

経済産業省業務

令和6年度化学物質規制対策
(化学物質の分解性及び蓄積性に係る
総合的評価の導入に関する調査)
報告書

令和7年3月

一般財団法人 **化学物質評価研究機構**

目次

I. 事業の目的及び概要.....	1
II. 有識者ヒアリング等の実施.....	2
1. 「(1) ①分解性評価に関する検討テーマ (分解度試験)」のための有識者ヒアリング	2
2. 「(1) ②蓄積性評価に関する検討テーマ (ヨコエビを用いた水暴露法による濃縮度試験)」のための有識者ヒアリング.....	3
3. 「(1) ③蓄積性評価に関する検討テーマ (餌料投与法による濃縮度試験)」のための有識者による委員会.....	4
4. 「(2) 高分子化合物の評価に関する合理化案の取りまとめ」のための有識者による委員会.....	4
5. 「(3) ①分解性・蓄積性に係る化審法 GLP 試験機関連絡会議の開催」のための有識者の招集.....	5
6. 「(3) ②分解性・蓄積性に関する専門人材の確保・育成のためのプロモーション活動」のための有識者の招集.....	5
III. 実施内容.....	6
1. 化審法における WoE 等の導入及び公定試験法の運用見直しに向けた検討.....	6
1.1. 分解性評価に関する検討テーマ (分解度試験).....	6
1.1.1. 基準物質の選定に関する検討.....	8
1.1.2. 被験物質濃度の設定に関する検討.....	10
1.1.3. 試験液量の設定に関する検討.....	14
1.1.4. 試験期間の設定.....	18
1.1.5. まとめ及び今後の課題.....	19
1.2. 蓄積性評価に関する検討テーマ (ヨコエビを用いた水暴露法による濃縮度試験).....	23
1.2.1. 調査方法.....	23
1.2.2. 調査結果.....	25
1.2.3. まとめ及び今後の課題.....	46
1.3. 蓄積性評価に関する検討テーマ (餌料投与法による濃縮度試験).....	48
1.3.1. BCF と BMF の回帰式の精度向上に寄与する被験物質選定.....	48
1.3.2. 回帰式取得に向けた試験法の設計 (試験条件).....	58

1.3.3. まとめ及び今後の課題.....	59
2. 高分子化合物の評価に関する合理化案の取りまとめ	63
2.1. 第1回委員会.....	63
2.1.1. 審議内容	63
2.2. 第2回委員会.....	67
2.2.1. 審議内容	67
2.3. 修正した合理化案.....	71
2.4. まとめ/今後の課題.....	71
2.4.1. まとめ	71
2.4.2. 今後の課題	71
3. 化学物質の分解性・蓄積性に関する試験機関の技術力向上及び専門人材の育成に向けた取組	72
3.1. 分解性・蓄積性に係る化審法 GLP 試験機関連絡会議の開催.....	72
3.1.1. 令和6年度化審法 GLP 試験機関連絡会議.....	72
3.1.2. まとめ/今後の課題.....	78
3.2. 分解性・蓄積性に関する専門人材の確保・育成のためのプロモーション活動.....	79
3.2.1. 会合の概要.....	79
3.2.2. 演題の概要.....	79
3.2.3. アンケート集計結果.....	81
3.2.4. まとめ/今後の課題.....	85
IV. まとめ及び今後の課題	86
1. 化審法における WoE 等の導入及び公定試験法の運用見直しに向けた検討	86
1.1. 分解性評価に関する検討テーマ（分解度試験）	86
1.1.1. まとめ	86
1.1.2. 今後の課題.....	86
1.2. 蓄積性評価に関する検討テーマ（ヨコエビを用いた水暴露法による濃縮度試験）	86
1.2.1. まとめ	86
1.2.2. 今後の課題.....	87
1.3. 蓄積性評価に関する検討テーマ（餌料投与法による濃縮度試験）	88
1.3.1. まとめ	88

1.3.2. 今後の課題.....	88
2. 高分子化合物の評価に関する合理化案の取りまとめ	88
2.1. まとめ	88
2.2. 今後の課題	89
3. 化学物質の分解性・蓄積性に関する試験機関の技術力向上及び専門人材の育成に向けた取組	89
3.1. 分解性・蓄積性に係る化審法 GLP 試験機関連絡会議の開催.....	89
3.1.1. まとめ	89
3.1.2. 今後の課題.....	89
3.2. 分解性・蓄積性に関する専門人材の確保・育成のためのプロモーション活動	90
3.2.1. まとめ	90
3.2.2. 今後の課題.....	90

別添資料

別添資料 1.3 抽出した被験物質の生物濃縮係数及び物理化学的性状

I. 事業の目的及び概要

「我が国では、新規化学物質の製造・輸入をしようとする場合、あらかじめ「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。）に基づき、法定試験法に従って実施した分解性、蓄積性及び毒性等の試験結果をもって届出を行い、国による評価・審査を受けることとされている。この新規化学物質の評価・審査においては、「国際的に認められた試験法として経済協力開発機構（OECD）が定めているテストガイドライン（TG）等に基づく様々な試験データ、性状が既知である化学物質からの類推や定量的構造活性相関（QSAR）を用いた推計結果の利用可否に関する検討が進んでいない」、「法定試験法に基づくデータのみでは化学物質の実環境中での挙動をカバーしきれていない」などの中長期的課題が存在する。

こうした中で、近年経済産業省では、実環境での挙動を反映した評価・審査の精緻化や合理化及び科学的妥当性の向上、試験法の国際整合化等を図る観点から、本事業を通じて、化学物質の性状評価におけるウェイトオブエビデンス（単一のデータや情報に依存することなく、利用可能な多様なデータ等を組み合わせて総合的に評価する手法。以下「WoE」という。）等の導入やその環境整備としての法定試験法の運用見直しについて検討を進めてきた。

本年度事業では、化審法への WoE 等の導入に向けた取組の一環として、有識者の意見を聴取しつつ、化審法における分解度試験の国際整合化、ヨコエビを用いた蓄積性評価の判断基準、餌料投与法による蓄積性評価の精緻化及び高分子化合物の評価の合理化に関する調査検討を行い、成案又は今後の対応の方向を取りまとめるとともに、化学物質の分解性・蓄積性に関する評価・審査を支える試験機関の技術力向上及び専門人材の育成に向けた取組を推進することを目的とする。実施した項目を以下に示す。

- (1) 化審法における WoE 等の導入及び公定試験法の運用見直しに向けた検討
 - ①分解性評価に関する検討テーマ（分解度試験）
 - ②蓄積性評価に関する検討テーマ（ヨコエビを用いた水暴露法による濃縮度試験）
 - ③蓄積性評価に関する検討テーマ（餌料投与法による濃縮度試験）
- (2) 高分子化合物の評価に関する合理化案の取りまとめ
- (3) 化学物質の分解性・蓄積性に関する試験機関の技術力向上及び専門人材の育成に向けた取組
 - ①分解性・蓄積性に係る化審法 GLP 試験機関連絡会議の開催
 - ②分解性・蓄積性に関する専門人材の確保・育成のためのプロモーション活動

II. 有識者ヒアリング等の実施

本業務のうち「(1) ①分解性評価に関する検討テーマ（分解度試験）」及び「(1) ②蓄積性評価に関する検討テーマ（ヨコエビを用いた水暴露法による濃縮度試験）」については、有識者に対する意見聴取を実施した。また、「(1) ③蓄積性評価に関する検討テーマ（餌料投与法による濃縮度試験）」及び「(2) 高分子化合物の評価に関する合理化案の取りまとめ」については、有識者による委員会を実施した。さらに、「(3) ①分解性・蓄積性に係る化審法 GLP 試験機関連絡会議の開催」及び「(3) ②分解性・蓄積性に関する専門人材の確保・育成のためのプロモーション活動」においても有識者を招集した。

なお、有識者等への謝金や旅費を支出する必要がある場合は、本事業の経費として支出した。

1. 「(1) ①分解性評価に関する検討テーマ（分解度試験）」のための有識者ヒアリング

化学物質の分解性評価手法に精通する有識者に対する意見聴取の機会（5名、3回）を設けた。第1回の意見聴取は対面で行い、第2回及び第3回の意見聴取はWeb会議で行った。なお、有識者は経済産業省担当職員との協議により決定した。

有識者に対する意見聴取の開催日及び内容等を図表 II.1-1 に示す。

図表II.1-1 有識者等への意見聴取事項

実施日	意見聴取事項
第1回意見聴取（対面） 2024年9月19日 14:00-15:50	・ 本事業の概要及び目標の説明 ・ 課題①：化審法 301C で使用可能な基準物質は OECD TG301C と整合していない点について
第2回意見聴取（Web） 2024年12月19日 9:30-12:00	・ 課題②：化審法 301C/F は被験物質濃度が高く、汚泥濃度が低いため、自然的作用による化学的変化を精緻に評価することが難しい点について ・ 課題③：OECD TG 302C は被験物質濃度が低く、汚泥濃度が高いため、理論的酸素消費量が少ない物質は適切な BOD 分解度が得られない可能性があり、また、変化物の探索が難しい点について
第3回意見聴取（Web） 2025年1月28日 9:30-11:00	・ 課題①～課題③の対応策案について

2. 「(1) ②蓄積性評価に関する検討テーマ（ヨコエビを用いた水暴露法による濃縮度試験）」のための有識者ヒアリング

化学物質の蓄積性評価手法に精通する有識者に対する意見聴取の機会（7名、2回）を設けた。第1回の意見聴取は対面で同日に有識者7名に対して実施した。第2回の意見聴取については、有識者の都合が合わなかったため、2回に分けて対面（5名）及びWeb会議（2名）で実施した。なお、有識者は経済産業省担当職員との協議により決定した。

有識者に対する意見聴取の開催日及び内容等を図表 II.2-1 に示す。

図表II.2-1 有識者等への意見聴取事項

実施日	意見聴取事項
第1回意見聴取（対面） 2024年11月29日 13:00-15:30	<ul style="list-style-type: none">・ 本事業の概要及び目標の説明・ ヨコエビを用いた水暴露法による濃縮度試験（OECD TG321）の詳細について・ 海外の法規制における OECD TG321 の活用状況について
第2回意見聴取（Web） 2025年2月12日 16:00-17:00	<ul style="list-style-type: none">・ 海外の法規制における OECD TG321 の活用状況の調査報告（欧州現地調査報告）
第2回意見聴取（対面） 2025年2月14日 12:45-14:45	

3. 「(1) ③蓄積性評価に関する検討テーマ（餌料投与法による濃縮度試験）」のための有識者による委員会

化学物質の蓄積性評価手法に精通する有識者による委員会（7名、3回）を設けた。第1回及び第2回の委員会は対面で同日に有識者7名が出席して開催された。第3回の委員会については、有識者の都合が合わなかったため、2回に分けて対面（5名）及びWeb会議（2名）で実施した。なお、有識者は経済産業省担当職員との協議により決定した。

委員会の開催日及び議題等を図表 II.3-1 に示す。

図表II.3-1 委員会の議題

実施日	議題
第1回委員会（対面） 2024年9月18日 13:00-15:45	<ul style="list-style-type: none"> ・ 本事業の概要及び目標の説明 ・ 回帰式の精度向上のためのデータ取得を行う被験物質選定について
第2回委員会（対面） 2024年11月29日 10:00-12:00	<ul style="list-style-type: none"> ・ 第1回委員会の振り返り ・ 調査結果を踏まえた被験物質の選定について ・ 試験条件案について
第3回委員会（Web） 2025年2月12日 15:00-16:00	<ul style="list-style-type: none"> ・ 第2回委員会の振り返りと前回報告内容の訂正 ・ 追加調査結果を踏まえた被験物質の設定について ・ 決定した試験条件の確認
第3回委員会（対面） 2025年2月14日 10:00-11:45	

4. 「(2) 高分子化合物の評価に関する合理化案の取りまとめ」のための有識者による委員会

高分子化合物の試験法や評価手法に精通する有識者による委員会（3名、2回）を設けた。委員会は対面で3名同日に実施した。なお、有識者は経済産業省担当職員との協議により決定した。

委員会の開催日及び議題等を図表 II.4-1 に示す。

図表II.4-1 委員会の議題

実施日	議題
第1回委員会（対面） 2024年9月4日 13:00-15:00	<ul style="list-style-type: none"> ・ 本事業の概要及び目標の説明 ・ 昨年度事業の振り返り ・ 今年度の課題と検討事項について ・ 調査結果と合理化案への反映について
第2回委員会（対面） 2024年12月26日 13:30-15:10	<ul style="list-style-type: none"> ・ 第1回委員会の振り返り ・ 第1回での委員の意見を踏まえた合理化案について

5. 「(3) ①分解性・蓄積性に係る化審法 GLP 試験機関連絡会議の開催」のための有識者の招集

化審法 GLP 試験機関連絡会議（1回、対面）に化学物質の分解性・蓄積性評価手法に精通する有識者（5名）を招集した。なお、有識者は経済産業省担当職員との協議により決定した。

化審法 GLP 試験機関連絡会議の開催日及び議題等を図表 II.5-1 に示す。

図表II.5-1 化審法GLP試験機関連絡会議の議題

実施日	議題
2024年11月28日 14:00-16:00	<ul style="list-style-type: none">・議題1：化審法 301C で使用する活性汚泥の分解活性の低下・議題2：1点検量線による被験物質濃度の算出・議題3：後続試験が必要な分解度試験で生じた変化物・議題4：下水処理場の汚泥提供について（化審法 301F）・その他の議題

6. 「(3) ②分解性・蓄積性に関する専門人材の確保・育成のためのプロモーション活動」のための有識者の招集

一般社団法人日本環境化学会及び日本環境毒性学会主催の「令和6年度第3回環境化学物質合同大会」における自由集会「化審法における化学物質の安全性評価の現状と展望～生分解性及び生物蓄積性の評価とは？～」に講演者として専門家（7名）を招集した。なお、専門家は経済産業省担当職員との協議により決定した。

III. 実施内容

1. 化審法における WoE 等の導入及び公定試験法の運用見直しに向けた検討

1.1. 分解性評価に関する検討テーマ（分解度試験）

化審法における新規化学物質の審査では、微生物による化学物質の分解度試験の結果に基づき分解性評価を行っている。化審法の公定試験法としては、経済協力開発機構テストガイドライン（OECD TG）に準拠する 301C 相当又は 301F 相当によることを原則としているが、図表 1.1-1 に示す通りこれらの基準物質や試験液量は、OECD TG301 シリーズの分解度試験で定めている試験条件と異なる部分があり、一部整合性が取れていない。また、一定条件の下、化審法の評価で認められている OECD TG302C の試験結果は、被験物質濃度が低くかつ活性汚泥の濃度が高いため、活性汚泥マトリックスが分析上の妨害因子となり、分解度試験で生じた分解生成物の特定が困難な場合もある。図表 1.1-2 に示すとおり OECD TG は易生分解性試験、本質的生分解性試験及びシミュレーション試験の 3 区分があるが、現行の化審法の分解度試験は易生分解性試験に相当するため、環境残留性を有する物質を精緻に判断することが難しい。これらの分解度試験関連の課題に対応することにより、化審法の評価目的を達成しつつ、より科学的に妥当で国際整合性がある評価を行うことが望まれる。

本年度事業では、化審法の公定試験法と OECD TG301 シリーズとの整合化及び TG302C の試験法に係る課題に対応するため、現状の課題を整理し、対応案を取りまとめることを目的とした。具体的には、【1】基準物質の選定、【2】被験物質濃度の設定、【3】試験液量の設定及び【4】試験期間の設定の 4 点について検討した。検討に際しては、化学物質の分解性評価手法に精通する有識者（5 名）に対する意見聴取の機会を 3 回設け（うち 1 回は対面開催）、得られた意見等を対応案に適宜反映した。

図表 1.1-1 分解度試験法間の試験条件の比較

試験法	化審法 301C [1]	OECD TG301C [2]	化審法 301F [1]	OECD TG301F [2]	OECD TG302C [3]
試験法分類	易生分解性試験	易生分解性試験	易生分解性試験	易生分解性試験	本質的生分解性試験
生分解 評価指標	BOD	BOD	BOD	BOD	BOD
植種源	培養汚泥	培養汚泥	下水汚泥	下水汚泥/二次放流水、表層水、土壌	培養汚泥
被験物質 濃度	100 mg/L	100 mg/L	100 mg/L	100 mg/L 又は 50~100 mgThOD/L ^{*1-1}	30 mg/L
植種源 濃度 ^{*1-2}	30 mg/L	30 mg/L	30 mg/L	≦30 mg/L	100 mg/L
基準物質	アニリン	アニリン、酢酸ナトリウム又は安息香酸ナトリウム	アニリン、酢酸ナトリウム又は安息香酸ナトリウム	アニリン、酢酸ナトリウム又は安息香酸ナトリウム	アニリン、酢酸ナトリウム又は安息香酸ナトリウム
試験液量	300 mL	300 mL	例：300 mL	規定なし	300 mL
試験温度	25°C±1°C	25°C±1°C	22°C±1°C	22°C±1°C	25°C±2°C
試験期間	28 日間	28 日間	28 日間	28 日間	28 日間

*1-1 ThOD：理論的酸素消費量

*1-2 懸濁物質濃度として

図表 1.1.1-1 化審法 301C、OECD TG301C 及び TG302C における基準物質の記載箇所

試験法	化審法 301C [1]	OECD TG301C [2]	OECD TG302C [3] (参考)
記載箇所① (基準物質 の選定)	該当項目なし	総論のパラグラフ 11 (中略) 適当な化合物は、 <u>アニリン</u> (蒸留直後)、酢酸ナトリウム及び安息香酸ナトリウムである。	2.A. 基準物質 (中略) <u>アニリン</u> 、酢酸ナトリウム又は安息香酸ナトリウムを使用してよい。
記載箇所② (試験容器 の準備)	I-IV 3-3 基礎培養基に <u>アニリン</u> が 100 mg/L となるように添加したものを入れた試験容器 1 個	パラグラフ 11 容器 5—無機培地に基準物質 (例えば <u>アニリン</u>) 100 mg/L	2.B. 準備 容器 5—基礎培養基 300 mL + 活性汚泥 9 mg (乾燥重量) + <u>アニリン</u> 30 mg 2.B. 被験物質の添加と試験の準備 (4) 基礎培養基に <u>アニリン</u> 又は他の基準物質を 100 ppm (W/V) となるように添加した試験容器
記載箇所③ (試験の有効性)	I-IV 6-1 (中略) 3-3の <u>アニリン</u> の分解度が 7 日後に 40% を超えかつ 14 日後に 65% を超えるときは、この試験は有効とする。	パラグラフ 20 (中略) 酸素消費量から算出した <u>アニリン</u> の分解度が 7 日後に 40%、14 日後に 65% を超えるときは、この試験は有効とする。	3. 結果の解釈 被験物質の生分解性を基準物質と比較し分類するため、被験物質の分解度を <u>アニリン</u> の分解度と比較する。 酸素消費量から算出した <u>アニリン</u> の分解度が 7 日後に 40%、14 日後に 65% を超えないときは、この試験は無効とする。

1.1.1-(2) 有識者からの意見

化審法 301C と OECD TG301C 及び TG302C 並びに化審法 301C と化審法 301F 及び OECD TG301F の整合性を考慮し、化審法 301C の基準物質としてアニリンに加えて酢酸ナトリウム及び安息香酸ナトリウムを追加することについて有識者への意見聴取を行った。

その結果、有識者全員が基準物質の追加に賛成した。理由及び見解を以下に示す。

- 被験物質の多様さを考慮すると基準物質の種類を増やしてもよい。
- アニリンを速やかに分解できないような汚泥で試験をすると難分解性判定となる可能性が高くなり、難分解性物質は後続評価が必要なため、安全性評価の観点では悪い方向には行かない。
- 化審法 301C 以外の試験では、アニリンを汚泥の活性評価物質のような位置付けで用いておらず、あくまでも試験の有効性の判断に用いるので、酢酸ナトリウムと安息香酸ナトリウムも基準物質として選定されていると理解している。

