

令和3年度及び令和4年度第1段階生物試験の試験結果について(案)

1. 令和3年度及び令和4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(クロルピリホス、ペルメトリン、安息香酸ベンジル)について、メダカを用いた魚類短期繁殖試験(OECD TG229)を実施した(試験法の概要についてはp3参照)。

(1) クロルピリホスの試験結果

0.145、1.06、6.87 $\mu\text{g/L}$ (実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、雌雄の死亡率、雌の生殖腺体指数、雌の肝臓体指数、雌雄の二次性徴、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。

1.06 $\mu\text{g/L}$ のばく露群において、雄の肝臓中ビテロゲニン濃度に統計学的に有意な高値が認められた。

1.06 $\mu\text{g/L}$ 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低値が認められた。

6.87 $\mu\text{g/L}$ のばく露群において、遊泳異常、外見異常が認められ、雌雄の全長、雌雄の体重、総産卵数、受精卵数、受精率の統計学的に有意な低値及び雄の肝臓体指数の統計学的に有意な高値が認められた。

(2) ペルメトリンの試験結果

0.288、1.49、8.43 $\mu\text{g/L}$ (実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、雌雄の死亡率、雌雄の全長、雄の体重、雌雄の生殖腺体指数、雄の肝臓体指数、雄の肝臓中ビテロゲニン濃度、雌雄の二次性徴に統計学的に有意な変化は認められなかった。

1.49 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露群において、雌の体重、雌の肝臓体指数の統計学的に有意な低値が認められた。

8.43 $\mu\text{g/L}$ のばく露群において、総産卵数、受精卵数、受精率、雌の肝臓中ビテロゲニン濃度の統計学的に有意な低値が認められた。

(3) 安息香酸ベンジルの試験結果

34.4、123、376 $\mu\text{g/L}$ (実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、雌雄の死亡率、総産卵数、雄の生殖腺体指数、雌の肝臓体指数、雄の肝臓中ビテロゲニン濃度、雌雄の二次性徴に統計学的に有意な変化は認められなかった。

34.4 $\mu\text{g/L}$ のばく露群において、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。

123 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露群において、受精率の統計学的に有意な低値が認められた。

376 $\mu\text{g/L}$ のばく露群において、受精卵数の統計学的に有意な低値及び雌の生殖腺体指数、雄の肝臓体指数の有意な高値が認められた。

なお、全長、体重については、統計処理を実施していない。

2. 試験結果のまとめ

(1) クロルピリホス

クロルピリホス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(PC_{10} 値= 1.1×10^{-6} M、比活性 0.000019)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陰性)、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 3.4 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及び抗エストロゲン作用並びにアンドロゲン作用を持つことは確認できなかった。

6.87 $\mu\text{g/L}$ のばく露群において認められた様々な有意な変化については、全身毒性を示していると考えられた。

メダカに対する全身毒性が認められたばく露濃度 6.87 $\mu\text{g/L}$ は、平成 2 年度(1990 年度)に実施された化学物質環境実態調査(未検出)での検出下限値 0.1 $\mu\text{g/L}$ の約 70 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 1.06 $\mu\text{g/L}$ は、平成 2 年度(1990 年度)に実施された化学物質環境実態調査(未検出)での検出下限値 0.1 $\mu\text{g/L}$ の約 11 倍であった。

(2) ペルメトリン

ペルメトリン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(PC_{50} 値= 5.5×10^{-6} M、比活性 0.00000331)を持つことが想定されており(抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用は陰性)、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なかったため、エストロゲン作用を持つことは確認できなかった。

また、アンドロゲン作用を持つことも確認できなかった。

雌の肝臓中ビテロゲニン濃度及び総産卵数の統計学的に有意な低値が認められたため、抗エストロゲン作用を持つことが示唆された。

メダカに対する有害性(総産卵数、受精卵数、受精率の低値)が認められたばく露濃度 8.43 $\mu\text{g/L}$ は、平成 30 年度(2018 年度)に実施された化学物質環境実態調査(未検出)での検出下限値 0.00031 $\mu\text{g/L}$ の約 27,200 倍であった。

メダカに対する有害性(総産卵数、受精卵数、受精率の低値)が認められなかったばく露濃度 1.49 $\mu\text{g/L}$ は、平成 30 年度(2018 年度)に実施された化学物質環境実態調査(未検出)での検出下限値 0.00031 $\mu\text{g/L}$ の約 4,800 倍であった。

(3) 安息香酸ベンジル

安息香酸ベン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=6.0×10⁻⁵ M、比活性 0.0000028)を持つことが想定されており(抗エストロゲン作用、アンドロゲン作用については未実施)、今回の試験結果において、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なかったため、エストロゲン作用を持つことは確認できなかった。

