

令和 6 年度第 1 段階生物試験（両生類試験）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（ベンゾフェノン-2：CAS No. 131-55-5）について、アフリカツメガエル幼生（Nieukoop 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）。

（1）ベンゾフェノン-2 の試験結果

916、2,840、9,550 $\mu\text{g/L}$ (実測値)のばく露濃度で試験を行ったところ、死亡個体数、甲状腺の萎縮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。

916 $\mu\text{g/L}$ 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。

2,840 $\mu\text{g/L}$ 以上のばく露群において、甲状腺肥大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。

9,550 $\mu\text{g/L}$ のばく露群において、ばく露 7 日後及びばく露 21 日後の発達段階、後肢長、体重、ばく露 21 日後の後肢長/頭胴長の統計学的に有意な低値が認められ、甲状腺肥大、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）ベンゾフェノン-2

ベンゾフェノン-2 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(IC_{50} 値= 7.9×10^{-5})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（9,550 $\mu\text{g/L}$ 以下）において、発達遅延及び甲状腺への影響が認められたことから、視床下部—下垂体—甲状腺軸への作用（抗甲状腺ホルモン様作用）を持つことが示唆された。

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への影響)が認められたばく露濃度 2,840 $\mu\text{g/L}$ は、平成 26 年度(2014 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 0.013 $\mu\text{g/L}$ の約 220,000 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 916 $\mu\text{g/L}$ は、平成 26 年度(2014 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 0.013 $\mu\text{g/L}$ の約 70,000 倍であった。

(参考)

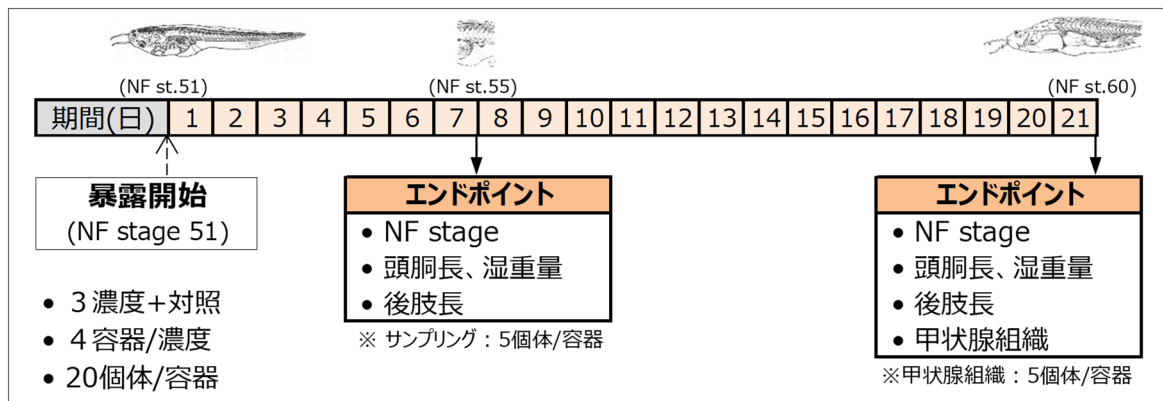
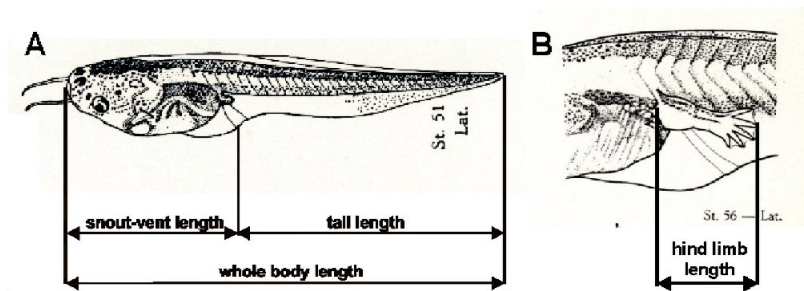


図 1 両生類変態試験の概要

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一下垂体—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)

