

令和5年度第1段階生物試験の試験結果について(案)

1. 令和5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1物質(セルトラリン: CAS No. 79617-96-2)について、アフリカツメガエル幼生(Niekoop and Faber stage 51)を用いた両生類変態試験(OECD TG231, AMA)を実施した(試験法の概要についてはp 2参照)。

なお、試験には入手可能なセルトラリン塩酸塩(CAS No. 79559-97-0)を試験物質とした。

(1) セルトラリン塩酸塩の試験結果

8.61、26.1、79.6 µg/L(実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、甲状腺の肥大、甲状腺濾胞上皮細胞の肥大、濾胞上皮細胞の過形成が認められた個体数に統計学的に有意な変化は認められなかった。

8.61 µg/L以上のばく露群において、ばく露7日後の頭胴長の統計学的に有意な低値が認められた。

26.1 µg/L以上のばく露群において、ばく露7日後及びばく露終了時の後肢長、体重、ばく露終了時の発生段階、頭胴長の統計学的に有意な低値が認められた。

また、甲状腺に萎縮が認められた個体数の統計学的に有意な高値が認められた。

79.6 µg/Lのばく露群において、ばく露7日後の発生段階の統計学的に有意な低値(発達遅延)が認められた。

また、ばく露3日後から終了時まで水槽底に残留する餌料量が多く、摂餌量が継続的に低下していた。

2. 試験結果のまとめ

(1) セルトラリン塩酸塩

セルトラリンについては既存知見及び試験管内試験の結果から抗甲状腺ホルモン作用(IC₅₀値=7.9×10⁻⁶、比活性0.037)を持つことが想定されており(甲状腺ホルモン作用は陰性)、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(26.1 µg/L)において、発達遅延及び甲状腺の萎縮が認められたことから、抗甲状腺ホルモン様作用を持つことが示唆された。

なお、79.6 µg/Lのばく露群において認められた発達遅延は、摂餌量の低下による成長遅延か抗甲状腺ホルモン様作用によるものか判断できなかった。

アフリカツメガエル幼生に対する有害性(発達遅延及び甲状腺の萎縮)が認められたばく

露濃度 26.1 $\mu\text{g/L}$ 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 0.0036 $\mu\text{g/L}$ の 7,250 倍であった。

アフリカツメガエル幼生に対する有害性が認められなかったばく露濃度 8.61 $\mu\text{g/L}$ 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 0.0036 $\mu\text{g/L}$ の約 2,400 倍であった。

(参考)

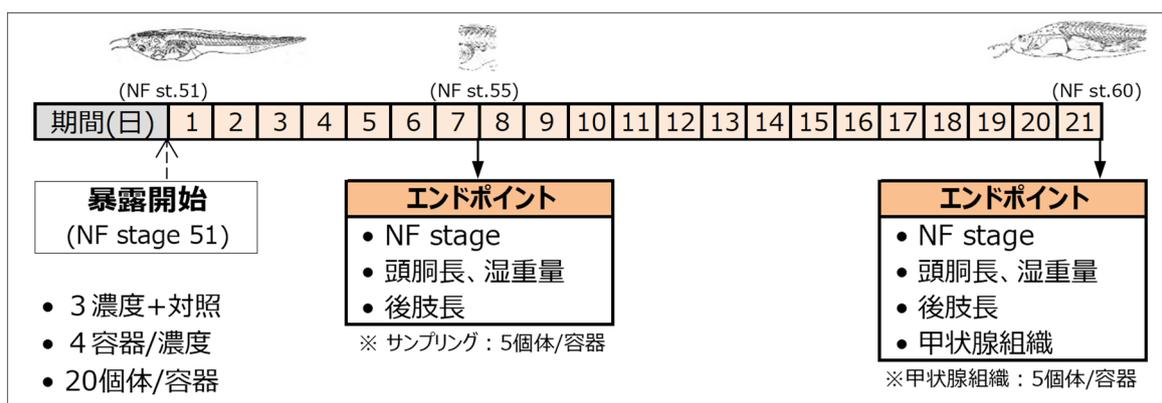
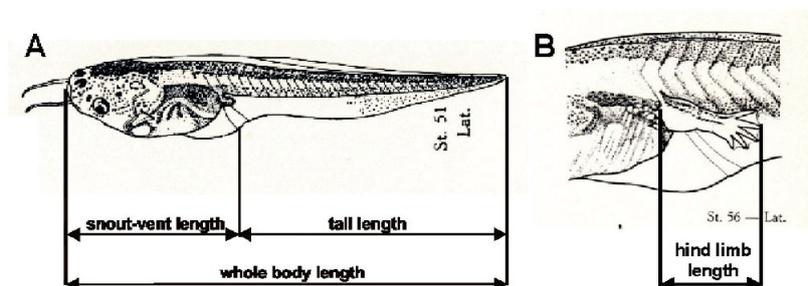