- 既に化審法 301F で 3 種の基準物質を使用しているため化審法 301C でも許容してもよい。
一方、以下の懸念点が指摘された。
- アニリンを速やかに分解できない汚泥でも酢酸ナトリウム及び安息香酸ナトリウムは容易に分解されるため試験の有効性基準を満たすこととなり、過去より分解が進んでいない結果が出てくる可能性がある。
- アニリンは窒素を含む芳香族化合物という特徴があるが、特に酢酸ナトリウムは化学構造が単純すぎる。
- アニリン、酢酸ナトリウム及び安息香酸ナトリウムをそれぞれ基準物質とした場合、301C 汚泥でどのくらい試験の有効性基準を満たすか、また、有効性基準を満たす 301C 汚泥の基準物質以外の化学物質に対する分解活性はどの程度か。

また、301C 汚泥について下記のコメントがあった。

- 培養方法には課題がある。
- 301C 汚泥の調製方法が同じであってもアニリンの分解性が落ちてきたということは、現在の環境中では芳香族化合物の分解能が全般的に落ちていることを表しているのではないか。

1.1.2. 被験物質濃度の設定に関する検討

1.1.2-(1) 現状の課題

化審法で活用される分解度試験法における被験物質濃度の記載箇所を図表 1.1.1-2 にまとめた。現行の化審法 301C 及び化審法 301F では、図表 1.1-1 に示すとおり被験物質濃度は 100 mg/L であるが、化審法 301F については、微生物への阻害性を有する被験物質に限り、被験物質濃度 30 mg/L の試験液を追加して評価することが認められている。OECD TG301C も被験物質濃度を 100 mg/L としているが、pH の影響で微生物が阻害されたと考えられる場合は、より低濃度で試験を実施することが認められている。OECD TG301F では、被験物質濃度 100 mg/L だけでなく、理論的酸素消費量 (ThOD) 濃度として 50~100 mg/L にすることも許容されており、OECD TG301C と同様に pH による影響も考慮されている。アニリン及び安息香酸ナトリウムの重量濃度がそれぞれ 100 mg/L のときの ThOD 濃度はそれぞれ 241 mg/L (窒素の形態を NH₃ として算出) 及び 167 mg/L であることから、これらの物質を OECD TG301F で規定する ThOD 濃度範囲に設定しようとする重量濃度として 30 mg/L 程度となる。OECD TG301F では、微生物への阻害性を把握するための系として植種源と被験

物質と基準物質のすべてを含む試験液を追加で設けることができ、この試験液で阻害性が認められる場合は、被験物質濃度をより下げることが認められている。OECD TG301C では、この追加の系についての言及はない。

以上より、化審法 301F と OECD TG301F で用いる被験物質濃度、即ち ThOD 濃度の活用に関する整合性について課題がある。また、現行の化審法 301C は被験物質濃度が高く、低濃度試験が認められていないため、微生物への阻害性に起因して難分解性の結果が得られる可能性が否定できないことも課題である。

図表 1.1.1-2 化審法で活用される分解度試験法における被験物質濃度の記載箇所

試験法	化審法 301C [1]	OECD TG301C [2]	化審法 301F [1]	OECD TG301F [2]	OECD TG302C [3] (参考)
記載箇所	I-IV 3-2 基礎培養基に被験物質が <u>100 mg/L</u> となるように添加したものを入れた試験容器 3 個	パラグラフ 11 容器 2、3 及び 4—無機培地に被験物質 <u>100 mg/L</u> パラグラフ 19 pH が 6~8.5 の範囲外であり、かつ、BOD による被験物質分解度が 60% 未満のときは、 <u>より低い被験物質濃度</u> で再試験する。	II-IV 3-1 基礎培養基に被験物質が <u>100 mg/L</u> となるように添加したものを入れた試験容器 少なくとも 2 個 II-IV 3-5 <微生物への阻害性がある被験物質に対して低濃度における分解性を確認する場合> 基礎培養基に被験物質が <u>30 mg/L</u> となるように添加したものを入れた試験容器 少なくとも 2 個	パラグラフ 10 無機培地に被験物質及び基準物質の原液を加え、それぞれの溶液を調製する。濃度は通常、 <u>100 mg/L</u> (ThODとして <u>50~100 mg/L</u>) とする。 パラグラフ 22 pH が 6~8.5 の範囲外であり、かつ、BOD による被験物質分解度が 60% 未満のときは、 <u>より低い被験物質濃度</u> で再試験する。 総論のパラグラフ 25 被験物質と基準物質の両方を含む試験液の BOD 分解度が 25% 未満のときは、 <u>被験物質濃度を下げる</u> か、植種源濃度を上げる (ただし懸濁物質濃度として 30 mg/L まで) か、あるいはその両方を実施する。	2.B 容器 2、3 及び 4—基礎培養基 300 mL + 活性汚泥 30 mg (乾燥重量) + 被験物質 9 mg (つまり <u>30 mg/L</u>)

1.1.2-(2) 有識者からの意見

化審法 301C 及び化審法 301F の被験物質濃度の設定に関する下記の 4 点 ((2)-1～(2)-4) について有識者への意見聴取を行った。

(2)-1) 化審法 301F において、被験物質の重量濃度 100 mg/L に限らず ThOD 濃度として 50～100 mg/L も許容することは妥当か。

有識者全員が妥当と回答した。理由及び見解を以下に示す。

- BOD で生分解を評価する観点では、ThOD 濃度にすることは科学的に妥当である。
- OECD TG301F に則り、ThOD 濃度は固定せず、50～100 mg/L でよい。

(2)-2) 化審法 301C 及び化審法 301F において、微生物への阻害性の有無にかかわらず低濃度試験を追加して「自然的作用による化学的変化」を判断することは妥当か。

有識者全員が妥当と回答した。理由及び見解を以下に示す。

- 標準試験を実施した上での追加なのでよい。
- 分解に関する正確な結果が得られる。

一方、以下の懸念点が指摘された。

- 低濃度試験で変化物が生成する場合に十分に検出できることが重要である。
- 現行の化審法 301F と同様に低濃度試験として重量濃度 30 mg/L にすると ThOD 濃度による濃度設定と大差ない濃度レベルになり、結果が大きく変わらない可能性がある。
- 高濃度試験と低濃度試験で分解経路が異なる可能性がある。
- 高濃度試験と低濃度試験で検出される変化物が異なる場合にどのように対応するか。

(2)-3) 化審法 301C 及び化審法 301F において、微生物への阻害性の有無にかかわらず ThOD 濃度として 50～100 mg/L の試験を追加して「自然的作用による化学的変化」を判断することは妥当か。(2)-1 の議論で化審法 301F については追加試験でなく標準試験として ThOD 濃度を採用してよいとの見解であったため、ここでは実質化審法 301C についての設問となる。)

有識者全員が妥当と回答した。理由及び見解を以下に示す。

- 標準試験を実施した上での追加なのでよい。

懸念点については、1.1.2-(2)-2)と同様である。

(2)-4) 培養終了時の pH の基準を設けるか。

有識者全員が設ける必要はないと回答した。理由及び見解を以下に示す。

- 変化物の影響で pH の基準を満たさないときに試験の有効性基準を満たさない（場合によっては再試験）となるので、化審法分解度試験では設ける必要はない。
- 微生物への阻害は pH に限らない。
- 被験物質濃度は pH が変化するような変化物の生成に影響する。
- 培養終了時の pH の情報があればまずは充分である。

1.1.3. 試験液量の設定に関する検討

1.1.3-(1) 現状の課題

化審法で活用される分解度試験法における試験液量の記載箇所を図表 1.1.3-1 にまとめた。化審法 301C 及び OECD TG301C では試験液量は 300 mL と規定されている。化審法 301F では、試験液量は化審法 301C を参考に一例として 300 mL と記載されているがこれに限定しておらず、また、OECD TG301F では規定されていない。

試験液量が生分解に及ぼす影響について幾つかの報告がある。Ingerslev らは、試験液量 1.5~11500 mL で *p*-ニトロフェノール、試験液量 5~15000 mL で 2,4-D の分解度試験（標準化された試験法ではない）を実施し、大容量の試験は小容量の試験と比較して誘導期（生分解が始まるまでの期間）が短く、生分解のバラツキが小さいことを報告している[5]。この原因として、小容量の試験では分解菌が欠乏しているか、増殖できないレベルまで減少している可能性を考察している。Takekoshi らは、2-エチルアントラキノンとトリメリット酸トリス(2-エチルヘキシル)を対象に、吸着担体としてシリカゲルを使用して試験液量を 300~3900 mL とした OECD TG301F を実施し、大容量の試験では生分解が促進されることを報告している[6]。Gartiser らは、OECD TG301B 及び TG301F により試験期間の延長（28 日間と 60 日間）と試験液量の増量（164 mL、740 mL 及び 1500 mL）の影響を検討し、このような設計の試験は、易生分解性試験とコストと時間を要するシミュレーション試験との間の適切な中間ステップであることを報告している[7]。

欧州 REACH 規則では、試験液量を増加する試験は Enhanced Ready Biodegradability Test として位置付けられており、環境残留性評価に活用されている[8]。ただし、どの程度の量を試験液量の増加とみなすか規定はない。図表 1.1.3-2 に OECD の分解度試験法に規定される試験液量を示す。易生分解性試験で試験液量を限定しているのは OECD TG301C のみであり、例示されている試験液量の中で最も多いのは OECD TG301B の 3 L である。

以上より、化審法 301C 及び化審法 301F と OECD TG301C 及び TG301F で試験液量の記載に関する整合性は得られている。一方、化審法で「自然的作用による化学的变化」を判断する際に大容量の試験で得られた結果も受容できるかは明確でない。

図表 1.1.3-1 化審法で活用される分解度試験法における試験液量の記載箇所

試験法	化審法 301C [1]	OECD TG301C [2]	化審法 301F [1]	OECD TG301F [2]	OECD TG302C [3] (参考)
記載箇所	I-IV 3 次の試験容器（各 <u>300 mL</u> ）を準備し、これらを試験温度に調整する。	パラグラフ 3 (a) 自動 BOD 測定装置 又は呼吸量測定装置： 通常 6 個の容器、それぞれ <u>300 mL</u> と CO ₂ 吸収剤を入れるカップを備えたもの。	II-IV 3 3-1 ～ 3-3 の試験容器（例：各 <u>300 mL</u> ）を準備し、これらを試験温度に調整する。	パラグラフ 13 被験物質と基準物質の溶液をそれぞれ必要量、少なくとも 2 本の呼吸フラスコに入れる。 (試験液量の規定なし)	2.B 装置：6 個の容器（各 <u>300 mL</u> ）を備えた BOD メーター。 (中略) 容器 2、3 及び 4－基礎培養基 <u>300 mL</u> ＋活性汚泥 30 mg（乾燥重量）＋被験物質 9 mg

図表 1.1.3-2 OECD の分解度試験法に規定される試験液量

試験法分類	OECD TG	試験液量
易生分解性試験	301A [2]	例 1 L
	301B [2]	例 3 L
	301C [2]	300 mL（試験容器容量として記載）
	301D [2]	例 250～300 mL、100～125 mL （試験容器容量として記載）
	301E [2]	例 1 L
	301F [2]	規定なし
	310 [9]	例 107 mL
本質的生分解性試験	302C [2]	300 mL

1.1.3-(2) 有識者からの意見

化審法 301C 及び化審法 301F の試験液量の設定に関する下記の 3 点 ((2)-1~(2)-3) について有識者への意見聴取を行った。

(2)-1) 化審法 301F において、試験液量 300 mL に限定しないことでよいか。

複数の有識者が限定しないと回答した。理由及び見解を以下に示す。

- OECD TG301F と同様に限定しない。
- 試験機関は試験液量を減少した場合に分析が難しくなることを理解していると思う。
一方、以下の懸念点が指摘された。
- 変化物が生成する場合に十分に検出できることが重要である。
- 試験液量によって、培養終了時の変化物が異なる懸念がある。
- 審査する立場では、液量の変化で、分解性が異なると評価しづらい。

(2)-2) 化審法 301C 及び化審法 301F において試験液量を変更した試験を追加して「自然的作用による化学的变化」を判断することは妥当か。

複数の有識者が妥当と回答した。理由及び見解を以下に示す。

- 被験物質が環境中、開放系に出る場合、より多くの生物に触れる可能性が高いため、試験液量を増加する試験を追加する場合は妥当である。

一方、以下の懸念点が指摘された。

- 現状で化審法 301F は試験液量を限定していないので追加する位置付けが分からない。
- より分解させたい場合は被験物質と植種源の濃度を変える OECD TG302C のほうが明確と思う。
- 試験液量によって検出される変化物が異なる場合にどのように対応するか。

(2)-3) ((2)-2 と連動する設問として) 化審法 301C 及び化審法 301F において試験液量の上限及び下限を設けるか。

複数の有識者が設ける必要はないと回答した。理由及び見解を以下に示す。

- 現行の試験液量で判定が難しくなった事例がないのであれば、敢えて変える必要はない。
- 現状では、マイクロプレートを使うような小スケールの試験を開発する動きはなさそうなので現状どおりでよい。

- 環境中では大量の水に接するので上限は不要である。
- 下限は後続試験に支障がない範囲で試験機関が実施するだろう。
- 一方、以下の懸念点が指摘された。
- 試験液量が極端な場合は変化物の種類や分解速度が大きく異なる可能性があるため、液量の違いを認める場合は、ある程度限定したケースに留めることがよいと思う。

1.1.4. 試験期間の設定

1.1.4-(1) 現状の課題

図表 1.1-1 に示すとおり化審法で活用される分解度試験法に規定される試験期間は 28 日間である。一方、OECD の分解度試験に関する序論を記載した文書では、OECD TG301 シリーズ及び TG310 で 28 日間を超えて培養するときの分解度が 60% (OECD TG301B、TG301C、TG301D、TG301F 及び TG310) 又は 70% (OECD TG301A 及び TG301E) に達すると当該被験物質は本質的生分解性を有するとされる[10]。OECD の文書では延長期間について記載はないが、欧州 REACH では 60 日間までとされる[8]。

化審法の分解性評価では、化審法 301C 又は化審法 301F で被験物質が良分解性の基準を満たさない場合であっても一定の分解傾向が認められる場合は本質的生分解性試験である OECD TG302C の結果を含めて判定が行われることがある。OECD TG302C の課題として、試験液中の被験物質濃度が低く、活性汚泥の濃度が高いため、BOD 分解度が基礎呼吸量のバラツキの影響を受けやすいこと及び被験物質等の分析において活性汚泥由来のマトリックスの影響を受けやすいことが挙げられるが、化審法 301C 又は化審法 301F の延長試験では、それらの課題がない。しかしながら、化審法で「自然的作用による化学的変化」を判断する際に OECD TG302C と同様に化審法 301C 又は化審法 301F の延長試験で得られた結果を受容できるかは明確でない。

1.1.4-(2) 有識者からの意見

化審法 301C 及び化審法 301F の試験期間の設定に関する下記の 3 点 ((2)-1~(2)-3) について有識者への意見聴取を行った。

- (2)-1) 化審法 301C 及び化審法 301F において、試験期間 28 日間を実施せずに 60 日間試験を実施して「自然的作用による化学的変化」を判断することは妥当か (BOD は連続測定しているので 28 日後の結果は得られるが、被験物質等の分析は 60 日後のみとなる)。

(2)-2) 化審法 301C 及び化審法 301F において、試験期間 28 日間を実施し、追加で 60 日間試験を実施して、これら 2 試験の結果から「自然的作用による化学的変化」を判断することは妥当か (OECD TG302C の代替試験法という位置付けとなる)。

有識者全員が 1.1.4-(2)-1) は妥当でない、1.1.4-(2)-2) は妥当と回答した。理由及び見解を以下に示す。

- 1.1.4-(2)-1) の設問は現行の評価の考え方を大きく変えることになる。
- 1.1.4-(2)-2) の設問は 60 日間試験を追加で実施するのでよい。
- 本質的生分解性を判断する OECD TG302C より被験物質濃度が高く微生物濃度が低い状態で試験を実施することになるため、より厳しい条件で実施することになり、この条件で分解すればよく分解すると判断しても良いだろう。
- 一方、以下の懸念点が指摘された。
- OECD TG302C の 28 日間の試験を実施して判断する方が早い。
- 28 日間試験と 60 日間試験で検出される変化物が異なる場合にどのように対応するか。

(2)-3) (上記質問(2)-2 が可となる場合) 被験物質濃度は 1.1.2-(2) の結論を反映して実施することは妥当か。

有識者全員が妥当と回答した。理由及び見解を以下に示す。

- 60 日間試験を追加で実施するのでよい。
- 一方、以下の懸念点が指摘された。
- 専門家によるデータの解釈についてある程度のコンセンサスが必要である。¹

1.1.5. まとめ及び今後の課題

1.1.5-(1) まとめ

本年度事業では、化審法の公定試験法と OECD TG301 シリーズとの整合化及び TG302C の試験法に係る課題として【1】基準物質の選定、【2】被験物質濃度の設定、【3】試験液量の設定及び【4】試験期間の設定の 4 点を挙げた。

(1)-1) 基準物質の選定に関する検討

化審法 301C と OECD TG301C の基準物質の選定について整合を図るため及び試験の有効性基準を満たさない事例が頻発する現状を改善するため、化審法 301C の基準物質として酢酸ナトリウム及び安息香酸ナトリウムを追加することを提案した。有識者に意見聴取

した結果、容認する意見が多数あった。一方、アニリンでは有効性基準を満たさない汚泥で分解性を評価することについて慎重な意見もあった。

(1)-2) 被験物質濃度の設定に関する検討

化審法 301F では、被験物質濃度は重量濃度として 100 mg/L と規定されているが、OECD TG301F ではこれに限らず、ThOD 濃度として 50～100 mg/L も許容される。これらの整合を図るため、化審法 301F でも、被験物質濃度は重量濃度 100 mg/L に限らず、ThOD 濃度として 50～100 mg/L も許容することを提案した。有識者に意見聴取した結果、有識者全員から同意が得られた。

現行の分解性評価では、化審法 301F で微生物への阻害性が認められる物質に限り、被験物質の重量濃度 30 mg/L 試験を追加して評価することが認められている。化審法 301C では、被験物質濃度が高いため、微生物への阻害性に起因して難分解性の結果が得られる可能性が否定できない。被験物質の分解性をより多面的に評価するため、化審法 301C 及び化審法 301F ともに微生物への阻害性の有無に関わらず低濃度の追加試験を許容すること並びに化審法 301C で ThOD 濃度として 50～100 mg/L の追加試験を許容することの 2 点を提案した。有識者に意見聴取した結果、2 点ともに有識者全員から同意が得られた。

OECD TG301C 及び TG301F には試験の有効性基準の一つとして、培養終了時の試験液の pH があるが、化審法 301C 及び化審法 301F では規定がない。変化物の影響により pH の基準を満たさない可能性を考慮し、この点については現行どおり整合を取らないことを提案した。有識者に意見聴取した結果、有識者全員から同意が得られた。

(1)-3) 試験液量の設定に関する検討

分解度試験の試験液量は結果に影響を及ぼすことがある。試験液量について OECD TG301F では規定がないが、化審法 301F では例として 300 mL と記載されている。化審法 301F は試験液量を 300 mL に限定していないことから、OECD TG301F と整合性しているが、限定しないことが妥当か確認した。有識者に意見聴取した結果、複数の有識者が妥当と回答したが、一部の有識者から異なる試験条件で得られた結果を審査する難しさについて意見があった。

