

鳥類繁殖毒性の今後の評価等について

平成 25 年 6 月 28 日

1. 背景

環境省では、新規化学物質等に係る試験の方法について（平成 15 年 11 月 21 日薬食発第 1121002 号厚生労働省医薬食品局長、平成 15・11・13 製局第 2 号経済産業省製造産業局長、環境企発第 031121002 号環境省総合環境政策局長連名通知。）で定められた 20 週間投与による鳥類繁殖毒性試験（以下「20 週鳥類繁殖毒性試験」という。）と予備的な毒性評価と想定したニホンウズラを用いた繁殖照明条件下 6 週間投与による鳥類繁殖毒性試験（以下「6 週鳥類繁殖毒性試験」という。）との比較試験を実施している。現時点までに、3 物質（いずれも第一種特定化学物質）について比較試験を行っているが、2 物質について同様の結果（毒性値）が得られ、1 物質については共通した用量の範囲において類似した結果（毒性の種類や程度）が得られた。

平成 22 年度第 1 回薬事・食品衛生審議会薬事分科会化学物質安全対策部会、平成 22 年度化学物質審議会第 2 回安全対策部会、第 102 回中央環境審議会環境保健部会化学物質審査小委員会の資料において、6 週鳥類繁殖毒性試験を「暫定的に予備的な毒性評価の方法とした。」とする一方、「6 週鳥類繁殖毒性試験と 20 週鳥類繁殖毒性試験の相関は、3 物質のみで確認したものであり、被験物質によっては 6 週鳥類繁殖毒性試験の結果と 20 週鳥類繁殖毒性試験の結果が大きく異なる可能性があることに留意するものとする。」としていた。

そこで、6 週鳥類繁殖毒性試験の結果と 20 週鳥類繁殖毒性試験の結果との差異について検証を行うとともに、鳥類繁殖毒性の今後の評価等について検討を行った。

2. 検証の状況

1, 2, 5, 6, 9, 10-ヘキサブロモシクロドデカン（以下「HBCD」という。）を用いた鳥類繁殖毒性試験では、有害性調査指示を受けて事業者が実施した 1 つの 20 週鳥類繁殖毒性試験と環境省の実施した 4 つの 6 週鳥類繁殖毒性試験の結果から推定された NOEC に差が生じているように解釈可能となった（表 1）。これについて、環境省において更なる科学的知見の充実を図るべく、以下の検討を行った。

(1) 原因の解明に向けた科学的な検証

20 週鳥類繁殖毒性試験と 6 週鳥類繁殖毒性試験の結果から推定された

NOEC に差が生じているように解釈可能となった原因の解明のため、3つの観点からの検討を行った。

①ニホンウズラの購入元・日齢の確認（詳細→別添1）

試験に供したニホンウズラの系統、購入元、試験導入時の日齢等の確認を行った。ニホンウズラの系統、購入元については全ての試験で同一であり、これらの試験を相互に比較することは可能であった。一方、日齢については、事業者が実施した20週鳥類繁殖毒性試験（試験3）と、環境省が事業者と同一の被験物質を用いて実施した6週鳥類繁殖毒性試験（試験4）とでは、試験開始時期及び採卵開始時期の日齢の差が生じているが、NOECの差の原因を解明する決定的な要因とは考えられなかった。

②飼料中HBCD濃度から換算した摂取量の確認（詳細→別添2）

体重や摂餌量からHBCD摂取量等の確認を行った。体重や摂餌量にばらつきがあり、HBCD摂取量がばらつくことが推計されており、試験を実施する上で注意すべきものであると考えられたが、これがNOECの差の原因を解明する決定的な要因とは考えられなかった。

③産卵率の回復の遅れの確認（詳細→別添3）

20週鳥類繁殖毒性試験における産卵率の回復の遅れについて確認を行った。事業者が実施した20週鳥類繁殖毒性試験（試験3）では、高用量群（125ppm及び625ppm）において産卵の立ち上がりに遅れが生じていることが確認され、これらの高用量群で産卵に対する影響を有しているのではないかと考えられた。

いずれの観点についても、原因を考察する上で考慮すべきものと考えられるが、原因を解明する決定的な要因には至っていない。

（2）HBCDに関する最新の有害性情報の収集

残留性有機汚染物質検討委員会（POPRC）が作成したリスクプロファイルでは、環境省から提出した6週鳥類繁殖毒性試験の他に、カナダの研究チームが実施したアメリカチョウゲンボウ（*Falco sparverius*）に対する影響に関する試験結果が引用されている。このカナダの研究チームは、リスクプロファイルの公表以降、いくつかの論文を公表しており、これらの最新情報の収集を行った。（詳細→別添4）

これらの試験結果では、飼料中濃度0.8ppm（体重当たり摂取量

0.51mg/kg/day) において、鳥類の繁殖に影響が生じたとしており、6週鳥類繁殖毒性試験における NOEC と近いオーダーが示されている。

3. 鳥類繁殖毒性の今後の評価等について

今後、鳥類の繁殖毒性に関して、有害性調査の方法として20週鳥類繁殖毒性試験が妥当か、また、予備的な毒性評価の方法として6週鳥類繁殖毒性試験が妥当かどうか再検討を行い、改善すべき事項を整理する。また、必要に応じて第一種特定化学物質を被験物質として6週鳥類繁殖毒性試験及び20週鳥類繁殖毒性試験の両方を実施して比較検証する。

なお、再検討を実施している間、監視化学物質の製造・輸入量等の状況から必要があれば、再検討の結果を待つことなく現時点で有害性調査の方法として定められている20週鳥類繁殖毒性試験を環境省において実施することについて検討することとする。

表 1 これまでに実施された HBCD の鳥類繁殖毒性試験 (計 5 試験)

