

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2物質(2-ナフトール、2,4-ジクロロフェノール)について、メダカを用いた魚類短期繁殖試験(OECD TG229、FSTRA)を実施した(試験法の概要についてはp 2参照)。

今回は2,4-ジクロロフェノールの結果について報告する。

(1) 2,4-ジクロロフェノールの試験結果

93.9、301、964 µg/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、雌の全長、雌の体重、雌雄の生殖腺体指数、雌の肝臓体指数、雄雌の肝臓中ビテロゲニン濃度、雌雄の二次性徴、産卵数、受精卵数に統計学的に有意な変化は認められなかった。

301 µg/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、雌の生殖腺体指数に統計学的に有意な高値が認められた。

964 µg/Lのばく露群において、雄の全長、雄の体重、雄の生殖腺体指数の統計学的に有意な低値が認められ、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. 試験結果のまとめ

(1) 2,4-ジクロロフェノール

2,4-ジクロロフェノ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(PC₁₀値=1.8×10⁻⁵、比活性 0.00000067)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、抗エストロゲン作用、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 301 µg/Lは、平成27年度(2015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 0.0083 µg/Lの約36,000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 93.9 µg/Lは、平成27年度(2015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 0.0083 µg/Lの約11,000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ビテロゲン濃度及び二次性徴を調べる試験法である。

馴化							試験物質による暴露(日)																				
6	5	6	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
産卵状態の確認							産卵数(受精卵数、未受精卵数)の計数 死亡・一般症状																				

↑
暴露開始

↑
暴露終了(暴露個体の測定・分析)



エンドポイント

- ・産卵状態(産卵数、受精率、受精卵数)
- ・肝臓中ビテロゲン濃度
- ・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)
- ・肝臓中ビテロゲン濃度
- ・二次性徴(尻鰭乳頭状突起)

第1段階生物試験結果(TG229)

2,4-ジクロロフェノール

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	30.7 \pm 1.0	32.5 \pm 1.4	304 \pm 28	453 \pm 47
93.9	12	12	8	8	31.3 \pm 0.8	32.8 \pm 0.9	326 \pm 33	473 \pm 54
301	12	12	0	0	30.4 \pm 1.7	32.6 \pm 1.1	299 \pm 49	471 \pm 26
964	12	12	8	0	29.3 \pm 0.9**	33.0 \pm 0.7	261 \pm 19**	487 \pm 98

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	27.8 \pm 1.8	26.3 \pm 1.7	94.5 \pm 2.6	0.775 \pm 0.18	8.73 \pm 1.3
93.9	28.8 \pm 3.7	26.1 \pm 3.7	90.8 \pm 3.4	0.765 \pm 0.29	8.76 \pm 1.0
301	30.1 \pm 2.8	26.1 \pm 4.3	86.8 \pm 3.7**	0.691 \pm 0.20	10.3 \pm 1.1**
964	22.7 \pm 7.7	15.1 \pm 17.9	66.6 \pm 26.9**	0.466 \pm 0.26**	11.6 \pm 6.0*

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	2.49 \pm 0.56	6.33 \pm 1.7	2.89 \pm 5.95	566 \pm 199	79 \pm 8	0 \pm 0
93.9	2.51 \pm 0.45	6.94 \pm 1.5	5.32 \pm 9.09	738 \pm 375	78 \pm 10	0 \pm 0
301	2.80 \pm 0.64	6.65 \pm 1.4	ND	620 \pm 139	84 \pm 13	0 \pm 0
964	4.76 \pm 1.3**	6.96 \pm 1.4	ND	664 \pm 191	84 \pm 12	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	特になし
93.9	特になし
301	ばく露開始 12~14 日目に、1 個体に外見異常 (出血) が認められたが、15 日目以降は認められなくなった。
964	ばく露開始 1、6~10 日目に、2~3 個体に遊泳異常 (不活発、表層遊泳) が認められたが、11 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.