

GUIDANCE DOCUMENT ON STANDARDISED
TEST GUIDELINES FOR EVALUATING
CHEMICALS FOR
ENDOCRINE DISRUPTION

内分泌干扰物 评估试验指南

陈会明 崔媛 程艳◎编著



科学出版社

内分泌干扰物评估试验指南

陈会明 崔 媛 程 艳 编著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

《内分泌干扰物评估试验指南》一书根据化学物质的内分泌干扰特性、筛查/检测的试验指南(TG)或试验指南草案,指导如何解读每项试验的结果,以及如何在不确定某一物质是否属于内分泌干扰物的条件下获取更多的证据;并且为监管机构对特定化学物质及其毒性代谢物的危险状况的确定提供指南。

本书适合国内外从事毒理学专业的科技人员、环境保护和环境监测部门的技术人员、毒理学相关专业的在校师生,以及生产化学品厂家的有关人员学习参考。

图书在版编目(CIP)数据

内分泌干扰物评估试验指南 / 陈会明, 崔媛, 程艳编著. —北京: 科学出版社, 2014. 11
ISBN 978-7-03-041945-3

I. ①内… II. ①陈…②崔…③程… III. ①内分泌系统—试验—指南
IV. ①R322.5-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 221957 号

责任编辑: 岳漫宇 / 责任校对: 胡小洁
责任印制: 徐晓晨 / 封面设计: 北京铭轩堂广告设计有限公司

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京京华虎彩印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2014 年 11 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2014 年 11 月第一次印刷 印张: 19

字数: 432 000

定价: 108.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

序 一

自 1981 年以来，经济合作与发展组织（OECD）一直致力于开发化学品测试指南，并推动其成为 OECD 成员国和非成员国之间《数据互认协议》的一部分，使得遵循 OECD 测试指南和 OECD 良好实验室规范原则所获得的测试结果能被所有 40 个秉承数据互认协议的国家接受并互认。

自 1996 年以来，OECD 一直致力于开发测试指南，以识别内分泌干扰物，现在 OECD 已经采纳了许多方法，用以识别可能通过不同的方式成为内分泌干扰物的化学物质，比如雌激素受体途径、雄激素受体途径、甲状腺激素途径，或者干扰类固醇激素合成等途径。

本书旨在对如何解释测试结果提供指导，如何为判定某种物质是否是内分泌干扰物加以佐证。本书为统一协调识别内分泌干扰物的方法迈出了第一步，最终将使世界各国共同承担内分泌干扰物的人类健康和环境的风险评估重任。

中国正处于建立化学品现代管理体系的进程中，面临着与 OECD 成员国同样的挑战，因此，国际间的合作和经验交流以及共同责任分担，比以往更加重要。

2010 年以来，中国的专家们一直积极参与 OECD 有关化学品危害评估的各项活动。中国检验检疫科学研究院已经有效地在全中国范围内推介 OECD 开发的有关化学品安全评价的各种工具，本指南文件中文版的出版是这项努力中的一个重要里程碑。

我深信，中国在完善化学品全球化管理中将会起到越来越重要的作用，OECD 也期待着与中国检验检疫科学研究院以及其他利益相关者持续合作。



OECD 环境、健康和安全部门负责人
Bob Diderich

Foreword I

The OECD has been developing Guidelines for testing chemicals since 1981 as part of the Mutual Acceptance of Data agreement between OECD member countries and adhering non-member countries whereby test results obtained by using OECD Test Guidelines and OECD Principles of Good Laboratory Practice are accepted in all 40 countries adhering to the Mutual Acceptance of Data agreement.

Since 1996, the OECD has also been developing Test Guidelines to identify endocrine disrupting chemicals, and today a number of methods have been adopted by OECD to identify chemicals that can act as endocrine disruptors via different modalities, such as the estragon receptor pathway, the androgen receptor pathway, the thyroid hormone pathway or by interference of steroidogenesis.

The objective of the present document is to provide guidance on how to interpret the outcome of individual tests and how to increase evidence on whether or not a substance may be an endocrine disrupter. This document is a first step towards a harmonised approach for identifying endocrine disruptors which would eventually allow countries to share the burden of assessing the risks from endocrine disruptors to human health and the environment.

As China is in the process of implementing a modern chemicals management system it is facing the same challenges than OECD countries and hence international co-operation to exchange experience and share the burden has become more important than ever.