ベンゾフェノン-2

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 (µg/L)	試験個体数	死亡率 (%)	所見
対照区(nd)	80	0	異常なし
916	80	0	異常なし
2,840	80	0.8	異常なし
9,550	80	0	ばく露 4 日後から 21 日後（終了時）まで、対照区の個体と比較して体色が暗化した個体が多く観察された。また、ばく露 6 日後以降に下顎に浮腫がみられる個体が観察された（ばく露 21 日後のエンドポイント測定時の観察では、3 個体で下顎の浮腫を確認）。

表 2 発生段階及び形態に関するエンドポイントの測定結果

測定時期	測定濃度 (mg/L)	発達段階(NF stage)		後肢長 (mm)	頭胴長 (mm)	体重(湿重量) (mg)	後肢長／頭胴長比
		中央値	(最小－最大)				
暴露7日後	対照区	54.0	(54.0－54.0)	2.72 ± 0.22	20.0 ± 0.42	544 ± 34.9	0.13 ± 0.008
	0.916	54.0	(54.0－54.0)	2.75 ± 0.16	19.6 ± 0.24 (*)	505 ± 15.6	0.14 ± 0.007
	2.84	54.0	(54.0－54.0)	2.82 ± 0.32	19.6 ± 0.57 (*)	492 ± 13.7	0.14 ± 0.013
	9.55	53.0 (*)	(53.0－54.0)	2.53 ± 0.30	18.2 ± 0.86 (*)	464 ± 44.9 (*)	0.14 ± 0.010
暴露21日後	対照区	58.0	(58.0－59.0)	14.04 ± 0.48	29.6 ± 0.39	1988 ± 32.6	0.48 ± 0.014
	0.916	58.0	(58.0－58.5)	14.64 ± 0.33	29.4 ± 0.66	1903 ± 75.9	0.49 ± 0.016
	2.84	58.0	(58.0－58.0)	13.73 ± 0.73	29.6 ± 0.42	1907 ± 67.4	0.46 ± 0.027
	9.55	56.0 (*)	(56.0－56.0)	6.42 ± 0.92 (*)	28.4 ± 0.85 (*)	1676 ± 47.2 (*)	0.23 ± 0.032 (*)

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±標準偏差、(*)は統計学的に対照区の間
有意差(p<0.05)が認められたことを示す。

表3 ばく露終了時における甲状腺の組織学的検査の結果

測定濃度 (mg/L)	甲状腺肥大 (Thyroid gland hypertrophy)			
	Grade 0	≥Grade 1	≥Grade 2	Grade 3
対照区	20 / 20	0 / 20	0 / 20	0 / 20
2.84	16 / 20	4 / 20 (*)	0 / 20 (ns)	0 / 20 (ns)
9.55	2 / 6	4 / 6 (*)	4 / 6 (*)	4 / 6 (*)
測定濃度 (mg/L)	甲状腺萎縮 (Thyroid gland atrophy)			
	Grade 0	≥Grade 1	≥Grade 2	Grade 3
対照区	20 / 20	0 / 20	0 / 20	0 / 20
2.84	20 / 20	0 / 20 (ns)	0 / 20 (ns)	0 / 20 (ns)
9.55	6 / 6	0 / 6 (ns)	0 / 6 (ns)	0 / 6 (ns)
測定濃度 (mg/L)	濾胞上皮細胞の肥大 (Follicular cell hypertrophy)			
	Grade 0	≥Grade 1	≥Grade 2	Grade 3
対照区	20 / 20	0 / 20	0 / 20	0 / 20
2.84	18 / 20	2 / 20 (ns)	0 / 20 (ns)	0 / 20 (ns)
9.55	0 / 6	6 / 6 (*)	6 / 6 (*)	5 / 6 (*)
測定濃度 (mg/L)	濾胞上皮細胞の過形成 (Follicular cell hyperplasia)			
	Grade 0	≥Grade 1	≥Grade 2	Grade 3
対照区	20 / 20	0 / 20	0 / 20	0 / 20
2.84	20 / 20	0 / 20 (ns)	0 / 20 (ns)	0 / 20 (ns)
9.55	0 / 6	6 / 6 (*)	5 / 6 (*)	5 / 6 (*)

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。