10 mg a.s./L であり、この値は規制には影響しない」（パラグラフ 33）
- 重点は集団の保護に置かれている。したがって**集団に妥当する**実験室的試験の結果と、集団の補充や安定性に影響する可能性のない効果とが区別されている。この点は ECETOC の提案と同様である。

- 規制の目的で生態毒性学的な内分泌攪乱化学物質を同定するために必要な情報を与えるのは**ガイドライン所載の試験法のみ**とされている。すなわち「評価に用いる試験法はすべて国際的に承認されたプロトコルに従って行わなければならない」（パラグラフ 24）
- 物質の内分泌攪乱性の評価は環境中の主要な動物種ごとに別個に行う必要があることが指摘されている。しかしいくつかの重要な種のグループに対しては国際的に合意された**試験ガイドラインが存在しない**。この制約のため、同文書は結論として「実際には物質が生態毒性学的に内分泌攪乱性であるか否かは、哺乳類と魚類についてしか決定できない」と述べている（パラグラフ 29）。鳥類、両生類、爬虫類、無脊椎動物に対しては、現在利用できる試験法は明確な証拠を得るには不適當であると判定されている。
- ある標的臓器に対して**内分泌攪乱化学物質として作用することを意図した物質**が植物保護製品や殺生物性製品の活性成分として用いられることがある。植物成長調節剤はその一例である。同文書はこのような特別の化合物に関して「集団レベルでの有害作用の有無を野外スケールで確認するための試験を行う必要があり、そのような作用が認められれば、その物質は環境中の非標的生物に対して内分泌攪乱性であると結論するのが適切であろう」と述べている（パラグラフ 43）。

要約として、同文書は WHO/IPCS の定義と下記の判定基準を満たす物質を内分泌攪乱性で見なすべきと結論している（パラグラフ 44）。

- 有害作用の本質が集団の補充または安定性に対する脅威であること
- 観察された作用の背後にある作用機序が内分泌攪乱であることの妥当で一貫した証拠が同一分類群の中に存在すること
- パラグラフ 33 で例示したように、有害な内分泌効果を生ずる濃度あるいは暴露量を考慮すること（前述参照）

6.3 ドイツ BfR, BAuA, UBA

ヒト健康の保護に関して、植物保護製品規制(PPPR)における内分泌攪乱化学物質の評価と、内分泌攪乱化学物質を REACH における高懸念物質(SVHC)とすることは当初ドイツ連邦リスク評価研究所(BfR)とドイツ労働安全衛生研究所(BAuA)によってそれぞれ提案されたものである(BfR 2010a, BAuA 2010)。

BfR の提案は 2009 年 11 月に BfR で開催された専門家ワークショップ(BfR 2010b)での議論に基づいており、後に公開文献として刊行された(Marx-Stoelting et al. 2011)。BfR の最初の提案書と BAuA の論文は共に、2011 年 5 月の独英共同ポジションペーパー(BfR 2011)で置き換えられた。これは PPPR と REACH のほか殺生物性製品規制によるヒト健康に関連する評価をカバーしている（6.4 項参照）。

野生動物の保護に関して所管庁であるドイツ連邦環境庁(UBA)は、ヒト健康に関する提案(BAuA 2010, BfR 2010, 2011)、あるいは生体毒性学的内分泌攪乱化学物質の規制上の定義に関する英国の提案(CRD 2011b)に匹敵するような詳細提案をまだ示していないが、PPPA および REACH における内分泌攪乱化学物質に関する判定基準に関する論議への意見(UBA 2010a, UBA 2010b)は EU 加盟国に通告されている。

ヒト健康

BfR (2010)およびBAuA (2010)による最初の提案では、対応する英国の CRD の提案(CRD 2010)と同じ判定基準が示唆されていた。特に、PPR における**作用効力に基づくカットオフ基準**および REACH における SVHC 認定のトリガー値として同じ STOT-RE カテゴリー1 の値を用いることが示唆されていた。BAuA の提案ではこれを実用的な「**規制閾値**」(6 ページ)と定義していた。

しかしこれらのドイツの提案と英国の提案との間には1つの重要な相違点がある。すなわち CRD の提案に示されていた(元来 ECETOC が「特異性」の名で提案した)「**先行毒性作用**」の**基準**をドイツの両機関とも採用しなかったことである。BAuA の提案では、SVHC の認定のためには「見出された有害作用のうち内分泌攪乱に関連する有害作用が最も敏感なものであること、あるいはそれが分類を決定する先行的作用であること(たとえば同じ物質がより低い暴露量で神経毒性を示しても SVHC と判断する基準としては(まだ)指定されていない)は必須条件ではない」(7~8 ページ)と明記されている。このため後の独英共同ポジションペーパー(BfR 2011)でもこの基準は完全に放棄されている。

BfR の最初の文書(BfR 2010)では、STOT-RE カテゴリー1 の値を用いた、作用効力に基づく分類は PPPR における内分泌攪乱性の評価法として考えられる2種のうちの一つであり、「分類に基づくオプション」と名付けられた。いま一つの方法として「暴露量に基づくオプション」が提案されたが、これは「問題の物質への暴露量が消費者、事業者、労働者その他可能性のある者において無視できるか否かを見出す」(10 ページ)ための暴露分析を行うことを意味する。この目的のため、労働者、消費者および第三者の活性物質への「無視できる暴露量」について下記の定義を提起し、同文書付録 I で説明を加えている。

- a.) 全身的または局所的総暴露量がそれぞれの基準値(AEL)の10%以下である、または
- b.) 活性物質に遺伝毒性がなく、活性物質への全内部暴露量が $1.5 \mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ を超えない

ただし独英共同提案の発表の後には当然ながらこのオプションは追求されていない。

PPPR による野生動物保護

PPPR に基づき実施される環境リスク評価の枠内における内分泌攪乱化学物質の評価に関する UBA の文書は 2010 年 5 月に発表された(UBA 2010a)。ここでは下記3種の評価状況によって異なった意思決定を行うべきことが論じられている。

- A. 内分泌攪乱性は標的生物(無脊椎動物および植物のみ)に対する防除の作用機序の基礎である
- B. 内分泌攪乱性は非標的生物に対する総体的な副作用において決定的である
- C. 内分泌攪乱性は非標的生物に対する総体的な副作用において決定的でない

決定の基礎として次の3種の情報を考慮する。

- i. 内分泌攪乱性の特異性

- ii. 内分泌攪乱性の作用効力
- iii. 内分泌攪乱性の生態学的蓋然性ないし有害性

状況 A すなわち標的生物において内分泌攪乱剤として働くことを意図した物質については、確立したリスク評価法により、PPPR による危険性に基づく判定基準に適合するか否かを判定することが提案されている。これは同様な場合に野外調査を行うべきとしている CRD の提案（6.2 項参照）とは異なる。

状況 B と C との区別、すなわち「総体的な副作用において決定的」であるか否かは「特異性」(ECETOC)や「先行毒性作用」(CRD)の基準と等価である。危険性に基づく PPPR の判定基準は状況 B（総体的な副作用において決定的）でのみ適用し、それ以外（状況 C）では確立したリスク評価を行うことが提案されている。これは CRD の生態毒性評価の提案と一致し、ヒト健康への危険性に関して BAuA および BfR の提案する、「先行毒性作用」の概念を排除した評価体系とは異なる（上記参照）。

REACH による野生動物保護

REACH による内分泌攪乱化学物質の評価に関する UBA の文書も 2010 年 5 月に公表されている(UBA 2010b)。ここでは環境中の生物に対する内分泌攪乱性によって CMR、PBT、vPvB などと同等の懸念を生じさせる物質をどのように同定するかについての一般的な考察が展開されている。その目的は加盟国、ECHA、EC および加盟国委員会(MSC)の間での論議を促すことにある。

同文書は WHO/IPCS の内分泌攪乱化学物質の定義を考慮して次のように結論している（3 ページ）。

「ある物質が環境中の生物に対して内分泌攪乱性であると判定されるには、少なくとも次の 2 つの条件を満たさなければならない。すなわち

- 内分泌系を介する作用機序
- 環境における有害作用」

著者らは内分泌系を含む作用機序と観察される有害作用との因果関係を証明することの困難に注目し、「WoE アプローチで内分泌攪乱化学物質を同定するためには利用できるすべての情報を考慮すべき」と考えている（3 ページ）。この見方は、生態毒性学的内分泌攪乱性物質に関して、規制上の決定はいわゆるガイドラインの試験法のみに基づくべきとする CRD の見解とは異なっている（6.2 項参照）。

同文書は更に、予防原則および得られる可能性のあるデータの種類の点から REACH 第 57(f)条の解釈を検討しており、結論として物質が上記の定義を満たし、かつそれによって

- リスクを十分確実に決定することはできないとしても、環境（すなわち集団の健康）に著しい影響を及ぼし、
- 次世代以降に不可逆的な影響を及ぼす可能性がある

ならば、「環境に対して高懸念物質と同等と判定すべきである」としている（6 ページ）。

6.4 独英共同ポジションペーパー

ドイツ BAuA の文書に対する英国 CRD の詳細なコメント(CRD 2011a)に従って、BfR と CRD はヒト健康との関連における内分泌攪乱化学物質の規制上の定義に関する共同ポジションペーパーを作成し 2011 年 5 月に発表した(BfR 2011)。この文書は先行する BfR (2010)、BAuA (2010) (6.3 項参照) および CRD (CRD 2010) (6.2 項参照) の対応文書に代わるものである。