Experts from China have been participating in OECD's activities on assessing the hazards of chemicals since 2010. CAIQ has been very effective in making tools developed by OECD on chemical safety known throughout China and the publication of this guidance document in Chinese is an important milestone in this endeavour.

I am confident that China's role in reaching the global objective of sound management of chemicals will continue to increase in the future and OECD is looking forward to a continued co-operation with CAIQ and other stakeholders in China.



Bob Diderich
OECD Environment Directorate

序 二

内分泌干扰物（EDC）因其对于人类和野生物种所带来的风险，而成为全球各地的监管部门、研究机构和利益相关者持续关注的主题。2012年，“国际化学品管理战略方针”（SAICM）通过有关“内分泌干扰物”的Ⅲ/2F号决议，把内分泌干扰物纳为新兴政策议题。经济合作与发展组织（简称：经合组织，OECD）是“国际化学品管理战略方针”中的协调方之一。十多年来，在开发内分泌干扰物的检测和表征的测试指南方面，经合组织一直发挥着积极的作用。使用国际统一的经合组织测试指南，可以创建合理可靠的科学信息，并以此提高决策者和其他利益相关者对于潜在不利影响，包括内分泌干扰物对弱势亚种群的影响的认识和理解。

经合组织最近公布了“评估内分泌干扰化学品测试指南的指导文件”。这一指导文件是由经合组织的内分泌干扰物评估测试咨询小组（EDTA AG）开发的。荷兰国家公共卫生与环境研究院（RIVM）的专家曾参与此文件的开发，并将其推荐给中国检验检疫科学研究院（CAIQ）。荷兰国家公共卫生与环境研究院和中国检验检疫科学研究院曾签署过一份旨在加强合作的谅解备忘录（MOU），该文件中文版的发行是我们两个国立科研机构的合作成果之一。

我们希望，该指导文件中文版的发行将有助于中国专家运用识别内分泌干扰物的知识，并进一步有利于保护人类与环境免受内分泌干扰物的潜在不利影响，我们也希望在未来的日子里，荷兰国家公共卫生与环境研究院和中国检验检疫科学研究院为保护人类和环境继续协同努力。



中国检验检疫科学研究院院长
李怀林



荷兰国家公共卫生与环境研究院院长，
代表荷兰卫生福利体育部部长
Prof. dr. A. N. van der Zande

Forward II

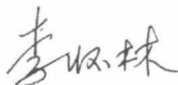
Endocrine disrupting chemicals (EDCs) are a topic of continuous attention from regulators, research institutions and stakeholders worldwide because they present risks to humans and wildlife species. In 2012 the Strategic Approach to International Chemicals Management (SAICM) adopted EDCs as a new emerging policy issue with resolution III/2F about “Endocrine-disrupting chemicals”. The Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) is one of the coordinating parties under SAICM. OECD has been active for more than ten years on the development of Test Guidelines for the detection and characterisation of EDCs. The use of the internationally harmonised OECD Test Guidelines enables the generation of scientifically sound and reliable information that raises awareness and understanding among policymakers and other stakeholders of the potential adverse effects, including effects on vulnerable subpopulations, of EDCs.

OECD has recently published the “Guidance document on standardized test guidelines for evaluating chemicals for endocrine disruption”. This guidance document was developed by the OECD Advisory Group on Testing and Assessment of endocrine disruptors (EDTA AG). Experts from the Dutch National Institute of Public Health and the Environment (RIVM) have been involved in the development of this OECD guidance document and introduced the guidance document to the Chinese Academy of Inspection and Quarantine (CAIQ). The publication of the Chinese version of this OECD document is one of the outcomes of the collaboration between the two national institutes, RIVM and CAIQ, who earlier have signed a memorandum of understanding (MoU) to strengthen their relationship.

We hope that the publication of this guidance document in Chinese will help experts in China to implement the knowledge on identifying EDCs and thus to contribute protecting man and the environment from the potential adverse effects of EDCs. We also hope that RIVM and CAIQ will continue their collaborative efforts in protecting man and the environment in the future.



