

第 1 段階生物試験の実施結果について（案）

1. 平成 23 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 3 物質（エストロン、フェニトイン、シアナジン）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 3 参照）。

（1）エストロンの試験結果

29、112、272、1,009ng/L(実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、受精率、雌雄の死亡率、全長、体重、二次性徴、雌の生殖腺体指数、肝臓体指数に統計学的に有意な変化は認められなかった。

112ng/L 以上のばく露群において雄の肝臓中ビテロゲニン濃度は、ばく露濃度の上昇と共に増加し、統計学的に有意な高値が認められた。

272ng/L 以上のばく露群において、雄の肝臓体指数の統計学的に有意な高値が認められた。

1,009ng/L のばく露群において、産卵数、受精卵数、雄の生殖腺体指数の統計学的に有意な低値が認められ、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度の統計学的に有意な高値が認められた。

（2）フェニトインの試験結果

2.25、4.76、8.72、18.51mg/L(実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、雌雄の全長、体重、肝臓中ビテロゲニン濃度、二次性徴、雄の生殖腺体指数、雌の肝臓体指数に統計学的に有意な変化は認められなかった。

2.25mg/L 以上のばく露群において、雌雄の平衡喪失が観察され、4.76mg/L 以上のばく露群において、雌雄の横転、過運動が観察された。

雄については、18.51mg/L のばく露群において、死亡率の統計学的に有意な高値が認められた。

8.72mg/L 以上のばく露群において産卵数、受精卵数、受精率は、ばく露濃度の上昇と共に低下し、統計学的に有意な低値が認められた。また、雌の生殖腺体指数、雄の肝臓体指数の統計学的に有意な高値が認められた。

（3）シアナジンの試験結果

0.110、0.349、1.02mg/L(実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、受精率、雌雄の

全長、体重、肝臓中ビテロゲニン濃度、二次性徴、雄の生殖腺体指数に統計学的に有意な変化は認められなかった。

0.349mg/L 以上のばく露群において雌雄の肝臓体指数の統計学的に有意な低値が認められた。

1.02mg/L のばく露群において、雌雄の摂餌活動の低下、平衡喪失、水面付近での浮遊、出血が観察され、産卵数、受精卵数、雌の生殖腺体指数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) エストロン

1,009ng/L のばく露群において、産卵数、受精卵数の統計学的に有意な低値が認められたことから、有害性を示すことが示唆された。

エストロンについては既存知見からエストロゲン作用を持つことが想定され、今回の試験結果において、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、エストロゲン作用を持つことが確認された。

なお、有害性が示唆されたばく露濃度 1,009ng/L は、平成 17 年度に実施された化学物質環境実態調査において測定された最高濃度 5.8ng/L の約 170 倍であった。

(2) フェニトイン

8.72mg/L 以上のばく露群において、産卵数、受精卵数、受精率の統計学的に有意な低値が認められ、18.51mg/L 以上のばく露群において死亡が認められたことから、有害性を示すことが示唆された。このほか、2.25mg/L 以上のばく露群において雌雄の平衡喪失が観察されるなど、行動異常が認められた。

フェニトインについては既存知見から抗エストロゲン作用を持つことが想定されたが、今回の試験結果においては、抗エストロゲン作用を示す雌の肝臓中ビテロゲニン濃度の低値は認められなかったため、抗エストロゲン作用を持つことは確認できなかった。

なお、有害性が示唆されたばく露濃度 8.72mg/L は、平成 18 年度に実施された化学物質環境実態調査において測定された最高濃度 112ng/L の約 78,000 倍、雌雄の平衡喪失が観察されたばく露濃度 2.25mg/L は、約 20,000 倍であった。

(3) シアナジン

1.02mg/L のばく露群において産卵数、受精卵数の統計学的に有意な低値が認められたことから、有害性を示すことが示唆された。

シアナジンについては既存知見から抗エストロゲン作用を持つことが想定されたが、今回の試験結果においては、抗エストロゲン作用を示す雌の肝臓中ビテロゲニン濃度の低値は認められなかったため、抗エストロゲン作用を持つことは確認できなかった。