共同ポジションペーパーの本文は先行の CRD 文書(CRD 2010)の改訂版である。重要な変更点は、内分泌系を介する有害作用の要件から「**先行毒性作用**」でもなければならないという条件を除外したことである。更に内分泌による作用機序と健全な生体に対する有害作用との機構的関係の証明の要件も多少制限を緩めた形に修正され、「作用機序による関連」の条件が、「蓋然性のある作用機序または機構による関連」に改められた。これらの修正と議論の順序の変更を別として、要約的結論の文言は変更されていない。すなわち或る物質が WHO/IPCS の定義を満たし、その場合に以下の判定基準を満たすならば「規制上高度に懸念される内分泌攪乱化学物質」と判定される (パラグラフ 40)。

- 少なくとも 1 件の、ヒトの暴露にも妥当する投与経路で行われた妥当な品質の毒性試験において毒性作用が見られること。
- 懸念される毒性作用と内分泌攪乱との間に蓋然性のある作用機序ないし機構による関連性があること。
- 実験動物で観察された作用がヒト健康にも妥当する可能性があると判断されること。
- 内分泌攪乱に関連する重篤な有害作用が、「特定標的臓器毒性 一反復暴露(STOT-RE)」分類・表示のカテゴリー1 の適用の当該指針値と同等あるいはそれ以下の暴露量で発現していること。

6.5 フランス ANSES

フランス食品・環境・労働安全衛生委員会(Agence nationale de securité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, ANSES)は、内分泌攪乱化学物質の同定やカテゴリー分類に関して独立の詳細な提案を行っていないが、内分泌攪乱に対するヒト健康関連の判定基準に関するドイツの BAuA の提案 (6.3 参照) に対して文書によるコメントを寄せている。

ANSESによる主な批判点はSTOT-RE カテゴリー1のトリガー値を用いて作用効力に基づくカットオフ値を導入したことで、この戦略に対する強い留保が表明されている。

要約すれば、ANSES は REACH 第 57(9)条によって内分泌攪乱化学物質を SVHC に分類するためには次の 2 つのパラメータで十分と考えている。

- 分類基準およびガイダンスに提示されている生理学的暴露経路によるヒトおよび in vivo 試験のデータに基づく、発癌性または生殖毒性の分類 (カテゴリー1A、1B または 2) または STOT-RE (カテゴリー1 および 2)

および

- 上記分類の根拠となる有害作用の内分泌を介する作用機序の同定（同じくスクリーニング試験および *in vitro* 試験を用いる WoE に基づく）（3 ページ）
- STOT-RE カテゴリー1 および 2 の両者を含めたことは、「高懸念内分泌攪乱化学物質」として STOT-RE カテゴリー1 の物質のみを考えるとする独英共同ポジションペーパーに比べて、作用効力に基づくトリガー値をかなり高くとることを意味する。たとえば 90 日経口暴露試験のデータの場合、カットオフ値は 10 mg/kg 体重/日から 100 mg/kg 体重/日へ引き上げられることになる。

6.6 デンマーク EPA

デンマーク環境庁は(i)2010 年および 2011 年に他の EU 加盟国の提案に対して書面による詳細なコメントを寄せ(DK EPA 2010a, 2010b, 2010c)、(ii)REACH による内分泌攪乱化学物質の規制に関する詳細な論文を作成し(DK EPA 2011b)、(iii)内分泌攪乱化学物質の判定基準に関する学術的報告を委嘱し(Hass et al. 2011)、(iv)最後に 2011 年 5 月に「内分泌攪乱化学物質の判定基準の確立と規制における選択肢」に関する包括的な提案を行った(DK EPA 2011a)。

デンマークの提案と前期の諸提案との相違点として最も重要なのは下記の 3 点である。

- 作用効力に基づくカットオフ値を設定しない。
- ヒトにおいても生態毒性評価においても、内分泌系を介する有害作用が「先行毒性作用」であることを要求しない。
- ある物質が WHO/IPCS の内分泌攪乱化学物質の定義を満たすと結論するために十分な証拠の要件が、特に内分泌を介する作用機序と観察されるヒトまたは野生動物集団に妥当する有害作用との因果関係の証明に関してやや制限が緩く、より慎重である。

デンマークの提案は基本的に、内分泌攪乱化学物質を WHO/IPCS の定義に従いつつ 2 つのカテゴリー、すなわち「確認された」内分泌攪乱化学物質（カテゴリー1）（*in vivo* のデータに基づく）と「可能性のある」内分泌攪乱化学物質（カテゴリー2）に細分することである。しかし規制の目的のためにカテゴリー2 の「可能性のある」内分泌攪乱化学物質を、利用できる証拠のレベルを反映して更に 2 つに分けることが提案されている。すなわち「内分泌攪乱性の疑いのある(suspected)物質」(カテゴリー2a)（主として *in vivo* のデータに基づく）と「内分泌攪乱性が示唆される(indicated)物質」(カテゴリー2b) すなわち「内分泌攪乱性の兆候を示す物質」(主として *in vitro* または *in silico* のデータに基づく）である。

カテゴリー1 の物質は PPPR では認可されず（同規制の定義によって暴露が無視できる場合を除く）、また REACH では SVHC 物質として扱われる。カテゴリー2 の物質に関しては、下表に示すように種々の規制が考えられる。

デンマーク提案による定義と規制方法の概要(DK EPA 2011a、11 ページによる)

WHO/IPCS の定義	EU の定義	REACH で可能な規制	PPPR の規制
内分泌攪乱化学物質	カテゴリー1:内分泌攪	●SVHC に分類（認可	暴露が無視できない限

	乱化学物質 (in vivo データ)	リスト付録 XIV への登録も可能) ●制限 ●調和分類・表示	り不認可
内分泌攪乱性の可能性のある物質	カテゴリー2a：内分泌攪乱性の疑いのある物質 (主として in vivo データ)	●内分泌攪乱性の可能性のある物質のリストの作成 ●優先度の高いものについては RMO 分析の開発、適切ならば規制 ●具体的な内分泌攪乱性情報が産業界に要求される場合は物質評価の優先順位付け *	認可のためには産業界からのデータが更に必要
	カテゴリー2b：内分泌攪乱性が示唆される物質 (主として in vitro/in silico データ)	**	場合により更にデータを追加することを指定

* 内分泌攪乱性の疑いのある物質 (カテゴリー2a) に対して：内分泌攪乱性に関するデータの追加取得は産業界、加盟国、学界により自発的に行うことができる。

** 内分泌攪乱性が示唆される物質 (カテゴリー2b) に対して：データの追加取得の優先順位を暴露量に従って定める。

デンマーク提案には、示唆されたカテゴリーの各々に対して詳細な判定基準が示されている。カテゴリー1の物質に関する基準は下記のとおりである(DK EPA 2011a、6 ページ、表 1)。

「ヒトまたは環境中の動物種に内分泌攪乱による有害作用を及ぼすことが知られている物質、またはヒトまたは環境中の動物種に内分泌攪乱による有害作用を及ぼすと仮定するに十分強力な証拠が動物実験の証拠（他の情報で補強されることもある）から得られている物質はカテゴリー1に分類する。

この場合動物実験からは、他の毒性作用が存在せず内分泌攪乱作用のみの明確な証拠が得られるか、あるいは他の毒性作用が共存する場合には、内分泌攪乱作用がそれらの二次的・非特異的な副作用ではないと見なせることが必要である。ただし作用のヒトまたは環境に対する妥当性に疑義を提起する機構的情報などがある場合はカテゴリー2a がより適切であろう。

物質をこのカテゴリーに分類するための基礎は下記のとおりである。

- 内分泌系を介する作用機序の蓋然性が十分大きい in vivo での有害作用
- in vivo での有害作用に明らかに（たとえばリードアクロスにより）関連する in vivo での内分泌系を介する作用機序」

更に、判定基準を満たすに必要な証拠が、内分泌試験および評価のための OECD 概念枠組み(OECD CF)改訂版に収録された試験で得られたデータに基づいて定義されている。それによれば「物質は下記のデータに基づいて、確認された内分泌攪乱化学物質（カテゴリー1）に分類できる。

- ー 明らかに内分泌機構と関連する有害作用のデータを示す in vivo 試験（OECD CF3, レベル 5)
- 個別的に、単独または複数の内分泌機構と有害作用のデータを示す in vivo 試験（OECD CF、レベル 3 および 4） と他の該当する情報との組み合わせ
- 特殊な場合には、有害作用に関する in vivo のデータが欠けているときカテゴリー分類または(Q)SAR アプローチにより、ADME 情報および in vitro データとの組み合わせで必要なデータが得られることがある
- ヒトの症例または疫学的調査から得られた信頼性の高い高品質のデータ」(7 ページ)

6.7 CHEM Trust

環境 NGO である CHEM Trust は WWF との共同で、(i) 英・独・丁・仏各国政府機関による提案やポジションペーパーに対する詳細な批判を発表し(CHEM Trust 2011)、(ii) 環境・健康関連の 12 の NGO の共同ポジションペーパー「内分泌攪乱化学物質の適切な規制の条件」(CHEM Trust et al. 2011)の作成を主導し、(iii) 内分泌攪乱化学物質の分類体系を提示した論文 (CHEM Trust & WWF 2010)を発表している。

CHEM Trust と WWF は、内分泌攪乱化学物質の問題に取り組む上での実際的な方法として、下表に示す 4 つの下位区分(1A, 1B, 1C or 2)を導入することを提案している (CHEM Trust & WWF 2010、16 ページより)。