	実施者	試験期間	試験方法	異性体構成比	設定用量 (ppm)	NOEC (ppm)	エンドポイント	NOEC の推定根拠
試験 1	環境省	H20.7 ~H21.3	6 週試験	α 体 : 12-13%、 β 体 : 10-11%、 γ 体 : 76-77%	125, 250, 500, 1000	< 125	卵殻厚、 無精卵発生率、 胚発生率、 孵化率、 繁殖能指数	卵殻厚 ↓ : 125 以上、 無精卵発生率 ↑ : 125 以上、 胚発生率 ↓ : 125 以上、 孵化率 ↓ : 125 以上、 繁殖能指数 ↓ : 125 以上
試験 2	環境省	H20.9 ~H21.3	6 週試験	α 体 : 12-13%、 β 体 : 10-11%、 γ 体 : 76-77%	5, 15, 45, 125	5	若鶏の 14 日間生 存率、 繁殖能指数	若鳥の 14 日間生存率 ↓ : 15 以上、 繁殖能指数 ↓ : 15 以上
試験 3	事業者	H23.3 ~H24.3	20 週試験	α 体 : 9.4%、 β 体 : 7.6%、 γ 体 : 82.1%、 ε 体 : 0.9%	1, 5, 25, 125, 625	125	死亡	死亡 625♀ : 2/12※ ※卵管子宮部内破卵の卵殻片による卵殻子宮 壁の創傷による出血死について HBCD の投与 に起因する可能性を否定できないと事務局 は判断。
試験 4	環境省	H23.9 ~H24.2	6 週試験	α 体 : 9.4%、 β 体 : 7.6%、 γ 体 : 82.1%、 ε 体 : 0.9%(※)	1, 5, 25, 125	< 1	無精卵発生率、 胚発生率、 孵化率、 繁殖能指数	無精卵発生率 ↑ : 1 以上、 胚発生率 ↓ : 1, 25, 125、 孵化率 ↓ : 1 以上、 繁殖能指数 ↓ : 1 以上
試験 5	環境省	H23.9 ~H24.2	6 週試験	α 体 : 100%	1, 5, 25, 125	不明	—	※無精卵発生率 ↑ : 1, 5, 25、 孵化率 ↓ : 1, 5、 若鳥の死亡数 ↑ : 5、 若鳥の 14 日齢生存数 ↓ : 5、 繁殖能指数 ↓ : 5 が認められ 1, 5 では濃度相 関性が認められたが、25, 125 では濃度相関性 がなく、NOEC を設定できなかった。

(※) 事業者の実施した 20 週鳥類繁殖毒性試験と同一の被験物質を使用。

ニホンウズラの購入元・日齢の確認

1. 背景・目的

毒性試験に基づいて導出された結果を議論する前段階として、そもそも試験に供した生物が同じ系統の種なのか、購入元に違いはないか、また、導入時等の日齢に差はないかなどを整理する。試験に供した生物の系統、購入元、日齢等が異なれば、系統管理が確立されていない鳥類では特に試験結果に影響を及ぼす可能性がある。そこで、これまでに HBCD に対して実施された 5 試験について、試験に供したニホンウズラの系統、購入元及び日齢について確認した。

2. 確認方法

- ✓ 全 5 試験に供したニホンウズラの生物種、系統、購入元及び日齢の整理
- ✓ TG で推奨される供試生物（親鳥）の条件との比較

表 2 各試験法（OECD TG 等）で推奨される供試生物（親鳥）の条件

対象	項目	①20 週試験に関する TG (OECD TG206)		②6 週試験に関する TG (OECD Draft Guideline)		③新規化学物質等に係る試験の方法 (化審法 TG)	
		正常値	単位	正常値	単位	正常値	単位
親鳥の条件	曝露開始時の年齢	※	月齢又は週齢	馴化期間開始前までに、産卵のピークに達していること	月齢又は週齢	※	月齢又は週齢
	試験に用いる年齢の範囲	±1/2	週	—	週	±1/2	週

※ 使用前に繁殖可能な鳥である事の確認を推奨

3. 確認結果

(1) 生物種及び購入元に関する確認

全 5 試験に供した生物種を表 3 に整理した。各試験の供試生物種はいずれも WE 系ニホンウズラで、その購入元は全て同一の会社であった。

表 3 全 5 試験で用いた試験対象生物についての整理結果

	実施者	試験名	HBCD	供試生物種	導入時日齢	試験開始時日齢	採卵の時期	試験期間
試験 1	環境省	6 週試験	高濃度 HBCD	WE 系ニホンウズラ	35 日齢	70 日齢	70～112 日齢	平成 20 年 7 月～平成 21 年 3 月
試験 2	環境省	6 週試験	低濃度 HBCD	WE 系ニホンウズラ	35 日齢	80 日齢	80～122 日齢	平成 20 年 9 月～平成 21 年 3 月
試験 3	事業者	20 週試験	事業者 HBCD	WE 系ニホンウズラ	28 日齢	115 日齢	171～255 日齢	平成 23 年 3 月～平成 24 年 3 月
試験 4	環境省	6 週試験	事業者 HBCD	WE 系ニホンウズラ	49 日齢	93 日齢	93～135 日齢	平成 23 年 9 月～平成 24 年 3 月
試験 5	環境省	6 週試験	α 体 HBCD	WE 系ニホンウズラ	49 日齢	93 日齢	93～135 日齢	平成 23 年 9 月～平成 24 年 3 月

(2) 導入時日齢に関する確認

試験導入時のニホンウズラの日齢が適切か確認した結果を以下に示す。

表 2 より、試験 4 及び試験 5 の導入時日齢は 49 日齢、試験 1 及び試験 2 の導入時日齢は 35 日齢である。これらの関係を図示した結果を図 4 に示す。

試験法の規定では、表 2 に示す通り、②OECD Draft Guideline では 6 週試験に供する生物種は馴化開始までに産卵のピークに達していることを推奨している。具体的には、TG 本文に「ニホンウズラは 6 週齢（約 42 日齢）より産卵を開始し、その後 2～3 週間で産卵のピークに達する」という記載があることから、推奨されるニホンウズラは、馴化期間開始時に 8～9 週齢（約 54～63 日齢）であると考えられる。