Prof. dr. A. N. van der Zande
Director-general
National Institute for Public Health and the
Environment(RIVM), on behalf of the Dutch
Minister of Public Health, Welfare and Sport



Prof. HuaiLin Li
President
Chinese Academy of Inspection
and Quarantine

目 录

序一

Forward I

序二

Forward II

A 指南的简介与背景	1
A.1 目的.....	1
A.2 一般方法.....	2
A.3 范围与限制.....	2
A.3.1 涵盖的测试和内分泌模式.....	2
A.3.2 评估范围和单个试验限制.....	3
A.3.3 试验入选原理.....	4
A.3.4 试验排除原理.....	7
B 关于内分泌评估与试验数据选择的一般指南	9
B.1 针对所指试验的考虑因素.....	10
B.1.1 概念框架等级 1: 现有数据和非试验信息.....	10
B.1.2 概念框架等级 2: 体外试验可提供关于选定的内分泌机制/途径的数据.....	11
B.1.3 概念框架等级 3: 体内试验可提供关于选定的内分泌机制/途径的数据.....	12
B.1.4 概念框架等级 4: 体内试验可提供内分泌相关终点不良作用的数据.....	13
B.1.5 概念框架等级 5: 针对更为广泛的生物体生命周期内的内分泌相关终点, 体内试验可以提供更为全面的不良作用数据.....	15
B.2 概念框架的各项试验中的终点.....	16
C 针对所说明试验指南的具体指南	25
C.1 具体指南简介.....	25
C.2 体外筛检.....	26
C.2.1 雌激素受体竞争结合试验 (US EPA OPPTS 890.1250).....	26
C.2.2 雄激素受体竞争结合试验 (US EPA.OPPTS 890.1150).....	38
C.2.3 TG 455: 使用稳定转染人 ER α 转录激活试验检测化学品的雌激素激动 剂活性 (ER STTA) (包括拮抗作用试验指南).....	50
C.2.4 OECD TG 456: H295R 类固醇合成试验.....	62
C.2.5 芳香化酶试验 (US EPA OPPTS 890.1200).....	72
C.3 野生动物筛检和试验.....	82
C.3.1 OECD TG 229: 鱼类短期生殖试验 (FSTRA).....	82
C.3.2 OECD TG 230: 鱼类 21 天试验.....	93
C.3.3 OECD TG 230 的变体: 雄激素化雌性刺鱼筛检 (AFSS) (GD 140).....	100

C.3.4	鱼类性发育试验 (FSDT) (试验指南草案 234)	107
C.3.5	鱼类生命周期毒性试验 (FLCTT) (USEPA OPPTS 850.1500)	118
C.3.6	OECD TG 231: 两栖动物变态发育试验 (AMA)	124
C.3.7	OECD TG 206: 禽类生殖试验	132
C4	哺乳动物筛检和试验	140
C.4.1	OECD TG 440: 啮齿类动物子宫增重试验 (UT 试验) (包括关于使用抗雌激素活性筛检试验的 OECD 指南)	140
C.4.2	OECD TG 441: 大鼠中的 Hershberger 试验 (H 试验) (包括针对刚断奶动物 Hershberger 试验的 OECD 指南)	149
C.4.3	围青春期雄性大鼠的青春期发育和甲状腺功能试验 (雄性动物围青春期试验) (US EPA OPPTS 890.1500)	160
C.4.4	围青春期雌性大鼠的青春期发育和甲状腺功能试验 (雌性动物围青春期试验) (US EPA OPPTS 890.1450)	172
C.4.5	OECD TG 407: 啮齿类动物重复给药 28 天口服毒性研究	183
C.4.6	OECD TG 416: 二代生殖毒性研究 (包括 TG 415: 一代生殖毒性研究)	194
C.4.7	扩展一代生殖毒性研究 (OECD TG 443 草案)	204
D	附录	216
D.1	用于内分泌干扰化学品试验与评估的 OECD 概念框架及其修订版本	216
D.1.1	简介	216
D.1.2	原始版本的内分泌干扰化学品试验与评估的 OECD 概念框架 (现已废止)	216
D.1.3	对原始框架文件的注释	216
D.1.4	2011 年 OECD 修订的内分泌干扰物试验与评估的概念框架	216
D.2	主文档中未包含的试验的暂行指南	220
D.2.1	体外筛检	220
D.2.2	野生动物筛检和试验	233
D.2.3	哺乳动物筛检和试验	253
D.3	关于内分泌试验费用的信息	284
D.4	缩略语和术语	286
	参考文献	289