内分泌攪乱化学物質のカテゴリー(E)分類案の概要	E2	E1C	E1B	E1A
単純な in vitro 試験または未検証 QSAR（代謝を考慮しない）に基づいて内分泌攪乱性が疑われる物質（他のデータにより懸念が払拭されない場合）	x			
in vivo で内分泌攪乱性を持つと考えられる物質（ホルモン濃度、ホルモン感受性組織、内分泌腺、補助システムなどへの影響）		x	X	X
内分泌系に媒介される影響を示す、あるいは内分泌攪乱性が既知ないし強く疑われるが影響が有害であるか否かが不確実な場合（たとえば子宮増殖試験または Hershberger 試験で陽性を示す物質）		x	X	X
内分泌系に媒介される影響が強く疑われる場合			X	X
影響を示す証拠が内分泌系の攪乱の直接の結果である場合、因果的機構が確実に知られている場合				X

REACH および PPR のもとでこのカテゴリー分類の体系をどのように用いるかについても詳細な提案がなされている。一般的に言えば、カテゴリー1 (1A、1B、1C を含む) の物質は REACH による承認を必要とし、暴露が無視できない限り PPPR に従って使用を漸減しなければならない。ただし内分泌関連の作用機序による特定標的生物への毒性を具体的に意図した農薬は例外とされる可能性もある。この点はドイツ UBA の提案と同様である (6.3 項参照)。

6.8 PAN Europe

CHEM Trust の主導下に 12 の環境・健康関係 NGO が作成した共同ポジションペーパー(CHEM Trust et al. 2011)には国際農薬行動ネットワーク(Pesticide Action Network)欧州支部(PAN Europe)も参加している。PAN Europe は 2011 年 5 月に欧州健康・消費者政策委員会(European Commissioners for Health and Consumer Policy)および環境委員会への公開書簡の形で独英共同ポジションペーパー(BfR 2011)に対する厳しい批判を公にし(PAN Europe 2011a)、同時に農薬の内分泌攪乱性の決定に関する基準について独自のポジションペーパーを発表した(PAN Europe 2011b)。

EU 加盟国当局の提案と異なり、PAN Europe のポジションペーパーは規制上の合意達成の基礎として WHO/IPCS の学術的定義 (内分泌攪乱化学物質の定義、有害作用の定義とも) を認めない。また「先行毒性作用」、「作用効力に基づくカットオフ基準」に限らずヒトまたは野生動物集団に対する妥当性の考慮も含め、すべての付帯的基準を拒否している。また他のすべての提案と対照的に、「内分泌攪乱性が確認された物質」と「内分泌攪乱の可能性のある物質」との区別のような細分類を考慮していない。

PAN Europe のこの文書は植物保護製品規制(EC) 1107/2009 における、活性物質・セーフナー・共力剤はヒトまたは非標的生物に対して「有害作用を生ずる可能性のある内分泌攪乱性」を持つと見なされない場合にのみ認可されるとのカットオフ基準の文言を重視しており、その結果として「内分泌攪乱物質」あるいは「内分泌攪乱化学物質」の定義をめぐる論議は「不毛」とあり、WHO/IPCS のような定義に言及することは望ましくなく (中略) 民主的に合意された政策を変更するものである (3 ページ) と述べている。

同文書は、ある化学物質を「内分泌攪乱性」を持つものとして分類するためには「内分泌系に対する何らかの影響」(直接的であれ間接的であれ) で十分であると考え、分類のためには「作用機構が既知であることは必要でない」としている (6 ページ)。これと相補的な「有害作用」の定義については、「発達の主要段階における投与に続いて現れる何らかの顕著な、バックグラウンドまたは試験における平均値よりも大きい生化学的変化を取り上げる」ことを提案している (7 ページ)。

要求される証拠の強さについて同文書は「ある物質が *in vitro* 試験で陽性ならば、(中略) 所定の期間内に産業界が *in vitro* の結果が偽陽性であることを明白に示す *in vivo* データを提示しない限り、内分泌攪乱性に分類できるようにすべき」としている (6 ページ)。

データ要件に関しては、「すべてのホルモン系」を包括する試験バッテリー、および実験動物の脆弱時期における暴露を含み、内分泌攪乱に関連するすべてのエンドポイントを対象とし、かつ非単調用量反応関係を検出す

るための低暴露量試験を含む特別の試験システムの開発を要請し、「独立の研究者に（中略）試験法開発の指導的地位を提供すべきである」と論じている（4 ページ）。また「EC の共同研究センター(JRC)が試験法開発のためのフォーラムの設立を主導すること」も考えられるとしている（5 ページ）。

6.9 主要論争点の要約

PAN Europe のポジションペーパー以外の諸提案はすべて、内分泌攪乱性物質の同定と評価の規制のための判定基準を開発するための基礎として、WHO/IPCS による内分泌攪乱化学物質の定義を多少とも妥当なものとして受け入れている。この定義の問題以外に、3 つの主要な論争点があることが以上の比較検討によって明らかである。すなわち

- 作用効力に基づく STOT-RE カテゴリー1 のトリガー値の、規制上問題となる内分泌攪乱化学物質のカットオフ基準としての使用：独英共同提案は支持しているがフランスとデンマークは明確に反対している。
- 「先行毒性作用」の概念：ヒト健康の評価に関連する加盟国の提案では放棄されたが、生態毒性評価のためにはなお論議されている。
- ある物質が WHO/IPCS の定義を満たすと見なすに十分と考えられる証拠の強さ。

6.10 文献リスト

ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) (France) (2010) Comments further to BAuA document on human health criteria for endocrine disruption (ED) according to Art. 57 (f) of the REACH regulation. Maisons-Alfort, dated 10/01/2011 (unpublished communication)

Bars R, Broeckaert F, Fegert I, Gross M, Hallmark N, Kedwards T, Lewis D, O'Hagan S, Panter GH, Weltje L, Weyers A, Wheeler JR, Galay-Burgos M (2011a) Science based guidance for the assessment of endocrine disrupting properties of chemicals. Regul Toxicol Pharmacol 59, 37– 46

Bars R, Broeckaert F, Fegert I, Gross M, Hallmark N, Kedwards T, Lewis D, O'Hagan S, Panter GH, Weltje L, Weyers A, Wheeler JR, Galay-Burgos M (2011b) Corrigendum to “Science based guidance for the assessment of endocrine disrupting properties of chemicals” *Regul Toxicol Pharmacol 59 (2011), 37–46]. Regul Toxicol Pharmacol 60 (2011), 411-12

BAuA (Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin) (German Federal Institute for Occupational Safety and Health) (2010) Human health criteria for endocrine disruption (ED) according to Art. 57 (f) of the REACH Regulation: German approach to the identification of ED substances as SVHC. Dortmund, dated 20 October 2010. Confidential, to DG ENV, ECHA and MSCA. Available in the public domain via:

http://chemicalwatch.com/downloads/DE_paper__ED_criteria_HH_Caracal_6%5B1%5D.pdf

http://chemicalwatch.com/downloads/DE_paper__ED_criteria_HH_Caracal_6%5B1%5D.pdf

BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) (German Federal Institute for Risk Assessment) (2010a) Draft concept paper. Development of a stepwise procedure for the assessment of substances with endocrine

disrupting properties with according to the plant protection products regulation (Reg. (EC) No 1107/2009). Dated 05 Mai 2010.

http://www.bfr.bund.de/cm/343/development_of_a_stepwise_procedure_for_the_assessment_of_substances_with_endocrine_disrupting_properties.pdf

BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) (German Federal Institute for Risk Assessment) (2010b)

Establishment of assessment and decision criteria in human health risk assessment for substances with endocrine disrupting properties under the EU plant protection product regulation. Report of a Workshop hosted at the German Federal Institute for Risk Assessment (BfR) in Berlin, Germany, from Nov. 11th till Nov. 13th 2009. Federal Institute for Risk Assessment, Berlin, Germany, January 15th, 2010. http://www.bfr.bund.de/cm/343/establishment_of_assessment_and_decision_criteria_in_human_health_risk_assessment_for_substances_with_endocrine_disrupting_properties.pdf

BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) (German Federal Institute for Risk Assessment) (2011) Joint

DE – UK position paper: Regulatory definition of an endocrine disrupter in relation to potential threat to human health. Proposal applicable in the regulatory context of Plant Protection Products, Biocidal Products, and Chemicals targeted within REACH. Dated 16th Mai 2011.

http://www.bfr.bund.de/cm/343/regulatory_definition_of_an_endocrine_disrupter_in_relation_to_potential_threat_to_human_health.pdf

CHEM Trust (2011) CHEM Trust's contribution to the ongoing debate on criteria for EDCs. Paper developed with input from the WWF European Policy Office. Dated September 2011.

<http://www.chemtrust.org.uk/documents/CHEM%20Trust%20Position%20on%20EDC%20Criteria%20-%20Sept11.pdf>

CHEM Trust, Cancer Prevention & Education Society, WECF, Health Care Without Harm, Pesticide Action Network Europe, EEB, ChemSec, Health & Environment, Alliance, Global 2000, Bund, BEUC and istas (2011) Environment and health NGOs', consumer organisations & trade union's position paper, April 2011. Requirements for the proper regulation of chemicals with endocrine disrupting properties.

<http://www.chemtrust.org.uk/documents/NGOs%20requirements%20EDCs%20April%202011-FINAL.pdf>

CHEM Trust, WWF (2010) Protecting future generations by reducing exposure to endocrine disruptors.