以上より、6 週試験では、②OECD Draft Guideline が推奨している日齢より若干早い段階で馴化を開始していた。

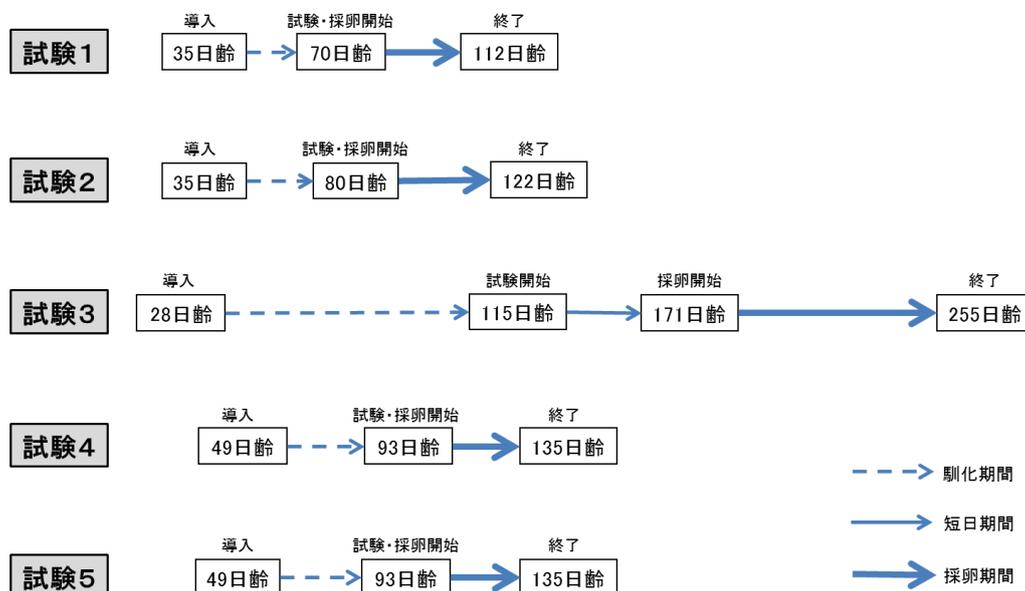


図 4 各試験のニホンウズラの入力時日齢、試験・産卵開始時日齢、終了時日齢の関係

(3) 試験開始時日齢及び採卵時日齢に関する確認

試験開始時のニホンウズラの日齢が適切か確認した結果を以下に示す。

試験開始時に最も日齢の小さいニホンウズラを用いたのは試験 1 で 70 日齢、最も大きな日齢のウズラを用いたのは試験 3 の 115 日齢だった（試験 4 で 93 日齢、試験 2 で 80 日齢、試験 5 で 93 日齢）。さらに試験法の違いを考慮すると、6 週試験と 20 週試験の採卵時の日齢に大きな差が生じることとなる。6 週試験では試験開始と共に採卵を開始する一方で、20 週試験では試験開始から 8 週間はニホンウズラを強制的な非繁殖状態に置く（ニホンウズラを短日照明下の環境で飼育するため、その期間はニホンウズラが産卵しない）。非繁殖状態の後 20 週試験では 9 週目から採卵を開始するため、採卵開始時の日齢を比較すると、試験 3 と試験 4 で 78 日齢の差になる。これらの関係を図示した結果を図 4 に示す。

(4) 選別に関する確認

①OECD TG206 及び③化審法 TG では、ニホンウズラは（元々）個体差がある生物種のため、供試前に繁殖可能な鳥かどうかについて確認することが推奨されている。これに対し、6 週試験の試験報告書を確認すると、馴化期間中に産卵状態と卵の胚の発生状態が観察されており、最終的なペアは、外観・行動等に異常が認められず、かつ有精卵を産むことが確認されたニホンウズラから選別していたことから、試験ガイドラインに準拠して試験が実施されていると判断できる。

4. まとめ

以上をまとめると次の通りであった。

- ✓ 全5 試験で試験に供した生物種、系統、その購入元は同じであることが確認されたことから、これらの試験を相互に比較することは可能であると判断される。
- ✓ 6 週試験では、②OECD Draft Guideline が推奨しているよりも若干早い日齢のニホンウズラを用いて馴化を開始していた。
- ✓ 試験3 と試験4 の試験開始時のニホンウズラの日齢を比較すると、試験3 で 115 日齢、試験4 で 93 日齢だった。また、採卵開始時のニホンウズラの日齢を比較すると、約 80 日齢の差があることが確認された。
 - これまでに実施された鳥類繁殖毒性試験では、ニホンウズラの産卵は 8 週齢（約 54 日齢）以降にピークに達し、35 週齢（約 245 日齢）まで持続することが確認されている。若いニホンウズラの差約 80 日齢が繁殖に及ぼす影響がどの程度なのかについては、別途検討が必要である。
 - なお、一般的にウズラの生殖機能の発達は光周期や照度が影響すると言われており、産卵時期のピークを一概に決めることはできない。

以上より、試験に供したニホンウズラの系統、購入元、試験導入時の日齢等の確認を行った。ニホンウズラの系統、購入元については全ての試験で同一であり、これらの試験を相互に比較することは可能であった。一方、日齢については、事業者が実施した 20 週鳥類繁殖毒性試験（試験3）と、環境省が事業者と同一の被験物質を用いて実施した 6 週鳥類繁殖毒性試験（試験4）とでは、採卵開始時期の日齢の差が生じているが、NOEC の差の原因を解明する決定的な要因とは考えられなかった。

飼料中 HBCD 濃度から換算した摂取量の確認

1. 背景・目的

OECD のラットを用いた試験や厚生労働省医薬品の反復投与毒性試験ガイドライン等では、個体別の摂餌量に基づいて被験物質の摂取量を調整し、摂取量（例えば mg/kg/day）が一定に維持されるように厳密に管理されている。一方、これまでに実施された全 5 試験を始め鳥類繁殖毒性試験では、飼料中濃度を管理するだけで用量を設定するような試験デザインになっているため、摂餌量の個体差によって HBCD の摂取量に違いが生じることから、これが結果に影響している可能性がある。そこで、ニホンウズラの HBCD 摂取量について、ばらつきの程度を確認した。

2. 確認方法

(1) 全体的な流れ

- ✓ 事業者が実施した 20 週鳥類繁殖毒性試験（試験 3）及び試験 3 と同一の被験物質を用いて実施した 6 週鳥類繁殖毒性試験（試験 4）の各投与群単位で、摂餌量の最大値、最小値及び平均値の推移を週ごとに整理する¹。
- ✓ 式 1 を用いて、飼料中の HBCD 濃度データ、ケージごと摂餌量及びケージあたりの体重²から、ラットやマウスと同じく単位体重あたり摂取量（mg/kg/day）を算出し、週ごとに投与量の変動を確認する。

$$\text{ケージあたり摂取量(mg/kg/day)} = \frac{\text{摂餌量 (g/ケージ/週)} \times \text{飼料中濃度(ppm)}}{\text{体重 (g/ケージ)} \times 7 \text{ (日/週)}} \quad \dots \text{(式 1)}$$

(2) 摂取量への換算方法及び体重の設定方法

①試験 3 について

< 摂取量の算出 >

試験 3 の報告書によると、飼料調整を行った日時は平成 23 年 3 月 31 日（第 1 回調整）、平成 23 年 5 月 16 日（第 2 回調整）及び平成 23 年 7 月 14 日（第 3 回調整）である（表 5 参照）。しかしながら、調整した飼料をそれぞれ第何週から第何週の期間に用いたかどうかまでは記載がなかったため、第 1 回調整飼料は第 1 週から第 6 週、第 2 回調整飼料は第 6 週から第 14 週、第 3 回調整飼料は第 14 週から第 20 週に用いられたと仮定し、餌中濃度を決定した（図 6 参照）。