欧州 REACH 規則では試験液量を増加する試験が認められている。被験物質の分解性をより多面的に評価するため、化審法 301C 及び化審法 301F において、試験液量を変更した追加試験を許容することを提案した。有識者に意見聴取した結果、試験液量を増加する追加試験については複数の有識者から同意が得られたが、試験液量を変更する意義を疑問視する意見も複数あった。

試験液量が結果に影響を及ぼすことがあることを考慮し、化審法 301C 及び化審法 301F

において試験液量を変更した追加試験の試験液量の上限及び下限を設けることが妥当か確認した。有識者に意見聴取した結果、複数の有識者から上限及び下限を敢えて設ける必要はないとの意見が得られたが、有識者全員から変化物分析に支障がないように下限に留意するように意見があった。

(1)-4) 試験期間の設定に関する検討

OECD 文書では、易生分解性試験の試験期間の延長により本質的生分解性を評価できるとされる。化審法 301C 及び化審法 301F において、試験期間 28 日間の試験を実施せずに 60 日間の試験で評価することを提案した。有識者に意見聴取した結果、現行の化審法の考え方を大きく変更することになるため有識者全員が否定的であった。

被験物質の分解性をより多面的に評価するため、追加試験として 60 日間の試験を許容することを提案した。有識者に意見聴取した結果、有識者全員から同意が得られた。

また、微生物への阻害を軽減するため、追加試験として実施する 60 日間の試験における被験物質濃度を ThOD 濃度として 50～100 mg/L も許容することを提案した。有識者に意見聴取した結果、有識者全員から同意が得られた。

1.1.5-(2) 今後の課題

(2)-1) 基準物質の選定に関する検討

基準物質は試験の有効性を把握することが目的であり、汚泥の分解活性評価を目的としたものではないとの意見が多数であった。化審法 301C でアニリン以外に酢酸ナトリウムと安息香酸ナトリウムを試験法に追加するための調整が必要である。

(2)-2) 被験物質濃度の設定に関する検討

被験物質濃度の設定に関する設問に対する有識者間の考え方は一致していたが、低濃度試験として許容できる濃度レベル及び結果の扱いについては具体的なケーススタディを行い、考え方を整理する必要がある。

- 低濃度試験として許容できる濃度レベル
- 高濃度試験（標準試験）と低濃度試験（追加試験）の両方の試験結果から良分解性と判断できる事例
- 高濃度試験と低濃度試験で生成する変化物が異なる場合の後続評価対象成分判断スキーム

(2)-3) 試験液量の設定に関する検討

試験液量の設定に関する設問に対する有識者間の考え方は一致していたが、結果の扱いについては具体的なケーススタディを行い、考え方を整理する必要がある。なお、化審法 301F では、試験液量が規定されていないので、標準試験として試験液量を増加する試験が実施可能である。

- 通常の試験液量の試験（標準試験）と増量する試験（追加試験）の両方の試験結果から良分解性と判断できる事例
- 通常の試験液量の試験と増量する試験で生成する変化物が異なる場合の後続評価対象成分判断スキーム

(2)-4) 試験期間の設定に関する検討

試験期間の設定に関する設問に対する有識者間の考え方は一致していたが、結果の扱いについては具体的なケーススタディを行い、考え方を整理する必要がある。

- 28日間（標準試験）と60日間（追加試験）の両方の試験結果から良分解性と判断できる事例
- 28日間試験と60日間試験で生成する変化物が異なる場合の後続評価対象成分判断スキーム

-
- [1] 厚生労働省、経済産業省、環境省 (2020) 新規化学物質等に係る試験の方法について。
- [2] OECD (1992) Test No. 301: Ready Biodegradability.
- [3] OECD (2009) Test No. 302C: Inherent biodegradability—Modified MITI test (II).
- [4] 化学物質評価研究機構 (2014) 平成 25 年度経済産業省委託事業化学物質安全対策等（化学物質の試験方法開発等（濃縮度試験法の調査・検討）（分解度試験法の調査・検討）報告書。
- [5] Ingerslev F, Toräng L, Nyholm N. (2000) Importance of the test volume on the lag phase in biodegradation studies. *Environ. Toxicol. Chem.*, 19(10); 2443-2447.
- [6] Takekoshi S, Takano K, Matoba Y, Sato M, Tachibana A. (2021) Investigation of OECD 301F ready biodegradability test to evaluate chemical fate in a realistic environment. *J. Pestic. Sci.* 46 (2); 143-151.
- [7] Gartiser S, Brunswik-Titze A, Flach F, Junker T, Sättler D, Jöhncke U. (2022) Enhanced ready biodegradability screening tests for the evaluation of potential PBT substances. *Sci. Total Environ.* 833; 155134.
- [8] ECHA (2023) Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment Chapter.11: PBT/vPvB assessment.
- [9] OECD (1992) Test No. 310: Ready Biodegradability - CO₂ in sealed vessels (Headspace Test).
- [10] OECD (2006) Revised introduction to the OECD guidelines for testing of chemicals, Section 3.

1.2. 蓄積性評価に関する検討テーマ（ヨコエビを用いた水暴露法による濃縮度試験）

化審法における新規化学物質の審査では、「魚介類の体内における化学物質の濃縮度試験」の結果に基づき蓄積性評価を行っている。化審法の法定試験法としては、OECD TG305に準拠した3種の方法が規定されており、「I：魚を用いた濃縮度試験（水暴露法）」、「II：魚を用いた濃縮度試験（簡易水暴露法）」及び「III：魚を用いた濃縮度試験（餌料投与法）」がある。いずれの試験も試験生物として魚類を使用し、魚種はコイ又はメダカが推奨されている。

一方で、昨年度事業[1]では、化審法の蓄積性評価への WoE 等の導入に当たり、魚類以外の生物の試験データとして有益な情報と示唆された、底生生物の蓄積性評価に係る海外の活用事例及び底質環境への影響や底生生物への蓄積が懸念される化学物質の条件の候補について調査を行った。

本年度事業では、2024年6月に OECD TG321 として新たに採択された底生生物のヨコエビを用いた水暴露法による濃縮度試験（HYBIT）について、試験結果から蓄積性評価を行うための判断基準の作成に必要な情報の検討・収集及び前提条件の整理を行った。具体的には「OECD TG321 の試験設計及び設計の根拠となる前提条件」及び「海外における OECD TG321 の活用状況」の2項目について調査を実施した。その際、OECD TG321 を蓄積性評価に導入している欧州の規制当局、HYBIT の OECD TG 化の提案国及び OECD TG321 を実施している試験機関等からできる限り最新の情報を収集した。調査結果は、化審法の法定試験法である魚類を用いた濃縮度試験の運用も踏まえて、整理した。

1.2.1. 調査方法

1.2.1-(1) OECD TG321 の試験設計及び設計の根拠となる前提条件

本項目に関する調査は、以下の6点について実施した。

(1)-1) OECD TG321 の確認

2024年6月に採択された OECD TG321 の原文を確認し、試験条件の整理及び OECD TG305-I との相違点の抽出を行った。

(1)-2) HYBIT のテストガイドラインプログラムで実施されたリングテスト報告書の確認

OECD のテストガイドラインプログラムにおけるナショナルコーディネーターワーキンググループ（WNT）によって OECD TG321 が策定されたが、この一環として欧州の複数の試験機関によるリングテストが実施されている。公開されているリングテスト報告書を確認し、リングテストによって明らかになった HYBIT の課題を抽出した。

(1)-3) OECD TG321 草案のレビューにおいて OECD 加盟各国から寄せられたコメントの確認

(1)-2)に記載のリングテストの結果を踏まえて、OECD TG321 の草案が策定されたが、これに対する OECD 加盟各国のレビュー（コメント）を確認し、指摘された HYBIT の課題を抽出した。

(1)-4) 関連文献の調査

HYBIT の開発者らによって発表されている文献を確認し、HYBIT の結果から蓄積性を評価するために必要となる前提条件及び知見について整理した。

(1)-5) HYBIT の結果と化審法における濃縮度試験（コイ）の結果の比較

OECD TG321 の結果から蓄積性を評価するためには、化審法における蓄積性評価で使用されている魚類（コイ）の結果との相関性が重要となる。そのため、HYBIT の結果が得られている 11 の物質について、化審法（NITE-CHRIP[2]）に登録されている濃縮度試験結果（コイにおける BCF）の有無を調査し、データが存在したものについて、HYBIT の BCF と比較した。

(1)-6) ヨコエビと魚類の感受性の既知見の調査

濃縮度試験では、試験生物に対して化学物質の毒性影響が無い濃度で試験を実施する必要があるが、ヨコエビと魚類（コイ）では化学物質に対する感受性（毒性値）が大きく異なる可能性があり、毒性値の低い（毒性の強い）物質は濃縮度試験の試験設計（試験実施難度）に影響を及ぼす可能性が考えられる。そこで、ヨコエビ（*Hyaella azteca*）及びコイ（*Cyprinus carpio*）の両方の毒性値の既知見が存在する農薬について、農薬取締法における「水域の生活環境動植物の被害防止に係る農薬登録基準」の評価済みリスト[3]から毒性値を抽出し、比較した。

1.2.1-(2) 海外における OECD TG321 の活用状況

本項目に関する調査は、以下の 2 点について実施した。

(2)-1) OECD TG321 を導入している海外法規制の調査

HYBIT の TG 化提案国は、HYBIT の開発を実施してきた欧州連合（EU）のドイツ及びフランスである。EU では、欧州 REACH 規則に従って化学物質の評価が行われており、HYBIT の TG 化後、REACH における蓄積性評価ガイダンスも改訂され、HYBIT が盛り込まれている。そこで、EU 加盟国委員会（MSC）の HYBIT に関する議事録及び REACH の蓄積性評価のガイダンスを確認し、REACH の蓄積性評価における HYBIT の位置づけ及び評価基準について調査した。

また、蓄積性評価に関連する国際的な枠組みとして、残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約による規制対象物質について検討を行う「残留性有機汚染物質検討委

員会」(POPRC)があるが、本委員会の資料についても確認し、HYBITのデータが議論されているかを調査した。

(2)-2) OECD TG321を導入している海外規制当局及び試験機関への聞き取り調査

蓄積性評価にHYBITを導入しているREACHにおいて、届出された化学物質の蓄積性の評価(Compliance check)は、欧州化学品庁(ECHA)の蓄積性評価の専門家によって行われている。また、REACHでは評価対象化学物質がPBT及びvPvB物質に該当するかどうかの判断を行うため、EU各国の蓄積性評価の専門家で構成されるグループが設置されており、HYBITのTG化の提案国のドイツからもドイツ連邦環境庁(UBA)所属の専門家がグループメンバーとして参加している。更に、HYBITはドイツの試験機関であるフラウンホーファー研究機構(FhG)で開発されており、その開発の一部はUBAによるプロジェクトとして実施されている。そこで、HYBITの活用状況に関する調査のため、ECHA、UBA及びFhGを訪問し、関係者への聞き取りを行った。

1.2.1-(3) 有識者ヒアリングの実施

有識者7名(大学・研究機関:6名、民間企業:1名)によるヒアリングを2回開催し、1.2.1-(1)及び(2)の調査結果及びHYBITに関する検討事項について意見を収集した。

1.2.2. 調査結果

1.2.2-(1) OECD TG321の試験設計及び設計の根拠となる前提条件

(1)-1) OECD TG321の確認

OECD TG321[4]とOECD TG305-I[5]における主な試験条件及び操作方法について図表1.2.2-(1)-1に示す。OECD TG321はOECD TG305-Iを基に策定されたため、試験条件についてはOECD TG305-Iとの共通点が認められた。一方で、試験生物の違いに起因する相違点も認められ、OECD TG321はOECD TG305-Iよりも試験期間が短く、飼育方法、雌雄の選別、給餌方法、試験生物のサンプリング、試験の有効性基準及び一部の評価指標等が異なっている。

図表 1.2.2-(1)-1 OCED TG321 及び OECD TG305-I の試験概要 (1/5)

項目	OECD TG321	OECD TG305-I
適用範囲	log Pow 1.5～6.0 の物質が最も適しており、水中に安定に溶解して試験水濃度が測定できる場合は、log Pow 6.0 超の物質も適用可能である。	log Pow 1.5～6.0 の物質が最も適しており、水中に安定に溶解して試験水濃度が測定できる場合は、log Pow 6.0 超の物質も適用可能である。
試験生物	ヨコエビ (<i>Hyaella azteca</i>)	ゼブラフィッシュ、ファットヘッドミノー、コイ、メダカ、グッピー、ブルーギル、ニジマス、イトヨ
試験に供する試験生物の性別	雄を使用すべきである。雌雄の選別は試験開始の 1～2 日前に実施すべきである。	産卵状態及び産卵済みの個体は使用するべきでない。試験に使用する個体の性別は報告すべきであり、雌雄両方を使用する場合、成長及び脂質含量に顕著な差が無いことを事前に証明すべきである。
体重	取込開始時の平均が 2.5 mg 以上であるべきである。	最も小さな魚の体重が最も大きな魚の体重の 2/3 より小さくならないよう、体重の均一な魚を選択する。
全長	規定されていない。	8.0±4.0 cm
週齢又は年齢	8 週齢～6 か月の間の生物を使用すべきである。	急激な成長の幼魚の使用は避けるべきである。
試験生物を外部購入した場合	少なくとも 1 か月は畜養するべきである。	規定されていない。
順化	試験開始 1～2 日前に選別した雄を希釈水 50%、培地 50% の比率で混合した飼育水で順化させる。	試験で使用する希釈水で少なくとも 2 週間順化させる。
疾病を発見した場合	廃棄する。試験開始前 2 週間あるいは試験中に病気に対する処置はしない方がよい。	廃棄する。試験開始前 2 週間あるいは試験期間中に、病気に対する処置はしない方がよい。

図表 1.2.2-(1)-1 OCED TG321 及び OECD TG305-I の試験概要 (2/5)

項目	OECD TG321	OECD TG305-I
希釈水	少なくとも年間 2 回は水質を測定し、問題ないことを確認するべきである。	少なくとも年間 2 回は水質を測定し、問題ないことを確認するべきである。
暴露方法	流水式又は半止水式	流水式又は半止水式
換水量又は飼育密度	<p><流水式> 少なくとも水槽容量の 5 倍量/day の換水量とするべきである。</p> <p><半止水式> 低い飼育密度(例えば 100 匹/L)にするべきである。</p>	<p><流水式> 少なくとも水槽容量の 5 倍量/day の換水量とするべきである。</p> <p>飼育密度は 0.1~1 g/L/day が推奨される。</p> <p><半止水式> 規定されていない。</p>
照光時間及び強度	照光時間は 16 時間が推奨される。水面での光強度は $8\sim 16 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{S}^{-1}$ または 500~1000 lx を超えてはならない。	照明時間は 12~16 時間が推奨される。光強度は規定されていない。
試験水の水質測定頻度	<p>DO は毎日測定するべきである。取込期間が 1 週間を超える場合は、試験水分析と同時でもよい。</p> <p>TOC は試験生物を搬入する前、取込終了時、排泄開始時、排泄終了時に測定するべきである。</p> <p>pH は毎日測定するべきである。取込期間が 1 週間を超える場合は、試験水分析と同時でもよい。</p> <p>全硬度は取込開始時に測定するべきである。</p> <p>水温は毎日測定するべきである。</p>	<p>DO は取込期間においては 3 回(開始時、中間時及び終了時)、排泄期間においては 1 週間に 1 回測定するべきである。</p> <p>TOC は、試験生物を搬入する前(取込期間開始の 24 及び 48 時間前)と、取込期間及び排泄期間において、1 週間に 1 回測定するべきである。</p> <p>pH は取込期間及び排泄期間において、それぞれ 2 回(開始時及び終了時)測定するべきである。</p> <p>全硬度は取込期間及び排泄期間において、対照区の水槽及び試験区の水槽(設定濃度が高い水槽)1 つについて、それぞれ 1 回測定するべきである。</p> <p>水温は毎日 1 回測定するべきである。</p>
試験水の TOC	被験物質と溶剤由来の理論値から 10 mg/L を超えないこと。	被験物質と溶剤由来の理論値から 10 mg/L を超えないこと。
試験水に対する溶剤濃度上限	100 mg/L 又は 0.1 mL/L を超えないこと。	100 mg/L 又は 0.1 mL/L を超えないこと。
試験水の pH	6.0~8.5 の範囲とする。ただし、試験期間内の変動は ± 0.5 以内とする。	6.0~8.5 の範囲とする。ただし、試験期間内の変動は ± 0.5 以内とする。

図表 1.2.2-(1)-1 OCED TG321 及び OECD TG305-I の試験概要 (3/5)

項目	OECD TG321	OECD TG305-I
試験濃度	水溶解度以下の 1 試験区又は 2 試験区及び対照区を設定する。 無極性有機化合物は濃度依存性が予想されないことから、1 試験区で十分である。 2 試験区の場合の濃度公比は規定されていない。	水溶解度以下の 1 試験区又は 2 試験区及び対照区を設定する。 無極性有機化合物は濃度依存性が予想されないことから、1 試験区で十分であるが、適用する規制の枠組みによっては、2 試験区での実施が要求される場合もある。1 試験区で実施する場合はその妥当性を報告しなければならない。 2 試験区の場合の濃度公比は 10 とされているが、技術的に困難な場合は 10 よりも小さい濃度公比での実施も可能である。
試験水温	23±2℃	コイの場合は 20～25℃(許容変動範囲は±2℃)
溶存酸素濃度	飽和溶存酸素濃度の 50% 未満にならないこと。	飽和溶存酸素濃度の 60% 以下にならないこと。
試験期間中の給餌	毎日給餌する。 デコタブと呼ばれる餌(キューブ)が推奨されるが、他に適切な給餌方法があればそれを採用することも可能である。 キューブ 5 つでヨコエビ 1000 匹分の給餌量となる。試験期間中の個体数の減少に応じて、キューブの数を減らす。 残餌は次の給餌前に除去する。	毎日給餌する。 用いる魚種、試験条件及び餌のカロリー値に基づき、計算した量の餌を与える。同一の給餌量を維持するため、餌の量を適宜、例えば週 1 回、再計算するべきである。 給餌後 30 分～1 時間で試験水槽の残餌を除去する。
試験生物の観察	試験期間中、毎日実施するべきである。不健康(変色、活動していない、死亡)に見える個体は除去する。	試験期間中、毎日実施するべきである。死亡又は明らかに瀕死の個体は除去する。
試験期間	<取込期間> 3～14 日間 取込期間の目安 log Pow <4: 3～4 日 log Pow 4～5: 4～10 日 log Pow >5: 最長 14 日 14 日間で定常状態に達しなかった場合、速度論による BCF を算出するために排泄期間へ移行する。 <排泄期間> 少なくとも取込期間と同程度とし、ヨコエビ中の被験物質濃度が定常状態の 95% 以上減少するまで延長すべきである。	<取込期間> 速やかに定常状態に達することが明らかかな場合を除き、28 日間で実施されるべきである。28 日間で定常状態に達しなかった場合、60 日間まで期間を延長するか、速度論による BCF を算出するために排泄期間へ移行することが可能である。 <排泄期間> 排泄が 1 次速度式に従う物質は、取込期間の半分の期間は魚体中の被験物質濃度が十分に減少(例: 95% 減少)するまでに十分な排泄期間である。

図表 1.2.2-(1)-1 OCED TG321 及び OECD TG305-I の試験概要 (4/5)

