

第一種特定化学物質に係る鳥類の毒性評価について

1. 検討の背景

化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（以下「化審法」という。）が平成15年に改正され、動植物への影響に着目した審査・規制が平成16年4月より導入された。改正化審法では、難分解性かつ高濃縮性で、人又は高次捕食動物に対する長期毒性のある物質を、第一種特定化学物質に指定し、その製造、輸入等を原則的に禁止することになっている。

また同法では、難分解性かつ高濃縮性であるが、人又は高次捕食動物に対する毒性が不明な既存化学物質を、第一種監視化学物質に指定することとなっている。第一種監視化学物質については、国が予備的な毒性評価及びリスク評価を行った結果、高次捕食動物に対する長期毒性の疑いがあると判定した場合には、事業者に対して有害性調査（長期毒性試験¹）の実施を指示することとされている。そして、当該有害性調査の結果、「継続的に摂取される場合には、高次捕食動物の生息又は生育に支障を及ぼすおそれがある」と判断される場合には、当該第一種監視化学物質を第一種特定化学物質に指定替えすることとされている。

このため、環境省では、平成16年度から国が行う予備的な毒性評価手法等についての検討を進めている。

2. これまでの検討状況

高次捕食動物のうち鳥類を対象とし、国が行う予備的な毒性試験法（予備試験法）の開発を行ってきた。検討に当たっては、20週間投与の長期毒性試験（鳥類の繁殖に及ぼす影響に関する試験：OECDテストガイドライン206 準拠）のデータを収集し、これを基に当該長期毒性の疑いを予測できる予備試験法を開発することとなるが、文献調査の結果、信頼性の高いデータはほとんど収集できなかった。

そこで、①第一種特定化学物質を被験物質とした長期毒性試験の投与量設定のための摂餌毒性試験及び②摂餌毒性試験結果を踏まえた長期毒性試験を実施した上で、③長期毒性を予測するための予備試験法の開発を行ってきた。

<平成16年度>

平成16年度は、長期毒性試験の投与量設定のための予備試験として、ニホンウズラを用いた5日間投与の鳥類摂餌毒性試験（OECDテストガイドライン205）を実施した。第一種特定化学物質としては、鳥類への影響が指摘されているDDT及びディルドリンを選定した。あわせて、第一種監視化学物質のうち、当時製造・輸入の実績のあった2物質についても試験を実施した。結果は表1のとおり。

¹ 高次捕食動物に係る試験としては、(1)ほ乳類の生殖能及び後世代に及ぼす影響に関する試験並びに(2)鳥類の繁殖に及ぼす影響に関する試験が定められている（新規化学物質に係る試験並びに第一種監視化学物質及び第二種監視化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める省令第2条第1項第4号）。このうち、ほ乳類の生殖能及び後世代に及ぼす影響については、人健康の観点からの第一種監視化学物質に係る有害性の調査の項目として掲げられている試験と同一である。

表1 鳥類摂餌毒性試験の結果

被験物質	化審法上の扱い	LC ₅₀ (95%信頼限界) mg/kg 飼料	NOEC mg/kg 飼料
p-p'-DDT	第一種特定化学物質	622 (438~693)	384
ディルドリン		61 (52~92)	33
2-(2H-1,2,3)-ベンゾトリアゾール-2-イル-4,6-ジ-tert-ブチルフェノール	第一種監視化学物質	> 5,000	
1,2,5,6,9,10-ヘキサブロモシクロドデカン		> 5,000	

<平成17年度>

平成17年度は、平成16年度の結果を参考²に、第一種特定化学物質 p-p'-DDT を被験物質として、0, 1, 5, 25 及び 125 mg/kg の濃度の飼料添加により、20 週間投与の鳥類の繁殖に及ぼす影響に関する試験を実施した。あわせて、予備試験法を想定した繁殖条件下6週間投与群を設けた（試験法の概要は別紙1参照）。

親鳥については、生存率、体重、摂餌量等の一般毒性学的影響は認められなかったが、若鳥については 125 mg/kg 群の雛に中毒症状（震戦）が認められた。また、繁殖に関する指標に対する影響は認められなかった。

一方、体内の残留濃度については、図1のとおり累積投与量（投与濃度及び投与期間）との間に高い相関関係が認められたことから、6週間投与でも長期毒性を予測できる可能性が示唆された。