< 体重の算出 >

¹ 摂餌量はケージ単位で測定されたデータであり、個体別の摂餌量を明らかにすることはできない。

² 体重は個体別に測定しているが、測定時期は事業者 6 週試験では投与開始前と投与後の計 2 回、事業者 20 週試験では投与開始前、第 9 週、投与終了時の計 3 回のみのため、各週で体重を把握することはできない。したがって、摂餌量はケージの合計値、体重は投与期間の平均値を用いることとする。

HBCD 摂取量算出時に必要となる体重の設定方法は、図 6 の通り、投与前と 9 週目の体重の平均を 9 週目まで、9 週目と試験終了時の体重の平均を 9 週目～試験終了時まで用いた。

表 5 試験 3 で用いられた飼料の濃度分析結果

投与群	第 1 回調整飼料 (ppm)	第 2 回調整飼料 (ppm)	第 3 回調整飼料 (ppm)
1ppm	1.16	1.03	1.17
5ppm	5.40	5.22	5.35
25ppm	28.60	26.6	22.9
125ppm	138.67	137	108
625ppm	650.33	621	506

※ 第 1 回調整飼料は、飼料混合機内の上部、中部及び下部から採取した試料を n=3 で分析した結果の平均値。

※ 第 2 回調整飼料及び第 3 回調整飼料は、飼料混合機内の上部、中部及び下部から採取した試料を n=1 で分析した結果の平均値。

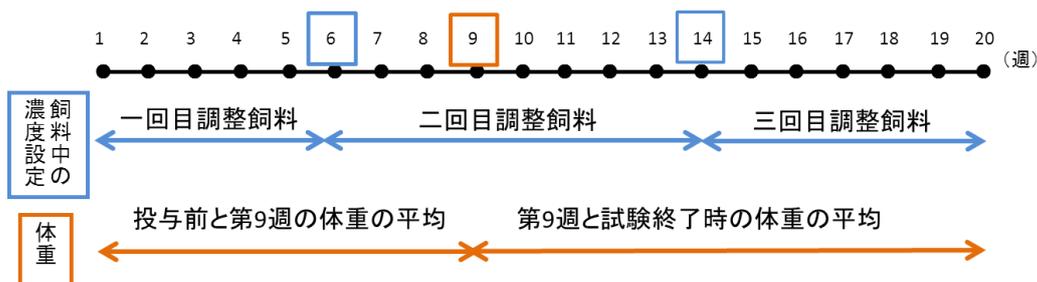


図 6 試験 3 の摂取量計算時に用いた飼料中濃度及び体重の設定

②試験 4 について

< 摂餌量の算出 >

試験 4 では、20 週試験のように飼料中濃度の測定結果が報告書に記載されていないため、摂取量計算には設定用量 (1ppm、5ppm、25ppm 及び 125ppm) をそのまま用いた。

< 体重の算出 >

投与期間における体重は、投与前体重と試験終了後体重の平均値を期間によらず一定の値と仮定して用いることとする。

3. 確認結果

(1) ケージ毎の摂餌量及びその推移

試験 3 と試験 4 におけるニホンウズラの摂餌量の比較結果を図 7 に示す。具体的には、対照群・各投与群の各週における平均摂餌量 (Average) の推移、対照群・各投与群の各週における最大値と最小値の差 (Max-Min) の推移をそれぞれ示した。

①試験 3 について

試験 3 の各群の摂餌量の差 (Max-Min) を見ると、各投与群 (特に顕著なのは 5ppm 群) の 7 週目、25ppm 群の 8 週目から 11 週目まで、625ppm 群の 3 週目の Max-Min は対照群の Max-Min に比べて大きい。一方、125ppm 群は、投与期間を通じて摂餌量の Max-Min が、他群に比べて小さい傾向が見られた。なお、摂餌量の Max-Min には用量との相関がみられるが、高用量群の方が摂餌量が少なくなる傾向は、一般的な毒性試験においても見られる現象である。

試験 3 の平均摂餌量については、全投与群において、1 週目から 7 週目まで一定又はやや減少し、7 週目から 10 週目まで増加し、その後は一定となる傾向が見られた。また、5ppm 群は投与期間を通じて、他投与群よりも平均摂餌量が多い傾向が見られた。

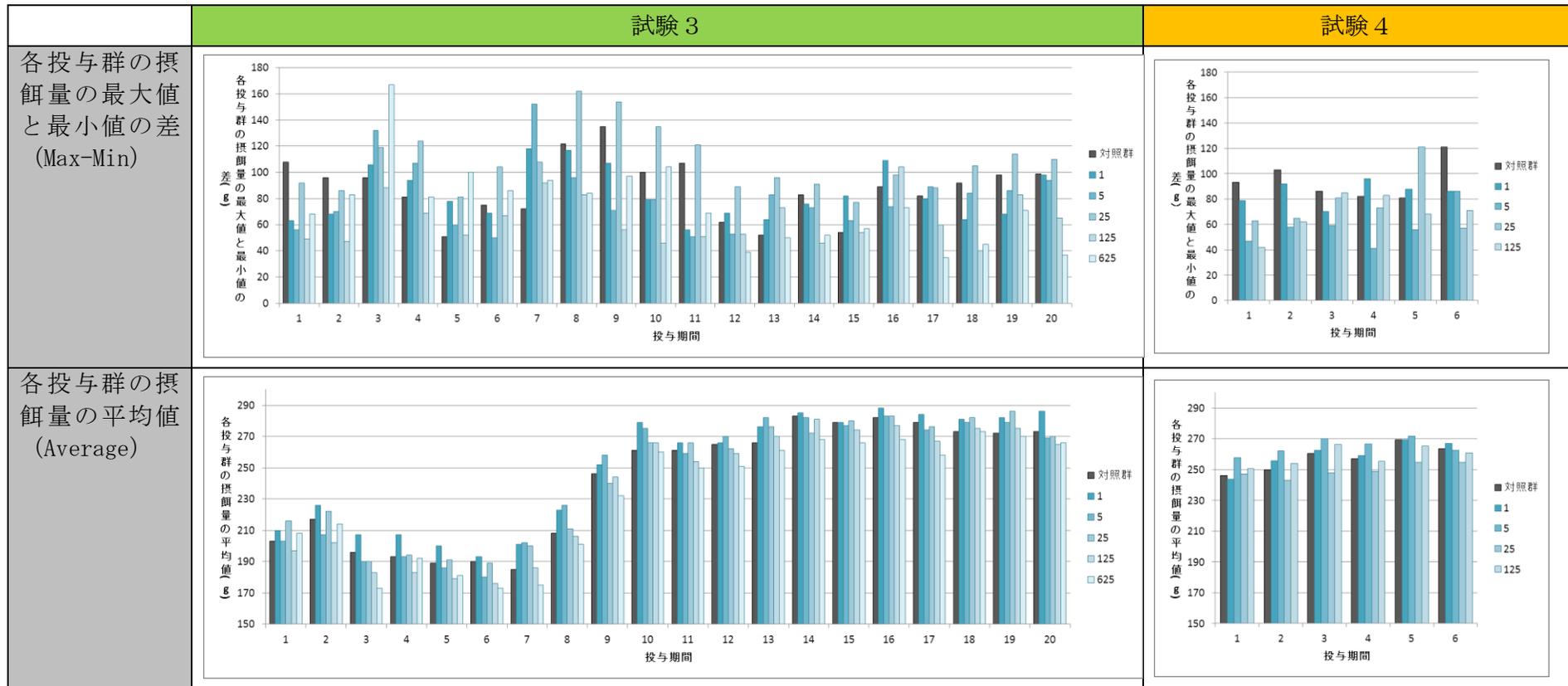
試験 3 の平均摂餌量と Max-Min で特徴的なのは、625ppm 群の 3 週目であり、平均摂餌量が約 170g であるのに対して、摂餌量の Max-Min が約 160g であり、個体差が大きく現れている。