また抗エストロゲン作用及びアンドロゲン作用を持つことも確認できなかった。

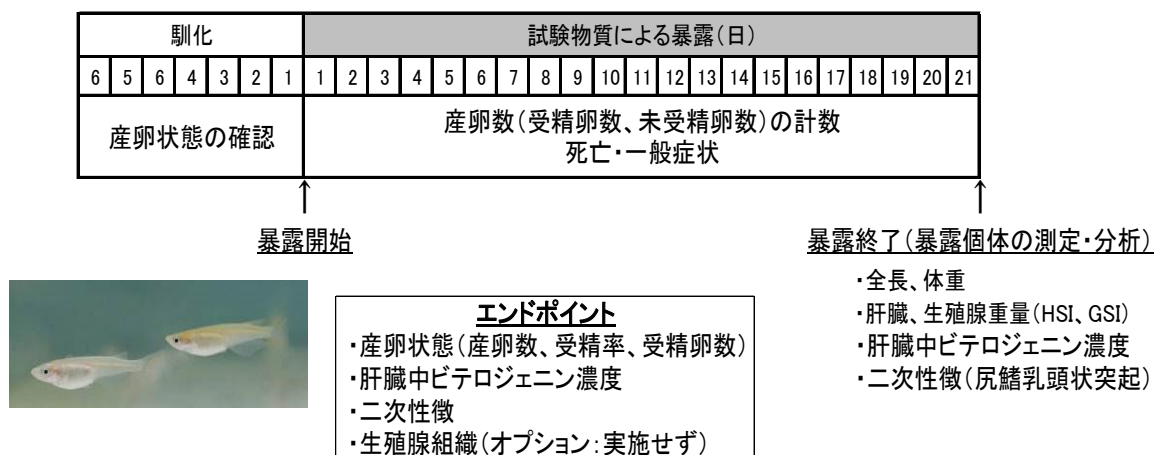
メダカに対する有害性(受精率の低値)が認められたばく露濃度 123µg/L は、平成 28 年度(2016 年度)に実施された化学物質環境実態調査での最高検出値 0.072µg/L の約 1,700 倍であった。

メダカに対する有害性(受精率の低値)が認められなかったばく露濃度 34.4µg/L は、平成 28 年度(2016 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 0.072µg/L の約 480 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ビテロゲニン濃度及び二次性徴を調べる試験法である。



第1段階生物試験結果(TG229)

クロルピリホス

実施機関：株式会社三菱ケミカルリサーチ

表 1-A 試験結果

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	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(nd:<0.02)	12	12	0	0	30.2 \pm 1.9	30.2 \pm 1.5	259 \pm 40	347 \pm 43
助剤対照区(nd)	12	12	0	0	29.4 \pm 1.5	31.1 \pm 1.6	246 \pm 40	350 \pm 60
0.145	12	12	0	8	29.8 \pm 1.4	30.0 \pm 1.4	254 \pm 39	315 \pm 43
1.06	12	12	0	8	29.8 \pm 1.0	30.0 \pm 1.6	272 \pm 31	330 \pm 51
6.87	12	12	0	17	26.8 \pm 1.2**	29.0 \pm 1.6**	182 \pm 26**	300 \pm 52 *

表 1-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
対照区(nd:<0.02)	21.9 \pm 1.4	20.8 \pm 1.3	94.7 \pm 1.1	0.943 \pm 0.21	11.4 \pm 123
助剤対照区(nd)	23.2 \pm 2.0	21.9 \pm 1.8	94.4 \pm 0.81	0.849 \pm 0.24	9.29 \pm 3.0
0.145	21.6 \pm 1.2	21.0 \pm 0.9	97.1 \pm 1.4	0.802 \pm 0.24	10.5 \pm 1.8
1.06	21.4 \pm 1.2	19.9 \pm 1.9	93.0 \pm 3.1	0.740 \pm 0.25 *	10.9 \pm 1.9
6.87	7.03 \pm 0.92**	4.36 \pm 0.73**	41.2 \pm 10.0 *	0.492 \pm 0.28**	8.19 \pm 3.7

表 1-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:<0.02)	2.55 \pm 0.29	6.54 \pm 1.4	ND	617 \pm 165	74 \pm 10	0 \pm 0
助剤対照区(nd)	2.37 \pm 0.62	6.82 \pm 1.1	ND	532 \pm 169	73 \pm 10	4 \pm 13
0.145	2.38 \pm 0.54	6.21 \pm 1.2	ND	597 \pm 119	73 \pm 13	0 \pm 0
1.06	2.83 \pm 0.55	7.43 \pm 1.2	1.36 \pm 3.40**	642 \pm 146	70 \pm 16	0 \pm 0
6.87	3.20 \pm 1.0**	5.67 \pm 1.2	ND	492 \pm 321	68 \pm 10	0 \pm 0

表 1-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:<0.02)	異常なし
助剤対照区(nd)	異常なし
0.145	異常なし
1.06	異常なし
6.87	遊泳異常 (表層遊泳、不活発)、外見異常 (背曲がり、関節部位の内出血)

結果は平均値 \pm 標準偏差.

有意差水準 (** $p<0.01$, * $p<0.05$).

ND は未検出 (<0.4 ng/mg liver).

二次性徴：乳頭状小突起が発現した節板数.

