

## 平成 29 年度及び平成 30 年度第 2 段階生物試験(4-*t*オクチルフェノール)の試験結果について(概要版案)

### 1. 平成 29 年度及び平成 30 年度に実施した試験結果について

第 2 段階生物試験として、4-*t*オクチルフェノール(CAS No. 140-66-9、4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノール)について、メダカ拡張 1 世代繁殖試験(MEOGRT:OECD TG240)を実施した。

メダカ(*Oryzias latipes*)を用い、0.926、3.21、9.91、31.1、99.2  $\mu$ g/L(実測値)のばく露濃度で試験(全ばく露期間：19 週間)を行った。

テストガイドラインが規定する試験有効性基準をすべて満たしていた。

#### (1) F0 世代(ばく露期間：4 週間)

生存個体数、雌雄の全長、雌雄の体重、総産卵数、受精卵数、受精率、雌の肝臓体指数、雄の二次性徴に有意な変化は認められなかった。

3.21、9.91、99.2  $\mu$ g/L 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低値が認められた。

9.91  $\mu$ g/L 以上のばく露群において、雄の生殖腺体指数の統計学的に有意な高値が認められた。

31.1  $\mu$ g/L 以上のばく露群において、雌の生殖腺体指数の統計学的に有意な高値が認められた。

雌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、31.1  $\mu$ g/L 以上のばく露群において、統計学的に有意な高値が認められた。

#### (2) F1 世代(ばく露期間：16 週間)

ふ化率、生存率(4 週齢、成熟個体)、雄の全長(10 週齢)、雄の体重(10 週齢)、雄の肝臓体指数(10 週齢)、雄の生殖腺体指数(10 週齢)、雄の肝臓中ビテロゲニン濃度(10 週齢)、雌の生殖腺体指数(成熟個体)に統計学的に有意な変化は認められなかった。

0.926、3.21、9.91  $\mu$ g/L のばく露群において、ふ化日数の統計学的に有意な低値が認められた。

0.926、3.21、9.91、99.2  $\mu$ g/L のばく露群において、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度(10 週齢)に統計学的に有意な高値が認められた。

0.926  $\mu$ g/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(成熟個体)、雌の肝臓体指数(10 週齢、成熟個体)の統計学的に有意な低値が認められた。

9.91  $\mu$ g/L 以上のばく露群において、総産卵数、受精卵数、雄の二次性徴(成熟個体

10 週齢)の統計学的に有意な低値が認められた。

31.1  $\mu\text{g/L}$  以上のばく露群において、生存率(9 週齢)、雄の二次性徴(10 週齢)、雌の生殖腺体指数(10 週齢)、雌の全長(成熟個体)、雌の体重(成熟個体)の統計学的に有意な低値が認められた。

99.2  $\mu\text{g/L}$  のばく露群において、雄の全長(成熟個体)、雄の体重(成熟個体)、雄の肝臓体指数(成熟個体)、雄の肝臓中ビテロゲニン濃度(成熟個体)の統計学的に有意な高値が認められ、雌の全長(10 週齢)、雌の体重(10 週齢)、受精率、雄の生殖腺体指数(成熟個体)の統計学的に有意な低値が認められた。

### (3) F2 世代(ばく露期間：2 週間)

0.926  $\mu\text{g/L}$  以上のばく露群において、ふ化日数の統計学的に有意な低値が認められた。

99.2  $\mu\text{g/L}$  のばく露群において、ふ化率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

4-*t*オクチルフェノールについては、既存知見(別紙参照)及び試験管内試験の結果(平成 20 年度に実施したメダカエストロゲン受容体  $\alpha$  レポータージーン試験の結果として  $\text{EC}_{50}$  値は、 $3.5 \times 10^{-8} \text{ M}$  で、17 $\beta$ -エストラジオールに対する相対活性比は、0.005 であった)から、エストロゲン作用を持つことが想定された。

今回の試験結果において、死亡が認められなかった濃度範囲(99.2  $\mu\text{g/L}$  以下)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統計学的に有意な高値が認められ、エストロゲン作用を持つことが確認された。

また、9.91  $\mu\text{g/L}$  以上のばく露群において総産卵数及び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、メダカの繁殖に対する有害性を示すことが認められた。

なお、過年度に第 1 段階生物試験として実施したメダカを用いた魚類短期繁殖試験(OECD TG229)では、250  $\mu\text{g/L}$  のばく露群においても総産卵数、受精卵数及び受精率に有意な変化は認められなかった(参考資料 3-2 参照)。