②試験 4 について

試験 4 の各群の摂餌量の Max-Min は、1ppm 群の 4 週目、25ppm 群の 5 週目を除いて、全体的に対照群に比べて摂餌量の Max-Min が小さい傾向が見られた。特に 5ppm 群は、投与期間の全週を通じて摂餌量の Max-Min が他群に比べて小さい傾向が見られた。

試験 4 の平均摂餌量については、投与期間で大きな変化は見られなかった。

図7 試験3と試験4における摂餌量 (Max-Min 及び Average の推移)



(2) ケージ毎の体重及びその推移

試験3と試験4におけるニホンウズラの体重を推定・比較した結果を図8に示す。

①試験3について

試験3の各群の体重の差（最大値と最小値の差；Max-Min）を見ると、全投与群で9週目の体重のMax-Minが大きく、また、投与期間前は25ppm群以外の全ての投与群で、9週目及び試験終了時は全ての投与群で、対照群よりも体重のMax-Minが大きい傾向が見られた。特に、試験終了時の5ppm群及び125ppm群は、体重のMax-Minが他群に比べて顕著に大きかった。

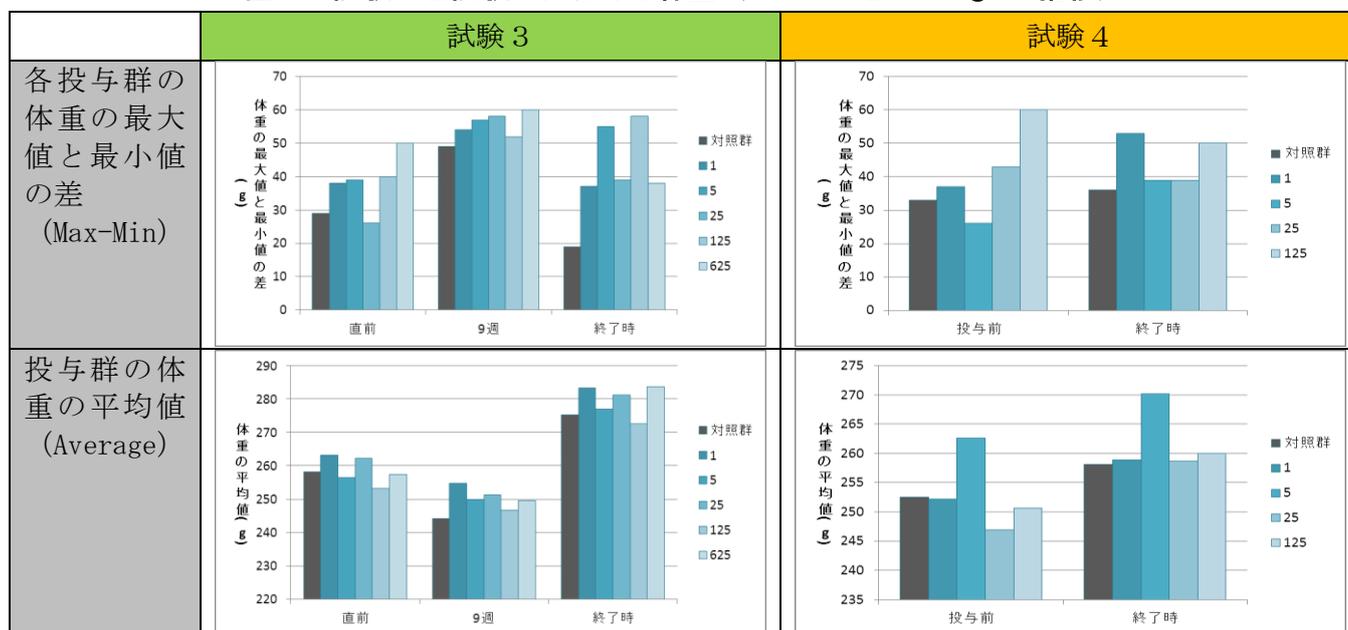
試験3の各群の平均体重の推移を見ると、全投与群で9週目において投与期間前よりも体重が減り、試験終了時における体重が増加している傾向が見られた。また、1ppm群、25ppm群、625ppm群は試験期間を通じて他群よりも平均体重が大きい傾向が見られた。

②試験4について

試験4の各群のMax-Minを見ると、125ppm群で投与試験前、1ppm投与群及び125ppm投与群で試験終了時に、それぞれ体重のMax-Minが大きかった。

試験4の各群の平均体重の推移を見ると、5ppm群の平均体重が大きかった。

図8 試験3と試験4における体重（Max-MinとAverageの推移）



(3) 投与期間における HBCD 摂取量のばらつき

上記(1)、(2)に基づいて算出した試験3と試験4のHBCD摂取量のばらつきを比較・考察した結果を図9に示す。なお、前述の通り、HBCD摂取量は次式で算出した。

$$\text{ケージあたり HBCD 摂取量(mg/kg/day)} = \frac{\text{摂餌量 (g/ケージ/週)} \times \text{飼料中濃度(ppm)}}{\text{体重 (g/ケージ)} \times 7 \text{ (日/週)}} \dots \text{(式 1)}$$