CHEM Trust and WWF-EPO proposals for the regulation of chemicals with endocrine disrupting properties under REACH (EC 1907/2006) and under the Plant Protection Products Regulation (EC No 1107/2009). A joint discussion paper by CHEM Trust and WWF European Policy Office dated December 2010 (updating an initial WWF discussion paper of 2002)

<http://www.chemtrust.org.uk/documents/CHEM%20Trust%20&%20WWF%20EDC%20Classification%20Paper%20Dec%202010.pdf>

COT (Committee on toxicity of chemicals in food, consumer products and the environment) (2010)

Regulatory definition of endocrine disrupter. This is a draft paper for discussion, it does not reflect

views of the Committee. It should not be quoted, cited or reproduced. COT TOX/2010/15. Available online at <http://cot.food.gov.uk/pdfs/tox201015.pdf>

CRD (UK Chemicals Regulation Directorate) (2010) Regulatory definition of an endocrine disrupter in relation to potential threat to human health. Draft, electronic file dated Dec 2010 (unpublished communication)

CRD (UK Chemicals Regulation Directorate) (2011a) Comments from the UK REACH CA on the German paper on the identification of an ED for the purpose of Art 57(f). (undated unpublished communication; communicated to CARACAL 03 Dec 2010)

CRD (UK Chemicals Regulation Directorate) (2011b) Definition of an ecotoxicological endocrine disrupter for regulatory purposes. Electronic file dated Apr '11 (unpublished communication)

DK EPA (Danish Ministry of the Environment, Environmental Protection Agency) (2010a) Comments to the BAuA document: "Human health criteria for endocrine disruption (ED) according to Art. 57 (f) of the REACH regulation: German approach to the identification of ED substances as SVHC", 20th October 2010. Dated 30th November 2010. Published as Chapter 4 of Annex C to Danish EPA 2011a

DK EPA (Danish Ministry of the Environment, Environmental Protection Agency) (2010b) Comments to the UBA document: "Discussion paper on interpretation of Art. 57(f) REACH with respect to substances having endocrine disrupting properties hazardous to the environment", May 26th, 2010. Dated 12th of July 2010. Published as Chapter 5 of Annex C to Danish EPA 2011a

DK EPA (Danish Ministry of the Environment, Environmental Protection Agency) (2011a) Establishment of criteria for endocrine disruptors and options for regulation. Dated 17 May 2011.
http://www.mst.dk/NR/ronlyres/54DB4583-B01D-45D6-AA9928ED75A5C0E4/127098/DKEDcriteria110517_finalcorr1.pdf

DK EPA (Danish Ministry of the Environment, Environmental Protection Agency) (2011b) Regulation of endocrine disruptors under REACH. Dated 31 January 2011. Published as Annex B to Danish EPA 2011a

DK EPA (Danish Ministry of the Environment, Environmental Protection Agency) (2011c) Danish comments to input from other regulatory bodies/member states in relation to assessment of endocrine disrupters. Dated 17 May 2011. Published as Annex C to Danish EPA 2011a

ECETOC (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals) 2009a. Guidance on identifying endocrine disrupting effects. ECETOC Technical Report No. 106, Brussels, Belgium, ISSN-0773-8072-106

ECETOC (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals) (2009b). Workshop: Guidance on identifying endocrine disrupting effects, 29–30 June 2009, Barcelona. ECETOC Workshop Report No. 16, Brussels, Belgium, October 2009.

ECETOC (European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals) (2009c). Addendum to ECETOC Workshop Report No. 16. Brussels, Belgium, 22 December 2009. Notice provided online at www.ecetoc.org

- Galay-Burgos M (2011) Risk assessment of endocrine disrupting chemicals (ECETOC workshop), 9-10 May 2011, Firenze, Italy (brief information on workshop structure and outcome), provided online at [HTTP://WWW.ECETOC.ORG/INDEX.PHP?MACT=XTENDEDCALENDAR,CNTNT01,DETAILS,0&CNTNT01DOCUMENTID=38&CNTNT01RETURNID=108](http://www.ecetoc.org/index.php?MACT=XTENDEDCALENDAR,CNTNT01,DETAILS,0&CNTNT01DOCUMENTID=38&CNTNT01RETURNID=108)
- Hass U, Christiansen S, Boberg J, Vinggaard AM, Andersson A-M, Skakkebaek NE, Bay K, Holbech H, Bjerregard P (2011) Report on criteria for endocrine disrupters. Danish Centre on Endocrine Disrupters, dated May 2011. Published as Annex A to Danish EPA 2011a
- Marx-Stoelting P, Pfeil R, Solecki R, Ulbrich B, Grote K, Ritz V, Banasiak U, Heinrich-Hirsch B, Moeller T, Chahoud I, Hirsch-Ernst KI (2011) Assessment strategies and decision criteria for pesticides with endocrine disrupting properties relevant to humans. *Reprod Toxicol* 31, 574-84
- PAN Europe (Pesticide Action Network Europe) (2011a) Letter to Commissioner Janez POTOČNIK, concerning criteria for endocrine disrupting pesticides. Brussels, 25-05-2011.
http://www.paneurope.info/News/PR/110525_Letter%20Mr.%20Potocnik%20criteria%20for%20ED%20pesticides.doc
- PAN Europe (Pesticide Action Network Europe) (2011b) Criteria for the determination of endocrine disrupting properties. PAN Europe position paper, Brussels, 25-05-2011.
http://www.paneurope.info/News/PR/110525_Criteria%20for%20ED%20PAN%20Europe%20position.doc
- UBA (Umweltbundesamt) (German Federal Environment Agency) (2010a) Substances with endocrine disrupting properties in the environmental risk assessment under the new EU regulation on plant protection products (EC1107/2009) – A Proposal for a differentiated decision making. Dr Tobias Frische, dated 2010-01-05 (unpublished communication)
- UBA (Umweltbundesamt) (German Federal Environment Agency) (2010b) Discussion paper on the interpretation of Art 57(f) REACH with respect to substances having endocrine disrupting properties hazardous to the environment. Frauke Stock, Dessau-Roßlau, dated May 26th 2010 (unpublished communication)

7 試験法の要件と判定基準：選択肢と勧告

CLP、REACH、PPPR に関連して現在行われている試験は内分泌攪乱化学物質の同定を目的として設計されたものでないことは広く認識されているが、いくつかのエンドポイントや試験法が内分泌攪乱性の手がかりを与える可能性はある（5 章参照）。しかし一般的に言って、内分泌攪乱性を最適のエンドポイントによって、かつ発達の臨界期を含む暴露計画を用いて試験することはまだ実現していない。REACH でもこのことは義務化されていない。

規制の枠組みで内分泌規制物質を扱う際には、互いに関連する 2 つの問題点を考慮する必要がある。

第 1 に、内分泌攪乱性を同定するための適切な試験法とエンドポイントを、EU の関連規制すなわち REACH と PPPR の枠内で実現しなければならない。

第 2 に、試験結果を規制上の決定に翻訳するための判定基準を定めなければならない。

7.1 内分泌攪乱作用を持つ化学物質の同定のための試験の実施 — 要件および試験戦略

この節では内分泌攪乱性を持つ物質の同定に必要な試験法の実現のために重要とされる原則および問題点を検討する。ただし選択すべき具体的な試験法、試験実施の手順、適用除外などに関する詳細な勧告を行うことは本報告書の範囲を超えるものであり、更に関連機関の専門家による研究と討議に委ねるべき問題であって、そこにはデータの解釈のための詳細なガイダンス文書の作成も含まなければならない。

PPPR と REACH は規制の目的、保護の目標、規制の構成が異なるので、個別に考察する。

しかし一般的に言えば、試験を実施するためには検証済みで国際的に合意された試験方法によらなければならない。この条件は、現状において規制上の判断の判定基準とすることのできる内分泌攪乱作用の範囲を著しく狭めることになる。OECD 概念枠組みに含まれる試験法とエンドポイントは内分泌攪乱の重要な側面をカバーしており、内分泌攪乱性の化学物質を同定する上で有用であることは一般に認められているが、同時に内分泌関連エンドポイントに関してかなりの欠陥があることも広く認められている（3.1 章参照）。

内分泌関連物質研究の分野でツールとして利用できる試験法、モデルシステム、エンドポイント（それらは更に洗練され試験やスクリーニングに利用できるようになる可能性がある）と比較するならば、OECD 概念枠組みの対象は内分泌攪乱効果の一小部分にすぎず、主にエストロゲン、（抗）アンドロゲン、甲状腺ホルモン、ステロイド産生の経路の攪乱に限られていることは明白である（4.7 章参照）。

生態毒性の分野ではこのような限定が特に重大な問題であることに留意しなければならない。多くの種について、国際的に合意された内分泌攪乱性のガイドラインや試験法は存在しない。

7.1.1 PPPR における内分泌攪乱作用の試験の実施

PPPR に規定されている、内分泌攪乱性物質の認可のための危険性に基づく適用除外基準を考慮すると、試験法が内分泌攪乱性を適切に照明する能力を改善することが必要である。そのためには活性物質および製品に関する必要データの EC 規制（それぞれ 544/2011、545/2011）の改定が必須である。目的達成のためには内分泌攪乱性試験法を更に追加する必要がある。

7.1.1.1 一般的原則

規制のための内分泌攪乱性物質の定義の重要な影響は現状では未解決であるが、内分泌活性物質の同定のためには生体そのものの試験が必要であることは広く認識されている。有害性に関する判断を可能にするため、毒性的に意味のある十分に敏感なエンドポイントを含めることが必要である。関連ある効果を見逃さないためには、試験対象物質の投与は既知の臨界期、発達の臨界期、各ライフステージをカバーしていなければならない。

危険性に基づく適用除外基準の条件に適合するためには、内分泌攪乱化学物質の定義から導出される原則と並んで、2 種類の試験法、すなわちヒトまたは野生動物集団に関連があると考えられる有害性を生体そのもので証明できるものと、内分泌系に関わる作用機序を把握できるものを含める必要がある。