また、この試験結果から、4-*t*オクチルフェノールはメダカに対してエストロゲン作用を示すことが確認されたとともに、本物質がメダカの繁殖に及ぼす影響に関する最低影響濃度(LOEC)として、9.91  $\mu\text{g/L}$  が得られた。

メダカの繁殖に対する有害性が示唆されたばく露濃度 9.91  $\mu\text{g/L}$  は、平成 24 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 0.031  $\mu\text{g/L}$  の約 320 倍であった。

また、メダカの繁殖に対する有害性が示唆されなかったばく露濃度 3.21  $\mu\text{g/L}$  は、平成 24 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 0.031  $\mu\text{g/L}$  の約 100 倍であった。

(別添)

## メダカ拡張1世代繁殖試験結果(MEOGRT: OECD TG240)

4-*t*オクチルフェノール

実施機関：株式会社LSIメディエンス

## 1. F0世代

表 1-A 試験結果

平均濃度実測値 ( $\mu$ g/L)	試験個体数		生存個体数		全長(mm)		体重(mg)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	12	12	12	12	32.4 $\pm$ 1.1	33.3 $\pm$ 1.0	344 $\pm$ 41	467 $\pm$ 46
0.926	6	6	6	6	32.8 $\pm$ 0.9	33.9 $\pm$ 1.3	370 $\pm$ 29	454 $\pm$ 35
3.21	6	6	6	5	32.3 $\pm$ 0.9	33.8 $\pm$ 1.4	332 $\pm$ 21	472 $\pm$ 46
9.91	6	6	6	6	32.6 $\pm$ 1.6	34.0 $\pm$ 0.4	343 $\pm$ 55	475 $\pm$ 28
31.1	6	6	6	6	32.5 $\pm$ 1.4	32.4 $\pm$ 1.2	348 $\pm$ 45	419 $\pm$ 50
99.2	6	6	6	6	32.9 $\pm$ 1.0	33.7 $\pm$ 0.8	359 $\pm$ 30	452 $\pm$ 37

表 1-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ( $\mu$ g/L)	総産卵数	受精卵数	受精率	生殖腺体指数 (%)	
	(eggs/day/pair)	(eggs/day/pair)	(%)	雄	雌
対照区	36.8 $\pm$ 3.8	35.9 $\pm$ 4.0	97.6 $\pm$ 1.9	1.2 $\pm$ 0.2	10.3 $\pm$ 1.4
0.926	38.9 $\pm$ 6.6	37.1 $\pm$ 5.8	95.7 $\pm$ 2.5	1.3 $\pm$ 0.2	11.2 $\pm$ 0.7
3.21	38.9 $\pm$ 5.5	37.6 $\pm$ 5.4	96.4 $\pm$ 2.2	1.4 $\pm$ 0.2	10.5 $\pm$ 1.2
9.91	36.4 $\pm$ 2.5	35.7 $\pm$ 2.3	98.0 $\pm$ 1.2	1.5 $\pm$ 0.3*	10.9 $\pm$ 0.8
31.1	35.8 $\pm$ 5.8	35.1 $\pm$ 5.6	98.0 $\pm$ 0.9	1.6 $\pm$ 0.2*	12.3 $\pm$ 1.9*
99.2	36.5 $\pm$ 4.1	35.6 $\pm$ 4.2	97.4 $\pm$ 1.4	1.4 $\pm$ 0.3*	11.8 $\pm$ 1.7*

表 1-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ( $\mu$ 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	2.8 $\pm$ 0.5	6.2 $\pm$ 0.6	3.90 $\pm$ 11.21	509 $\pm$ 89	100 $\pm$ 11	0
0.926	2.5 $\pm$ 0.2	5.7 $\pm$ 0.5	9.85 $\pm$ 13.93	422 $\pm$ 28	82 $\pm$ 13	0
3.21	2.2 $\pm$ 0.1*	6.0 $\pm$ 0.8	4.29 $\pm$ 4.27	478 $\pm$ 127	92 $\pm$ 15	0
9.91	2.1 $\pm$ 0.3*	6.2 $\pm$ 0.9	4.35 $\pm$ 8.89	470 $\pm$ 236	104 $\pm$ 16	0
31.1	2.6 $\pm$ 0.3	6.1 $\pm$ 0.7	6.44 $\pm$ 5.46*	847 $\pm$ 592*	96 $\pm$ 12	0
99.2	2.4 $\pm$ 0.5*	6.0 $\pm$ 1.1	38.3 $\pm$ 3.9*	728 $\pm$ 157*	95 $\pm$ 15	0