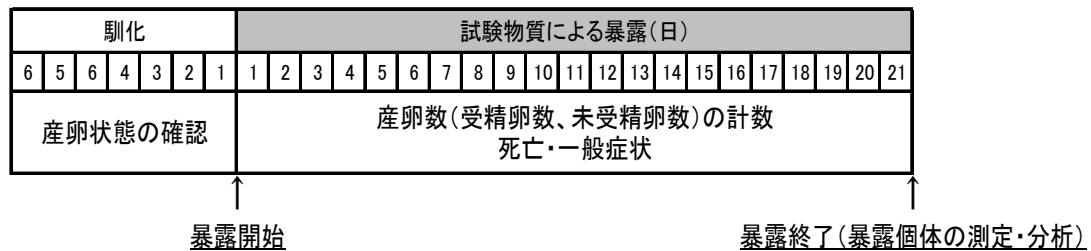
なお、有害性が示唆されたばく露濃度 1.02mg/L は、平成 18 年度に実施された化学物質

環境実態調査において測定された最高濃度 2.5ng/L の 408,000 倍であった。

(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ピテロジェニン濃度及び二次性徴を調べる試験法である。



エンドポイント

- ・産卵状態(産卵数、受精率、受精卵数)
- ・肝臓中ピテロジェニン濃度
- ・二次性徴
- ・生殖腺組織(オプション:実施せず)

- ・全長、体重
- ・肝臓、生殖腺重量(HSI、GSI)
- ・肝臓中ピテロジェニン濃度
- ・二次性徴(尻鰭乳頭状突起)

第1段階生物試験結果(TG229)

エストロン

実施機関：国立環境研究所

表 1-A 試験結果

平均濃度実測値 (ng/L)	試験個体数		死亡率 (%)		全長(mm) ^{注1)}		体重(mg) ^{注1)}	
	雄	雌 ^{注1)}	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	12	12	0	0	36.05±1.64	34.41±1.06	468.9±54.9	452.9±34.6
29	12	12	0	0	35.82±1.72	33.79±1.03	468.1±85.0	454.1±56.3
112	12	12	0	0	36.45±1.16	34.30±1.58	480.7±43.5	459.5±85.8
272	12	12	0	0	36.47±1.31	34.01±1.02	464.0±62.3	416.9±41.3
1,009	12	12	0	0	35.94±1.36	34.24±2.09	468.2±53.8	443.3±96.5

表 1-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	産卵数 (eggs/female/day)	受精卵数 (eggs/female/day)	受精率 (%)	生殖腺体指数 (%) ^{注1)}	
				雄	雌
対照区	17.8±2.7	16.2±3.9	90.4±9.07	1.00±0.32	10.81±1.86
29	18.4±3.2	17.1±4.4	91.6±9.78	1.15±0.31	10.68±1.42
112	19.2±2.6	18.5±2.4	96.2±1.29	1.17±0.27	11.23±1.76
272	16.6±2.5	16.0±2.5	95.8±2.81	0.84±0.32	11.34±1.04
1,009	10.1±2.0**	8.7±1.8*	86.1±3.62	0.48±0.23**	11.35±7.06

表 1-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	肝臓体指数 (%) ^{注1)}		ビテロゲン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴 ^{注1)}	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	2.10±0.49	5.99±0.93	3.676±4.34	955.2±189	101±21.8	0
29	2.03±0.28	5.36±0.61	47.92±54.0	651.6±391	97.3±13.6	0
112	2.08±0.54	5.48±0.77	381.8±351*	976.6±274	97.6±24.8	0
272	2.68±0.38*	5.99±0.76	3,649±665**	1,017±238	85.3±14.4	0
1,009	3.45±0.50**	5.13±1.24	5,429±687**	1,994±1,480**	85.1±18.3	0

表 1-D 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (ng/L)	その他の所見
対照区	特になし
29	特になし
112	特になし
272	特になし
1,009	特になし

結果は平均値±標準偏差

有意差水準 (** $p<0.01$, * $p<0.05$).

