

令和2年度第1段階生物試験の試験結果について(案)

1. 令和2年度に実施した試験結果について

試験管内試験の結果等から第1段階生物試験を実施する優先順位が高いと考えられた2物質(スルファメトキサゾール、りん酸トリクレジル)について、メダカを用いた魚類短期繁殖試験(修正 TG229)を実施した(試験法の概要についてはp 2 参照)。

(1) スルファメトキサゾールの試験結果

0.987、3.38、10.2mg/L(実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、死亡率、生殖腺体指数、雄の肝臓体指数、二次性徴、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

3.38mg/L 以上のばく露群において、総産卵数、受精卵数の統計学的に有意な低値が認められた。

10.2mg/L のばく露群において、雄の肝臓中ビテロゲニン濃度の統計学的に有意な高値及び受精率、雌の肝臓体指数の統計学的に有意な低値が認められた。

(2) りん酸トリクレジルの試験結果

2.55、7.82、25.7µg/L(実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、死亡率、全長、体重、総産卵数、受精卵数、受精率、生殖腺体指数、雄の肝臓体指数、雌の二次性徴、雄の肝臓中ビテロゲニン濃度に統計学的に有意な変化は認められなかった。

2.55µg/L のばく露群において、雌の肝臓体指数の統計学的に有意な低値が認められた。

2.55µg/L 以上のばく露群において、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度、雄の二次性徴の統計学的に有意な低値が認められた。

2. 試験結果のまとめ

(1) スルファメトキサゾール

スルファメトキサゾールについては既存知見及び試験管内試験の結果からエストロゲン作用(EC_{50} 値= 9.7×10^{-6} 、比活性 0.000017)を持つことが想定されており(抗アンドロゲン作用は ND)、今回の試験結果において、有意な死亡が認められない濃度範囲において、エストロゲン作用を示す雄の肝臓中ビテロゲニン濃度の高値が認められたが、定量下限値の2倍程度の濃度上昇であり、明確なエストロゲン作用を持つことは確認できなかった。

メダカに対する有害性(総産卵数、受精卵数の低値)が認められたばく露濃度 3.38mg/L は、平成 26 年度に実施された化学物質環境実態調査での最高検出値 0.19µg/L の約 17,800 倍

であった。

メダカに対する有害性が認められなかったばく露濃度 0.987mg/L は、平成 26 年度に実施された化学物質環境実態調査での最高検出値 0.19µg/L の約 5,200 倍であった。

(2) リン酸トリクレジル

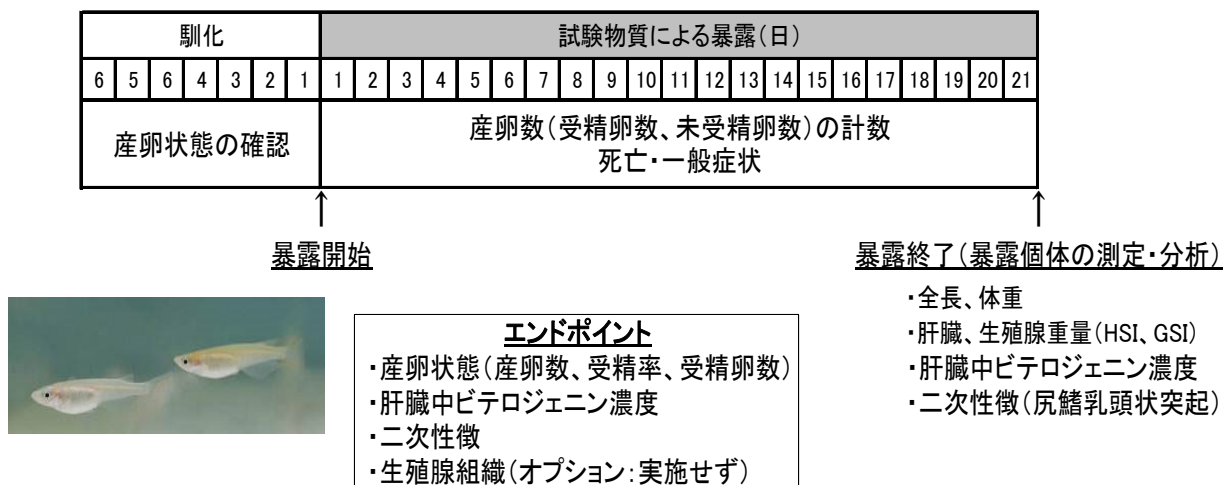
リン酸トリクレジルについては既存知見及び試験管内試験の結果からエストロゲン作用 (EC₅₀ 値=2.3×10⁻⁶、比活性 0.000029)を持つことが想定されており(抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用及び抗アンドロゲン作用は ND)、今回の試験結果において、有意な死亡が認められない濃度範囲において、エストロゲン作用を示す雄の肝臓中ビテロジェニン濃度の高値は認められなかったため、エストロゲン作用を持つことが確認できなかった。

また、抗エストロゲン作用を示す雌の肝臓中ビテロジェニン濃度の低値が認められ、抗アンドロゲン作用を示す雄の二次性徴の低値が認められたが、濃度依存性はなく、減少幅も小さかったため明確な抗エストロゲン作用及び抗アンドロゲン作用を持つことが確認できなかった。

(参考)

メダカを用いた魚類短期繁殖試験法

魚類短期繁殖試験(OECD TG229)は、成熟したメダカを雌雄混合で試験対象物質に 21 日間ばく露し、ばく露期間中の産卵状況並びにばく露終了時の生存個体の肝臓中ビテロジェニン濃度及び二次性徴を調べる試験法である。