2. 1. F1世代(胚、仔魚、亜成体期)

表 2-A 試験結果

平均濃度実測値 ( $\mu$ g/L)	ふ化率 (%)	ふ化日数 (day)	ふ化後生存率 (%)
対照区	98 $\pm$ 5	8.7 $\pm$ 0.2	NA
0.926	98 $\pm$ 4	8.0 $\pm$ 0.1*	NA
3.21	99 $\pm$ 2	7.9 $\pm$ 0.1*	NA
9.91	98 $\pm$ 3	8.0 $\pm$ 0.2*	NA
31.1	97 $\pm$ 3	8.3 $\pm$ 0.1	NA
99.2	97 $\pm$ 5	8.7 $\pm$ 0.4	NA

表 2-B 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ( $\mu$ g/L)	生存率 (%)		全長(mm)(10週齢)		体重(mg)(10週齢)	
	(4週目)	(9週目)	雄	雌	雄	雌
対照区	95 $\pm$ 8	95 $\pm$ 8	25.8 $\pm$ 1.1	27.0 $\pm$ 1.1	174 $\pm$ 25	229 $\pm$ 32
0.926	100 $\pm$ 0	100 $\pm$ 0	27.2 $\pm$ 1.0	28.0 $\pm$ 1.1	203 $\pm$ 21	252 $\pm$ 31
3.21	93 $\pm$ 10	93 $\pm$ 10	26.6 $\pm$ 1.4	27.8 $\pm$ 1.3	192 $\pm$ 28	249 $\pm$ 37
9.91	100 $\pm$ 0	96 $\pm$ 4	27.0 $\pm$ 1.1	27.2 $\pm$ 1.1	197 $\pm$ 21	225 $\pm$ 22
31.1	92 $\pm$ 5	92 $\pm$ 5*	26.2 $\pm$ 1.2	26.4 $\pm$ 1.4	187 $\pm$ 25	212 $\pm$ 34
99.2	93 $\pm$ 6	93 $\pm$ 6*	25.5 $\pm$ 1.0	25.0 $\pm$ 0.9*	182 $\pm$ 24	179 $\pm$ 24*

表 2-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ( $\mu$ 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	2.9 $\pm$ 0.5	6.0 $\pm$ 1.0	0.56 $\pm$ 0.25	789 $\pm$ 264	66 $\pm$ 12	0
0.926	2.1 $\pm$ 0.3	4.7 $\pm$ 0.7*	0.02 $\pm$ 0.11	1,630 $\pm$ 376*	67 $\pm$ 20	0
3.21	2.3 $\pm$ 0.5	5.2 $\pm$ 0.8*	11.7 $\pm$ 28.6	1,030 $\pm$ 477*	54 $\pm$ 18	0
9.91	2.0 $\pm$ 0.3	4.9 $\pm$ 0.6*	3.80 $\pm$ 4.21	1,180 $\pm$ 362*	67 $\pm$ 12	0
31.1	2.5 $\pm$ 0.5	5.1 $\pm$ 0.8*	0.37 $\pm$ 0.24	1,050 $\pm$ 456	54 $\pm$ 15*	0
99.2	3.2 $\pm$ 0.5	4.9 $\pm$ 1.1*	116 $\pm$ 165	1,640 $\pm$ 1,050*	15 $\pm$ 15*	0

表 2-D 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ( $\mu$ g/L)	生殖腺体指数 (%)	
	雄	雌
対照区	1.5 $\pm$ 0.5	8.2 $\pm$ 2.3
0.926	1.5 $\pm$ 0.4	8.9 $\pm$ 2.9
3.21	1.2 $\pm$ 0.4	8.3 $\pm$ 3.1
9.91	1.3 $\pm$ 0.3	7.5 $\pm$ 0.9
31.1	1.5 $\pm$ 0.5	6.7 $\pm$ 2.6*
99.2	1.0 $\pm$ 0.7	4.5 $\pm$ 3.1*

## 2. 2. F1世代(成熟個体)

表 2-E 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ( $\mu$ g/L)	生存率 (%)		全長(mm)		体重(mg)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	100	100	31.3 $\pm$ 1.4	31.0 $\pm$ 1.1	305 $\pm$ 42	367 $\pm$ 34
0.926	100	100	33.6 $\pm$ 0.7	32.1 $\pm$ 0.8	361 $\pm$ 28	384 $\pm$ 28
3.21	100	100	31.7 $\pm$ 1.1	31.8 $\pm$ 1.4	301 $\pm$ 27	383 $\pm$ 44
9.91	100	100	32.3 $\pm$ 1.1	30.5 $\pm$ 0.4	317 $\pm$ 31	338 $\pm$ 16
31.1	100	100	31.7 $\pm$ 1.3	30.0 $\pm$ 0.5*	303 $\pm$ 35	327 $\pm$ 29*
99.2	100	100	33.7 $\pm$ 1.5*	30.1 $\pm$ 0.5*	400 $\pm$ 70*	315 $\pm$ 31*