A 指南的简介与背景

1998年,经济合作与发展组织(OECD)启动了一项关于内分泌干扰化学品筛查的高优先度项目,其中包括修改现行指南,以及制定新指南。此后,一些潜在测试已经纳入到该指南,不过还有其他一些测试仍然在开发过程中。在“内分泌干扰化学品筛检的OECD概念框架(CF)”中包含了筛查和检测,2011年,由内分泌干扰试验(EDTA)顾问组对该部分进行了修订和更新。原始版和修订版的概念框架均可参见附录D.1。2009年9月22日至24日,在哥本哈根召开了“针对内分泌干扰物的检测、评估和管理的OECD成员国行动”研讨会(OECD,2010b)。该研讨会提出了一项建议:由EDTA顾问组负责制定内分泌干扰化学品的评估指南[以下简称指南(GD)]。在2010年5月17日至18日的会议中,EDTA顾问组表示支持这一建议。指南的目标和范围界定如下:指南可作为监管机构的支持工具,协助解读试验结果,针对可实施的附加研究提出建议,以降低不确定性;指南不得提前决定或限制成员国的监管行动,并且不得提供试验策略建议;指南还应为其他指南提供支持,但不得重复,例如,危险评估指南。应当指出的是,对于哺乳动物和野生动物内分泌干扰引起的毒性(危险和风险评估),很多测定试验都非常新,因此,如有新的证据,可随时修订指南。该指南并非一成不变的文件,可随着科学的发展而不断更新。

在本指南的上下文中,世界卫生组织(WHO)(2002)定义的内分泌干扰物(ED)为:“内分泌干扰物是指能改变内分泌系统功能,从而对生物体整体或其后代或(亚)群体的健康造成不良影响的一种外源性物质或混合物。”WHO也定义了“潜在的内分泌干扰物”为“潜在的内分泌干扰物是指可能导致生物体整体或其后代或(亚)群体分泌干扰物的一种外源性物质或混合物。”众所周知,还有很多其他的定义(例如,Weybridge Conference,1996),但本指南中将WHO(2002)定义作为有效的定义,因为该定义中涵盖了人类健康和野生动物种群。该定义虽应用广泛,但尚未获得普遍认可。针对本指南的目的,作者将“可能的内分泌干扰物”一词定义为:“可能改变内分泌系统功能,但对生物体整体的不良后果尚不明确的化学品。”

A.1 目的

本指南的目的如下。

根据化学品的内分泌干扰特性筛查/检测的试验指南(TG)或试验指南草案,收到测试结果后,监管机构可以通过本指南来确定特定化学品及其毒性代谢物的危险状况。根据地方立法和执法情况,此类决策的背景情况会有所不同,因此对于本指南中所提出的建议,可予以灵活解读。

本指南指导如何解读每项试验的结果，以及如何在不确定某一物质是否属于内分泌干扰物的条件下获取更多的证据，但未提供一组试验策略或试验程序解读指南。

本指南中的危险评估方法分为两个步骤，以便通过 3R 原则（实验动物应遵循替代、减少和优化原则）尽量减少动物试验的总量。

- 使用统一的框架，评估试验结果及关于可能或已知危险的现有信息，应避免不必要的动物试验。
- 当监管机构需要更多证据时可以提供实验方法方面的建议。应准确界定实验方法，以便于数据互认，并避免不必要的重复实验。推荐的实验方法中将尽量使用非动物试验，也可根据现有信息，考虑其他的替代情境。

A.2 一般方法

首先本指南中采纳的一般方法主要是考虑每项内分泌干扰物响应测试^①的可能结果，并提供指导，以便根据其他体外或体内试验中已经获得或尚未获得的数据，解读该结果。在每种情境下，应采用重证据方法(USEPA, 2011; Borgert et al., 2011)，对现有数据和新数据的性质、数量和质量进行评估，并且通常不是只有唯一的“正确”答案。重证据方法可使用其他技术（如基因表达分析或组学数据）来更好地解释内分泌相关模式和顶端效应之间的关联。因此，监管机构应根据当地需求灵活应用本指南。其中关键问题在于可能的内分泌作用机制，以及可归因于该作用的“顶端效应”。根据广泛认可的内分泌干扰化学品的定义（WHO, 2003）表示，如果体内不良作用与内分泌作用模式相关联，那么该化学品就属于内分泌干扰物。

其次，本指南提供了关于下一步测试（如需）的建议，监管机构可根据各种已有数据的情境予以采纳。应注意的是，本指南只能涵盖最有可能的情境。在判断某一化学品是否属于内分泌干扰物时，本指南所提供的进一步测试的建议通常仅限于接下来的单一步骤，并且本指南没有针对可能的内分泌干扰物给出整体测试策略。