スルファメタキサゾール

実施機関：いであ株式会社

表 1-A 試験結果

平均濃度実測値 (mg/L)	試験個体数		死亡率 (%)		全長(mm)		体重(mg)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	12	12	0	0	35.0±0.6	35.1±0.6	435±27	504±17
0.987	12	12	0	0	35.3±1.2	36.0±0.2	468±57	514±5.3
3.38	12	12	8.3	0	34.8±0.8	35.9±0.7	435±4.6	541±15
10.2	12	12	8.3	0	36.5±1.1	36.1±0.5	511±55	536±27

全長及び体重については、対照区との有意差検定を実施していない。

表 1-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (mg/L)	総産卵数 (eggs/female/day)	受精卵数 (eggs/female/day)	受精率 (%)	生殖腺体指数 (%)	
				雄	雌
対照区	24.8±1.3	24.7±1.3	99.6±0.4	0.86±0.088	9.5±1.2
0.987	20.9±2.4	20.2±2.5	96.6±1.9	0.84±0.10	9.2±0.65
3.38	19.0±0.7 *	18.1±0.7 *	95.4±2.9	0.82±0.071	9.2±1.3
10.2	18.0±2.2 *	16.2±3.8 *	89.0±12 *	0.82±0.083	9.8±0.88

表 1-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (mg/L)	肝臓体指数 (%)		ビテロゲン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	2.1±0.14	5.4±0.24	ND	1,100±248	131±8.5	0±0
0.987	2.0±0.15	4.5±0.52	1.3±0.9	1,380±261	132±9.8	0±0
3.38	2.1±0.40	4.6±0.48	1.7±1.0	1,570±325	130±13	0±0
10.2	2.0±0.33	4.4±0.57 *	2.1±1.9 *	1,460±461	125±10	0±0

表 1-D 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (mg/L)	その他の所見
対照区	特になし
0.987	特になし
3.38	特になし
10.2	特になし

結果は平均値±標準偏差.

有意差水準 (* p <0.05).

ND は未検出 (< 1 ng/mg liver).

(-)は、未測定

二次性徴：乳頭状突起を有する節板数

第1段階生物試験結果(TG229)

りん酸トリクレジル

実施機関：L S I メディエンス

表 2-A 試験結果

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	生存個体数		死亡率 (%)		全長(mm)		体重(mg)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区(nd:<0.500)	24	0	31.4 \pm 1.0	32.4 \pm 0.9	331 \pm 42	431 \pm 67		
助剤対照区(nd)	23	4.2	31.9 \pm 1.7	33.1 \pm 0.9	342 \pm 63	446 \pm 52		
2.55	22	8.3	32.0 \pm 1.6	32.5 \pm 1.2	339 \pm 43	411 \pm 90		
7.82	24	0	32.1 \pm 1.6	33.1 \pm 1.0	340 \pm 61	433 \pm 50		
25.7	24	0	31.3 \pm 1.6	33.6 \pm 1.6	323 \pm 45	414 \pm 65		

表 2-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	総産卵数 (eggs/female/day)		受精卵数 (eggs/female/day)		受精率 (%)		生殖腺体指数 (%)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区(nd:<0.500)	24.3 \pm 4.6	23.7 \pm 4.6	97.6 \pm 1.3	1.2 \pm 0.4	10.3 \pm 1.3			
助剤対照区(nd)	24.7 \pm 1.8	23.5 \pm 1.5	95.3 \pm 3.8	1.2 \pm 0.4	9.5 \pm 1.1			
2.55	20.8 \pm 3.9	19.4 \pm 4.5	93.1 \pm 6.2	1.2 \pm 0.6	11.9 \pm 5.9			
7.82	23.6 \pm 1.6	22.3 \pm 1.4	94.3 \pm 1.7	1.3 \pm 0.8	10.6 \pm 2.0			
25.7	23.6 \pm 2.6	22.7 \pm 2.4	96.2 \pm 1.4	1.0 \pm 0.4	10.6 \pm 3.6			

表 2-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	肝臓体指数 (%)		ビテロゲン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区(nd:<0.500)	2.3 \pm 0.5	5.9 \pm 0.9	0.23 \pm 0.09	1,064 \pm 147	82 \pm 10	0 \pm 0
助剤対照区(nd)	2.4 \pm 0.6	5.9 \pm 1.0	0.50 \pm 0.34	990 \pm 156	94 \pm 16	4 \pm 13
2.55	2.4 \pm 0.6	4.8 \pm 1.0*	0.73 \pm 0.07	848 \pm 170**	79 \pm 11*	0 \pm 0
7.82	2.5 \pm 1.0	5.3 \pm 1.2	0.79 \pm 0.87	785 \pm 73**	80 \pm 18**	0 \pm 0
25.7	2.7 \pm 1.1	5.8 \pm 1.0	0.48 \pm 0.05	858 \pm 175**	75 \pm 16**	0 \pm 0

表 2-D 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	その他の所見
対照区(nd:<0.500)	異常なし
助剤対照区(nd)	異常なし
2.55	異常なし
7.82	異常なし
25.7	異常なし

結果は平均値 \pm 標準偏差.

有意差水準 (** $p<0.01$, * $p<0.05$).

ビテロゲニン濃度の検出下限値は 1 ng/mg liver

二次性徴：乳頭状小突起が発現した節板数