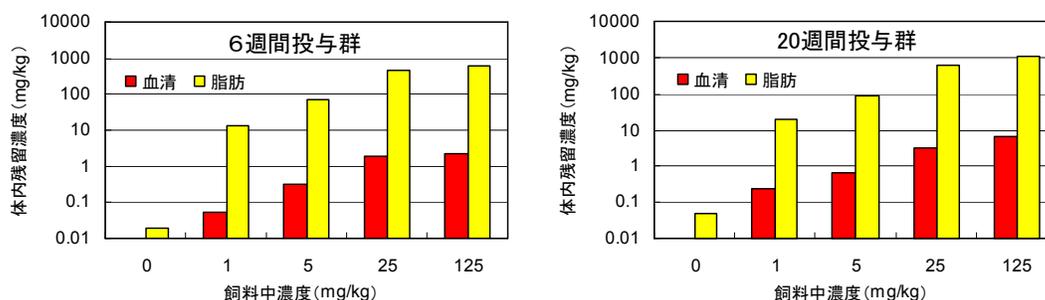


図1 p-p'-DDT の6週間及び20週間投与による鳥類の体内残留濃度

<平成18年度>

平成18年度は、平成16年度の結果を基³に、第一種特定化学物質ディルドリンを

² 化審法の試験法通知では、最高濃度は摂餌毒性試験の LC₁₀ の約 1/2 としており、これに相当する濃度は 250 mg/kg だが、急性毒性による影響（親鳥の死亡等）により長期毒性（繁殖毒性等）が観察できなくなることが懸念されたため、更に 1/2 の 125 mg/kg を最高濃度に設定した。

³ p-p'-DDT の試験結果を踏まえ、化審法試験通知に基づいて摂餌毒性試験の LC₁₀ の約 1/2 である 20 mg/kg を最高濃度に設定した。

被験物質として、0, 0.4, 2, 10 及び 20mg/kg の濃度の飼料添加により、平成 17 年度と同様に 20 週間投与及び 6 週間投与の鳥類毒性を実施した。

試験結果の詳細を別紙 2 及び 3 に示す。ここでは、繁殖能に関する指標として、親鳥（雌鳥）当たりの産卵数（産卵率）、卵群当たりの孵化した卵の数（孵化率）及び孵化した卵の数当たりの 14 日齢生存数（育成率）の 3 つの指標と、これらの指標を掛け合わせた総合繁殖能指数を用いた評価として、対照群に対する各濃度群における抑制の割合（産卵抑制率、孵化抑制率、育成抑制率及び繁殖抑制率）を図 2 に示す。