本指南以表格的形式，对每项测试提出了关键建议，其中列出了一系列的情境，综合了不同的测试结果和现有数据的各种背景，并提供了解读建议及每种情境条件下可以考虑采用的进一步测试。在解读每个表格时应结合表格下面的文字，其中说明了表格中由于空间不足而无法详述的测试相关问题。再次强调，这些表格（被称为组成部分）仅作为建议，并不要求监管机构必须遵守。更为重要的是，内分泌干扰物试验指南相对较新，并且该领域很可能会有进一步的发展。

A.3 范围与限制

A.3.1 涵盖的测试和内分泌模式

指南主要章节的范围仅限于提供测试结果的解读，此类测试是指内分泌干扰物测试

^① 内分泌干扰物响应测试是指可以对内分泌干扰物和（或）可能的内分泌干扰物产生阳性反应的体外和体内试验。

和评估的 OECD 概念框架中包括的测试（参见附录 D.1）。随着内分泌干扰领域的发展，OECD 的概念框架会进行定期修订。事实上，在本指南的编写过程中，概念框架已经被修订。根据下文所列的内分泌模式，提供了关于此类测试终点的指南。随后是关于如何增加证据，以便基于测试结果和其他现有相关信息，判定某一化学品是或不是内分泌干扰物。考虑到了各种情境，并且指南中提供了关于不同考虑因素和接下来在单一步骤中进行试验的建议。

从内分泌干扰物鉴别的角度，本指南针对概念框架中最为相关的测试提供了详细的指南，而对于其他试验，所提供的指南较为有限（参见附录 D.2）。指南仅限于内分泌机制和危险评估，没有考虑关于化学品暴露方面的信息（例如，用法、用量、致死量、等级、持续时间和途径）。

作为概念框架，指南中仅涵盖了相同的内分泌模态，如下。

- 雌激素受体介导
- 雄激素受体介导
- 甲状腺激素介导
- 类固醇合成干扰

虽然本指南中的测试适用于目前已知的大多数类型的内分泌干扰物（即通过雌激素/雄激素/甲状腺素/类固醇合成-EATS-模态起作用），但应该认识到，对于了解较少的化学品类型或作用模式，试验的响应情况可能较差。例如，虽然在多项哺乳动物试验中对肾上腺进行了检查，但是不太可能涵盖可破坏野生动物皮质类固醇系统的内分泌干扰物（Trenzado et al., 2003），从而可以提供警示。有些内分泌干扰物可能存在后生效应（虽然此类效应并不是仅局限于内分泌干扰物）。Anway 和 Skinner（2006）及 Crews 和 McLachlan（2006）等对此类潜在效应进行了审评和讨论。实质上，后生效应是指：经过几轮细胞分裂或跨代后出现的表型或基因表达改变的现象，是由于机制作用引起的，而不是基因序列改变所造成的（例如，组蛋白修饰、DNA 甲基化、RNAi 介导的基因沉默）。据悉，后生效应可能会导致跨代表型效应，对于通过可能的内分泌干扰物的长期试验（例如，鱼类、禽类和啮齿类生命周期试验）是否可以发现所有的潜在后生效应，目前尚不清楚。例如，Brown 等（2009）未能在暴露于强效雌激素的雄性虹鳟鱼的后代中发现可遗传的生殖缺陷。目前正在对后生遗传学领域进行审评，并将于适当时候在 OECD 关于内分泌干扰“新终点”的详细审评文件中出版发行。

A.3.2 评估范围和单个试验限制

本指南中没有提供测试策略，仅在建议或提议需要考虑实施进一步检测时，提供了单一步骤指南。文件中仅提供了最适用试验方面的建议，如果国家监管机构需要更多证据来支持管理决策，可以实施此类试验，以获得更多证据。所提出的指南并不是为了鼓励实施动物试验，而是鼓励尽量使用符合 OECD 检测与评估综合方法的现有信息（OECD，2008）。

对于判断某一化合物是否具有内分泌干扰作用，多项研究和跨类群终点的相关证据

越多，且证据中包含了不同的生命阶段效应和一系列的剂量，其结论的置信度水平会随着之升高。在监管中，判定某一物质是否属于内分泌干扰物时，所需的证据数量取决于相关监管机构的政策/框架和监管决策环境。例如，在优先级设置决策时，只需要来自特定试验或组成部分的结果，但对于预测危险或风险评估，仅有这些结果是不够的。