ヒトおよび哺乳類に関する毒性的な有害性を証明するために必要と考えられる証拠のレベルに到達するためには、OECD 概念枠組みのレベル 5 の試験法の結果およびデータが不可欠であり、PPPR において活性物質のデータの必要条件に含めるべきである。

ただし EU の根本原則として、動物実験を正当な理由なく増やすことは一般に支持されない。内分泌攪乱試験において動物を使用する理由は WHO/IPCS による内分泌活性物質の定義に直接由来するものであり、OECD のレベル 2 の試験とそれ以上の試験との結果の相関に関する情報が欠けていること、および *in vitro* 試験では不可

能な、化学物質を臨界期に投与する必要性である。

野生動物を内分泌攪乱作用から保護するための試験の要件は更に複雑である。これは主に、内分泌攪乱に関わる作用機序による集団レベルでの有害作用を示せるのはどのような試験であるかの検討が不十分なためである。OECD のレベル 5 の試験のほか、非哺乳類に対するレベル 3、レベル 4 の試験も化学物質による野生動物の内分泌攪乱の検知のために有用である場合がある。

7.1.1.2 ヒトおよび哺乳類に対する毒性試験における内分泌攪乱性

5.3.1 章に示した現行の試験の要件の記述から明らかなように、物質の内分泌攪乱性を示すための重要なエンドポイントと試験法が現在含まれていない。上記の一般原則に従って、有害性と内分泌系の作用機序とを捕捉できる試験法を取り入れる必要がある。

最小限の要求であり近い将来に達成可能と思われるのは、生殖毒性の研究において内分泌攪乱に敏感なエンドポイントを追加することである。そのようなエンドポイントには乳頭在留、出生時の肛門性器間距離、甲状腺ホルモンの測定などがある。更に PPPR の文脈では、発達神経毒性や免疫毒性の追加も極めて重要である。これらは現行の 2 世代生殖毒性試験(TG 416)に含めるか、またはこれらのエンドポイントを既に含んでいる延長単世代試験(TG 443)を採用することで実現できる。

OECD のレベル 2 の試験法、たとえばエストロゲンまたはアンドロゲン受容体との結合親和性、エストロゲン受容体の転写活性化(TG 455)、アンドロゲンおよび甲状腺転写活性化、*in vitro* でのステロイド産生(TG 456)、MCF-7 細胞増殖などの試験は状況によっては内分泌系の作用機序に関する有用な情報をもたらす。このような試験も試験の要件に加えなければならない。

更に将来的には、OECD の「新規なエンドポイントと試験法に関する詳細総合報告書」に記載されている内分泌攪乱の試験法とエンドポイントも、検証済みの試験法が利用可能になり次第採用すべきである。

慢性毒性・発癌性同時試験(TG 451-3)は、ホルモンの機構による発がんの可能性のある内分泌攪乱化学物質の同定には不十分である。このことは特に生殖器および乳腺の癌に関して重要である。そのような性質を証明するには新しい動物系統による新しい試験方法を開発する必要がある。

レベル 2 とレベル 5 の試験結果の相関に関する情報が欠けているため (3.1.3 章参照)、現在ではレベル 5 の試験を省略できるか否かの判断にレベル 2 の試験結果を用いることができない。

レベル 3 の試験 (子宮肥大試験、Hershberger 試験) を内分泌攪乱性の試験として要求することに価値があるか否かはなお分析と検討が必要である。これらの試験は *in vitro* 試験で見られた効果を修正または打ち消すような毒物動態の影響を捕捉するために有用ではあるが、毒物動態の影響はレベル 5 の試験でカバーされるのでレベル 3 の試験結果の重要性は割り引いて考えるべきであるとも言える。

経口 28 日試験(TG 407)と経口 90 日試験(TG 408)は共に現在の PPPR では情報要求の一部となっているが、内分泌攪乱性の検出方法としては、臨界期の暴露を含まず、また測定されるエンドポイントの感度の不足が認められている点で有用性に乏しい。

7.1.1.3 生態毒性および非哺乳類に対する毒性

規制 544/2011 および 545/2001 に示される現行の試験の要件においては、内分泌攪乱性の検出は鳥類および場合によっては魚類のみに限られ、他の非哺乳類は対象となっていない。化学物質が野生動物に内分泌攪乱作用を及ぼすことを実証する試験の要件の詳細を決定するにはなお多大の努力が必要である。OECD 概念枠組みの中で

現在検討されている試験法のうち、ガイドラインが完成しているのは少数であることも問題を複雑にしている。

現在検討対象となっているレベル5の試験のうち、ガイドラインが利用できるのは事実上、堆積物内水中ユスリカのライフサイクル毒性試験(TG 233)およびミジンコ生殖試験(TG 211)だけである。レベル4でも非哺乳類に対する試験のうちガイドラインが利用できるのは、鳥類生殖試験(TG 206)、ユスリカ毒性試験(TG 218～219)、魚類性的発達試験(TG 234)に限られている。ただし相当数の試験について現在ガイドラインが検討中である。

このような状況から見て PPPR における情報の要件は、現在利用できる OECD のレベル3の非哺乳類に対する毒性試験をも視野に入れて改訂する必要がある。野生動物に対する内分泌攪乱作用を実証するには、レベル3、4、5の非哺乳類試験の検証済みガイドラインすべてを含めることも考慮すべきである。

7.1.2 REACH における内分泌攪乱作用の試験の実施

REACH において、関連ある試験法の要件を定めているのは試験方法規制(Test Methods Regulation) (440/2008)である。5.2 で述べたように、REACH の試験の要件は供給量によって区分されている。物質の内分泌攪乱性を検出する上で特に重要なのは、生殖毒性および発達毒性物質に関して規定された試験の要件である。

7.1.2.1 一般的原則

PPPR に関連する物質について上に述べた一般的原則 (7.1.1.1 参照) は REACH で規制される物質にも適用される。REACH における各供給量範囲に対してどのような試験を実施すべきかは極めて複雑な分析を必要とする問題であり、本報告書の範囲を超える。ここではごく一般的な考察を、主として生産量の大きい物質について述べるにとどめる。

7.1.2.2 ヒトおよび哺乳類における内分泌攪乱性に関わるエンドポイント

5.2.1.4 に詳述したように、最大の供給量範囲 (1000 t/年超) の化学物質に対して現在行われている生殖および発達毒性試験は、内分泌関連の最も敏感なエンドポイントを含んでいない。また生殖に対する効果が既に他の試験、たとえば反復暴露毒性試験(TG 407, TG 408)で示されている場合にはそれをリスク評価の基礎として用いることができ、多世代生殖試験は省略できる。これらの試験の内分泌攪乱性検出力を改善するには、7.1.12.1 で述べたエンドポイント、特に乳頭遺残、肛門性器間距離の変化、甲状腺攪乱・神経発達および免疫毒性に関連する測定を含めることが重要である。

内分泌攪乱に関する作用機序を明らかにするためにはOECDのレベル2の試験法が必要である。

より供給量の少ない物質に対してもOECDのレベル2の試験を要求して、それ以上の試験の要否を判定することが適当か否かは真剣な考慮に値する。

7.1.2.3 野生動物における内分泌攪乱性に関わるエンドポイント

環境毒性試験の情報の要件に関する ECHA ガイドンスには「REACH 付属書 VII～X には、物質の内分泌活性、水生生物に対する生殖毒性または特定の発達毒性に関する情報の提供は義務づけられていない」ことが明記されている。しかし ECHA は内分泌活性の可能性および水生生物の発達や生殖に対する長期的な悪影響に関する既存データの評価に関するガイドラインを提供している。

利用可能な情報の総合評価の勧告 (5.2.1.5 の表 16 を参照) は他の試験方法を決定するための基礎として有用である。PPPR に関して適切なものとして上に示唆した試験法も、REACH において野生動物に対する内分泌攪

乱性を決定するのに役立つ。しかし各供給量範囲に対してどの試験法を要求するかを決めるには詳細な分析が必要である。

7.2 内分泌攪乱性を持つ物質の規制のための判定基準

ある物質が内分泌攪乱性を持つと見なされるべきか否かを試験結果から決定するためには、十分明確な判定基準が必要である。PPPR ではそのような決定は、活性の物質あるいは混合物の認可を拒絶するか否かの問題に関わっている。REACH での問題は、どのような判定基準を満たす物質が発癌性・変異原性・生殖毒性物質、PBT、vPvB と同等の懸念物質と見なされ、したがって認可を要するものとされるかである。

いくつかの EU 加盟国はこの目的のために提案書を作成しており、その要旨は本報告書第 6 章に収録した。

この節では判定基準を概観し、PPPR および REACH 規制の文脈における内分泌攪乱化学物質の取り扱いにおける選択肢を一覧する。

7.2.1 判定基準

規制の目的で、ある化学物質を内分泌攪乱化学物質と見なすべきか否かを決定するには、毒性学的推論から導かれた一連の判定基準を適用しなければならない。そのような基準は、以下に述べる形式的要件に適合しなければならない。