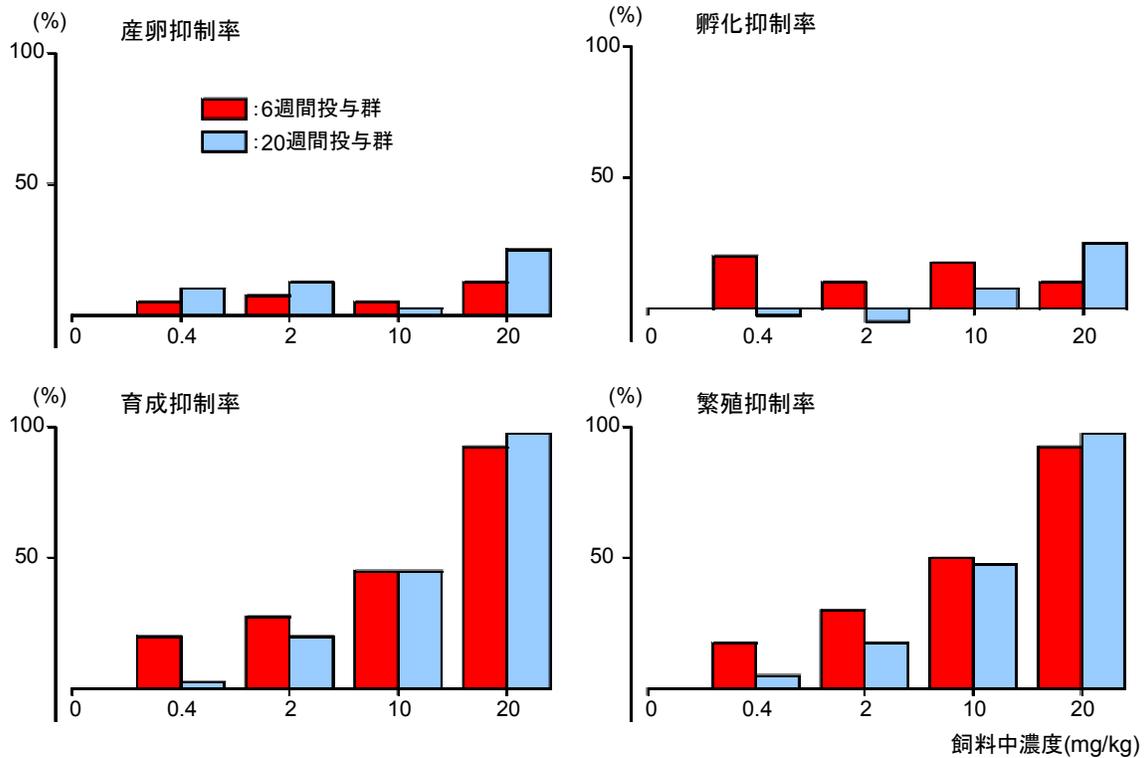


図 2 ディルドリンの鳥類の繁殖能に及ぼす影響

20 週間投与群では、親鳥の死亡率の増加は 20 mg/kg 群において確認されたが、それよりも低濃度群において、雛の生存率等の明らかな低下が見られ、繁殖能への影響が濃度依存的に認められた。これらの傾向は、6 週間投与群においてもおおむね同様であったことから、繁殖条件下 6 週間投与によって、20 週間投与による長期毒性（繁殖に及ぼす影響）を予測できる可能性が示唆された。

3. 今後の予定

平成 18 年度の検討結果より、繁殖条件下 6 週間投与試験が鳥類の繁殖に及ぼす影響に関する試験の予備試験法としての有効性が示唆されたことから、平成 19 年度には、第一種特定化学物質ビス（トリブチルスズ）＝オキシドを被験物質として同様の試験を行い、予備試験法として確立するための知見を集積する。

また、予備試験法が確立された後は、第一種監視化学物質のうち製造・輸入実績があり、環境中で検出されているものなどを対象として予備的な毒性試験を実施する。さらに、有害性調査実施の指示の要否を判断するためのリスク評価についても検討が必要である。

鳥類毒性試験法の比較

試験法	鳥類摂餌毒性試験	鳥類の繁殖に及ぼす影響に関する試験	鳥類繁殖条件下6週間投与試験
OECDテスト ガイドライン	205	206	なし
供試生物	1種又はそれ以上の鳥類。 ウズラ（推奨種）、マガモ、 コリンウズラ等。	1種又はそれ以上の鳥類。 ウズラ（推奨種）、マガモ、コリンウズラ等。	ウズラ
順化期間	少なくとも7日間	少なくとも2週間	少なくとも2週間
投与期間	5日間の投与の後、被験物質 を投与しない3日間以上の 回復期間	20週間	6週間
照明条件	12～16時間照明/日	8週目まで：7～8時間照明/日 9週目～20週目：16～18時間照明/日 若鳥：例えば14時間照明/日	17時間照明/日
濃度区の設定	少なくとも被験物質の3濃 度区を設け、公比は2以下が 望ましい。	少なくとも被験物質の3濃度区を設け、最 高濃度は鳥類摂餌毒性試験のLC ₁₀ の約1/2 （推奨最高濃度は1,000 mg/kg）。	できるだけ小さな公比（例えば 2）を設定する。
飼育条件	各濃度区10羽を鳥かご（5 又は10羽ごとに1かご）で 飼育	各濃度区8かご（マガモ）又は12かご（ウ ズラ及びコリンウズラ）で飼育。1羽の雄 に対し1～3羽の雌よりなる一群ごとに1 かごを設ける。	各濃度区9かご（1つがい）で飼 育
その他の試験操作		親鳥はばく露期間中被験物質を含む飼料を 与え続け、若鳥に対しては被験物質及び助 剤を含まない飼料を与える。	右に同じ
エンドポイント	死亡	親鳥あたりの産卵数（産卵率）、卵殻にひび のある卵の発生率、胚の発生率、孵化率、 雛の14日間生存率、雌鳥当たりの雛の14 日間生存数、卵殻の厚さなど	右に同じ。特に、産卵率、孵化率、 雛の14日間生存率を用い、これ らを掛け合わせた総合評価指数 も用いる。