本指南未提供对于如何实施试验结果的证明力评价、风险评估或人类健康相关性的判定。OECD（2008，2010b）和 WHO（2007）中提供了一些此类指南。众所周知，啮齿类动物中的一些作用机制可能与人类不同，例如，甲状腺刺激素（TSH）分泌增多和甲状腺增生诱导大鼠出现甲状腺肿瘤，但本指南未对某些与人类具有相关性的机制进行讨论。

此外，本指南中没有说明暴露水平，而在判定是否需要实施进一步检测以避免不必要的动物试验时，则需要考虑到暴露水平情况。在野生动物中，尤其需要考虑到暴露水平，其环境风险评估中应对比所有物种的灵敏度，并且只能对风险评估相关的生物体种群实施进一步检测。与任何评估一样，最后，也是最重要一点是，应在结论中说明置信度和不确定度。

A.3.3 试验入选原理

在本指南的主体部分，针对概念框架中已经验证的和（或）广泛认可的试验^①，提供了详细指南，并列于表 A.1 的 A 部分。本文使用的“验证（validation）”和“已验证的试验（validated assays）”等术语的定义可参见 OECD 第 34 号文件《危险评估的新试验方法或更新试验方法的验证与国际认可的指南》（OECD，2005）（也可参见附录 D.4 “缩略语和术语”）。验证可以由 OECD 或其他组织进行（例如 ICCVAM，机构间替代方法验证协调委员会）。应注意，本指南使用的“试验（assay）”一词与概念框架中使用的术语相一致，用于表述 OECD（2005）中定义的“试验方法”，即“试验方法是指一个实验体系，可用于获得某一物质的化学性质至不良作用的一系列信息。”对于生态毒性和人类健康研究，可将“试验方法”与“试验”这两个术语互换使用。本指南中使用的“筛检（screen）”一词是用于表述体外或体内试验，提供相关内分泌干扰机制的信息，但不提供关于不良作用的信息，可用于危险或风险评估中。但是，一些监管机构可能希望使用阳性筛检试验进行初步的风险评估。另外，“检测（test）”一词涵盖了体内试验，可提供证据，用于支持下列结论：某一化学品是内分泌干扰物，可对生物体产生不良作用。例如，筛检可以是指雌激素受体竞争结合试验，其中仅测量了体外受体结合活性，不提供不良反应信息；而检测可以是指青鳉鱼多代试验，其中测量了鱼类生殖成功率，提供了不良作用的信息。在 OECD（2005），“筛检”和“检测”的定义都较为宽泛，但本指南中，“检测”一词的用法更为精确，如需了解所有术语，可参见附录 D.4 “缩略语和术语”。

表 A.1 的 B 部分中列出的内容有：提供了关于与内分泌系统的潜在相互作用信息，但尚未经过验证的试验；或者不是主要用于内分泌干扰物检测的试验指南。附录 D.2 中