項目	OECD TG321	OECD TG305-I
1回のサンプリングにおける試験生物数	60匹(20匹/群×3群)/試験区とする。 1群当たり最低50mgの試料が必要	個体毎に分析の場合は最低4尾/試験区とする。 個体ごとの分析が困難な場合は複数魚を1群にまとめて分析可能(群数の規定無し)
試験生物のサンプリング操作	細かいメッシュのディップネットで採取する。 水で慎重にすすぎ、糸くずの出ない繊維で表面をふき取り、プールサンプル(20匹を1群にまとめた試料)の湿重量を測定する。	魚に苦痛の少ない最も適した方法で、サンプリングした魚を瞬時に安楽死させ、体重及び全長を測定する。
サンプリング回数	<試験水(被験物質分析)> 試験生物の搬入前及び試験生物の分析と同時 <試験生物(被験物質分析)> 取込期間は最低5回 排泄期間は最低4回 飼育密度を統一するため、対照区も同様に採取する。 <試験生物(脂質含量測定)> 取込開始前、取込終了時及び排泄終了時	<試験水(被験物質分析)> 試験生物の搬入前及び試験生物の分析と同時 <試験生物(被験物質分析)> 取込期間は最低5回 排泄期間は最低4回 <試験生物(脂質含量測定)> 取込開始前、取込終了時及び排泄終了時
定常状態の判断基準	最後の連続した3回の測定におけるヨコエビ中の被験物質濃度がそれぞれ±20%以内であり、連続分析の最初と最後の間に有意な増加が認められない場合に定常状態と判断する。	最後の連続した3回の測定における魚体中の被験物質濃度がそれぞれ±20%以内であり、連続分析の最初と最後の間に有意な増加が認められない場合に定常状態と判断する。複数魚をまとめて分析した場合は、連続4回の測定で同様の判断を行う。

図表 1.2.2-(1)-1 OCED TG321 及び OECD TG305-I の試験概要 (5/5)

項目	OECD TG321	OECD TG305-I
試験の有効性基準	<ul style="list-style-type: none"> ・試験水の温度は $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ の範囲であること。24 時間以内の温度変動が $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 以上にならないこと。 ・試験水の溶存酸素濃度は、飽和濃度の 50% 未満にならないこと。 ・水槽中の被験物質濃度は、取込期間中の測定値の平均に対して $\pm 20\%$ 以内に保たれること。 ・被験物質濃度は水溶解度以下であること。 ・対照区及び試験区のヨコエビの死亡率は試験終了時に 20% 未満であること。試験終了時にヨコエビを計数し、共食いによると思われる個体数の減少も死亡数に含める。 	<ul style="list-style-type: none"> ・試験水の温度変動は $\pm 2^{\circ}\text{C}$ 未満であること。 ・試験水の溶存酸素濃度は、飽和濃度の 60% 以下にならないこと。 ・試験水中の被験物質濃度は、取込期間中の測定値の平均に対して $\pm 20\%$ 以内に保たれること。 ・試験水中の被験物質濃度は水溶解度以下であること。 ・死亡又は病気などの異常は、対照区及び試験区の魚において試験終了時に 10% 未満であること。試験が数週あるいは数ヶ月延長になった場合には、対照区及び試験区における死亡又は異常については 1 ヶ月あたり 5% 未満かつ全部で 30% を超えないこと。
成長希釈補正	<p>試験期間が短く、体重増加（成長）が極めて小さい成体を用いるため、成長希釈は無視できる。</p>	<p>排泄期間中の魚の成長は、排泄速度定数 (k_2) に大きな影響を与えるため、試験魚中の被験物質濃度が見かけ上低く算出されることから、速度論による生物濃縮係数は成長による希釈に対して補正するべきである。</p>
脂質含量補正	<p>3% 脂質含量（湿重量換算）で標準化する。</p>	<p>5% 脂質含量（湿重量換算）で標準化する。</p>
結果の計算	<p>以下のパラメータを算出する。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・定常状態における生物濃縮係数 (BCF_{SS}) ・3% 脂質含量標準化した BCF_{SSL} ・取込速度定数 k_1 ・排泄速度定数 k_2 ・速度論による BCF (BCF_{K}) ・3% 脂質含量標準化した BCF_{KL} 	<p>以下のパラメータを算出する。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・定常状態における生物濃縮係数 (BCF_{SS}) ・5% 脂質含量標準化した BCF_{SSL} ・取込速度定数 k_1 ・排泄速度定数 k_2 ・速度論による BCF (BCF_{K}) ・5% 脂質含量標準化した BCF_{KL} ・成長希釈補正した BCF_{Kg} ・5% 脂質含量標準化した BCF_{KgL} ・排泄半減期 ・試験魚の可食部及び非可食部における BCF（必要な場合）

(1)-2) HYBIT のテストガイドラインプログラムで実施されたリングテスト報告書の確認

リングテストは図表 1.2.2-(1)-2 に示した参加機関によって実施された[6]。リングテストの被験物質、試験条件及び主な試験結果を図表 1.2.2-(1)-3～6 に示す。リングテストの結果において、以下の点は試験結果の信頼性に影響を及ぼす内容と考えられた。

- リングテストにおいてヨコエビの平均脂質含量は、n=2 以上における相対標準偏差が 30% 未満であれば、有効と判断されていた。しかしながら、22 試験のうち 4 試験においてこの基準を満たさず、脂質含量のばらつきが大きい値、負または過大と思われる値となった。
- リングテストの 22 試験のうち 2 試験 [テルブトリンの 1 試験、ヘキサクロロベンゼン (HCB) の 1 試験] において、試験水中の平均被験物質濃度の保持率は設定濃度に対して 80% 未満であった。また、試験水濃度の変動については、22 試験のうち 3 試験 (プロクロラズ の 1 試験、HCB の 2 試験) において測定値の時間加重平均±20%の範囲を超えた。

図表 1.2.2-(1)-2 リングテストの参加機関

参加機関	所在国
L'O real	フランス
BioTechnology (BT)	イタリア
The French National Institute for Industrial Environment and Risks (INERIS)	フランス
Innovative Environmental Services (IES)	スイス
Eurofins	ドイツ
BASF	ドイツ
Noack	ドイツ
Institute for BiologicalAnalytics & Consulting (IBACON)	ドイツ
Fraunhofer Institute for Molecular Biology and Applied Ecology (FhG-IME)	ドイツ
German Environment Agency (Umweltbundesamt, UBA)	ドイツ
ECT	ドイツ

図表 1.2.2-(1)-3 リングテストの被験物質

被験物質	テルブトリン	プロクロラズ (2 機関は ¹⁴ C 体を使用)	HCB
構造式			
分子式	C ₁₀ H ₁₉ N ₅ S	C ₁₅ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₂	C ₆ Cl ₆
分子量	241.36	376.67	284.76

図表 1.2.2-(1)-4 ヨコエビの脂質含量測定結果

被験物質 項目	テルブトリン		プロクロラズ		HCB	
	脂質含量 (%) (CV ^{*2-1})	暴露 方法	脂質含量 (%) (CV ^{*2-1})	暴露 方法	脂質含量 (%) (CV ^{*2-1})	暴露 方法
機関 A	3.2±0.30 (9.3%)	半止水	3.1±0.43 (14.0%)	半止水		
機関 B	-0.13±0.97 (775%)	半止水	-0.01±1.13 (13112%)	半止水		
機関 C	1.8±0.32 (18.5%)	半止水	1.6±0.27 (16.9%)	半止水		
機関 D	2.5±0.52 (21.0%)	半止水	3.2±0.68 (21.3%)	半止水		
機関 E	3.0±0.70 (23.4%)	半止水	3.8±0.60 (15.7%)	半止水		
機関 F			2.7±0.23 (8.45%)	半止水	1.4±0.21 (14.8%)	
					2.5±0.47 (18.9%) ^{*2-2}	半止水
機関 G			5.1±1.19 (24.7%) ^{*2-2}	流水		
機関 H			1.9±0.32 (16.5%)	流水	2.4±0.28 (11.9%)	流水
機関 I			3.2±0.26 (8.2%)	流水	2.6±0.31 (11.7%)	流水
機関 J			3.4±4.56 (136%)	流水	7.7±3.24 (42.2%)	流水
機関 K			2.3±0.41 (17.6)	流水	2.6±0.30 (11.6%)	流水

*2-1 変動係数

*2-2 ¹⁴Cプロクロラズを使用した試験

図表 1.2.2-(1)-5 試験水濃度に関する結果

被験物質 暴露方法	テルブトリン	プロクロラズ		HCB
	半止水	半止水	流水	流水
平均試験水濃度保持率が 80%以上の機関/参加機関	5/6	7/7	5/5	3/4
試験水濃度の変動が ±20%以内の機関/参加機関	6/6	7/7	4/5	2/4

図表 1.2.2-(1)-6 BCFに関する結果

被験物質	テルブトリン	プロクロラズ		HCB
暴露方法	半止水	半止水	流水	流水
BCF _{SS} (CV ^{*2-3})	22~66 L/kg (48%)	166~128 L/kg (24%) 278 L/kg ^{*2-4,2-5}	84~109 L/kg (11%) 260 L/kg ^{*2-4,2-5}	14619~22130 L/kg ^{*2-5}
BCF _{SSL} (CV ^{*2-3})	24~62 L/kg (34%)	75~174 L/kg (32%) 333 L/kg ^{*2-4,2-5}	86~173 L/kg (29%) 355 L/kg ^{*2-4,2-5}	17389~27662 L/kg ^{*2-5}
BCF _K (CV ^{*2-3})	20~49 L/kg (33%)	68~128 L/kg (22%) 286 L/kg ^{*2-4}	85~101 L/kg (8%) 271 L/kg ^{*2-4}	18544~32064 L/kg (23%)
BCF _{KL} (CV ^{*2-3})	26~46 L/kg (20%)	76~175 L/kg (36%) 343 L/kg ^{*2-4}	86~160 L/kg (26%) 369 L/kg ^{*2-4}	21397~40079 L/kg (24%)

*2-3 変動係数

*2-4 ¹⁴Cプロクロラズを用いた試験の結果（代謝物を含めた BCF として算出される）

*2-5 定常状態に達しなかったため、参考値として算出し、変動係数は算出しなかった。

(1)-3) OECD TG321 草案のレビューにおいて OECD 加盟各国から寄せられたコメントの確認

OECD TG321 の草案に対する OECD 加盟各国のレビューでは、HYBIT の課題に関する以下のコメントが挙げられている。

- ヨコエビと魚類における BCF の差が、生物の体積に対する表面積の比率（比表面積）の違いにどの程度起因しているかを調査するべきである。ヨコエビは、魚類よりも比表面積が相対的に大きいため、体表への吸着性のある物質の場合、ヨコエビから検出された被験物質は、体内と比較して体表に吸着した分の割合が大きくなる可能性がある。
- ヨコエビの脱皮が BCF に与える影響について、議論すべきである。体表への吸着性のある物質の場合、ヨコエビにおける BCF は脂質含量に依存しない可能性がある。さらに、体表へ吸着する割合が高い場合、ヨコエビの脱皮が被験物質の BCF に重要な影響を及ぼす可能性がある。
- 多くの物質について、ヨコエビの急性毒性データは存在しないため、HYBIT を実施する前に急性毒性試験を実施し、濃縮度試験濃度を決定する必要がある。
- 試験動物に対する適切な条件を確認するために対照区は重要であるが、試験生物数とサンプル数が 2 倍になるため、雌雄の選別の時間が 2 倍になるなど、試験実施にかなりの労力が伴う。試験動物に対する適切な条件を確認するために対照区は重要であるが、対照区の簡素化について検討できないか。

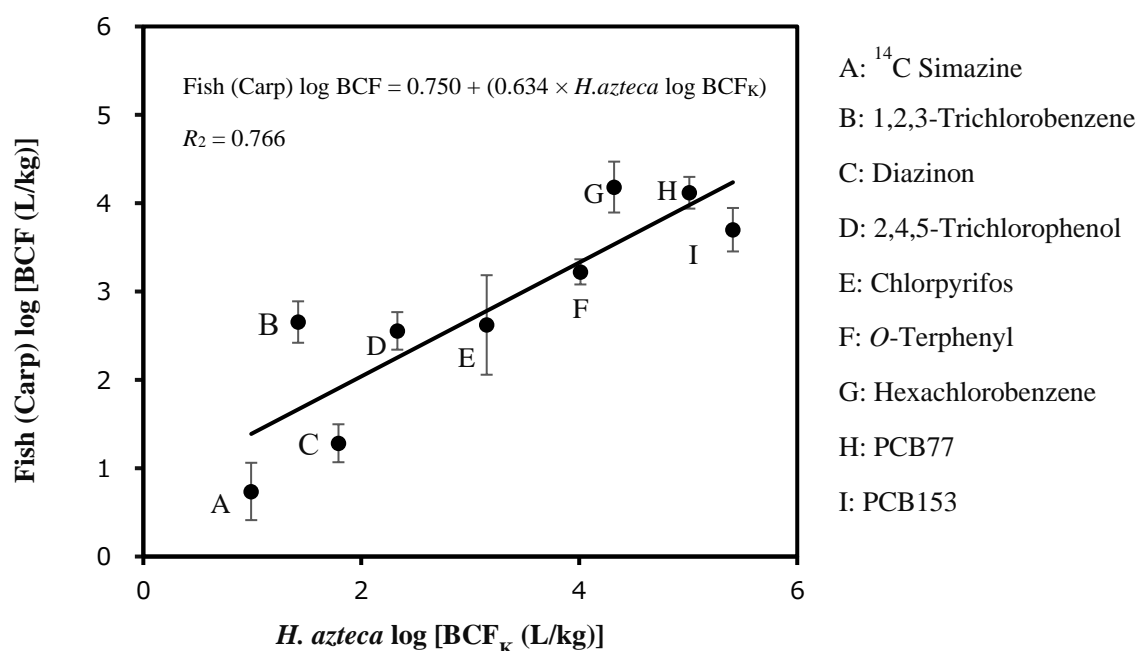
(1)-4) 関連文献の調査

HYBITの開発者である Schlechtriem らは、log Pow（予測値）が 2.4～7.6 の範囲の 13 物質について、HYBIT を実施し、得られたヨコエビの BCF と文献から収集した魚類（ニジマス、コイ、グッピー）の BCF との相関性を確認した[7]。ヨコエビと魚類の BCF のプロットに対する線形回帰の結果、正の相関性が示された ($R^2 = 0.687$)。また、ヨコエビの BCF は、魚類と比較して高くなる傾向があった。これは、魚類に存在するグルクロン酸抱合等の代謝経路が端脚類（ヨコエビ）に存在しないことに由来すると考察されている。

Kosfeld らは農薬 4 物質（アズキシストロビン、プロクロラズ、テルブトリン及びトリフロキシストロビン）について HYBIT を実施し、ヨコエビから検出された代謝物（濃度の経時変化）を基に代謝速度を算出した[8]。また、同物質について、OECD TG319A に基づいてニジマスの肝細胞を用いた代謝試験を実施し、ヨコエビの代謝速度と比較した。その結果、ヨコエビはニジマスよりも代謝活性が低い傾向であることが示唆された。また、被験物質の代謝物の一つであるグルクロン酸抱合体は、ニジマスの肝細胞からのみ検出され、被験物質の代謝物の一つであるグルコース抱合体は、ヨコエビからのみ検出された。この結果は、グルクロン酸抱合体は主に魚類に見られ、グルコース抱合体は主に無脊椎動物に見られるという知見とも整合するとされている。

(1-5) HYBITの結果と化審法における濃縮度試験（コイ）の結果の比較

(1-4)において、SchlechtriemらによりHYBITのBCFが得られている13物質について、化審法（NITE-CHRIP）に登録されている濃縮度試験（コイにおけるBCFが得られている）結果の有無を調査したところ、9物質のデータが存在した。9物質について、ヨコエビ（Schlechtriemらの結果）とコイ（化審法の結果）のBCFのプロットを図表1.2.2-(1)-7に示す。コイ（化審法の結果）におけるBCFは2濃度区で実施された結果の平均値を用いて、その最大最小値をエラーバーで示した。ヨコエビとコイのBCFのプロットに対する線形回帰の結果、正の相関性が示された（ $R_2 = 0.766$ ）。

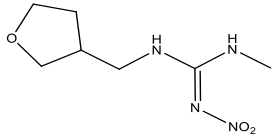
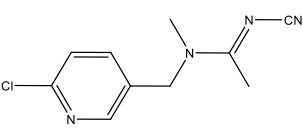
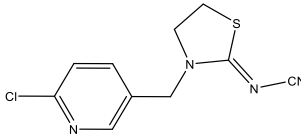


図表 1.2.2-(1)-7 9物質におけるヨコエビ及びコイのBCF

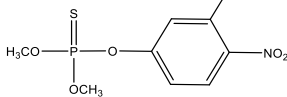
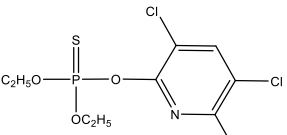
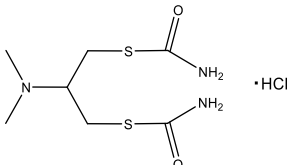
(1-6) ヨコエビと魚類の感受性の既知見の調査

ヨコエビ及び魚類の毒性値が存在した12種類の農薬について、概要を図表1.2.2-(1)-8に示す。各物質に対する感受性について、ヨコエビはコイと同程度又はコイよりも高い（毒性値が低い）傾向が認められた。

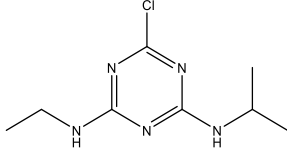
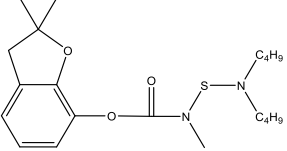
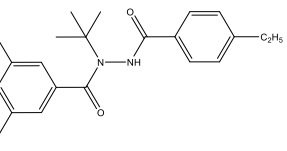
図表 1.2.2-(1)-8 12種類の農薬のヨコエビ及びコイにおける急性毒性
(96時間 LC₅₀) 値 (1/4)

物質	ジノテフラン	アセタミプリド	チアクロプリド
系統	ネオニコチノイド系	ネオニコチノイド系	ネオニコチノイド系
構造式			
分子量	202.21	222.7	252.7
96 h-LC ₅₀ (ヨコエビ)	1100 µg/L	66 µg/L	3360 µg/L
96 h-LC ₅₀ (コイ)	>97260 µg/L	>99500 µg/L	>96700 µg/L

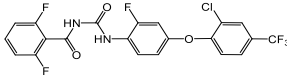
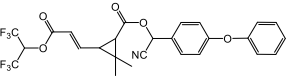
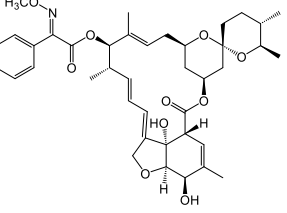
図表 1.2.2-(1)-8 12種類の農薬のヨコエビ及びコイにおける急性毒性
(96時間 LC₅₀) 値 (2/4)

物質	フェニトロチオン	クロルピリフォス	カルタップ
系統	有機リン系	有機リン系	ネライストキシシン系
構造式			
分子量	277.2	350.56	273.8
96 h-LC ₅₀ (ヨコエビ)	9.7 µg/L	0.138 µg/L	64 µg/L
96 h-LC ₅₀ (コイ)	1300 µg/L	190 µg/L	550 µg/L

図表 1.2.2-(1)-8 12種類の農薬のヨコエビ及びコイにおける急性毒性
(96時間 LC₅₀) 値 (3/4)

物質	アトラジン	カルボスルファン	テブフェノジド
系統	トリアジン系	カーバメート系	ジアシル-ヒドラジン系
構造式			
分子量	215.7	380.5	352.5
96 h-LC ₅₀ (ヨコエビ)	14700 µg/L	0.16 µg/L	>920 µg/L
96 h-LC ₅₀ (コイ)	19000 µg/L	65.4 µg/L	>830 µg/L