表 2-F 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ( $\mu$ g/L)	総産卵数 (eggs/day/pair)	受精卵数 (eggs/day/pair)	受精率 (%)	生殖腺体指数 (%)	
				雄	雌
対照区	27.9 $\pm$ 2.9	27.1 $\pm$ 2.9	97.3 $\pm$ 1.8	1.4 $\pm$ 0.4	11.4 $\pm$ 1.3
0.926	27.2 $\pm$ 3.3	26.5 $\pm$ 3.2	97.5 $\pm$ 1.4	1.4 $\pm$ 0.2	11.2 $\pm$ 1.0
3.21	28.0 $\pm$ 3.1	26.8 $\pm$ 3.1	95.8 $\pm$ 3.0	1.4 $\pm$ 0.2	12.1 $\pm$ 1.7
9.91	25.0 $\pm$ 2.4*	24.5 $\pm$ 2.5*	98.2 $\pm$ 0.7	1.5 $\pm$ 0.2	11.6 $\pm$ 0.9
31.1	25.7 $\pm$ 3.0*	25.0 $\pm$ 2.9*	97.2 $\pm$ 1.4	1.7 $\pm$ 0.3	13.6 $\pm$ 0.8
99.2	16.1 $\pm$ 8.2*	12.4 $\pm$ 9.1*	68.1 $\pm$ 27.8*	0.7 $\pm$ 0.6*	10.7 $\pm$ 2.7

表 2-G 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ( $\mu$ 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	2.3 $\pm$ 0.3	8.0 $\pm$ 0.8	1.16 $\pm$ 3.37	430 $\pm$ 327	81 $\pm$ 14	0
0.926	2.0 $\pm$ 0.5	6.3 $\pm$ 1.1*	9.90 $\pm$ 25.57	1,070 $\pm$ 719*	83 $\pm$ 10	0
3.21	1.9 $\pm$ 0.4	7.1 $\pm$ 1.1*	9.81 $\pm$ 11.45	1,010 $\pm$ 260*	69 $\pm$ 13	0
9.91	2.0 $\pm$ 0.3	6.8 $\pm$ 0.7*	165 $\pm$ 409	929 $\pm$ 146*	72 $\pm$ 18*	0
31.1	2.5 $\pm$ 0.5	7.1 $\pm$ 0.9*	17.2 $\pm$ 37.9	749 $\pm$ 200*	59 $\pm$ 12*	0
99.2	4.1 $\pm$ 1.1*	5.6 $\pm$ 1.0*	779 $\pm$ 1,260*	936 $\pm$ 392*	25 $\pm$ 21*	0

### 3. F2世代(胚、仔魚期)

表 3-A 試験結果

平均濃度実測値 ( $\mu$ g/L)	ふ化率 (%)	ふ化日数 (day)	ふ化後生存率 (%)	生存率 (%) (16日目)
対照区	95 $\pm$ 5	9.0 $\pm$ 0.2	NA	NA
0.926	91 $\pm$ 4	8.2 $\pm$ 0.2*	NA	NA
3.21	99 $\pm$ 2	8.2 $\pm$ 0.1*	NA	NA
9.91	96 $\pm$ 7	8.1 $\pm$ 0.1*	NA	NA
31.1	88 $\pm$ 9	8.1 $\pm$ 0.1*	NA	NA
99.2	82 $\pm$ 7*	8.1 $\pm$ 0.2*	NA	NA

結果は平均値 $\pm$ 標準偏差.

有意差水準 (\* $p$ <0.05).

ビテロゲン濃度 のND は未検出 (< 1 ng/mg liver).

(-)は、未測定

NA: not available

二次性徴：乳頭状小突起を有する節板数

有効数字は測定精度を考慮して、

- ・ふ化率・ふ化後生存率・生存率は2桁(ただし1の位までとする)
- ・肝臓体指数および生殖腺体指数は、1未満は1桁、1以上は2桁
- ・それ以外のエンドポイントは3桁(ただし二次性徴は1の位まで、ビテロゲンは小数点以下2桁までとする)
- ・標準偏差の桁数は平均値の位に合わせる