^① 此类试验是指在国家或国际水平上经过确认的试验，尤其是 OECD 试验指南。

表 A.1 本书中提供了指南的筛选和试验

概念框架等级	体外筛选	哺乳动物体内筛选和试验	野生动物体内筛选和试验
A. 对于已验证的试验, 指南主体中提供了相关指南			
2	<ul style="list-style-type: none"> ○ 雌激素受体竞争结合试验 (US EPA OPPTS 890.1250) ○ 雌激素受体竞争结合试验 (US EPA OPPTS 890.1150) ○ OECD TG 455: 稳定转染人 ERα 转录激活试验 (ER STTA) (包括拮抗作用试验指南——不属于 OECD 试验指南的一部分) ○ H295R 类固醇合成试验 (OECD TG 456 草案) 芳香化酶试验 (US EPA OPPTS 890.1200) 	无	无
3	无	<ul style="list-style-type: none"> ○ OECD TG 440: 啮齿类动物子宫增殖试验 (UT 试验) (包括关于使用抗雌激素活性筛选试验的 OECD 指南) ○ OECD TG 441: 大鼠 Hershberger 试验 (H 试验) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ OECD TG 231: 两栖动物变态发育试验 (AMA) ○ OECD TG 229: 鱼类短期生殖试验 (FSTRA) ○ OECD TG 230: 鱼类 21 天试验 ○ 雌激素化雌性刺鱼筛选 (AFSS) (OECD GD 140)
4	无	<ul style="list-style-type: none"> ○ 围青春期雌性大鼠的青春期发育和甲状腺功能试验 (雌性动物围青春期试验) (US EPA OPPTS 890.1500) ○ 围青春期雌性大鼠的青春期发育和甲状腺功能试验 (雌性动物围青春期试验) (US EPA OPPTS 890.1450) ○ OECD TG 407: 啮齿类动物经口重复给药 28 天毒性研究 ○ OECD TG 415: 一代生殖毒性研究 (包括 TG 416) 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 鱼类发育试验 (FSDT) (OECD TG234 试验指南草案) ○ OECD TG 206: 禽类生殖试验
5	无	<ul style="list-style-type: none"> ○ OECD TG 416: 二代生殖毒性研究 [最新更新 (2001 年被采用)] ○ OECD TG 443: 扩展一代生殖毒性研究 	<ul style="list-style-type: none"> ○ 鱼类生命周期毒性试验 (FLCTT) (US EPA OPPTS 850.1500)
B. 对于未完成验证过程的试验, 或者不是设计用于检测内分泌干扰物的试验, 附录 D.2 中提供了较为有限的指南			
2	<ul style="list-style-type: none"> ○ 稳定转染人雌激素受体转录激活试验 (AR STTA) 	无	无
3	无	无	无

续表

概念框架等级	体外筛检	哺乳动物体内筛检和试验	野生动物体内筛检和试验
3	无	无	无
4	无	<ul style="list-style-type: none"> 成年雄性动物试验 OECD TG 408: 重复给药 90 天经口毒性研究 OECD TG 451-3: 慢性毒性/致癌性综合研究 OECD TG 421 和 422: 综合的 28 天生殖筛检试验 	<ul style="list-style-type: none"> 两栖动物幼体生长发育试验 (LAGDA) (OECD 试验指南草案)
5	无		<ul style="list-style-type: none"> 青鳉鱼多代试验 (MMGT) (OECD 试验指南草案) 禽类二代试验 (AIGT) (OECD 试验指南草案)
C. 对于与概念框架 (原始版或修订版) 相对应的试验, 目前尚未编写相关指南			
2	<ul style="list-style-type: none"> 肾上腺素受体结合亲和力 AhR 结合亲和力 高通量筛检 (概念框架中未定义) 甲状腺功能体外测定 鱼类肝细胞卵黄蛋白原 (VTG) 试验 酵母菌转录激活试验 (酵母菌雌激素筛检和酵母菌雌激素筛检) 基于增殖的筛检 	无	无
3	无	<ul style="list-style-type: none"> 非受体介导的激素功能 (概念框架中未定义) 	<ul style="list-style-type: none"> 爪蟾胚胎甲状腺信号试验 (如有试验指南可用)
4	无	<ul style="list-style-type: none"> 产前发育毒性试验 (OECD TG 414) 发育神经毒性 (OECD TG 426) 	<ul style="list-style-type: none"> 鱼类生殖部分生命周期试验 (如有试验指南可用) 软体动物部分生命周期试验 (如有试验指南可用) 摇蚊毒性试验 (TG 218-219)
5	无	无	<ul style="list-style-type: none"> 无脊椎动物生命周期和世代试验

注: 表中 A 部分列出的试验是已经认可的试验, 广泛应用于已经验证的 OECD 指南或国家试验指南。下列试验的指南可参见指南的主体部分。表中 B 部分列出的试验未经内分泌结果方面的全面验证, 或者是主要针对内分泌干扰检测的试验指南, 以及附录 D.2 中列出的指南。表中 C 部分列出的试验是框架概念中已经列出的试验 (2011 修订), 但未提供相关指南。按照试验在概念框架中的等级, 对所有试验进行了分类排序。现有的 OECD 试验指南标记了前缀“OECD TG”。

重要的是, 概念框架 (参见附录 D.1.4) 不是一项试验策略, 无需按照 1~5 级的顺序执行, 虽然, 有时候 (对于新的化学品) 能获得的信息非非常少或者没有信息, 但此部分提供了如何开始试验的指南。