図表 1.2.2-(1)-8 12種類の農薬のヨコエビ及びコイにおける急性毒性
(96時間 LC₅₀) 値 (4/4)

物質	フルフェノクスロン	アクリナトリン	レピメクチン
系統	ベンゾイルウレア系	ピレスロイド系	アベルメクチン系
構造式			
分子量	488.5	541.4	705.83
96 h-LC ₅₀ (ヨコエビ)	>7.8 µg/L	0.021 µg/L	1.0 µg/L
96 h-LC ₅₀ (コイ)	>5560 µg/L	>165 µg/L	8.6 µg/L

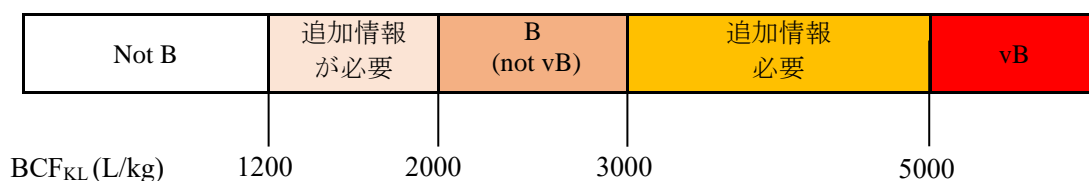
1.2.2-(2) 海外における OECD TG321 の活用状況

(2)-1) OECD TG321 を導入している海外法規制の調査

2024年10月に公表されたMSCのHYBITに関する議事録[9]には、以下の内容が記載されている。

- 水暴露法による濃縮度試験が実施可能な物質については、HYBITの実施を要求することが正当化される。
- HYBITはREACHにおける蓄積性評価のための標準情報要件を満たしている。
- 蓄積性評価のための試験をOECD TG305-IからHYBITへ置き換えることは、脊椎動物の試験・研究への使用を最終手段とするREACHの方針に貢献する。

また、REACHの化学物質の安全性評価及び情報要件のガイダンス[10][11]では、蓄積性評価のフロースキームにおいて、*in vivo*（生物を用いた試験）での評価が必要と判断された場合、水暴露法の濃縮度試験の選択肢としてHYBIT及びOECD TG305が併記されている。HYBITによって得られたBCFからB（Bioaccumulative）及びvB（very Bioaccumulative）を判断するための評価基準も記載されており、図表 1.2.2-(2)-1 に示す数値となっている。BCF_{KL}が1200～2000 L/kg 及び 3000～5000 L/kg の場合は、蓄積性評価のために追加情報が必要となり、例としてOECD TG319A12]及びOECD TG319B[[13] が挙げられているが、追加情報を含めた総合的な評価基準（方法）については記載されていない。



図表 1.2.2-(2)-1 REACHにおけるHYBITの評価基準

REACHにおけるHYBITの活用実績としては、紫外線吸収剤として用いられているUV-329の蓄積性評価に活用されており、図表 1.2.2-(2)-2 に示したWoEアプローチにおいて、HYBITの結果に高い重みが付与され、vB物質として評価されている[14]。

図表 1.2.2-(2)-2 REACH における UV-329 の蓄積性評価

項目	概要	不確実性	WoE
TG305-I Key study	ニジマス BCF _{K_{GL}} :約 2000 L/kg	中 定常状態が得られていない k ₂ の統計的信頼性が低い	中 B 評価のための根拠
HYBIT-1 Key study	ヨコエビ BCF _{SSL} :11063 L/kg BCF _{KL} :11876 L/kg	中/低 新しい試験方法であること k ₁ の不確実性 (試験水濃度の変動)	中/高 B/vB 評価のための根拠
HYBIT-2 Supporting study	ヨコエビ k ₁ :8288 L/kg/day	中/低 実験データの更なる バリデーションが必要	中/低 B/vB 評価のための根拠
Field data Supporting study	魚類及び甲殻類中の UV-329 濃度測定	中/高 フィールド研究の限界	中/低 B/vB 評価のための根拠

また、過去 10 年分の POPRC (POPRC.10~20) の委員会資料[15]についても確認したところ、POPRC.12 (2016 年) で規制対象物質とする必要性について議論された Dicofol の作業文書にヨコエビにおける BCF (2009 年) が記載されていたが、具体的な試験方法等は不明であった。上記以外にヨコエビにおける BCF 及び HYBIT に関する記載はなかった。

(2)-2) OECD TG321 を導入している海外規制当局及び試験機関への聞き取り調査

聞き取り調査の結果、HYBIT の実施及び活用状況は以下のとおりであった。

① HYBIT の開発及び TG 化の経緯について

- REACH 規則 (EC) No.1907/2006[16]に基づいて、脊椎動物を使用する OECD TG305-I の代替となる試験として HYBIT は開発された。
- ヨコエビを試験生物とした理由は、実験用として容易に利用 (入手) 可能で、実験室でのハンドリングが確立されており、生態毒性研究で広く使用されているためである。
- HYBIT の TG 化に至った理由は、HYBIT を蓄積性評価における選択肢とするため、標準化された TG が必要であったためである。

② HYBIT の実施について

- ヨコエビは魚類よりも体内の被験物質濃度が定常状態に達するまでの時間は短いことから、試験期間は OECD TG305-I よりも短くなり、試験費用も OECD TG305-I より抑えられる。

- ヨコエビの雌雄の選別は試験開始1~2日前に実施するが、作業者の人数及び練度によって半日~2日間程度の時間を要する。
- 試験期間が短い場合（例えば3~4日間）は、必要に応じて1日に複数回のサンプリングを実施する。
- 1濃度区試験と2濃度区試験の使い分け及び2濃度区試験における濃度公比の考え方は、OECD TG305-Iと同様である。
- HYBITの試験濃度の決定方法はケースバイケースであり、ヨコエビの急性毒性試験を実施し、その結果から決定することもあれば、ヨコエビやミジンコに対する毒性の既知見を基に決定することもある。

③ HYBITの活用について

- REACHのSVHC（高懸念物質）を評価する過程において、HYBITの結果を用いてB及びvB評価が行われたのは、UV-329が唯一の事例である。UV-329に対するHYBITを実施した目的は、HYBITの開発（超疎水性物質へのHYBITの適用性の確認[17]）の一環であり、その結果を副次的にB及びvB評価に活用している。OECD TG321の結果のみでB又はvB評価が行われた実績は無い。
- 一般的に、端脚類は魚類よりも代謝能が低いため、HYBITのBCFはOECD TG305-Iより高くなると予想される。また、脂質に蓄積しない物質（PFAS等）は慎重に評価する必要がある。
- 蓄積性評価におけるカットオフ値として用いられる分子サイズの基準は、細胞膜を通過するポテンシャルの程度であるため、魚類だけでなく水生無脊椎動物（ヨコエビ）にも適用されると考えられる。
- REACHでは今後、脊椎動物の試験を減らすため、生物試験の必要性が確認された物質についてはOECD TG305-IよりもOECD TG321を優先して要求する。OECD TG321が実行不可能な場合のみ、OECD TG305-IIIが実施を要求する。
- REACH付属書XIIIにおいて、B及びvBの評価基準は「水生種」のBCFに基づいて規定されており、ヨコエビも該当する。なお、ECHAの環境暴露評価のガイダンス[18]では、食物連鎖の影響を考慮したリスク評価については、魚類のBCFに基づいて設計されている。ただし、魚類の代わりにムール貝等の他の種のBCFも使用可能と記載されている。
- 追加情報としてのOECD TG319A及びOECD TG319Bの結果をどのように解釈してB及びvB評価を行うかについては、「Integrated assessment strategy for the assessment

of aquatic and terrestrial bioaccumulation of substances」(統合的蓄積性評価方法)のプロジェクトの中で議論中であり、2026年に成果をまとめる予定である。

1.2.2-(3) 有識者ヒアリングの実施

(3)-1) HYBITの試験設計に関する内容について

HYBITの試験設計に関する以下の4点について、有識者へのヒアリングを行い、得られた意見をまとめた。

- ① ヨコエビの毒性値の既知見が無い場合、急性毒性試験を実施し、得られたヨコエビの96h-LC₅₀の1%以下(化審法及びOECD TG305と同様)をHYBITの試験濃度に設定することは妥当か。
 - 有機リン系(殺虫剤系)の物質は甲殻類に対する影響が強く、ヨコエビのLC₅₀の1%程度の濃度では毒性影響が出る可能性がある。試験中に異常行動、呼吸量の低下、麻痺等の症状が出た場合、BCFに影響が出る可能性がある。以上の理由から、ヨコエビのLC₅₀のみを試験濃度の根拠とするのは危険と考える。
 - サンプル(採取する生物)量が限られると分析感度が低下する。毒性が強い物質については試験濃度がng/Lオーダーを下回ることも想定されるため、分析感度を考慮しながら試験濃度を定めるべきである。
 - ヨコエビの毒性値の既知見がなければ急性毒性試験を実施するしかないと考える。
 - 試験水の設定濃度が低くなることによる試験の妥当性(試験濃度を維持できるか否か)の問題が発生することが懸念される。
 - リングテストにおけるテルブトリンの設定濃度を考えると、ヨコエビのLC₅₀の1/100とすることは妥当と考える。クルマエビの場合ではLC₅₀とEC₅₀は乖離する場合があるため、EC₅₀だけで判断しない方が良いと考える。
 - 脱皮することで蓄積の仕組みが変わる可能性がある。物質によっては脱皮を促進するものも存在し得る。設定濃度の考え方に関しては良いと考える。
 - 試験濃度を設定するための基準は必要である。LC₅₀の1/100を原則として、ケースバイケースで判断してはどうか。
- ② OECD TG 202(ミジンコ類急性遊泳阻害試験)の既知見(48h-EC₅₀)またはOECD TG 211(ミジンコ繁殖試験)の既知見(最大無影響濃度:NOEC)がある場合、安全係数で除した値(例:48h-EC₅₀の1%以下)またはNOEC以下をHYBITの試験濃度に設定することは妥当か。
 - 殺虫剤については、例えばネオニコチノイド系農薬のように例外的にミジンコの感受性が低く、毒性値が(殺虫剤に対して感受性が低い)コイに近い場合もある。ヨコエビ

の毒性値の情報がない場合、ミジンコの毒性値だけを基に試験濃度を設定することは危険だと考える。ヨコエビで改めて毒性試験を実施した方が良い場合もあると考える。

- 安全係数を 100 (48h-EC₅₀の 1%以下) とする根拠が乏しい。
 - EC₅₀の判断は難しい。試験の実施者によって判断が変わるのは望ましくないと考える。
- ③ **HYBIT における 1 濃度区試験の選択条件を化審法と同様に考えることは妥当か。**
- 濃度依存性についての十分な知見がないため、HYBIT を導入するのであれば当分は 2 濃度区で実施した方がよい。魚類の水暴露法においても、2 濃度区のデータが蓄積された結果として 1 濃度区の実施を認めた経緯がある。
- ④ **HYBIT における 2 濃度区試験の濃度公比を OECD TG305 及び化審法と同様に考えること (原則として 10 倍異なる 2 濃度区で実施すること) は妥当か。**
- 濃度公比は 10 倍、当局への相談案件の場合は 5 倍程度が妥当と考える。濃度公比が 2 倍、3 倍になると個体差による影響が大きくなり、2 濃度区にした意味が薄れる。低濃度での実施が可能か否かを検討しながら判断するべきである。

(3)-2) HYBIT の活用に関する内容について

化審法における HYBIT の活用に関して、ヒトへの蓄積性評価に活用すること及び WoE で HYBIT を活用することを想定した場合に分けて、それぞれ有識者へのヒアリングを行い、得られた意見をまとめた。

a. ヒトへの蓄積性評価に HYBIT を活用することについて

- ① **化審法においてヒトへの蓄積性評価を対象に HYBIT の結果を活用することは可能か。**
- ヒトの健康を守るためには、栄養段階においてヒトとヨコエビの間に魚が入るため、魚と栄養段階の異なるヨコエビのデータをそのまま用いることはできないと考える。
 - 脊椎動物と無脊椎動物では体内循環及び代謝のメカニズムが異なるため、物質によっては異なる蓄積性を示す可能性が考えられる。ヒトへのリスク評価を考慮した時に、無脊椎動物の場合、魚類の部位別試験 (可食部) に相当する評価が困難である。
 - 血流や肝臓の他に、代謝、体内循環、脂質の蓄積方法も脊椎動物と異なる。両者の構造は根本的に異なるため、化審法で HYBIT の結果は簡単には受け入れられないと考える。
 - 脊椎動物とヨコエビ (甲殻類) は、脱皮や免疫メカニズム (ヨコエビは先天性免疫のみであり、獲得免疫を有さない) の点も異なる。脱皮後に体内に水を大量に取り込むため、BCF の評価の際、脱皮は注視すべき要因である。

- 化審法における蓄積性評価では、ヒトへのリスク評価を魚類の結果に頼っているが、蓄積性について HYBIT と魚類の十分な整合（相関）性が確認されなければ HYBIT は蓄積性評価には使えないと考える。
- b. WoE で HYBIT を活用することについて**
- ① 化審法において HYBIT 独自の評価基準を設ける場合、根拠となる知見や実験データとして以下に示すような調査及び検討事項が必要か。また、その他に必要となる調査及び検討事項はあるか。
- ・ 栄養段階の異なる生物間における食物連鎖を介した生物濃縮の知見の収集
 - ・ 多様な物質についてヨコエビと魚類（コイ）の BCF の相関性の調査（実験データ取得を含む）
 - ・ HYBIT とセットで濃縮性を評価できる可能性のある試験（例:OECD TG319A 及び OECD TG319B）の検討
- HYBIT を化審法へ適用することを考慮すると、多様な物質についてヨコエビと魚類（コイ）の BCF の相関性を調査すれば、HYBIT の結果を補正する際の根拠になりうるが、その優先度は低いと考える。調査する場合は、脂肪含有率及び脂質含量標準化した BCF のデータを取得することが望ましい。
 - OECD TG319 による追加試験では、魚類における代謝速度が評価できるのみであるため、リスク評価を担保するには不十分と考える。代謝速度を考慮して HYBIT の結果を補正する必要がある。
 - HYBIT の試験設計について、試験水中の被験物質が餌へ吸着することも考えられるため、試験水濃度の均一性、及び試験水の前処理における回収率を確認するべきである。また、生物の入手、畜養の観点から見た実用可能性、試験機関間あるいは試験機関内でのデータのばらつき、毒性影響を受けない濃縮度試験濃度の設定方法、低濃度での定量における再現性などの点についても確認が必要と考える。
- ② 化審法における WoE で HYBIT を活用することを想定した場合、以下に示すような調査及び検討事項が必要か。
- ・ ヒトへの影響評価を目的とした時に、HYBIT を魚類のデータと同等に扱えるかの検討
 - ・ EU REACH で 2026 年に成果が報告される予定の統合的蓄積性評価方法の調査
- 化審法の観点でヒトへのリスク評価をベースに考えるのであれば、HYBIT を魚類の濃縮度試験と同等の結果として扱えるのか、あるいは何らかの補正や補足データが必要になるのか、日本としての評価軸を持った上で、日本が独自で検証を行う必要がある

と考える。根拠のある評価軸については、より多くの有識者等の意見を踏まえて議論すべきと考える。

- 食物連鎖において魚がヨコエビを捕食することを考慮した補正が必要である。例えば、以下のような手法が考えられる。魚がある物質を濃縮したヨコエビを捕食すると仮定し、当該物質のヨコエビにおける BCF と化審法における餌料投与方法で高濃縮性がないと判断する基準の BMF_{kg} (0.007) の積を魚類における BCF と比較し、高い方により大きな重み付けをする。
 - 化審法（魚類における BCF）では濃縮性がないと判断された物質であっても、UV-329 のように HYBIT の結果が入ってくることで高濃縮性と判断されるケースも考えられる。そのようなケースをどのように考えるかが重要である。
 - 魚類とヨコエビでは栄養段階や代謝も異なるため、もし HYBIT を化審法に取り入れるのであれば、現行の $\log P_{ow}$ のようなファーストスクリーニングとして行い、その次の段階で魚類の蓄積性評価を行う手順になるのではないか。魚類における可食部の考え方や、ヨコエビと魚類の結果が一致するとは限らないことを踏まえて、HYBIT で得られたデータをよく確認していく必要がある。今後、HYBIT のデータ取得が進んでいく中で、腸管や肝臓で代謝されやすい物質などにも注目してデータを蓄積していくと良いと考える。
 - 今後、REACH で HYBIT のデータが増えるはずであり、化審法のデータとの相関性を確認していくことが必要である。2026 年に公表予定の REACH における蓄積性評価の新たなガイダンスの内容が国連 GHS（化学品の分類および表示に関する世界調和システム）で採用された場合、日本もその内容を考慮せざるを得ない。HYBIT の結果の取扱い方について、国連 GHS の Annex 文書に採用される可能性もあるため、現時点では海外の動向を注視するしかない。また、POPRC においても、HYBIT の結果が議論に影響を与える可能性がある。日本としては、そこまで見据えておかなければならない。さらに REACH 規則を導入している韓国や、蓄積性の評価件数の多い中国でも HYBIT が広がることも想定される。以上を踏まえ、今後も海外の動向を注視すべきである。
- ③ REACH での HYBIT の活用実績として UV-329 を紹介したが、HYBIT を含めた蓄積性のデータを考慮した時、UV-329 の濃縮性はどのように評価するか。
- HYBIT で高い BCF のデータが得られた場合、ヨコエビに特異的に濃縮している可能性もあるが、WoE としては高い重みづけをせざるを得ない。

- HYBIT で高濃縮であったとしても、魚類の方がヨコエビよりも代謝能力が高いため、魚類においては低濃縮になることもある。国外から HYBIT の結果が入ってきた際は OECD TG319 のような追加試験の要求が望ましい。
- 例示された結果の中では、ニジマスのデータを最優先として評価することで良いと考える。OECD TG319 の結果、 $\log P_{ow}$ 、構造式からの代謝の予測等を総合的に判断して、物質ごとにケースバイケースで判断するしかないと考える。
- 横並びでデータを比較するためにはヨコエビと魚類の BCF の相関性を考慮する必要がある。相関性に関する十分なデータがない場合は、ヨコエビにおける BCF と化審法における餌料投与法で高濃縮性でないと判断する基準の BMF_{kg} (0.007) の積を魚類における BCF と比較し、高い方により大きな重み付けをするなどで判断するしかないと考ええる。

(3)-3) その他のコメント

- 海外から HYBIT の結果が日本国内に入ってくることになると思うが、HYBIT のデータを魚に置換できないのであれば化審法における評価では魚類のデータと同等に扱えないと考える。魚類の結果を優先するというスタンスであれば、安全性が担保できる。
- REACH の評価方法をそのまま受け入れるのではなく、日本としての評価の方向性（具体案）を示す必要があり、まずは当局が方針を決定するべきであると考ええる。そうでなければ、化審法は REACH の後追いになるだけであり、これらの調査を実施する必要性は低いと考える。OECD 及び欧州が、本事業において懸念されている視点（ヨコエビと魚類の食物連鎖上の関係やヒトへのリスク評価に関する視点）で検証する可能性は低いと思われるため、率先して日本が動くべきと考える。
- EU は基本的に食物を管理（生物も養殖等で供給）する文化であり、天然物を食べる文化がないのではないかと考える。そのため、濃縮性のある化学物質が自然界に放出されても、食物に化学物質が取り込まれる懸念があまりないと考えている可能性がある。化審法では魚類を食物として考える一方、EU では環境に出ていくところまでしか考えていない可能性がある。HYBIT において、高濃縮であるというデータは受け入れられると考えるが、高濃縮ではないという結果が出されても、それだけでは判断は出来ない。
- 魚類による濃縮度試験は濃縮性の判断の決め手となるため重要である。動物愛護やコスト削減も考慮すべきだが、そもそも日本人は魚を多く食べているため、動物愛護を過度に気にする必要はないと考える。EU は動物愛護を戦略の一部として掲げているが、その潮流も一時的かもしれない。