ビテロゲン濃度の検出下限値は 1 ng/mg liver

二次性徴：乳頭状突起数

注 1：28 日目に測定

フェニトイン

実施機関：国立環境研究所

表 2-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	36.60±0.80	35.07±0.64	450.2±3.35	467.4±26.2
2.25	12	12	0	0	35.92±0.61	35.88±0.38	434.8±26.2	466.4±25.6
4.76	12	12	0	0	36.49±1.48	35.48±0.95	434.5±62.9	462.8±10.2
8.72	11	12	8.33	0	36.54±0.12	35.96±0.52	415.0±31.0	575.5±28.0
18.51	5	11	58.33**	8.33	38.42±1.44	37.46±1.42	506.9±82.9	609.4±67.4

表 2-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (mg/L)	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	23.9±5.6	22.1±6.7	90.9±8.6	0.78±0.14	8.45±1.04
2.25	20.0±5.0	18.3±4.3	91.7±2.8	1.32±0.77	8.32±0.76
4.76	19.7±2.0	17.1±3.2	86.1±9.3	1.00±0.26	8.97±1.43
8.72	9.4±1.8**	4.5±1.1**	48.5±12.1**	1.04±0.31	19.26±10.45**
18.51	5.4±1.1**	1.0±0.4**	17.8±4.1**	0.44±0.26	17.00±9.67**

表 2-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (mg/L)	肝臓体指数 (%)		ビリロゲニン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	1.31±0.55	3.56±1.19	2.97±1.45	780.14±72.47	104.58±22.30	0
2.25	1.43±0.36	2.79±1.03	1.38±0.45	684.56±109.58	95.08±14.34	0
4.76	1.57±0.35	2.85±1.18	4.20±6.72	1,013.49±183.26	99.50±19.68	0
8.72	2.22±0.30**	2.98±1.31	0.96±0.38	661.04±199.14	99.09±21.00	0
18.51	3.43±0.47**	3.38±0.88	1.36±0.93	693.01±242.76	85.00±14.75	0

表 2-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
2.25	平衡喪失
4.76	横転、平衡喪失、過運動
8.72	横転、平衡喪失、過運動
18.51	横転、平衡喪失、過運動

結果は平均値±標準偏差。

有意差水準 (** $p<0.01$, * $p<0.05$).

ビリロゲニン濃度の検出下限値は 1 ng/mg liver

二次性徴：乳頭状突起数

シアナジン

実施機関：いであ株式会社

表 3-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	35.4±0.61	36.4±0.46	476±8.9	592±18
0.110	12	12	0	0	34.6±0.42	35.8±0.30	437±31	546±15
0.349	12	11	0	8.3	35.3±1.1	35.8±0.95	483±50	515±28
1.02	11	11	8.3	8.3	34.4±0.76	35.0±1.0	419±40	470±49

表 3-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 (mg/L)	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	20.1±4.9	18.1±4.2	90.4±3.3	0.71±0.085	10±1.7
0.110	13.6±3.3	11.6±3.6	84.6±6.6	0.67±0.038	10±1.6
0.349	14.0±5.1	11.5±5.8	79.8±19	0.67±0.11	8.3±0.93
1.02	7.8±5.1*	6.3±5.5*	71.1±20	0.55±0.080	7.6±0.88*

表 3-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	2.3±0.34	4.8±0.72	1.9±2.8	2,360±617	98±9.9	0
0.110	2.2±0.34	4.2±0.30	ND	2,570±528	99±9.1	0
0.349	1.8±0.18*	3.4±0.69*	ND	2,550±896	96±5.9	0
1.02	1.7±0.14*	3.5±0.33*	ND	2,860±679	94±23	0

表 3-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
0.110	特になし
0.349	特になし
1.02	摂餌活動の低下、平衡喪失、水面付近での浮遊、出血等

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).

二次性徴：乳頭状突起数