提供了关于上述内容的部分指南。例如，此类试验（如 TG 408 啮齿类动物经口重复给药 90 天毒性研究及 TG 451-3 慢性毒性/致癌性综合研究）包含了相关的内分泌终点的试验（例如，性器官质量和组织病理学状况），并且可用于“化学品注册、评估、许可和限制（REACH）法规”（TG 408）和农药登记材料的评估。TG 453（慢性毒性/致癌性综合研究）提供了对内分泌组织的致癌性方面的相关信息，因此，对于化学品的内分泌评估来讲，该文件非常重要。TG 421 和 TG 422 提供了关于生殖及对内分泌器官的影响方面的信息，并且也可用于 REACH，但针对内分泌结果方面的应用，上述试验未经验证，因此仅将其纳入到了附录 D.2 中。

A.3.4 试验排除原理

在表 A.1 的 C 部分中列出了本指南未涵盖但概念框架中提及的试验。省略这些试验指南的原因如下：使用经验不足（例如，无脊椎动物的生命周期试验，以及用于测定甲状腺功能干扰的体外试验），或者与现有试验相比，没有显著优势的试验（例如，鱼类肝细胞卵黄蛋白试验）。

甲状腺功能干扰的体外筛检试验未经验证，并且根据甲状腺激素干扰试验的详细审评文件（OECD, 2006a）得出的结论认为：“鉴于甲状腺系统的复杂性，在近期内，都不太可能开发出一系列体外试验来检测甲状腺干扰的情况。该结论是基于以下两个事实得出的：现有的体外试验需要经过进一步的开发，而后才能获得验证；如果需要涵盖甲状腺系统干扰中的每个潜在要点，所需实施的体外试验的数量过大，而无法通过一套试验指南进行管理。此外，单独使用体外试验无法在存在有毒物质条件下检测出甲状腺系统内部的相互作用。但是，建议表示，可对体外试验进行开发，并在未来用于高通量筛检。”因此，目前没有编写针对这一方面的指南。但是，在研究中，也有通过使用此类试验而获得的数据，在本指南中，评估试验结果时，可将此类数据视为现有数据。目前，OECD 非动物试验的验证管理组正在讨论甲状腺试验的可用性。

虽然酵母菌雌激素筛检（YES）和酵母菌雄激素筛检（YAS）是生态毒理学中常用的体外筛检，但本指南中没有包含此类筛检（Routledge and Sumpter, 1996; Sohoni and Sumpter, 1998）。上述筛检的限制较多，例如，在具有杀菌活性或可抑制细胞增殖、溶解度、渗透性或穿过细胞壁的物质运输材料方面存在问题（ICCVAM, 2003）。另据报告，酵母菌雌激素筛检试验无法灵敏检测出抗雌激素化学品（Fang et al., 2000）。“环境内分泌干扰物筛检：在鱼类中应用雌激素和雄激素受体结合和转录激活试验”（OECD, 2010d）的详细审评文件中，提出了下列试验建议：“为了实施进一步的详细评估，建议采用酵母菌雌激素筛检/酵母菌雄激素筛检试验，主要重点是鱼类的类固醇激素受体试验。对于此类试验是否可以提供有意义的信息，还需进一步的评估，特别是在鱼类中的情况。在进行任何试验方法开发之前，或者实施验证之前，应明确说明与其他体外试验相对比的优点/缺点，例如，特定化合物或化学物质类别的酵母细胞膜渗透性，或者其他潜在限制等。在进一步制定试验指南之前，应证明拟议酵母菌雌激素筛检/酵母菌雄激素筛检试验的灵敏度和特异性。”

可将酵母菌雌激素筛检和酵母菌雄激素筛检试验视为雌激素受体(ER)和雄激素受体(AR)稳定转染转录激活试验(STTA)的前身,并且很多“下一步”都是相同的。因此,应谨慎使用这些“组成部分”,以提供酵母菌雌激素筛检和酵母菌雄激素筛检试验的指南,但应注意上述限制。C.2.1中提供了ER STTA(TG 455)指南,其中涵盖了酵母菌雌激素筛检试验。附录D.2.1中提供了AR STTA指南,其中涵盖了酵母菌雄激素筛检试验。

对于基于增殖诱导的雌激素活性检测试验,例如,雌激素反应细胞增殖条件下的雌激素筛检(尤其是在MCF-7人乳腺癌细胞株中),也没有提供相关试验指南(Soto and Sonnenschein, 2001)。在ICCVAM(2003)中没有关于增殖试验的建议,因为可通过涉及雌激素应答基因转录激活以外的途径介导细胞增殖。但是,应该指出的是,ICCVAM将于2011年完成对MCF-7验证的审评,因此,未来可能会对本主题的指南进行增补。