- 規制間の整合性：関連する規制分野を通じて、判定基準はできるだけ共通とすべきである。PPPR における適用除外基準と、REACH の第 57 条(f)物質の指定基準とが大きく異なれば矛盾を生ずるおそれがある。
- 有害性評価とリスク評価の分離：この区別は PPPR には明記されており、ある物質が内分泌攪乱化学物質であるかどうかを決定するには有害性に基づく判定基準のみを使用することとされている。どのような場合も、リスク評価は有害性評価の後に初めて可能になる段階であり、このことも両者を区別すべき理由である。
- 科学的考慮と社会経済的理由付けとの分離：公衆と環境を考えられる危険から保護するため、ある物質の有害性に関する規制上の決定は、最初期においてはその決定が持つかもしれない社会的・経済的影響への配慮によって曇らされてはならない。たとえば規制の商業的影響を理由に有害性の判定基準を不当に厳しくすることは問題である。このことは上に述べた、物質の可能な用途や経済的利益の如何に関わらず規制間の整合性を保つこと、及び、有害性評価とリスク評価を明確に分離することの 2 つの条件から直接導かれるものである。
- 透明性：クラス分けの基準は、明示された証拠の重み付け評価に従うなどして透明性を確保しなければならない。

試験の結果によって、ある物質を内分泌攪乱化学物質に指定することが正当化されるか否かの規制上の決定は、下記の科学的判定基準に基づく毒性学的考慮によって導かれる。

- 有害性：影響は WHO の作成した原則 (2.2.1 参照) に従って有害なものでなければならない。この基準から試験の要件がいくつか導かれる。実用的目的のために試験は無傷の生物について行う必要がある。
- 作用機序(Mode of action)：問題とする効果には内分泌系に関わる作用機序が働いていなければならない。この判定基準は特異性の判定基準 (後述) にも関係する。
- 作用効力：物質が内分泌攪乱性を発揮する際の作用効力は、証拠の重み付けの考慮に影響することがあ

る。有害性に基づくカットオフ基準の基礎とすることも提案されている（英独共同提案、6.4参照）。この場合は連続変数である作用効力が量子化されることになる（規制の意味で内分泌攪乱化学物質であるかないかの二者択一である）。

- 先行毒性 (Lead toxicity)：内分泌攪乱効果は他の毒性効果よりも低い用量で出現することが観察されている。このことは証拠の重み付けにおいて一定の役割を演ずる可能性がある。
- 特異性：この語には3つの意味がある。すなわち先行毒性（上記）の意味にも、他の全身毒性の結果としてではなく、内分泌攪乱に関連する作用機序の結果として出現する内分泌攪乱効果の意味にも使われ、野生動物に対する内分泌攪乱効果に関連して特定の種のみに現れる効果を指すこともある。
- 重篤度：内分泌攪乱効果のあるものは他のものより重篤度が大きい。物質がCMRと同等の懸念に値するか否かを評価する際には重篤度が重要である。この判定基準は不可逆性の判定基準（下記）と関連する場合がある。
- 不可逆性：内分泌攪乱作用には不可逆的なものがある。この事実はCMRのような他の強い毒性と同等な懸念レベルを主張するのに用いられる。
- 関連性：ある効果がヒトの健康に関連性を持つかどうかは重要な論点である。生態毒性試験が野生動物集団に対する悪影響を知る上で重要であるかどうかを検討する際にも同様な考慮がなされる。

7.2.2 決定樹（デシジョンツリー）

上記の諸判定基準を用いて、たとえば英独共同ポジションペーパーに示唆されているような決定樹を構築することができる（6.4章参照）。決定樹は上記の判定基準を特定の順序に並べたものであり、以下の諸段階を区別することができる。

第1段階：内分泌攪乱関連の効果の質の考慮 — 有害性と作用機序

この最初の段階では試験結果を、内分泌攪乱性の証拠（作用機序）と、それが有害作用を及ぼすか否かの2つの観点から評価する必要がある。決定樹の最終結果はこの2つの判定基準を適用する順序に影響される。たとえば先ず有害性を考慮するならば、試験の結果内分泌系関連の作用機序の証拠が明らかであっても効果の有害性が不明瞭であったとすれば、その物質については決定樹内ではそれ以上の追究はなされないであろう。後日の試験で有害性が明らかになったとしても、その時点では同物質は既に決定樹から除かれていることになる。もし最初に作用機序を考慮することになっていれば、結果は逆になる。

パラセタモールの事例はこの問題をよく示している。パラセタモールをラットに投与すると雄の仔のアンドロゲン欠乏を示す効果（肛門性器間距離の変化、乳頭遺残）が現れることには信頼すべき証拠があったが、その作用機序は不明確であった（付録1、3.5参照）。もし作用機序が最初の判断基準であったならば、パラセタモールは規制の目的のためには内分泌攪乱化学物質とは見なされなかったであろう。実際には内分泌関連の作用機序が働いていたが認識されなかったのである。

このようなジレンマを避けるためには、有害性と作用機序を順次ではなく並行して考慮することが重要である。これによって物質を、強い証拠がある内分泌攪乱化学物質（内分泌作用機序と有害性とに強い証拠がある）、証拠が弱いもの（内分泌作用機序、有害性のいずれも疑いがある程度）、証拠が強弱混合であるもの（内分泌作用機序の強い証拠と有害性の疑い、またはその逆）に分けるマトリックスが作られる。この段階では作用機序と有害性の判定基準が決定的である場合があり、有害性を示さず内分泌関連の作用機序にも従わない物質は規制の

目的のためには内分泌攪乱化学物質と見なす必要はないと考えられる。

意思決定を透明なものにするため、研究の質、有害性、作用機序の判定に証拠の重み付けアプローチを適用することが重要である（4.1 を参照）。ただしガイドラインを採用していない、あるいは GLP に従っていない研究も無視することなく、すべての証拠を考慮すべきであり、これを開発することがこの段階を有効なものにするために必要である。

第 1 段階の終わりで、内分泌攪乱に関連する効果を誘導する証拠が弱く、内分泌攪乱関連の作用機序を示すものもない物質（図 4 の左上象限）は除外され、以後の段階では取り上げられない。有害作用の証拠はないが内分泌関連の作用機序の兆候があるもの、および反対に有害作用の証拠はあるが内分泌関連の作用機序の兆候がないものについては、決定樹の次の段階へ進むことになる。

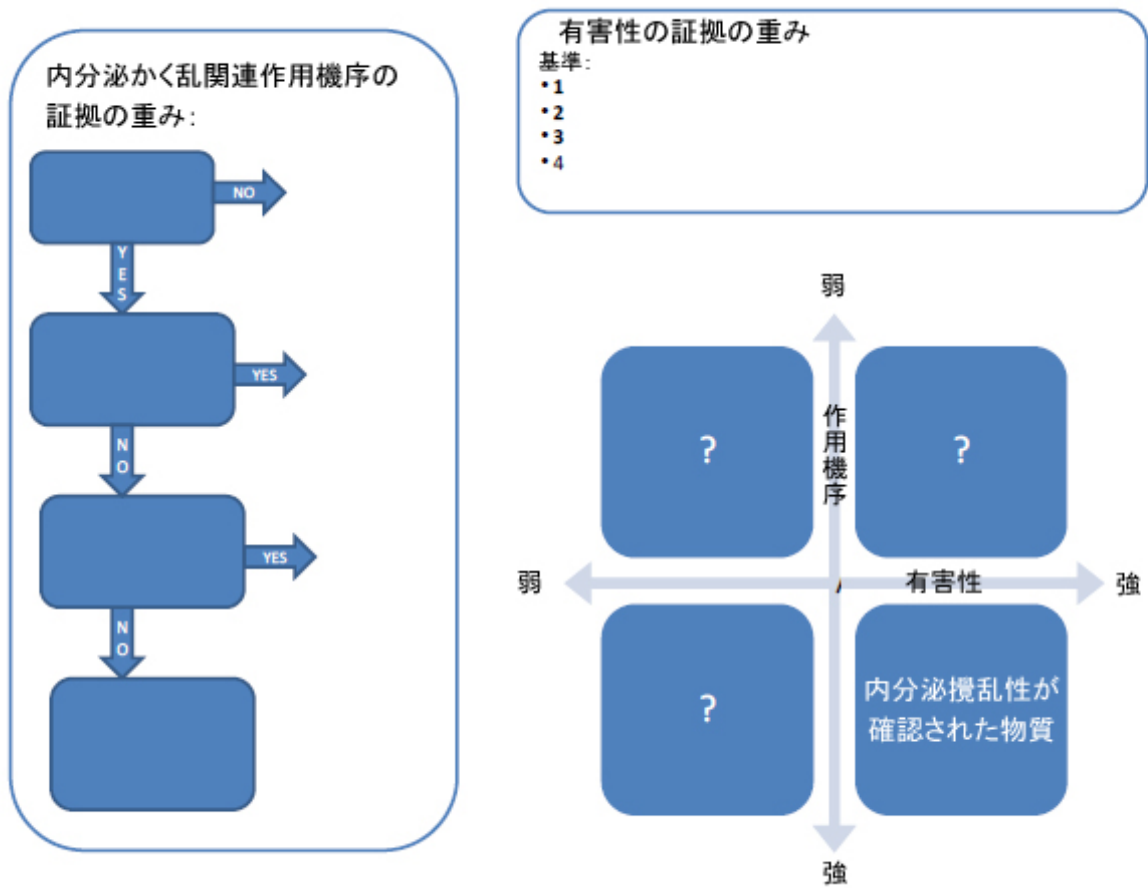


図 4：決定樹案における有害性と作用機序の証拠の平行評価

第 2 段階：ヒトおよび野生動物への関連性の評価

この段階では、観察された効果のヒトおよび野生動物に対する関連性を分析する。ここでも証拠の重み付けアプローチを採用すべきであるが、現在利用できるものはなく開発が必要である。すべての毒性データを考慮する。適切な科学的データが存在しないときは関連性あるものと見なす。しかしここで決定的なのはヒトまたは環境毒性への関連がないことが科学的データにより十分支持される場合で、当該物質は決定樹から除かれることになる。