1.2.3. まとめ及び今後の課題

1.2.3-(1) まとめ

2024年6月に OECD TG321 として採択されたヨコエビを用いた水暴露法による濃縮度試験 (HYBIT) について、OECD テストガイドラインや HYBIT のリングテスト報告書等の公表文献を調査し、試験条件等を整理した。HYBIT は従来の魚類を用いる濃縮度試験 OECD TG305-I と比べ、試験生物の違いに起因する飼育方法及び試験条件等の相違点があった。HYBIT は OECD TG305-I よりも短い試験期間で実施できる利点はあるものの、雌雄の選別作業が必要であることや試験期間が短いことに伴うサンプリング頻度の増加等、魚類を用いた濃縮度試験よりも増加する実験操作があった。

海外における HYBIT の活用状況については、REACH の蓄積性評価のガイダンスや EU 加盟国委員会の HYBIT に関する議事録等の公表文献の調査並びに欧州の規制当局及び試験機関への聞き取り調査を行った。REACH では、HYBIT の結果を蓄積性の評価に用いる場合、HYBIT の BCF 値だけではなく、その BCF 値によっては追加情報 (OECD TG319A、OECD TG319B 等) も求められる評価基準となっていた。この点は OECD TG305-I の結果を用いる蓄積性の評価基準にはない考え方であった。HYBIT は REACH に導入されて間もないため、蓄積性評価に HYBIT の結果が使用された事例は 2025 年 1 月時点で 1 物質のみであった。今後、REACH では、蓄積性評価の試験が必要と判断された場合、OECD TG305-I ではなく HYBIT を要求していく方針である。また、REACH の蓄積性評価のガイダンスは改訂中であり、HYBIT を含めた蓄積性評価のフロースキームの見直しが行われている。その成果は 2026 年に公表される予定である。

日本国内の蓄積性評価の有識者へのヒアリングでは、HYBIT の調査結果を紹介した上で、化審法での新規化学物質の蓄積性評価における HYBIT の結果の活用等について意見を伺った。有識者からは、主にヨコエビと魚類の生物学上の違いや、両者の食物連鎖における位置 (栄養段階) の違いが指摘された。また、魚類はヨコエビを捕食するため、ヨコエビ中の化学物質の魚類への移行を考慮すると、HYBIT で得られた BCF を現在の化審法における魚類の濃縮度試験の BCF に基づいた基準で評価することは困難であるとの意見が挙げられた。有識者の意見を考慮すると、化審法における化学物質の蓄積性評価に HYBIT を活用するためには、評価対象とする生物種の範囲を明確に定めた上で、試験に用いるヨコエビと魚類の違いを把握し、これらの違いが蓄積性評価に及ぼす影響について十分に検討し、活用可否の議論を行った上で新たな評価基準を策定する必要があると考えられる。

1.2.3-(2) 今後の課題

化審法における新規化学物質の蓄積性評価に HYBIT を活用することについて、日本としての方針や考え方を整理する必要がある。現行の化審法の濃縮度試験に用いるコイ（魚類）と比べると、ヨコエビ（甲殻類）は血流動態、代謝能力や脱皮の有無等の数多くの生物学的及び生理学的な相違点がある。また、両試験動物は食物連鎖における位置づけも異なる（ヨコエビは魚類の下位に位置する）。これらの点を踏まえ、化審法における HYBIT の活用の可否を判断するためには、以下に示す項目等について調査や検討が必要と考えられる。

- 蓄積性の評価対象とする生物種の定義
- 栄養段階の異なる生物間における食物連鎖を介した生物濃縮の知見の収集
- 多様な物質について、ヨコエビと魚類（コイ）の BCF の相関性の調査（実験データ取得を含む）
- HYBIT と合わせて蓄積性を評価できる可能性のある試験（例：OECD TG319A 及び OECD TG319B）の検討

-
- [1] 令和 5 年度化学物質規制対策（化学物質の分解性及び蓄積性に係る総合的評価の導入に関する調査）
 - [2] NITE-CHRIP（NITE 化学物質総合情報提供システム）
 - [3] 水域の生活環境動植物の被害防止に係る農薬登録基準 | 水・土壌・地盤・海洋環境の保全 | 環境省
 - [4] Test No. 321: *Hyalella Azteca* Bioconcentration Test (HYBIT) | OECD
 - [5] Test No. 305: Bioaccumulation in Fish: Aqueous and Dietary Exposure | OECD
 - [6] Multi-Laboratory Ring Trial to Support Development of OECD Test Guideline 321 on *Hyalella Azteca* Bioconcentration Test (HYBIT) | OECD
 - [7] Christian Schlechtrieml *et al.* (2018) Bioconcentration studies with the freshwater amphipod *Hyalella azteca*: are the results predictive of bioconcentration in fish?, *Environmental Science and Pollution Research*, 26:1628–1641
 - [8] Verena Kosfeld *et al.* (2020) Comparison of Alternative Methods for Bioaccumulation Assessment: Scope and Limitations of In Vitro Depletion Assays with Rainbow Trout and Bioconcentration Tests in the Freshwater Amphipod *Hyalella Azteca*, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39: (9) 1813–1825
 - [9] Meetings of the Member State Committee - ECHA
 - [10] Chapter R.7c: Endpoint specific guidance, ECHA
 - [11] Chapter R.11: PBT/vPvB assessment, ECHA
 - [12] Test No. 319A: Determination of in vitro intrinsic clearance using cryopreserved rainbow trout hepatocytes (RT-HEP) | OECD
 - [13] Test No. 319B: Determination of in vitro intrinsic clearance using rainbow trout liver S9 sub-cellular fraction (RT-S9) | OECD
 - [14] svhc_supdoc_UV-329_pub_en.pdf
 - [15] Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs)
 - [16] Consolidated TEXT: 32006R1907 — EN — 01.12.2023, EU REACH
 - [17] Bioaccumulation assessment of superhydrophobic substances, UBA
 - [18] Chapter R.16: Environmental exposure, ECHA

1.3. 蓄積性評価に関する検討テーマ（餌料投与方法による濃縮度試験）

化審法における新規化学物質の審査では、水暴露法（指標：BCF）又は餌料投与方法（指標：BMF）を用いた魚類による濃縮度試験、分配係数試験のいずれかの結果から蓄積性評価を行っている。このうち、BMFの指標による蓄積性評価は、OECD TG305のガイダンス文書に示されている「餌料投与方法試験で得られたBMFからBCFを予測する回帰式」に基づき定められている判定基準により行われているが、評価に際し、判断基準の精緻化が課題となっている。具体的には、現行の化審法では、餌料投与方法における試験結果から化学物質の蓄積性を評価する場合、BMFが0.007未満であれば「高濃縮性ではない」と規定されている。一方、BMFが0.007以上の物質については、総合的に判断するとなっているが、BMF値を根拠とした「高濃縮性（水暴露法では、BCFが5,000 L/kg以上）」の明確な判定基準が規定されていない等である。

そこで、今年度事業では、以下の項目について、文献その他の既存の知見、昨年度事業の実施結果等を参考にし、有識者による委員会における意見等に基づき、検討内容を取りまとめた。

- ・ BCFとBMFの回帰式の精度向上に寄与する被験物質選定（1.3.1参照）
- ・ 回帰式取得に向けた試験法の設計（試験条件）（1.3.2参照）

1.3.1. BCFとBMFの回帰式の精度向上に寄与する被験物質選定

1.3.1-(1) 被験物質の調査

餌料投与方法における以下に示す判定基準の見直しを行うためのBMFデータを取得する被験物質を調査した。

- ・ 高濃縮性ではない判定基準 {経口生物濃縮係数（BMF）0.007未満} の見直し
- ・ 高濃縮性 {生物濃縮係数（BCF）5,000 L/kg以上に相当} のBMF基準の設定
- ・ グレーゾーン（BCF1,000 L/kg以上～5,000 L/kg未満に相当）のBMF範囲の設定

(1)-1) 調査対象データ

以下の3つのデータを基に被験物質の選定のための調査を実施した。

- a) 既存化学物質（NITEホームページに掲載されている1568データ）
- b) 新規公示化学物質（NITEホームページに掲載されている1180データ）
- c) Neus Rodriguez-Sanchezら（2014）本論文のサプリメンタルデータに記載された144物質（*in vivo*による魚類の濃縮度試験への代替方法を評価するための基準物質のリストの開発を報告している）

(1)-2) 調査する BCF データ範囲

実測 BCF (BCF もしくは BCF_{SS}) が 300 L/kg 程度～高蓄積性の知見がある被験物質 (BCF10,000 L/kg 程度まで) を抽出した。

ここで、現行の回帰式は BCF_L を用いていることから回帰式を拡充する際に BCF 又は BCF_L のいずれの結果を用いるべきか有識者にご意見を伺った。BCF と BCF_L には相関があること、現行の回帰式は BCF_L を用いていることから、回帰式の拡充においては、BCF_L が望ましいとのご意見より、BCF_L を用いて回帰式を作成することで合意された。しかし、調査時点では「BCF_L」を確認できない物質があったことから、調査対象の絞込みは「BCF_L」ではなく「BCF もしくは BCF_{SS}」を使用した。

(1)-3) 試験データの解析

調査対象とした被験物質の物理化学的性状 (log P_{ow}、水溶解度及びヘンリー定数)、構造上の代謝の受けやすさの指標となる生体内変換速度定数 (k_M) 及び生体内変換の有無による予測 BCF については、EPI Suite に含まれるプログラムを用いて以下のパラメータを算出した。

- ・ log P_{ow} : KOWWIN v. 1.68 (US Environmental Protection Agency, USA) による
- ・ 水溶解度 : WSKOWWIN v. 1.42 (US Environmental Protection Agency, USA) による
- ・ ヘンリー定数 : HENRYWIN v. 3.20 (US Environmental Protection Agency, USA) による
- ・ k_M 及び予測 BCF : BCFBAF v 3.01 (US Environmental Protection Agency, USA) による

(ア) 生体内変換速度定数 (biotransformation rate constant) : k_M

k_M は生体内における代謝の受けやすさの指標である。 k_M は構造式、log P_{ow} 及び分子量に基づき算出され、数値が小さいほど代謝され難いと予測されたことを示す。

(イ) 生体内変換の有無による予測 BCF の比 : (A/B)

BCFBAF v 3.01 に含まれる Arnot-Gobas BCF BMF method では、化学物質の生体内変換 (k_M の他に生物の生理的パラメータも含む) の有無により BCF を予測する。つまり、生体内変換を考慮した予測 BCF (A とする) と生体内変換を考慮しない予測 BCF (B とする) が算出される。これらの値の比 (A/B) を用いてその物質の代謝の程度を判断した。A/B が大きい (1 に近い) ほど代謝され難いと予測されたことを示す。

(1)-4) 候補物質の抽出方法

調査対象とした試験データより、以下の条件を満たす候補物質を抽出した。また、構造上の代謝の受けやすさの指標となる目安として、BMFの濃度依存性が認められなかった2,4-ジクロロフェニル-4'-ニトロフェニルエーテル(NIP)の結果($k_M=0.1015$ 、 $A/B=0.417$)を根拠とし、 $k_M<0.1$ (十分な排泄期間を得るため k_M が小さい物質)又は $A/B>0.4$ (代謝を受けにくいと予想される物質)とした。

抽出条件

- ・ 生物濃縮係数が $300<BCF<5,000$ L/kg 及び $5,000<BCF<10,000$ L/kg である物質
- ・ 生体内への取込の閾値であるとされる分子量 800 未満の物質
- ・ 超脂溶性物質を除外するため $\log P_{ow}$ が 8 未満の物質
- ・ 特異的な濃縮性が予想されるケイ素化合物及びフッ素化合物は除外
- ・ 複数の濃度区における BCF が存在する場合は、最低濃度区の BCF を用いる
- ・ $k_M<0.1$ 又は $A/B>0.4$ を満たす物質
- ・ 試験餌料及び試験魚分析における前処理並びに試験餌料中の被験物質の安定性を考慮し、ヘンリー定数が 2.19×10^{-3} atm·m³/mol (揮発性のあるトリクロロベンゼンの値) 未満の物質
- ・ 水溶解度が低い物質 (目安として 10 mg/L 未満)
- ・ 被験物質として入手可能な物質

(1)-5) 結果

BCF 範囲 300~5,000 L/kg 及び 5,000 L/kg 以上の候補物質はそれぞれ 11 物質及び 4 物質抽出された (図表 1.3.1-(1)-1、1.3.1-(1)-2 及び別添資料 1.3 参照)。抽出された 15 物質を代謝されにくいと予想される物質順に以下の第 1 及び第 2 候補物質に分類した。

- ・ 第 1 候補物質：ハロゲン元素を 2 個以上有する物質 (脱ハロゲン化により代謝される可能性がある物質群)
- ・ 第 2 候補物質：第 I 相反応において、脱アルキル化、エポキシ化により代謝される可能性がある物質群

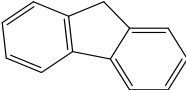
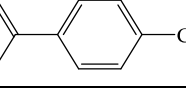
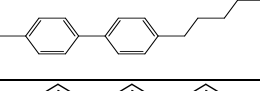
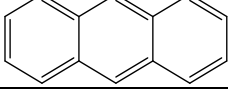
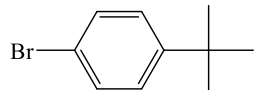
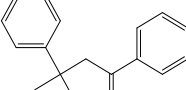
図表 1.3.1-(1)-1 第1候補物質一覧

被験物質 (CAS No.)	構造式	BCF*3-1	k_M	A/B
1,3-ジブromo-2,2-ビス (ブromoメチル) プロパン (3229-00-3)		822	1.794	0.705
1,2,3,4,5,6-ヘキサクロロ シクロヘキサン (608-73-1)		791	4.084×10⁻²	0.938
2,4-ジクロロトルエン (95-73-8)		939	1.861×10 ⁻¹	0.474
1,2,3,4-テトラクロロ ベンゼン (634-66-2)		1,710	7.968×10⁻²	0.358
1,2,4,5-テトラクロロ ベンゼン (95-94-3)		3,930	7.745×10⁻²	0.865
<i>rel</i> -(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> , 11 <i>R</i>)-3,4,5,6,13,13-ヘキサ クロロ-10-オキサペンタ シクロ[6.3.1.1(3,6).0(2,7). 0(9,11)]トリデカ-4-エン (72-20-8)		12,600	6.732×10⁻³	0.588
ヘプタクロロ (76-44-8)		15,600	1.383×10⁻²	0.427
<i>rel</i> -(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> ,8 <i>S</i>)- 1,8,9,10,11,11-ヘキサ クロロテトラシクロ [6.2.1.1(3,6).0(2,7)]ドデカ -4,9-ジエン (309-00-2)		9,450	6.91×10⁻³	0.241
2,2-トリクロロ-1,1-ビス (4-クロロフェニル) エタノール (115-32-2)		7,000	1.855×10⁻²	0.833

太字は抽出条件 ($k_M < 0.1$ 、 $A/B > 0.4$) を満たすことを示す。

*3-1 コイで実施した BCF データ (<https://www.nite.go.jp/chem/qsar/toolbox.html>) 及び NITE 化審法データベース (J-CHECK) における低濃度区の BCF を示す。

図表 1.3.1-(1)-2 第2候補物質一覧

被験物質 (CAS No.)	構造式	BCF* ³⁻²	k_M	A/B
9H-フルオレン (86-73-7)		830	5.042×10^{-1}	0.581
1-クロロ-4-イソプロ ペニルベンゼン (1712-70-5)		948	1.134×10^{-1}	0.870
4-メチル-4'-ペンチル ビフェニル (64835-63-8)		1,060 (BCF _{ss})	1.026×10^{-2}	0.453
アントラセン (120-12-7)		2,710	2.734×10^{-1}	0.409
1-ブロモ-4-tert-ブチル ベンゼン (3972-65-4)		2,850 (BCF _{ss})	9.56×10^{-2}	0.360
4-メチル-2,4-ジフェニル ペンタ-1-エン (6362-80-7)		4,410	9.266×10^{-2}	0.0923

太字は抽出条件 ($k_M < 0.1$ 、 $A/B > 0.4$) を満たすことを示す。

*3-2 コイで実施した BCF データ (<https://www.nite.go.jp/chem/qsar/toolbox.html>) 及び NITE 化審法データベース (J-CHECK) における低濃度区の BCF を示す。

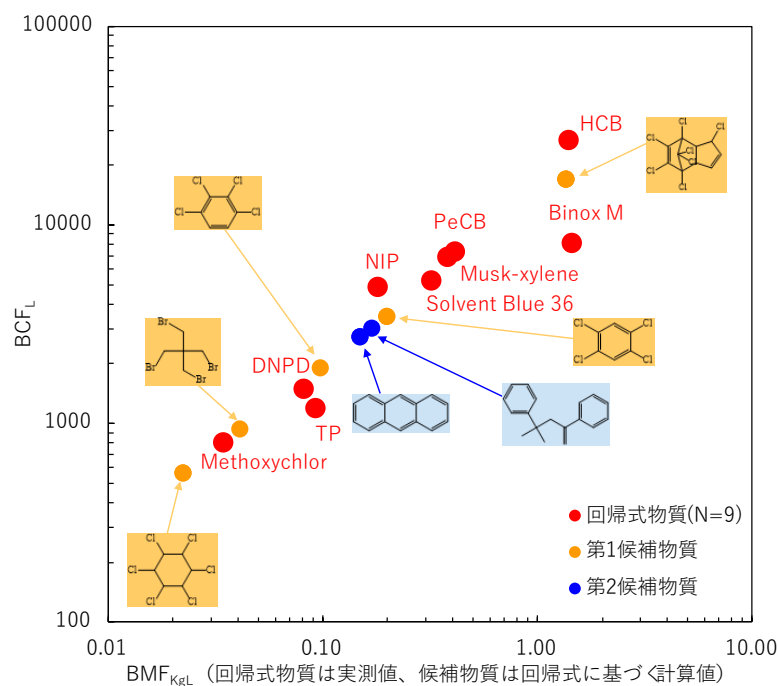
(1)-6 候補物質及び試験デザイン

抽出された 15 の候補物質を 3 つの BCF 範囲 (2,000 L/kg 未満、2,000~5,000 L/kg、5,000 L/kg 以上) に分けて、以下の点を考慮し、候補物質として 7 物質を提案した。なお、参考として、現行の回帰式 ($\log BCF_L = 0.828 \times \log BMF_{KgL} + 4.12$) に候補物質の BCF_L より算出した BMF_{KgL} (計算値) を用いて散布図を作成した (図表 1.3.1-(1)-3 参照)

- ・ 代謝の受けにくさを考慮し、第2候補物質よりも第1候補物質を優先。必要とする BCF 範囲をもつ第1候補物質がない場合に第2候補物質を選定。
- ・ 試験餌料及び試験魚分析における前処理並びに試験餌料中の被験物質の安定性を考慮し、ヘンリー定数 $2.19 \times 10^{-3} \text{ atm} \cdot \text{m}^3/\text{mol}$ (揮発性のあるトリクロロベンゼンの値) 未満の条件を満たす物質を選定。
- ・ BCF 範囲 5,000 L/kg 以上の物質については、分析法が確立されているとしてヘプタクロルがあったため、ヘプタクロルを選定。