また、図9には、HBCDの平均1日摂取量を平均体重で割った数値を「理論値」と仮に名づけて赤線で追記した。当該数値には、それぞれの試験報告書に掲載されている数値を用いた。当該数値と各投与群、各週、各ケージでHBCD摂取量のばらつきを考察した。

①試験3について

1ppm群及び5ppm群は投与期間とともにHBCD摂取量が増加した。一方、25ppm群、125ppm群及び625ppm群は、第8週から第14週にかけてHBCD摂取量が多く、その後は減少して一定に推移した。

投与群ごとに摂取量のばらつきを見ると、125ppm群及び625ppm群は比較的摂取量のばらつきが小さい。また、5ppm群も第3週・第4週では、最も多く摂取したケージと、最も少なく摂取したケージの差が大きいものの、全体としては平均値の±10%の範囲で推移している。一方、1ppm群は、第8週までの期間は、平均摂取量の±10%の範囲より摂取量が多いケージや摂取量が少ないケージが多く、群内でのHBCD摂取量のばらつきが大きいと考えられた。また、25ppm群は第8週から第13週にかけて、最も多く摂取したケージと、最も少なく摂取したケージの差が大きい傾向が見られた。

②試験4について

試験4では、実際に試験に用いた飼料中濃度の測定結果が得られていないため、HBCD摂取量計算には設定用量(1ppm、5ppm、25ppm及び125ppm)を用いた。そのため、摂餌量と体重のばらつきが、そのままHBCD摂取量のばらつきとなっている。各試験について、投与群ごとに摂取量のばらつきを見ると、5ppm群と125ppm群は、ほぼ平均摂取量の±10%の範囲に収まり、また投与期間の平均摂取量もほぼ一定値であるため、群内でのHBCD摂取量のばらつきが小さいと考えられた。一方、1ppm投与群では、投与期間を通じて平均摂取量の±10%の範囲よりも多く摂取したケージが2つあり、また、平均摂取量の±10%の範囲よりも少ない摂取量であったケージが3つあった。そのため1ppm群の約半数のケージは、平均摂取量の±10%の範囲に収まらないケージが群内の半数近くあり、摂取量の差が大きいと考えられた。

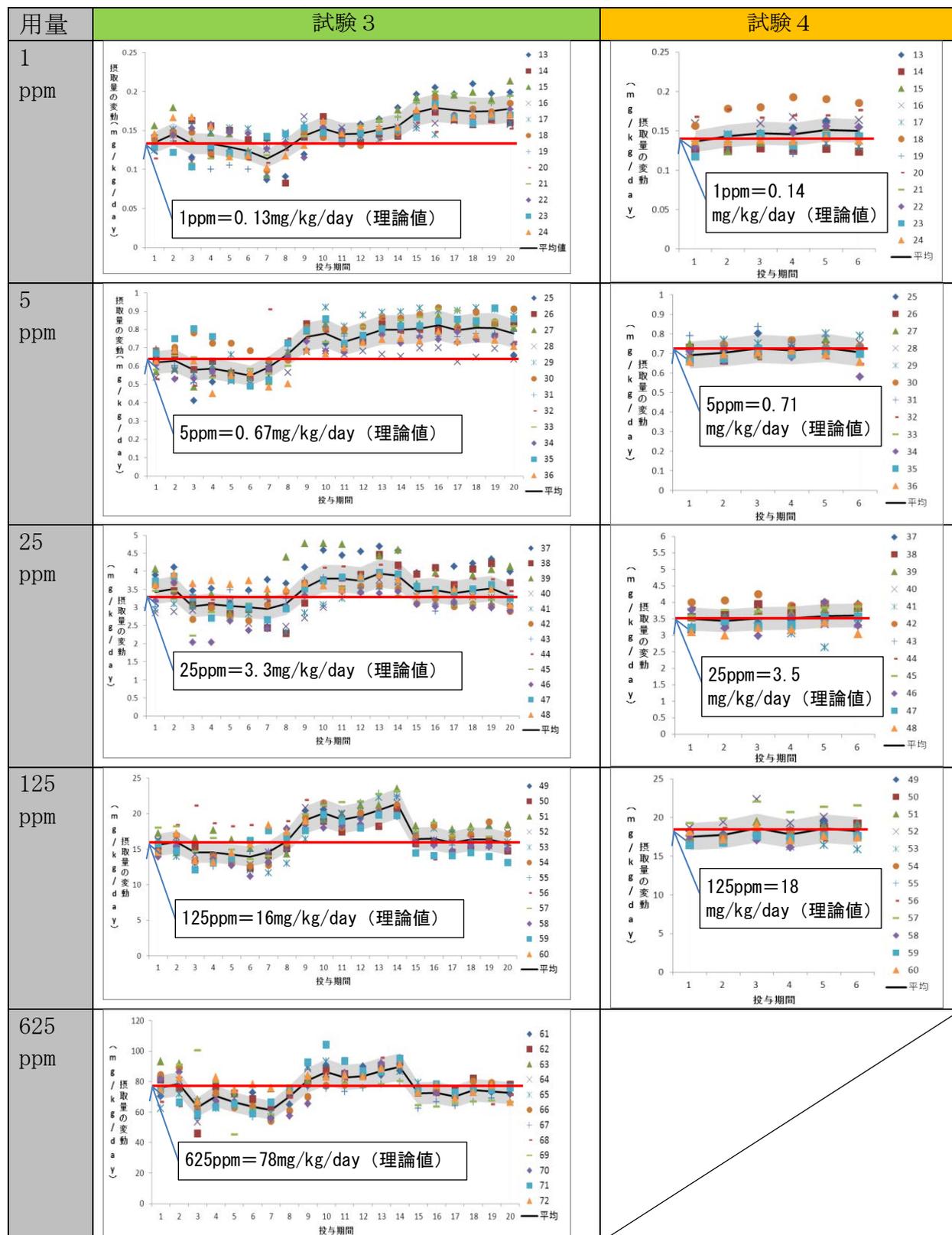
③週ごとに輪切りにした分析

週ごとに輪切りにして見てみると、投与群は同じでも、最大摂取量と最小摂取量の間が生じている差は小さくはないと考えられる。そこで、HBCD 摂取量の理論値と実際の摂取量との解離状況を把握するため、試験 3、試験 4 それぞれに対して理論値からの解離状況を整理した。その結果を、表 10 と表 11 にそれぞれ示す。当該結果より、理論値から外れた摂取量のケージが散見されたことが示唆された。