第 3 段階：毒性学的評価

次の段階では試験データの毒性学的評価を「作用効力」「先行毒性」「重篤度」「特異性」「不可逆性」の各判定基準によって行う。しかしこの段階では、これらの判定基準のいずれも単独で決定的なものとするべきではない。すなわち試験対象物質を規制の目的に関連しないものとして決定樹から除外してはならない。これらの判定基準はすべて、証拠の重み付けアプローチによりすべての証拠を考慮して行う最終決定の際に根拠とすべきものである。ここでも内分泌攪乱化学物質に関するそのようなアプローチはこれから開発しなければならない。

第4段階：最終決定、クラス分けとカテゴリー分類

問題の物質が規制の意味で内分泌攪乱化学物質と見なされるか否かを最終的に決定する。これは PPPR では有害性に基づくカットオフ基準に従って認可を差し控えるか否かの決定であり、REACH では試験対象物質を承認するか否かの決定である。この段階での作業に適切な証拠の重み付け手順を開発する必要がある。

7.2.3 作用効力は最終的判定基準か

第6章に詳述したように、作用効力に基づく STOT-RE Cat 1 のトリガー値を規制上の内分泌攪乱化学物質のカットオフ基準として用いることに対しては多くの異論がある。この方式はドイツと英国が支持しているが、デンマーク、フランスおよびいくつかの NGO (Chem Trust、WWF、PAN など) は強硬に反対している。

作用効力に基づくトリガー値は、CMR と同等な懸念を具体化し得る利点があるとされている。この懸念レベルに相当する内分泌攪乱化学物質は極めて作用効力の高いものに限られる。またこの値は CLP の文脈で広く受け入れられていることも支持の理由となっている。

一方、英・独の提案するように作用効力に基づくトリガー値を決定樹の最終段階で決定的な判定基準として適用することにはいくつかの問題がある。すなわち、

- 科学的には、暴露量を考慮せず作用効力のみについて境界線を引くことは不可能である。作用効力のみに基づくトリガー値は常に恣意的である。
- 多くの内分泌攪乱化学物質においては、暴露の時期、特に発達の臨界期は不可逆的効果の誘発にとって決定的な重要性を持つ。化合物の作用効力は重要ではあっても必ずしも唯一の決定要因ではない。作用効力に基づくカットオフ値を決定要因として用いた場合、内分泌攪乱性物質のこの側面を無視することになり、制約が強すぎれば臨界期に不可逆的影響を及ぼし得る化学物質が規制を逃れる虞がある。
- 作用効力に基づくトリガー値を導入することは、EU の各規制を通じての一貫性の要求に反する。CLP から導かれる作用効力に基づくトリガー値の目的は、反復暴露後の標的器官に対する毒性を持つ物質の表示・包装に関するものであって、CMR に相当する懸念物質には適切でない。実際、高度に懸念される生殖・発達毒性物質には作用効力に基づくカットオフ値は用いられていない。
- 内分泌活性物質の判定基準に関するデンマーク環境庁の提出文書(2011)⁸³ は、英独の提案による作用効力に基づくカットオフ値が適用された内分泌攪乱化学物質数種についての作用効力の推定を検討している。それによれば、フタル酸エステル・PCB・カルボキシイミド系農薬など多くの研究者が内分泌攪乱性と考えている物質のうち、「規制の意味での内分泌攪乱性物質」と見なされるのはごく少数にと

⁸³ DK EPA (Danish Ministry of the Environment, Environmental Protection Agency) (2011a) Establishment of criteria for endocrine disruptors and options for regulation. Dated 17 May 2011. Published as Annex 2 to chapter 4, comments to the BAuA document. http://www.mst.dk/NR/rdonlyres/54DB4583-B01D-45D6-AA99-28ED75A5C0E4/127098/DKEDcriteria110517_finalcorr1.pdf

どまる。これを示す表を以下に再掲する。

「4 : REACH に関する BAuA 資料「REACH 規則第 57 条(f)による内分泌攪乱に対するヒト健康の判定基準 : EN 物質の SVHC としての同定に対するドイツのアプローチ」 (2010 年 10 月 20 日) に対するコメントに関連して言及された付録 2 の改訂版 (2011 年 5 月 17 日)

付録 2 : 既知の内分泌攪乱性物質について決定された影響レベルの概観 (DTU Food 提供、2011 年 5 月 17 日改訂)

内分泌攪乱性および有害性を持つ物質の NOAEL と LOAEL、および 90 日試験 (カテゴリー1 では 10 mg/kg bw/day、カテゴリー2 では 100 mg/kg bw/day) に対する LOAEL と STOT RE ガイダンス値との比較。多くの場合 LOAEL は肛門性器間距離の減少または乳頭遺残に基づいており、これらのエンドポイントが現行の OECD ガイドラインに含まれていないことに注意。

物質	NOAEL (mg/kg bw/day)	LOAEL (mg/kg bw/day)	LOAEL における有害影響	LOAEL は 10 mg/kg 以下か	LOAEL は 100 mg/kg 以下か	文献
DEHP	3 100 5	10 300	ラット : AGD↓、乳頭遺残↑ ラット : テストステロン GD18↓ ラット : 生殖 (生殖細胞欠乏、精巣重量↓)、 発達毒性	可能性あり	可能性あり	Christiansen et al. (2010)(27) Howdeshell et al. 2008(1) Wolfe & Layton, 2003 (*) EU RAR, EFSA
DiNP	750 300 —	900 600 750	ラット : AGD↓ ラット : 乳頭遺残↑ ラット : 乳頭遺残↑	×	×	Boberg et al (2010) (28) Boberg et al (2010) (28) Gray et al 2000 (2) Exxon 1996 (*)
DnBP	— 250 50 10 100 —	250 500 250 50 300 (52) —	ラット : AGD↓ ラット : AGD↓ ラット : AGD↓ ラット : テストステロン GD 19↓ ラット : テストステロン GD 19↓ ラット : 胚毒性 ラット : 生殖細胞、乳腺に変化	×	×	Ema & Miyawaki 2001 (3) Jiang 2007 (4) Zhang 2004 (5) Lehmann et al 2004 (6) Howdeshell et al 2008 (1) Wine et al 1997 (7) Lee 2004 (8)
DiBP	125 100	250 300	ラット : AGD↓、乳頭遺残↑ ラット : テストステロン GD 18↓	×	×	Sallenfait et al 2008 (9) Howdeshell et al 2008 (1)
BBP	50 167 100 100 185 182	250 250 500 300 375 910	ラット : AGD↓ ラット : AGD (GD 21) ↓ ラット : AGD↓ ラット : テストステロン GD 18↓ マウス : 発達毒性 ラット : 発達毒性	×	×	Tyl et al 2004 (10) Ema et al 2003 (11) Nagao et al 2000 (12) Howdeshell et al 2008 (1) Ema et al 1990 (19) Price et al 1990 (26)
ブクロラズ	5 3.7	10 13	ラット : 乳頭遺残↑ ラット : 生殖毒性	可能性あり	○	Christiansen et al (2009) (29) Cozens et al 1982 (*)
エポキシコナ ゾール	2.3	23	ラット : 2 世代試験、生殖	×	○	Hellwig & Hildebrand 1992 (*)
リヌロン	0.8~1 10 25	50	生殖毒性 ウサギ : 発達毒性 ラット : 乳頭遺残↑	×	×	McKintyre et al 2003 (13)
ピンクロゾリ ン	— 5 4 4.9	5 10 —	ラット : 乳頭遺残↑ ラット : AGD↓ ラット : 2 世代生殖毒性 ラット : 生殖毒性	○	○	Hass et al 2007 (14) Hass et al 2007 (14) Hellwig et al 1994, BASF (*) Hellwig et al 1994, BASF (*)
プロシミドン	10 12.5 12.5 2.5	25 37.5 125 12.5	ラット : 乳頭遺残↑、AGD↓ ラット : AGD↓、尿道下裂 ラット : AGD↓、尿道下裂 ラット : AGD↓、尿道下裂、精巣に影響	×	○	Hass et al 2007 (14) Wickramaratne et al 1998 (*) Hoberman et al 1992 (*) EFSA scientific report 2009
PCB 類 アロクロール 1254 アルクロール	— — — —	30 0.05 0.1 0.01	AGD↓、テストステロン↓ (マウス : AGD↑、前立腺重量↑) AGD↓、器官重量↓	○	○	Lilienthal 2006 (15) Gupta 2006 (16) Faqi 1998 (17) Faqi 1998 (17)

7.2.4 規制のための各種クラス分けにおける内分泌攪乱化学物質の取り扱いの選択肢

EU の各規制の枠内で内分泌攪乱化学物質の判定基準を定めることは、規制上のクラス分けに関するそれらの取り扱いを開発せずとも不可能ではないが、内分泌攪乱化学物質を規制のためにクラス分けするに際してのいくつかの選択肢をここで論じておく。内分泌攪乱化学物質は CLP における STOT-RE の一部に含めることも、CMR 物質の一部として扱うこともできる。また「内分泌攪乱性化合物」を新しいクラスとして設定することも可能である。

この節ではこれら 3 つの選択肢の得失を検討する。

7.2.4.1 STOT-RE の一部としての内分泌攪乱化学物質

多くの内分泌攪乱効果が標的器官のレベルで現れることを考えると、内分泌攪乱化学物質を STOT-RE の一部として扱うことには一定の蓋然性がある。

一方、STOT-RE のエンドポイントは通常成体の動物を用いる試験に注目したもので、内分泌攪乱化学物質の影響の同定に極めて重要である発達の臨界点をカバーしていない。したがって、特に STOT-RE 物質の懸念が CMR に匹敵するものでないことを考えると、標的器官毒性物質との並行性を仮定することはできないであろう。更に STOT-RE は野生動物への影響を対象としていない。