第1段階生物試験結果(TG229)

ペルメトリン

実施機関：株式会社三菱ケミカルリサーチ

表 2-A 試験結果

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	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	30.6 \pm 0.9	31.5 \pm 1.2	315 \pm 55	385 \pm 40
助剤対照区	12	12	0	8	30.0 \pm 1.2	31.6 \pm 1.0	290 \pm 40	425 \pm 29
0.288	12	12	0	0	29.9 \pm 1.0	31.6 \pm 1.2	293 \pm 36	414 \pm 46
1.49	12	12	0	0	29.6 \pm 0.8	31.4 \pm 1.5	284 \pm 27	389 \pm 60**1
8.43	12	12	0	0	30.7 \pm 1.5	31.2 \pm 1.3	322 \pm 42	390 \pm 51**1

**1: 助剤対照区との有意差

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
対照区	23.8 \pm 1.7	20.7 \pm 2.5	86.8 \pm 5.9	1.03 \pm 0.49	8.38 \pm 1.6
助剤対照区	24.7 \pm 2.0	19.9 \pm 2.7	80.0 \pm 6.0	0.893 \pm 0.18	7.85 \pm 2.1
0.288	24.2 \pm 2.5	20.8 \pm 2.4	85.8 \pm 5.2	1.20 \pm 0.56	8.97 \pm 1.5
1.49	24.8 \pm 2.2	18.4 \pm 3.5	74.3 \pm 8.2	0.997 \pm 0.30	9.15 \pm 0.89
8.43	20.2 \pm 2.1 *	13.7 \pm 3.1**	68.3 \pm 13.6**	0.984 \pm 0.23	8.65 \pm 1.1

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	1.88 \pm 0.65	4.45 \pm 0.77	9.72 \pm 32.2	879 \pm 227	57 \pm 6	0 \pm 0
助剤対照区	2.19 \pm 0.70	5.26 \pm 0.86	ND	995 \pm 755	62 \pm 11	0 \pm 0
0.288	2.13 \pm 0.56	4.97 \pm 0.63	ND	830 \pm 170	61 \pm 12	0 \pm 0
1.49	2.04 \pm 0.42	4.46 \pm 0.68**1	ND	867 \pm 233	58 \pm 9	0 \pm 0
8.43	2.11 \pm 0.32	4.65 \pm 0.89**1	ND	618 \pm 186**	60 \pm 10	0 \pm 0

**1: 助剤対照区との有意差

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	特になし
助剤対照区	特になし
0.288	特になし
1.49	ばく露開始9日目に、1個体に外見異常(出血)が認められたが、10日目以降は認められなくなった。
8.43	ばく露開始3日目に、全個体に遊泳異常(過活発)が認められたが、9日目以降は認められなくなった。

結果は平均値 \pm 標準偏差.

有意差水準 (* p <0.05、** p <0.01).

ND は未検出 (<0.4 ng/mg liver).

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)
安息香酸ベンジル

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 ($\mu\text{g/L}$)	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	37.1 \pm 0.4	36.9 \pm 0.6	520 \pm 27	524 \pm 6.0
34.4	12	12	0	0	37.2 \pm 0.7	36.6 \pm 0.3	492 \pm 18	524 \pm 11
123	12	12	0	0	37.3 \pm 0.4	36.1 \pm 0.2	535 \pm 34	504 \pm 21
376	12	12	0	0	36.1 \pm 0.9	36.0 \pm 0.5	501 \pm 33	518 \pm 20

表 3-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
対照区	27.0 \pm 1.7	26.7 \pm 1.7	99.0 \pm 0.2	0.81 \pm 0.18	9.0 \pm 0.45
34.4	25.8 \pm 1.3	25.0 \pm 1.9	96.7 \pm 2.9	0.78 \pm 0.02	8.7 \pm 0.50
123	25.3 \pm 1.5	24.0 \pm 1.8	95.1 \pm 1.5 *	0.80 \pm 0.11	9.1 \pm 0.54
376	25.3 \pm 2.2	23.8 \pm 1.8 *	94.0 \pm 3.4 *	0.82 \pm 0.12	9.9 \pm 0.72 *

表 3-C 試験結果(続き)

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	肝臓体指数 (%)		ピテロゲニン濃度 (ng/mg liver)		二次性徴	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
対照区	1.7 \pm 0.18	4.0 \pm 0.61	5.0 \pm 4.0	964 \pm 105	132 \pm 6.3	0 \pm 0
34.4	1.9 \pm 0.12	4.4 \pm 0.17	4.2 \pm 6.4	1,280 \pm 172 *	132 \pm 5.5	0 \pm 0
123	1.9 \pm 0.12	4.3 \pm 0.43	13.9 \pm 8.3	1,150 \pm 119	130 \pm 15	0 \pm 0
376	2.0 \pm 0.11 *	4.1 \pm 0.65	13.0 \pm 8.6	1,150 \pm 105	124 \pm 4.4	0 \pm 0

表 3-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	特になし
34.4	特になし
123	特になし
376	特になし

結果は平均値 \pm 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：乳頭状突起を有する節板数.