④経時的な変動の確認

最終的に平均をとれば理論値とほぼ同じ値となるが、経時的に摂取量を見ると、特に試験 3 では試験初期の HBCD 摂取量が少なく、後期において増加していることが確認された。

図9 試験3と試験4におけるHBCD摂取量の比較



※1 平均値より±10%の範囲をグレーで網掛けしている。

※2 試験4では、625ppm投与群を設定していない。

表 10 試験 3 における HBCD 摂取量の理論値と実際の値との解離

理論上の摂取量 (mg/kg/日)		実際の摂取量 (mg/kg/day)		理論上の摂取量と 実際の摂取量との解離 (%)
投与群の 設定濃度		最大値	最小値	
1ppm	0.13	0.21	0.08	-64%~36%
5ppm	0.67	0.92	0.41	-38%~39%
25ppm	3.3	4.8	2.0	-45%~38%
125ppm	16	24	11	-47%~30%
625ppm	78	104	45	-34%~42%

表 11 試験 4 における HBCD 摂取量の理論値と実際の量との解離

理論上の摂取量 (mg/kg/日)		実際の摂取量 (mg/kg/day)		理論上の摂取量と 実際の摂取量との解離 (%)
投与群の 設定濃度		最大値	最小値	
1ppm	0.14	0.19	0.12	-37%~16%
5ppm	0.71	0.83	0.58	-18%~18%
25ppm	3.5	4.3	2.6	-21%~25%
125ppm	18	22	16	-24%~12%

4. まとめ

各試験・各投与群で、体重や摂餌量にばらつきがあることが確認された。通常、OECD のラットを用いた試験では、一日当たりの被験物質の投与回数や用量の規定があり、全用量で投与容量を一定に保つことの重要性が記載されている。したがって、HBCD 摂取量（摂餌量、体重、飼料中濃度のばらつき）を小さくするような試験デザインを採用すべきと考えられる。

しかしながら、HBCD 摂取量のばらつきは試験を実施する上で注意すべきものであり、と考えられたが、これが NOEC の差の原因を解明する決定的な要因とは考えられなかった。

産卵率の回復速度の遅れの確認

1. 背景・目的

「産卵率の回復速度の遅れ¹⁾」を繁殖影響として捉え、HBCD 用量－反応関係があるのかどうかについて確認・検討した。

2. 確認方法

20 週鳥類繁殖毒性試験について、各週の平均産卵率が 80%以上となるのは何週目かを確認する。なお、ここで基準とした 80%は便宜的な値であり、テストガイドライン等に正常値の基準はない。

3. 確認結果

事業者が実施した 20 週鳥類繁殖毒性試験（試験 3）における、各群で産卵率 80%以上のケージ数を表 12 に、投与期間の平均産卵率の推移を図 13 に示す。

表 12 試験 3 における産卵率 80%以上のケージ数

	9 週	10 週	11 週	12 週	13 週	14 週	15 週	16 週	17 週	18 週	19 週	20 週
対照群	0/12	0/12	2/12	3/12	10/12	11/12	11/12	11/12	12/12	12/12	12/12	11/12
1 ppm	0/12	0/12	3/12	5/12	10/12	11/12	10/12	11/12	11/12	11/12	10/12	11/12
5 ppm	0/12	1/12	2/12	2/12	9/12	11/12	10/12	9/12	8/12	11/12	10/12	10/12
25 ppm	0/12	1/12	1/12	5/12	9/12	10/12	10/12	12/12	12/12	12/12	12/12	11/12
125 ppm	0/11	0/11	1/11	1/11	4/11	7/11	9/11	10/11	8/11	10/11	9/11	8/11
625 ppm	0/12	0/11	0/11	2/11	5/10	10/10	9/10	9/10	10/10	10/10	10/10	9/10

※（産卵率 80%以上のケージ数／産卵があったケージ数）を示している。

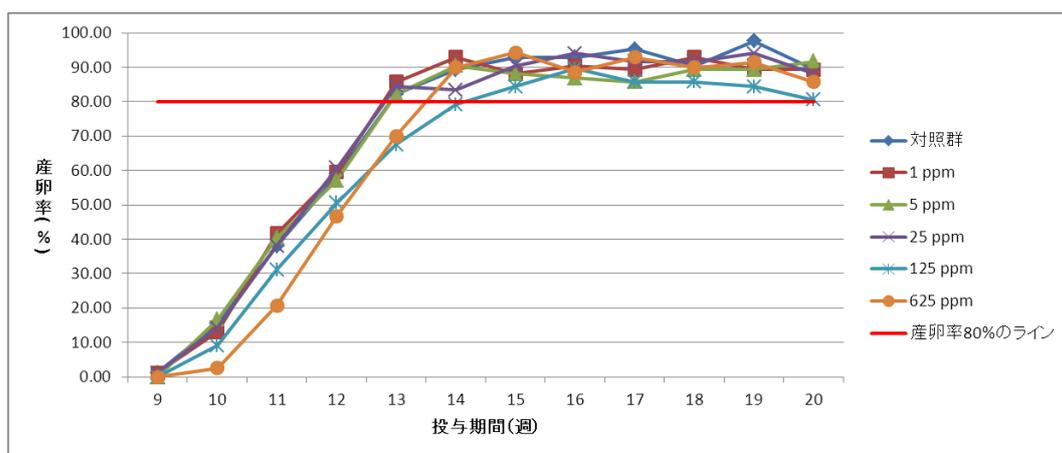


図 13 各投与群の週ごとの平均産卵率

¹⁾産卵開始時期の出現が遅れる事、また、産卵率がある一定の割合に到達するのが遅れる事と定義する。

図 13 において、便宜的に産卵率が 80%以上をひとつの基準とすると、対照群及び 1ppm 群、5 ppm 群及び 25ppm 群は 13 週目、125 ppm 群及び 625ppm の投与群は 14 週目以降に産卵率が 80%以上となった。また、14 週目以降は、いずれの投与群も産卵率が 80%以上で推移した。