STOT-RE への取り込みは CLP 規制に大きな変更をもたらすものであり、実現までには極めて長期間を要するであろう。CLP 規制採用後は、新しい判定基準の追加は国連の世界調和システム(UN GHS)からの要請がない限り行わないとした EU レベルの合意があり、UN GHS 経由での判定基準の変更には数年を要する。

7.2.4.2 内分泌攪乱化学物質の CMR への包含

内分泌攪乱が複数の作用機序を通じて多くは発癌性および生殖毒性として現れることから、内分泌攪乱化学物質も CMR に属するものとして扱うことができる。特にいくつかの内分泌攪乱化学物質が既に生殖毒性物質のクラスに分類されていることを考えると、この方式が適切かつ便宜であるように思われる。これを実現するには、発癌物質および生殖毒性物質に対する試験の要件の一部として適切な試験法を実現することが必要である。

この方式の問題点は、内分泌経路によっては CMR の範囲を超える効果が生ずる可能性があることである。将来の研究によってこの面が明らかにされることは十分考えられる。いま一つの欠点は CMR が STOT-RE と同じく野生動物への効果を含んでいないことである。

7.2.4.3 独立のクラス ED としての内分泌攪乱化学物質

最後に、内分泌攪乱化学物質を CMR や STOT-RE から切り離して、独立のクラス ED にまとめることが考えられる。この方式には多くの利点がある。すなわち科学的知識の進展を取り入れる柔軟性があり、適切な試験法の開発に対しても適切な枠組みを提供する。更に 1 つのクラス内でヒトと野生動物それぞれに対する影響を一貫して取り扱うことができる。

この方式の欠点は UN GHS を介して CLP を改訂するのに長時間を要することである（上記参照）。

7.2.5 規制措置および更なる試験のためのカテゴリー分類とインセンティブ

今ひとつ論争の的となっているのは、内分泌攪乱性を理由に或る物質の認可を拒否するためにどのような証拠

が必要かの問題である。英独共同提案は明らかに、高度に懸念される内分泌攪乱性を示す物質のみを規制し、選択した判定基準に満たない物質は規制しないことを目的としている。

これに対してデンマークの提案は、これより制約が少なく、より慎重なスタンスに立ち、得られた証拠の強さのカテゴリー（「確定(confirmed)」 「疑いあり(suspected)」 「示唆(indicated)」、6.6.2 参照）を細分し、そのいくつかにおいては更なる試験を要請することでデータを増やすインセンティブとするものである。

現在利用できる試験法に大きなギャップがあり、そのためヒトや野生動物の保護策に不適切が生じている虞があることを考えれば、このデンマーク案のアプローチには利点がある。実際、ある物質が不適切な試験ゆえに規制対象から外されるとしたら、それ以上に試験を進める誘因は極めて弱いであろう。

しかしながら、内分泌攪乱をより広い視野でとらえることで保護を一層高度化できるような、検証済みの試験法が質的に欠けていることが一般的な問題である。このことから、低いカテゴリーに分類された物質に対して更に試験が要求されるとき、未検証の試験が利用できないならば、そのような要求の利点が疑問視されることになる。問題は単に、追加試験に用い得る検証済み試験方法が利用できないことにあり、その解決のためには、短期的には試験法をまだ検証されておらず国際的承認も得ていない方法にまで拡張するしかなく、長期的にはより良い試験方法を開発・検証・実施する努力を促進するしかない。

7.3 勧告事項

以上の考察に基づき、下記の勧告事項を挙げることができる。

- PPPR および REACH の試験および情報の要件に、検証され国際的に承認された試験方法の最近の強化修正版を加えること。
- 試験データの解釈のためのガイダンス文書の作成を進めること。
- 独立した規制クラスとして「内分泌攪乱化学物質(ED)」の設置を考慮すること。
- 「有害性」と「作用機序」の判定基準を、順次適用することで評価対象から外すのではなく、並行して同じ重み付けをすることにより、既存の証拠を取り扱える証拠の重み付け手順を開発すること。
- 証拠の重み付けアプローチにおいて、作用効力を他の判定基準、たとえば先行毒性、特異性、重篤度、不可逆性などと共に考慮すること。内分泌攪乱化学物質の規制のために「作用効力」を固定的なカットオフ値として使用することは、純科学的な判定基準によって合意に達する可能性がないため放棄すること。
- OECD 概念枠組みを超えて必要なデータ（検証済み試験方法を含む）を生成することを促進する規制カテゴリーを創設すること。

8 研究開発の必要性

内分泌攪乱に関する科学の現状の要約（付録 1）で示したように、リスク評価においても内分泌攪乱化学物質の規制においても、知識ギャップが進展を著しく阻害しており、多年にわたる研究努力にも関わらず解消していない。その大きな原因は、学術研究が新規性を追求するのに対して、化学品規制の場合はルーティン作業が強調され、研究者の関心と一致しないことにある。

研究の必要性に関する詳細な分析は徹底的な研究を必要とし、本報告書の任を超えるが、将来の研究の必要性の概略を下記 3 つの分野について見ておきたい。

- 暴露評価と内分泌攪乱性を持つ物質の同定
- 試験法の開発
- ヒト疫学

8.1 暴露評価と内分泌攪乱性を持つ物質の同定

内分泌攪乱化学物質の科学の現状評価の結果、内分泌攪乱化学物質の研究が依然として比較的少数の物質群に限られていることが明らかになった。これらの物質が研究対象となっているのは必ずしも汚染物質として重要であるからではなく、単に既に十分研究されていることを意味するに過ぎない。化学物質の内分泌攪乱性を系統的にスクリーニングする作業はほとんど行われておらず、それには内分泌攪乱効果を通常のモダリティ、すなわち（抗）エストロゲン性、（抗）アンドロゲン性、甲状腺ホルモン攪乱の範囲を超えて捕捉できる高スループットの試験法がないこともある程度まで原因となっている（後述）。

その結果、内分泌関連疾患に寄与する可能性のある化学物質の全容は十分な理解から程遠い状況にある。

このギャップを埋める方策として、最近進歩した化学分析技術を活用し、内分泌攪乱の作用機序のスクリーンを利用して複雑な環境メディアや人体組織からの抽出物を解析する方法(effect-directed analysis)を利用することで、偏りのない暴露評価戦略を採用することが考えられる。このような戦略は、従来認識されていなかった内分泌攪乱化学物質が見出される可能性を持っており、研究開発の主題を豊富に含んでいる。

8.2 試験法の開発

試験法の開発は喫緊の課題であるが、新規性という成果が得られるかどうか疑わしいことから研究者は必ずしも積極的でなく、このことがインパクトの強い論文が少ない理由の一つと思われる。しかし試験法の開発は、内分泌攪乱化学物質による潜在的なリスクの適切な評価のために最も重要なことである。このような研究者と規制のニーズの衝突を解決するには、研究の方向付けと目標を明確にした資源・資金の割り当てが必須である。

内分泌攪乱に関連した作用機序・機構の研究のために開発された試験法、モデル、ツールは多種多様であり、その中には更に開発を進めて、内分泌系の現行の試験戦略の及ばない側面をカバーする検証済み試験法に仕上げるのが可能なものも少なくないであろう。このことは現在利用できる試験のギャップによるヒト健康や野生動物に対するリスクの不確実さを軽減するために重要である。

原状では野生動物の多くの分類群に対して試験法が未開発であり、多数の研究開発主題が見出されるであろう。

既存の「科学的ツール」には規制に利用できる試験法にまで改善できるものもあるであろうが、内分泌攪乱には現在適切なモデルがないために系統的研究ができない側面があり、代謝症候群・肥満・神経内分泌系への影響などの分野にとって重要である。このギャップを埋めるには連携した種々の研究開発が必要である。これらの分

野での有害性特定やリスク特定のためには、現在のところ疫学に代わる確実な手段がない。しかし疫学は有害性およびリスクの同定のための最も敏感なツールとは言えず、またリスクは事象発生後にはじめて把握できるものであるから、現状では不確実性が大きく、見逃されている影響がある可能性が高い。

8.3 ヒト疫学

ヒト疫学では、内分泌攪乱化学物質に由来する健康リスクを認識する方法を見出すことは相当に困難である。問題は主に、疾病の原因が生じてから診断によって健康上の影響が見出されるまでの時間、疫学における複数の化学物質への暴露を扱う方法の欠如、リスクに寄与する可能性のある化学物質全体に関する情報の欠如にある。

暴露と効果の時間差の問題を扱うには、新しいコホートを設定できる資源が必要であり、かつ慎重に計画された測定戦略および明確に定義された仮説を伴わなければならない。多数の既存コホートで収集された組織は極性物質への暴露の確認、臨界的なライフステージでの暴露の扱いには向かない。血液バイオバンクは高度に親油性の汚染物質の研究には理想的であるが、極性汚染物質は解凍時の酵素的消化で失われるためその研究には不適當である。

ヒト健康の研究において複合暴露を取り扱う方法を見出すための、混合物の毒性実験の研究者とヒト疫学専門家との対話が始まっている。このような努力を促進し将来にわたって追求する必要がある。内分泌攪乱化学物質の研究は疫学における新しい概念を発展させるための沃土となるはずである。

9 付録

9.1 内分泌攪乱に関する科学の現状の要約（付録 1）

9.2 内分泌攪乱化学物質の規制上の評価へのアプローチに関する専門家への諮問の要約（付録 2）

9.3 ヒト健康および野生動物に関わるエンドポイントによるエンドポイントと試験法の比較分析（付録 3）