図 1 両生類変態試験の概要

両生類変態試験(OECD TG231)は、アフリカツメガエル幼生 (Nieukoop and Faber stage 51) を試験対象物質に 21 日間ばく露し、ばく露開始の 7 日後に発達段階の確認、頭胴長、後肢長及び体重の測定を行う。ばく露終了時の生存個体の発達段階の確認、頭胴長、後肢長及び体重の測定を行うとともに一部の個体について甲状腺組織の異常の有無及び重症度を調べ、甲状腺ホルモン作用、抗甲状腺ホルモン作用または視床下部-下垂体-甲状腺軸への作用をスクリーニングする試験法である。



(OECD TG231 より引用)

図 2 AMA での頭胴長 (snout-vent length) 及び後肢長 (hind limb length) の測定

第1段階生物試験結果(TG231)
セルトラリン塩酸塩

実施機関：いであ株式会社

表1 死亡率及び所見

平均濃度実測値 ($\mu\text{g/L}$)	試験個体数	死亡率 (%)	所見
対照区(nd)	80	0	異常なし
8.61	80	0	異常なし
26.1	80	0.8	異常なし
79.6	80	0	ばく露1日後に平衡喪失して着底した状態の個体(1個体)、ばく露9日後から10日後に遊泳が緩慢な状態が観察された。これらの症状は一過的であったが、ばく露3日後から終了時まで一貫して、水槽底に残留する餌料量が多く、摂餌量が継続的に低下していた。

表2 ばく露7日後の発生段階及び形態に関するエンドポイントの測定結果

測定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	発生段階	後肢長 (mm)	頭胴長 (mm)	体重(湿重量) (mg)
対照区	54.0 (54.0-54.0)	2.87 \pm 0.14	17.1 \pm 0.29	374 \pm 24.6
8.61	54.0 (54.0-54.0)	2.64 \pm 0.22	16.0 \pm 0.49 (*)	299 \pm 36.1
26.1	53.5 (53.0-54.0)	2.50 \pm 0.18 (*)	14.9 \pm 0.24 (*)	258 \pm 9.2 (*)
79.6	53.0 (53.0-53.0)(*)	1.65 \pm 0.12 (*)	12.1 \pm 0.31 (*)	143 \pm 9.3 (*)

注) 発生段階は容器中央値に基づく4試験水槽の中央値及び(最小-最大)、後肢長、頭胴長及び体重は、容器平均値に基づく平均 \pm 標準偏差、(*)は統計学的に対照区間に有意差($p < 0.05$)が認められたことを示す。

表3 ばく露終了時の発生段階及び形態に関するエンドポイントの測定結果

測定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	発生段階	後肢長 (mm)	頭胴長 (mm)	体重(湿重量) (mg)
対照区	60.0 (59.0-60.0)	17.4 \pm 1.14	27.0 \pm 0.27	1593 \pm 70.0
8.61	59.0 (59.0-59.0)	16.6 \pm 0.64	26.5 \pm 0.46	1463 \pm 40.1
26.1	58.5 (58.0-59.0)(*)	14.0 \pm 1.01 (*)	25.5 \pm 0.39 (*)	1280 \pm 55.6 (*)
79.6	57.0 (56.0-57.0)(*)	6.70 \pm 0.56 (*)	20.4 \pm 0.81 (*)	636 \pm 62.1 (*)

注) 発生段階は容器中央値に基づく4試験水槽の中央値及び(最小-最大)、後肢長、頭胴長及び体重は、容器平均値に基づく平均 \pm 標準偏差、(*)は統計学的に対照区間に有意差($p < 0.05$)が認められたことを示す。

表4 ばく露終了時における甲状腺の組織学的検査の結果

測定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	Thyroid gland hypertrophy (甲状腺肥大)			
	Grade 0	\geq Grade 1	\geq Grade 2	\geq Grade 3
対照区	20 / 20	0 / 20	0 / 20	0 / 20
26.1	20 / 20	0 / 20 (ns)	0 / 20 (ns)	0 / 20 (ns)
測定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	Thyroid gland atrophy (甲状腺萎縮)			
	Grade 0	\geq Grade 1	\geq Grade 2	\geq Grade 3
対照区	20 / 20	0 / 20	0 / 20	0 / 20
26.1	17 / 20	3 / 20 (*)	0 / 20 (ns)	0 / 20 (ns)
測定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	Follicular cell hypertrophy (濾胞上皮細胞の肥大)			
	Grade 0	\geq Grade 1	\geq Grade 2	\geq Grade 3
対照区	20 / 20	0 / 20	0 / 20	0 / 20
26.1	19 / 20	1 / 20 (ns)	0 / 20 (ns)	0 / 20 (ns)
測定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	Follicular cell hyperplasia (濾胞上皮細胞の過形成)			
	Grade 0	\geq Grade 1	\geq Grade 2	\geq Grade 3
対照区	20 / 20	0 / 20	0 / 20	0 / 20
26.1	20 / 20	0 / 20 (ns)	0 / 20 (ns)	0 / 20 (ns)

注) データは検査に供した個体数(20 個体)のうち該当の重症度以上と診断された個体数、(*)は対照区との間に統計学的な有意差が認められたこと($p < 0.05$)、(ns)は統計学的な有意差が認められなかったことを示す。