ディルドリンを用いた鳥類の繁殖に及ぼす影響に関する試験 (20 週間投与) の結果

項 目	用量 (mg/kg)		0		0.4		2		10		20	
	性	羽数	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
			12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
1. 一般毒性学的影響												
1) 中毒症状												
元気消失・翼下垂			0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
起立不能			0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
羽毛の逆立ち			0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
痙攣			0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
2) 死亡			0	0	0	0	0	1	0	1	4*	2
3) 体重					—	—	—	—	↓*	—	↓**	—
4) 飼料摂取量					—	—	—	—	—	—	—	↓
5) 剖検					—	—	—	—	—	—	—	—
精子数・運動性					—	—	—	—	—	—	—	—
卵巢の最大卵胞径						—	—	—	—	—	—	—
6) 器官重量												
肝臓の相対重量					—	—	—	—	↑**	—	↑**	—
2. 繁殖に及ぼす影響												
親 鳥												
1) 産卵率					—	—	—	—	—	—	—	↓**
2) 卵重					—	—	—	—	—	—	—	—
3) 傷のある卵の発生率					—	—	—	—	—	—	—	—
4) 卵殻厚/強度					—	—	↑*	—	—	—	—	—
5) 無精卵の発生率					—	—	—	—	↑*	—	—	—
6) 胚の発生率					—	—	—	—	—	—	—	—
7) 孵化率					—	—	—	—	—	—	—	↓**
8) 孵化日数					—	—	—	—	↑**	—	↑**	—
若 鳥												
1) 体重					↓*	—	—	—	—	—	—	—
2) 飼料摂取量					—	—	—	—	↓*	—	↓**	—
3) 外表・内臓検査					—	—	—	—	—	—	—	—
4) 若鳥の育成率					—	—	↓*	—	↓**	—	↓**	—
5) 産卵開始日齢					—	—	—	—	—	—	—	—
6) 産卵率					—	—	—	—	—	—	—	—
繁殖能												
総合繁殖能指数 ^{a)}					—	—	↓	—	↓**	—	↓**	—
3. 評 価												
1) 産卵抑制率(%)			0	9.0	11.0	0.7	23.8					
2) 孵化抑制率(%)			0	-1.7	-4.9	5.3	23.9					
3) 育成抑制率(%)			0	1.8	18.4	42.6	95.7					
4) 繁殖抑制率(%) ^{b)}			0	3.2	16.1	45.2	98.4					

↑ : 増加傾向、↑* : 有意な増加 (p ≤ 0.05)、↑** : 有意な増加 (p ≤ 0.01)

↓ : 減少傾向、↓* : 有意な減少 (p ≤ 0.05)、↓** : 有意な減少 (p ≤ 0.01)

a) 総合繁殖能指数(A) = 産卵率 × 孵化率 × 育成率 ÷ 10⁶

b) 繁殖抑制率 = [(対照群の A) - (試験群の A)] ÷ [対照群の A] × 100

ディルドリンを用いた鳥類の繁殖条件下6週間投与試験の結果

項 目	用量(mg/kg)		0		0.4		2		10		20	
	性	羽数	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
			9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
1. 一般毒性学的影響												
1) 中毒症状			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2) 死亡			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3) 体重					—	—	—	—	↓*	—	↓*	—
4) 飼料摂取量					—		—		—		—	
5) 剖検												
肝臓の黄色化			0	1	0	2	1	0	0	3	0	5*
精子数・運動性					—		—		—		—	
卵巢の最大卵胞径					—		—		—		—	
6) 器官重量					—	—	—	—	—	—	—	—
2. 繁殖に及ぼす影響												
親 鳥												
1) 産卵率					—		—		—		—	↓
2) 卵重					—		—		—		—	—
3) 傷のある卵の発生率					—		—		—		—	—
4) 卵殻厚/強度					—		—		—		—	—
5) 無精卵の発生率					—		—		—		—	—
6) 胚の発生率					—		—		—		—	—
7) 孵化率					—		—		—		—	—
8) 孵化日数							↓*		—		—	—
若 鳥												
1) 体重・飼料摂取量					—		—		↓*		↓*	↓
2) 飼料摂取量					—		—		—		—	—
3) 外表・内臓異常			—		—		—		—		—	—
4) 若鳥の育成率					—		—		↓		↓**	↓**
繁殖能												
総合繁殖能指数 ^{a)}					—		—		↓*		↓**	↓**
3. 評 価												
1) 産卵抑制率(%)			0		4.9		5.3		3.3		11.6	
2) 孵化抑制率(%)			0		19.6		9.6		15.4		9.4	
3) 育成抑制率(%)			0		18.1		25.3		44.3		90.6	
4) 繁殖抑制率(%) ^{b)}			0		14.5		27.6		50.0		90.8	

↓ : 減少傾向、↓* : 有意な減少(p≤0.05)、↓** : 有意な減少(p≤0.01)

a) 総合繁殖能指数(A) = 産卵率 × 孵化率 × 育成率 ÷ 10⁶

b) 繁殖抑制率 = [(対照群の A) - (試験群の A)] ÷ [対照群の A] × 100