これらを踏まえ、BCF 範囲毎に以下の内容について有識者に意見を伺った。

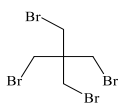
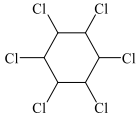
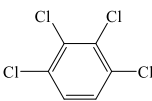
- 提案した物質を被験物質とすることについて
- 餌料投与法試験の予備検討において、試験実施が困難な場合（試験餌料における被験物質の均一性／安定性が悪い等）に提案した物質以外に被験物質となり得る物質（代替物質）について
- 試験デザインについて
 - 代謝の影響を受けにくいと予想される第1候補物質群の複合暴露（1濃度区）の可否。
 - 第2候補物質は、代謝の影響により濃度依存性が懸念される第2候補物質群に必要な濃度区数。



図表 1.3.1-(1)-3 候補物質をプロットした BMF_{KgL} と BCF_L の相関図

(1)-7) 有識者からのご意見

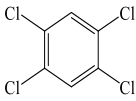
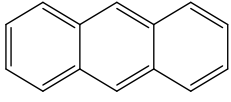
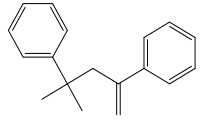
① BCF 範囲 2,000 L/kg 未満の候補物質について

	被験物質 (CAS No.)	構造式	BCF	k_M	A/B
第1候補物質	1,3-ジブロモ-2,2-ビス (プロモメチル) プロパ ン (3229-00-3)		822	1.794	0.705
	1,2,3,4,5,6-ヘキサクロロ シクロヘキサン (608-73-1)		791	4.084×10⁻²	0.938
	1,2,3,4-テトラクロロ ベンゼン (634-66-2)		1,710	7.968×10⁻²	0.358

- ・ 1,2,3,4,5,6-ヘキサクロロシクロヘキサンは候補物質としてよいと考える。水暴露法による試験においても、低濃度区と高濃度区における BCF の差が認められないため、濃度依存性もないと考えられる。
- ・ 1,2,3,4-テトラクロロベンゼンも候補物質としてよいと考える。
- ・ 3物質の複合暴露とした場合に、1,3-ジブロモ-2,2-ビス (プロモメチル) プロパンが先に代謝されると、他の物質への影響があるのではないかと。
- ・ (3物質の複合暴露に関して) 1,3-ジブロモ-2,2-ビス (プロモメチル) プロパンに酵素誘導がかかり、代謝の影響を受けても、1,2,3,4,5,6-ヘキサクロロシクロヘキサンと 1,2,3,4-テトラクロロベンゼンが代謝の影響を受けないのであれば、少なくとも 1,2,3,4,5,6-ヘキサクロロシクロヘキサンと 1,2,3,4-テトラクロロベンゼンの複合暴露の BMF データを回帰式の拡充に用いることができるという理解でよい。
- ・ 2,4-ジクロロトルエンはヘンリー定数が高いため、試験餌料中の安定性を担保することが難しく、同様に試験実施が困難となる可能性が考えられるが、代替物質として他に選択肢がない。

⇒提案した 1,3-ジブロモ-2,2-ビス (プロモメチル) プロパン、1,2,3,4,5,6-ヘキサクロロシクロヘキサン及び 1,2,3,4-テトラクロロベンゼンの 3 物質を被験物質とし、複合暴露で試験を実施することで合意された。また、これら 3 物質のいずれかで試験実施が困難な場合、代替物質として 2,4-ジクロロトルエンを用いることで合意された。

② BCF 範囲 2,000~5,000 L/kg の候補物質について

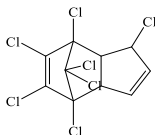
	被験物質 (CAS No.)	構造式	BCF	k_M	A/B
第1候補物質	1,2,4,5-テトラクロロベンゼン (95-94-3)		3,930	7.745×10^{-2}	0.865
第2候補物質	アントラセン (120-12-7)		2,710	2.734×10^{-1}	0.409
	4-メチル-2,4-ジフェニルペンタ-1-エン (6362-80-7)		4,410	9.266×10^{-2}	0.0923

- ・アントラセンは代謝の影響を受けやすく、*o*-テルフェニル (TP) と同様に第 I 相の反応が起こると考えられる。
- ・1,2,4,5-テトラクロロベンゼンも代謝されるかもしれない。
- ・アントラセンは3濃度区でデータを取得すると、濃度依存性が確認できると考えるため、3濃度区でデータを取得した方が判断しやすい。
- ・公比 10 として一番下の試験濃度 (10 µg/g) の BMF を確認できればよいと考える。
- ・公比を小さくすると、個体差による結果のばらつきが影響すると考える。食べる/食べないの差が大きくなり、ばらつきに影響を与えると考えられるため、公比は 10 とした方がよいと考える。
- ・回帰式の拡充に重点を置くのであれば、2濃度区でもよいと考える。
- ・4-メチル-2,4-ジフェニルペンタ-1-エンは、回帰式の物質 (Solvent Blue36) と重なるため、試験を実施する必要はないと考える。
- ・アントラセンの試験において、試験濃度を3濃度区とするのであれば、アントラセンの結果で補填できると考えられるため、4-メチル-2,4-ジフェニルペンタ-1-エンの試験を実施する必要はないと考える。

⇒提案した 1,2,4,5-テトラクロロベンゼン、アントラセン及び 4-メチル-2,4-ジフェニルペンタ-1-エンを被験物質とし、濃度依存性が懸念されるアントラセン及び 4-メチル-2,4-ジフェニルペンタ-1-エンは試験濃度を3濃度区として試験を実施することで合意された。ただし、3物質のうち 1,2,4,5-テトラクロロベンゼン及びアントラセンの BMF データ取得を優先することとし、アントラセンの予備検討に基づき、BCF3,000

L/kg 近傍のアントラセンの試験実施が困難と判断された場合に、4-メチル-2,4-ジフェニルペンタ-1-エンについての試験実施の要否を協議することで合意された。

③ BCF 範囲 5,000 L/kg 以上の候補物質について

	被験物質 (CAS No.)	構造式	BCF	k_M	A/B
候補物質 第1候補	ヘプタクロル (76-44-8)		15,600	1.383×10^{-2}	0.427

- ・ヘキサクロロベンゼンと Binox M の BCF_{KGL} は同程度であるが、 BMF_L の差は大きい。どちらのプロットが正しいのかを確認できるため、ヘプタクロルの BMF データを取得することでよい。
- ・ BCF_L でプロットした場合、ヘプタクロルのプロットは回帰式の端（右上）に移動するが、端にプロットされる物質が回帰式の傾きに対して重要度は高いと考える。
- ・（代替物質の議論として、図表 1.3.1-(1)-1 の第 1 候補物質のうち BCF 範囲 5,000 L/kg 以上の物質について）2,2,2-トリクロロ-1,1-ビス(4-クロロフェニル)エタノールの構造は他の 3 物質と類似していない（ヒドロキシ基が含まれている）ことから、異なる挙動を示す可能性があるため、選択しない方がよい。

⇒ヘプタクロルを被験物質とすることで合意された。

また、ヘプタクロルの試験実施が困難な場合の代替物質として、

rel-(1*R*,2*R*,3*R*,6*S*,7*S*,8*S*,9*S*,11*R*)-3,4,5,6,13,13-ヘキサクロロ-10-オキサペンタシクロ[6.3.1.1(3,6).0(2,7).0(9,11)]トリデカ-4-エン、あるいは *rel*-(1*R*,2*R*,3*R*,6*S*,7*S*,8*S*)-1,8,9,10,11,11-ヘキサクロロテトラシクロ[6.2.1.1(3,6).0(2,7)]ドデカ-4,9-ジエンを用いることで合意された。

④ 1,2,4,5-テトラクロロベンゼンとヘプタクロルの複合暴露について

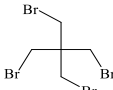
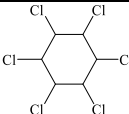
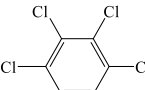
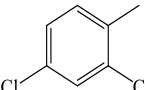
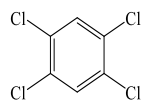
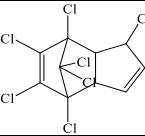
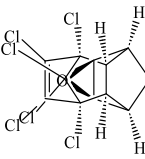
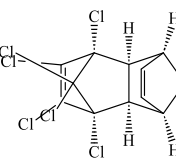
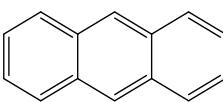
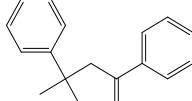
BCF 範囲 2,000~5,000 L/kg の 1,2,4,5-テトラクロロベンゼンと BCF 範囲 5,000 L/kg 以上のヘプタクロルは、代謝を受けにくいと考えられる第 1 候補物質であることから複合暴露での試験可否を有識者に確認した結果、1,2,4,5-テトラクロロベンゼンとヘプタクロルを複合暴露で試験することで合意された。

(1)-8) 被験物質のまとめ

BCF と BMF の回帰式の精度を向上させるための BMF データを取得する物質として、図表 1.3.1-(1)-4 に示す 7 物質を被験物質とその実験デザイン（複合暴露か否か、濃度区数）が合意された。また、餌料投与法試験の予備検討において、試験実施が困難な場合の代替として、以下の 3 物質を代替物質とすることで合意された。なお、試験濃度は、可能な限

り公比 10 に設定する。アントラセンの予備検討において、アントラセンの試験実施が困難と判断された場合に 4-メチル-2,4-ジフェニルペンタ-1-エンの試験実施の要否を協議することで合意された。

図表 1.3.1-(1)-4 被験物質と試験デザイン

	被験物質 (CAS No.)	構造式	BCF	試験デザイン
優先 順位 ①	1,3-ジブromo-2,2-ビス (プロモメチル) プロパン (3229-00-3)		822	3 物質の複合暴露 (1 濃度区)
	1,2,3,4,5,6-ヘキサクロロシクロヘキサン (608-73-1)		791	
	1,2,3,4-テトラクロロベンゼン (634-66-2)		1,710	
物質 代替	2,4-ジクロロトルエン (95-73-8)		939	
優先 順位 ②	1,2,4,5-テトラクロロベンゼン (95-94-3)		3,930	2 物質の複合暴露 (1 濃度区)
	ヘプタクロル (76-44-8)		15,600	
代替 物質	<i>rel</i> -(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> ,11 <i>R</i>)- 3,4,5,6,13,13-ヘキサクロロ-10- オキサペンタシクロ [6.3.1.1(3,6).0(2,7).0(9,11)]トリ デカ-4-エン (72-20-8)		12,600	
	<i>rel</i> -(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> ,8 <i>S</i>)- 1,8,9,10,11,11-ヘキサクロロテ トラシクロ [6.2.1.1(3,6).0(2,7)] ドデカ-4,9-ジエン (309-00-2)		9,450	
優先 順位 ③	アントラセン (120-12-7)		2,710	単独暴露 (3 濃度区)
優先 順位 ④	4-メチル-2,4-ジフェニルペン タ-1-エン (6362-80-7)		4,410	単独暴露 (3 濃度区)

1.3.2. 回帰式取得に向けた試験法の設計（試験条件）

1.3.2-(1) 試験条件案

令和4年度及び5年度事業で実施した試験条件を基に試験条件案を提案した。

図表 1.3.2-(1)-1 回帰式取得に向けた餌料投与法の試験条件案

	令和4年度及び5年度の試験条件	試験条件案
試験魚	コイ (<i>Cyprinus carpio</i>)	コイ (<i>Cyprinus carpio</i>)
餌料	錦鯉用飼料 [ひかり胚芽 沈下 (中粒)] オイル添加有 (脂質含量が約 10%)	錦鯉用飼料 [ひかり胚芽 沈下 (中粒)] オイル添加有 (脂質含量が約 10%)
試験濃度	100 µg/g	100 µg/g、濃度依存性を確認する場合、 3 濃度区を設定する (例: 10~1000 µg/g)
試験水流量	800 mL/分 (試験水量 約 80 L)	800 mL/分 (試験水量 約 80 L)
試験温度	25±2°C未満	25±2°C未満
試験魚サイズ	8±4 cm	8±4 cm
給餌量	1 日当たり魚体重の 2.5% (約 10 分間隔で 2 回に分ける)	1 日当たり魚体重の 2.5% (約 10 分間隔で 2 回に分ける)
取込期間	14 日間	14 日間
排泄期間	生物学的半減期が 2 回以上得られる期間	生物学的半減期が 2 回以上得られる期間
暴露方法	単独暴露 (被験物質: NIP)	単独暴露あるいは複合暴露 (代謝の影響を受けにくい物質は複合暴露で実施) NIP を基準物質とする
試験魚分析	5 尾の個別分析 (試験連数: n=5)	5 尾の個別分析 (試験連数: n=5)
脂質含量の分析	クロロホルム/メタノールによるホモジナイズ抽出法 (Bligh & Dyer 法)	クロロホルム/メタノールによるホモジナイズ抽出法 (Bligh & Dyer 法)
評価指標	取込終了時における経口生物濃縮係数 (BMF)、脂質含量 5% で標準化した BMF、速度論による経口生物濃縮係数 (BMF _k)、成長希釈補正した速度論による経口生物濃縮係数 (BMF _{Kg})、脂質含量補正した経口生物濃縮係数 (BMF _L 、BMF _{KL} 及び BMF _{KgL})	取込終了時における経口生物濃縮係数 (BMF)、脂質含量 5% で標準化した BMF、速度論による経口生物濃縮係数 (BMF _k)、成長希釈補正した速度論による経口生物濃縮係数 (BMF _{Kg})、脂質含量補正した経口生物濃縮係数 (BMF _L 、BMF _{KL} 及び BMF _{KgL})

(1)-1) 給餌量について

現行の回帰式における BMF データは給餌量 3% の 2 回給餌で実施した結果である。一方、令和4年度及び5年度事業における NIP の試験結果より給餌量を 2.5% で実施することで合意された [NIP の BMF_{Kg} は、給餌量 3% (0.0622 : Inoue *et al.*, 2012 [1]) と給餌量 2.5% (0.082 : 令和4年度、0.066 : 令和5年度) で同程度であった]。そこで、給餌量は 2.5% の 2 回給餌を提案した。

ご意見

- ・ 令和5年度の結果では、排泄速度は給餌量2%の方が速かった。これは、脂質含量の差から給餌量2%において、排泄速度が速くなったと考察されていた。令和5年度の結果を踏まえ、給餌量2.5%が良い。

(1)-2) 基準物質について

NIPを基準物質とすることを提案したが、特に反対意見等はなく、NIPを基準物質とすることで合意された。

(1)-3) 濃度依存性を確認する場合の試験濃度設定について

試験濃度は100 µg/gを基準に2又は3濃度区での実施を想定しているが、試験濃度の設定について、有識者にご意見を伺った。

ご意見

- ・ 試験濃度は100 µg/gでも高いと感じる。可能ならば、試験濃度を下げた条件で実施し、BMFが変わらないことを確認して欲しい。
- ・ 公比10として一番下の試験濃度（10 µg/g）のBMFを確認できればよいと考える。
- ・ 本事業の目的が回帰式の拡充のみであるならば、試験濃度は2濃度区でよいと考える。ただし、餌料投与法の知見を収集するのであれば、試験濃度を3濃度区とした方がよいと考える。


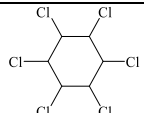
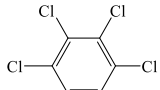
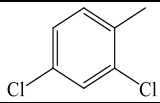
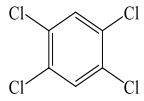
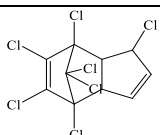
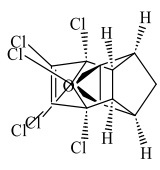
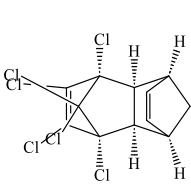
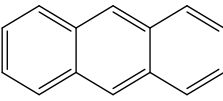
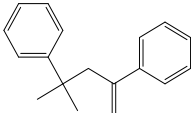
1.3.3. まとめ及び今後の課題

1.3.3-(1) まとめ

(1)-1) BCFとBMFの回帰式の精度向上に寄与する被験物質選定

本文中に記載のとおり、図表1.3.3-(1)-1に示す7物質を回帰式の作成に必要な被験物質とすることで合意された。また、3物質を試験実施が困難な場合の代替物質とすることで合意された。

図表 1.3.3-(1)-1 BMF データを取得する被験物質と優先順位

	被験物質 (CAS No.)	構造式	試験デザイン
優先①	1,3-ジブromo-2,2-ビス (ブromomethyl) プロパ ン (3229-00-3)		3物質の複合暴露 (1濃度区)
	1,2,3,4,5,6-ヘキサクロロ シクロヘキサン (608-73-1)		
	1,2,3,4-テトラクロロ ベンゼン (634-66-2)		
物質代 替	2,4-ジクロロトルエン (95-73-8)		
優先②	1,2,4,5-テトラクロロ ベンゼン (95-94-3)		2物質の複合暴露 (1濃度区)
	ヘプタクロル (76-44-8)		
代替物質	<i>rel</i> -(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> , 11 <i>R</i>)-3,4,5,6,13,13-ヘキサ クロロ-10-オキサペンタ シクロ[6.3.1.1(3,6).0(2,7). 0(9,11)]トリデカ-4-エン (72-20-8)		
	<i>rel</i> -(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> ,8 <i>S</i>)- 1,8,9,10,11,11-ヘキサ クロロテトラシクロ [6.2.1.1(3,6).0(2,7)]ドデカ -4,9-ジエン (309-00-2)		
優先③	アントラセン (120-12-7)		単独暴露 (3濃度区)
優先④	4-メチル-2,4-ジフェニ ルペンタ-1-エン (6362-80-7)		単独暴露 (3濃度区)

回帰式取得に向けた試験法の設計（試験条件）

被験物質の BMF データを取得するための餌料投与方法試験における試験条件は下表に示す試験条件とすることで合意された。なお、濃度依存性を確認する場合の試験濃度は、可能な限り公比 10 に設定するが、予備検討において実施が困難な場合は、途中経過を確認しながら、優先順位の低い試験の実施可否を判断することで合意された。

図表 1.3.3-(1)-2 回帰式取得に向けた餌料投与方法の試験条件

	試験条件
試験魚	コイ (<i>Cyprinus carpio</i>)
餌料	錦鯉用飼料 [ひかり胚芽 沈下 (中粒)] オイル添加有 (脂質含量が約 10%)
試験濃度	100 µg/g 濃度依存性を確認する場合、3 濃度区を設定する (例: 10~1000 µg/g)
試験水流量	800 mL/分 (試験水量 約 80 L)
試験温度	25±2°C未満
試験魚のサイズ	8±4 cm
給餌量	1 日当たり魚体重の 2.5% (約 10 分間隔で 2 回に分ける)
取込期間	14 日間
排泄期間	生物学的半減期が 2 回以上得られる期間
暴露方法	単独暴露あるいは複合暴露 (代謝の影響を受けにくい物質は複合暴露で実施する) NIP を基準物質とする
試験魚分析	5 尾の個別分析 (試験連数: n=5)
脂質含量の分析	クロロホルム/メタノールによるホモジナイズ抽出法 (Bligh & Dyer 法)
評価指標	取込終了時における経口生物濃縮係数 (BMF)、脂質含量 5% で標準化した BMF、速度論による経口生物濃縮係数 (BMF _K)、成長希釈補正した速度論による経口生物濃縮係数 (BMF _{Kg})、脂質含量補正した経口生物濃縮係数 (BMF _L 、BMF _{KL} 及び BMF _{KgL})

1.3.3-(2) 今後の課題

- ・本年度の検討結果に基づき、選定した被験物質の餌料投与法試験を実施し、試験データを集積する。
- ・集積した試験データに基づき、回帰式を作成し、餌料投与法による評価範囲の拡充 [高濃縮性ではない判定基準 {経口生物濃縮係数 (BMF) 0.007 未満} の見直し、高濃縮性 {生物濃縮係数 (BCF) 5,000 L/kg 以上に相当} の BMF 基準の設定及びゾーン (BCF1,000 L/kg 以上~5,000 L/kg 未満に相当) の BMF 範囲の設定] を検討する。¹

[1] Comparison of Bioconcentration and Biomagnification Factors for Poorly Water-Soluble Chemicals Using Common Carp (*Cyprinus carpio* L.)