4. まとめ

以上の結果から、対照群及び 1ppm 群、5ppm 群及び 25ppm 群は 13 週目、125 ppm 群及び 625ppm の投与群は 14 週目以降に産卵率が 80%以上となり、高用量群ほど、産卵の立ち上りに遅れが生じている（産卵率の回復速度が遅くなる）ことが確認された。

今回、HBCD の鳥類繁殖毒性への影響を見るために設定した産卵率の回復速度の遅れは、鳥類繁殖毒性を表現する適切なエンドポイントとして適切かどうかを議論する必要があるものの、HBCD の鳥類への毒性影響としては、少なくとも産卵に対する影響を有しているのではないかと示唆された。

アメリカチョウゲンボウに対する HBCD の影響に関する情報収集

文献	① Marteinson <i>et al.</i> 2010	② Fernie <i>et al.</i> 2010	③ Fernie <i>et al.</i> 2011	④ Marteinson <i>et al.</i> 2011	⑤ Marteinson <i>et al.</i> 2012
概要	オスのアメリカチョウゲンボウに HBCD を摂餌投与し、繁殖（生殖機能）に及ぼす影響を調査。	アメリカチョウゲンボウのつがいに HBCD を摂餌投与し、産卵数、卵重量、卵殻の厚さ等を調査。	アメリカチョウゲンボウのつがいに HBCD を摂餌投与し、繁殖成功率、卵中の HBCD 異性体の残留を調査。	オスのアメリカチョウゲンボウに HBCD を摂餌投与し、繁殖（生殖機能）に及ぼす影響を調査。	アメリカチョウゲンボウのつがいに HBCD を摂餌投与し、求愛、抱卵、飼育行動への影響を調査。
試験方法	<ul style="list-style-type: none"> 第 1 群は 3 週間、第 2 群は平均 75 日間のばく露期間。 紅花油に溶かした HBCD 54.4ng/g ww/day を餌に注射し、餌経由で投与。 	<ul style="list-style-type: none"> 紅花油に溶かした HBCD 54.4ng/g ww/day を餌に注射し、餌経由で投与。 暴露期間は、つがい形成前開始 3 週間前から、最初の雛が孵化する 2 日前まで平均 75 日間。 	<ul style="list-style-type: none"> 紅花油に溶かした HBCD 0.51μg/g bw/dayⁱ を餌に注射し、餌経由で投与。 暴露期間は、つがい形成前開始 3 週間前から、最初の雛が孵化する 2 日前まで平均 75 日間。 	<ul style="list-style-type: none"> つがいと非つがいの 2 試験区で実施。紅花油に溶かした HBCD 0.51μg/g bw/day を餌に注射し、餌経由で投与。 非つがいのオスの暴露期間は 3 週間。 つがいのオスの暴露期間は、つがい形成前開始 3 週間前から、最初の雛が孵化する 2 日前まで平均 75 日間。 	<ul style="list-style-type: none"> 紅花油に溶かした HBCD 0.51μg/g bw/day を餌に注射し、餌経由で投与。 暴露期間はつがい形成前開始 3 週間前から、最初の雛が孵化する 2 日前まで平均 75 日間。
試験結果	<ul style="list-style-type: none"> 第 1 群では精子を産生している精細管数及び血中テストステロン濃度の上昇と相関して精巣の肥大が見られた。 第 2 群では、求愛行動が低下し、テストステロン濃度は産卵が始まる求愛時期終了まで上昇が見られた。 	<ul style="list-style-type: none"> 産卵時期が早く、産卵数の増加が見られた。 卵経由で HBCD に暴露された若鳥は成長が遅く、成長期が長期化した。 餌の供給などの親の飼育行動（特にオスの）の質的な低下が見られた。 	<ul style="list-style-type: none"> 卵に残留した α-HBCD の濃度は 163.5±75.1ng/g であり、β-体やγ-体より 10 倍高かった。 産卵開始時期が早まるとともに、卵の容積、重量は減少し、産卵数は増加した。 	<ul style="list-style-type: none"> 非つがいのオスでは精巣が肥大化し、精子へ変態中の精細胞を含む輸精管が増加傾向であった。血漿中テストステロン濃度の上昇が見られた。 つがいのオスでは、求愛期間中においてテストステロン濃度が上昇し、血中遊離及び総サイロキシ 	<ul style="list-style-type: none"> 両性とも求愛期間中の求愛の鳴きかわしが減少し、メスの求愛ディスプレイが減少した。両性とも求愛期の行動の活発化が低下する傾向が見られた。 オスの求愛行動の低下は、メスの求愛行動の低下及び卵質量の低下と相関し

文献	① Marteinson <i>et al.</i> 2010	② Fernie <i>et al.</i> 2010	③ Fernie <i>et al.</i> 2011	④ Marteinson <i>et al.</i> 2011	⑤ Marteinson <i>et al.</i> 2012
				ン (T4) は一貫して減少した。	<p>ていた。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・抱卵期では、中期に巢の温度低下が見られた。 ・オスは、雛の飼育行動、飼育時の巣箱滞在、求愛ディスプレイ、餌摂取といった重要な親行動の低下が見られた。 ・メスについては、オスの行動を埋め合わせるように、より頻繁にこれらの行動が見られた。
備考	リスクプロファイル引用	リスクプロファイル引用			

- ① Marteinson *et al.* Evidence of endocrine disruption and testicular changes in male American kestrels (*Falco sparverius*) exposed to technical HBCD. *Organohalogen Compounds*. 2010; (72) 279–280.
- ② Fernie *et al.* Change in reproduction and behavior of American kestrels (*Falco sparverius*) associated with exposure to environmentally relevant concentrations of technical HBCD. *Organohalogen Compounds*. 2010; (72) 281–282.
- ③ Fernie *et al.* Reproductive changes in American kestrels (*Falco sparverius*) in relation to exposure to technical Hecabromocyclododecane flame retardant. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2011; (30) 2570–2575.
- ④ Marteinson *et al.* Diet exposure to technical hexabromocyclododecane (HBCD) affects testes and circulating testosterone and thyroxine levels in American kestrels (*Falco sparverius*). *Environmental Research*. 2011; (111) 1116–1123.
- ⑤ Marteinson *et al.* Dietary exposure to technical hexabromocyclododecane (HBCD) alters courtship, incubation and parental behaviors in American kestrels (*Falco sparverius*). *Chemosphere*. 2012; (89) 1077–1083.

ⁱ 餌中濃度 0.8ppm をアメリカチョウゲンボウの平均体重 110g、1日の平均摂餌量 70.7g で換算すると、体重当たり HBCD 摂取量は 0.51μg/g bw/day となる。