2. 高分子化合物の評価に関する合理化案の取りまとめ

化審法における新規化学物質の審査では、高分子化合物を評価する試験法として高分子フロースキーム試験を採用している。高分子化合物は一般に人や生態に対する毒性等の懸念が低い傾向にあるが、我が国では、諸外国と比較して行政・事業者における審査や物質の同定など化学物質管理に多くのコストを要しており、評価の効率化が課題となっている。

令和 5 年度化学物質規制対策（化学物質の分解性及び蓄積性に係る総合的評価の導入に関する調査）では、過去の判定に際して実施された高分子フロースキーム試験の試験結果（平成 22 年から令和 4 年までに判定を受けた新規化学物質のうち第 7 類高分子化合物（有機縮合系高分子化合物に該当する新規高分子化合物）を対象にデータベース化を行った上で、令和 4 年度事業でデータベース化した第 6 類高分子化合物（有機重合系高分子化合物に該当する新規高分子化合物）も踏まえ、評価の合理化に向けた検討に資する基礎資料を作成した。

本年度事業では、評価の合理化に関する素案について、高分子化合物の試験法や評価手法に精通する有識者 3 名による委員会を対面形式で 2 回開催し、審議を経た上で成案を取りまとめた。

2.1. 第 1 回委員会

2.1.1. 審議内容

2.1.1-(1) 今年度事業における合理化案作成の経緯

昨年度までの事業「低懸念高分子化合物の評価の合理化に向けた検討」の解析結果を基に、独立行政法人製品評価技術基盤機構（NITE）が第 6 類及び第 7 類高分子化合物に対する安定性試験免除可能な物質群の案を作成した（図表 2.1-1-(1)-1 参照）。この案に対し、令和 5 年度に実施した有識者ヒアリングで以下のコメントが挙げられた。

- ・ 第 6 類及び第 7 類高分子化合物で合理化対象となる化合物の構造的特徴に矛盾が無い
か確認が必要
- ・ 変化した第 7 類高分子化合物について側鎖の構造的特徴と変化物の解析が必要
- ・ 主鎖の変化が生じる第 7 類高分子化合物の知見の収集が必要

図表 2.1-1-(1)-1 令和5年度事業で作成された合理化案

対象となる化合物	合理化案
第6類	<p>二重結合を活性化させて連鎖重合を起こすことにより得られる高分子化合物については、安定性試験を免除することが可能である。</p> <p>ただし、以下の物質に該当する場合は、生成が懸念される低分子化合物（以下、懸念変化物という）が無いかを確認する。懸念変化物がある場合は、懸念変化物全てに良分解性の知見があり、かつ、分子量 2,000 未満成分の含有率が 1%以下である場合のみ適用することとする。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・水、酸、アルカリのいずれかに溶解し、数平均分子量が 100,000 未満であり、かつ、低分子変化物を生成する変化が懸念される構造（塩（既知見イオンとの塩は除く）、エステル、アルコキシシラン、アミド（窒素に置換基が結合しているもののみ）、アセタール、ウレタン、酸無水物）を有している高分子化合物 ・水、酸、アルカリに溶解せず、数平均分子量が 100,000 未満であり、かつ、低分子変化物を生成する変化が懸念される構造（塩（既知見イオンとの塩は除く）、エステル（特定の部分構造に該当するもののみ）、アルコキシシラン、アセタール、酸無水物）を有している高分子化合物
第7類	<p>変化する可能性が低い構造（炭素-炭素結合、フェニレン基、アミド結合、ウレタン結合、イミド結合、エーテル結合）が主鎖である高分子化合物については、安定性試験を免除することが可能である。</p> <p>変化する可能性がある構造（エステル結合）を主鎖に含む高分子化合物で、安定性試験における分子量分布の変化がない場合、分子量分布測定以外の安定性試験の測定項目を免除することが可能である。</p> <p>ただし、以下の物質については、生成が懸念される低分子化合物についての評価を行う。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・水、酸、アルカリのいずれかに溶解し、数平均分子量が 100,000 未満であり、かつ、低分子変化物を生成する変化が懸念される構造（塩、エステル、アルコキシシラン、アミド、アセタール、ウレタン、酸無水物）を有している高分子化合物 ・水、酸、アルカリに溶解せず、数平均分子量が 100,000 未満であり、かつ、低分子変化物を生成する変化が懸念される構造（塩、エステル（特定の部分構造に該当するもののみ）、アルコキシシラン、アセタール、酸無水物）を有している高分子化合物

昨年度事業における有識者の指摘を受け、今年度事業では図表 2.1-1-(1)-2 に示した 3 つの調査を NITE が行い、調査の結果を踏まえた合理化修正案を作成した。作成した合理化修正案について、第 1 回委員会において有識者に意見を求めた。

図表 2.1-1-(1)-2 今年度合理化修正案作成のための調査内容

	調査内容	参照
調査 1	第 6 類高分子化合物に対する合理化修正案の検討	2.1.1-(2)
調査 2	第 7 類の分解度試験を実施した物質についての調査及び合理化案の再検討	2.1.1-(3)
調査 3	第 6 類の試験要求要件の変更	2.1.1-(4)

2.1.1-(2) 第6類高分子化合物に対する合理化修正案の検討

(2)-1) 調査内容

令和5年度に作成した第7類高分子化合物についての合理化案が、令和4年度に作成した第6類高分子化合物の合理化案に対しても適用できるかを確認するため、第6類高分子化合物のデータベースを用いて、安定性試験において側鎖が変化すると判定された化合物の構造及び分子量を確認した。その結果、末端にエステル結合を有した数平均分子量100,000未満の物質で、エステル結合の切断が生じる例があった。

以上を踏まえ、エステル結合の切断が生じる懸念がある構造として、末端にエステル結合がある数平均分子量100,000未満の物質を合理化の対象から除外する合理化修正案を作成した。

(2)-2) 有識者から挙げられた意見

有識者より、以下の意見が挙げられた。

- ・第6類高分子化合物の安定性試験免除の要件として化合物構造に末端エステルを含めることについて、同化合物の末端エステルは開始剤由来と考えられるが、審査時に開始剤の情報がなく、物質名称から化合物が変化する可能性を判断できない場合がある。また、同化合物は重合系の化合物で分子量が大きい傾向があり、末端エステルの影響はほとんどないとみられる。このため、末端エステルの要件を設定する必要性が低いのではないかと。
- ・第6類高分子化合物の運用案については、もう少し整理すると良い。溶解性試験の箇所などを見直すことで、もっとコンパクトな運用に出来る。

2.1.1-(3) 第7類の分解度試験を実施した物質についての調査及び合理化案の再検討

高分子フロースキームによる申請条件に合致しなかった物質は、令和5年度までに作成したデータベースに含まれないため、安定性試験において主鎖の切断などの変化が生じた物質についてデータベースを用いた解析が難しい。一方で、高分子フロースキームによる申請条件に合致しなかった物質の中には、通常の化審法申請のために分解度試験を実施した物質が存在する可能性がある。第7類高分子化合物に分類される化合物について分解度試験結果を調査することで、安定性試験において主鎖の切断などの変化が生じる可能性がある化合物の構造的特徴について知見が得られる可能性があると考えられた。そこで、第7類高分子化合物に分類される化合物の分解度試験結果を確認した。調査対象は2010～2023年度に判定された分解度試験を実施した第7類高分子化合物の中で、分子量1,000未満成分の含有率が10%以下の124物質とした。また、調査結果の解析では、分解度試験に

において生分解もしくは変化を生じた物質を高分子フロースキームの安定性試験でも変化が生じる物質と見なした。調査対象のうち、分解度試験による良分解判定は3物質、難分解判定121物質であった。生分解が見られた主鎖中の構造には、エーテル結合及びエステル結合（例：ラクトン環、脂肪酸、糖）がみられた。これらの生分解する構造を有する化合物は、高分子フロースキームにおける安定性試験でも変化する可能性があると考えられた。また、これまでの解析結果では主鎖の切断が生じにくいと考えられていたアミド結合を有する化合物において、主鎖の切断が生じた例があった。これらの化合物は、いずれもアミド酸の構造を有していた。このため、アミド酸の構造を有する化合物は高分子フロースキームにおける安定性試験でも変化する可能性があると考えられた。

以上を踏まえ、主鎖にエーテル結合、アミド酸構造を有するアミド結合、ウレタン結合及びシロキサン結合を含む高分子化合物を、変化する可能性がある構造を主鎖を含む高分子化合物に加え、第7類高分子化合物における合理化案とした。

(3)-1) 有識者から挙げられた意見

第7類高分子化合物における合理化案について、有識者より以下の意見が挙げられた。

- ・低分子化合物は、より分解されやすい傾向があることが想定されるが、それを構造に応じた判定基準を設定すること（例：特定の結合を有し、分子量はいくつ以上の場合には試験不要等）に違和感を持った。
- ・現在の運用案をフロースキームにすると複雑になり、運用案が妥当なのか判断しにくい。第7類高分子化合物については、主鎖が切断する可能性がない構造は限定的で、合理化対象となる物質数は少ない。このように、適用する数が少ない物質を想定した要件は設定しなくてもよいのではないか。
- ・合理化案について全体的に賛成である。第7類高分子化合物の運用案については、もう少し簡略化できるのではないか。

2.1.1-(4) 第6類の試験要求要件の変更

昨年度事業までの解析結果より、各種溶媒に溶解しない物質又は数平均分子量100,000以上の物質は側鎖が変化する懸念が低いとされ、合理化案で示された変化の懸念がある官能基（以下、懸念官能基）の有無に関わらず安定性試験不要と考えられた。加えて、側鎖に懸念官能基を持たない物質は変化が生じないため、物性又は構造要件による判断のみで高分子フロースキーム試験は不要と考えられた。さらに、低分子変化物の分解性の知見を考慮し、第6類高分子化合物における合理化修正案を取りまとめた（図表 2.1.1-(4)-1 参照）。

図表 2.1.1-(4)-1 第 6 類高分子化合物における高分子フロースキーム合理化修正案

懸念官能基	数平均分子量	水、酸、アルカリへの溶解性	溶解性に応じた懸念官能基	低分子変化物の良分解性の知見	分子量 2,000 未満成分の含有率	試験要否 (令和 5 年度案)	試験要否 (試験不要を設ける案)
なし	各種溶媒に不溶なため測定不可	-	-	-	-	安定性試験の実施不要	試験不要
	100,000 以上	-	-	-	-	安定性試験の実施不要	試験不要
	100,000 未満	-	-	-	-	安定性試験の実施不要	試験不要
あり	各種溶媒に不溶なため測定不可	-	-	-	-	安定性試験の実施不要	試験不要
	100,000 以上	-	-	-	-	安定性試験の実施不要	試験不要
	100,000 未満	溶解しない	あり	あり	1%未満	安定性試験の実施不要	安定性試験の実施不要
				なし	1%以上	試験実施 ^{*4-1}	試験実施 ^{*4-1}
		溶解する	あり	あり	1%未満	安定性試験の実施不要	安定性試験の実施不要
				なし	1%以上	試験実施 ^{*4-1}	試験実施 ^{*4-1}
	なし	-	-	あり	-	試験実施 ^{*4-1}	試験実施 ^{*4-1}
				なし	-	該当物質無し	該当物質無し

*4-1 高分子フロースキーム試験で要求されている試験項目を全て実施

(4)-1) 有識者から挙げられた意見

図表 2.1.1-(4)-1 の合理化案について、有識者より、以下の意見が挙げられた。

- ・構造や物性情報による判定のみで全く試験をしないということは、事業者（化審法の届出者）にとって大きな違いとなる。分子量分布測定により得られる数値は、絶対的な分子量ではなく、使用する標準物質等によって変わる相対的なものである。審査において、無理な解析により分子量の要件をクリアしようとするケースが散見されるため、安全サイドで考える意味でも数平均分子量を試験の免除要件に設定しない方がよい。
- ・合理化案により試験免除に該当する物質数を調査してほしい。

2.2. 第 2 回委員会

2.2.1. 審議内容

2.2.1-(1) 第 2 回委員会における課題と検討事項

第 1 回委員会では有識者から挙げられた課題を踏まえ、NITE が合理化案を見直した。

<第1回委員会で上がった課題>

- ・合理化案が複雑で分かりにくい。
- ・試験免除とする場合、全体のどの程度の物質が該当するか調査して欲しい。

<合理化案を変更する観点>

- ・運用を可能な限り単純化するために、要件の数を削減した。
- ・合理化の効果が最も大きい試験要否を判定することを優先した。

2.2.1-(2) 合理化案について

合理化案をより単純化するために、高分子フロースキーム試験の要否を判断するために必要な要件を主鎖、側鎖、物性の3つにまとめた。各要件はこれまで実施した解析結果を基に規定した。この3つの要件を組み合わせることで、主鎖及び側鎖が安定性試験において変化しないことが確認された。各要件の詳細を以下に示す。

・主鎖の要件（要件①及び要件①'）

以下の要件を満たす化合物は、安定性試験において主鎖が切断した事例が少なかった（調査対象物質のうち約2%）。このため、安定性試験で切断する懸念が低い（①）または懸念がない（①'）主鎖の構造を要件として規定した。

要件① 主鎖の繰り返し部分が切断する懸念の低い構造（炭素-炭素結合、フェニレン基、イミド結合、アミド結合、エステル結合、ウレタン結合、エーテル結合（アセタールを除く）、シロキサン）の組み合わせのみで構成される。

要件①' 主鎖の繰り返し部分が切断する懸念のない構造（炭素-炭素結合、フェニレン基、イミド結合、アミド結合（3級アミドに限る））の組み合わせのみで構成される。

・側鎖の要件（要件②）

以下の要件を満たす化合物は、安定性試験において側鎖が変化した事例が少なかった（調査対象物質のうち約3%）。このため、安定性試験で切断の懸念がない側鎖の構造を要件として規定した。

要件② 側鎖に変化する懸念のある構造（塩（既見イオン^{*42}との塩は除く）、アルコキシシラン、アセタール、酸無水物、アミド結合、エステル結合、ウレタン結合）を含まない。

・物性の要件（要件③）

以下の要件を満たす化合物は、主鎖及び側鎖が変化した事例がなかった。このため、

数平均分子量及び各種溶媒への溶解性を、安定性試験で主鎖や側鎖が切断する懸念がない物性の要件として規定した。

要件③ 数平均分子量が 100,000 以上または各種溶媒に不溶である。

*4-2 既知見通知 4 に記載のイオン (Na^+ 、 K^+ 、 NH_4^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 BO_3^{3-} 、 SiO_4^{4-} 、 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-} 、 F^- 、 Cl^- 、 Br^- 、 I^- 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Al^{3+})

以上の要件について以下の 1~3 のいずれかを満たす高分子化合物は、高分子フロースキーム試験不要と考えられた。

1. 要件①' 及び要件②を満たす高分子化合物 (主鎖と側鎖の要件を満たす)
2. 要件①' 及び要件③を満たす高分子化合物 (主鎖と物性の要件を満たす)
3. 要件①及び要件③を満たす高分子化合物 (主鎖と物性の要件を満たす)

2.2.1-(3) 合理化案で試験不要となる化合物数の調査

過去に高分子フロースキーム試験により申請された高分子化合物について、今回の合理化案を適用した場合、全体の約 30%が試験不要となった。

2.2.1-(4) 有識者から挙げられた意見

有識者より、以下の意見が挙げられた。

- ・要件①と要件①' の内容がわかりにくい。要件①と①' に「以下の構造の組み合わせでのみで構成される」という記載があるが、「のみ」という言葉が、具体的にどこを指すのかがわかりにくい。
- ・物性の要件にある「各種溶媒に不溶」は明確でわかりやすい。一方で、数平均分子量の「100,000」という値は明確な根拠がないため、合理化対象となる僅かな物質のために要件を入れると合理化全体の議論が不透明になるのではないかと懸念を持ったが、過去の試験結果の解析から、設定したということであれば納得できる。
- ・分子量による要件は、溶解性の判断よりも曖昧なところがあるが、数平均分子量 100,000 という区切りは高分子量として妥当である。
- ・溶解性の要件について、確認が必要な溶媒に水を追加しても良いのではないかと。「既に得られているその組成、性状等に関する知見」としての取扱いについて”別添““高分子化合物の安全性評価のための試験方法 (高分子フロースキーム)” (平成 30 年 3 月 14 日 薬生発 0313 第 8 号、20180308 製局第 1 号、環保企発第 1803124 号) に記載されている「III 試験方法 3 分子量分布測定」で指定されている溶媒は数が多い。安全サイドの観

点では、要件で求める溶媒数は多くした方が良い。

- ・合理化により申請でデータを求めない方針について、意向は理解できるが、どのように取得されたデータが提出されているのか不明確になるため、審査する側としては不安を感じる。

2.2.1-(5) 合理化案について

合理化案中の主鎖の要件（要件①及び要件①'）が示す内容を明確にするために、要件①及び要件①'の表現を見直した。また、溶解性の要件（要件③）について、「各種溶媒に不溶」であることを確認するための、溶媒の種類について定義した。

- ・主鎖の要件（要件①及び要件①'）

以下の要件を満たす化合物は、安定性試験において主鎖が切断した事例が少なかった（調査対象物質のうち約 2%）。このため、安定性試験で切断する懸念が低い（①）または懸念がない（①'）主鎖の構造を要件として規定した。

要件① 主鎖の繰り返し部分に分解する懸念の低い構造（炭素-炭素結合、フェニレン基、イミド結合、アミド結合、エステル結合、ウレタン結合、エーテル結合（アセタールを除く）、シロキサン）のいずれか又はこれらの構造の組み合わせにより構成される。

要件①' 主鎖の繰り返し部分に分解する懸念のない構造（炭素-炭素結合、フェニレン基、イミド結合、アミド結合（3級アミドに限る））のいずれか又はこれらの構造の組み合わせにより構成される。

- ・側鎖の要件（要件②）

以下の要件を満たす化合物は、安定性試験において側鎖が変化した事例が少なかった（調査対象物質のうち約 3%）。このため、安定性試験で切断の懸念がない側鎖の構造を要件として規定した。

要件② 側鎖に変化する懸念のある構造（塩（既知見イオン*43 との塩は除く）、アルコキシシラン、アセタール、酸無水物、アミド結合、エステル結合、ウレタン結合）を含まない。

- ・物性の要件（要件③）

以下の要件を満たす化合物は、主鎖及び側鎖が変化した事例がなかった。このため、数平均分子量及び各種溶媒への溶解性を、安定性試験で主鎖や側鎖が切断する懸念がない物性の要件として規定した。

要件③ 数平均分子量が 100,000 以上または各種溶媒*44 に不溶である。

*4-3 既知見通知 4 に記載のイオン (Na^+ 、 K^+ 、 NH_4^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 BO_3^{3-} 、 SiO_4^{4-} 、 PO_4^{3-} 、 SO_4^{2-} 、 F^- 、 Cl^- 、 Br^- 、 I^- 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Al^{3+})

*4-4 高分子フロースキーム試験の溶解性試験で規定されている溶媒 (水、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド (DMF))。なお、DMF に代えて、ジメチルスルホキシド又は 1-メチル-2-ピロリドンを使用することができる。

以上の要件について以下の 1~3 のいずれかを満たす高分子化合物は、高分子フロースキーム試験不要と考えられた。

1. 要件①' 及び要件②を満たす高分子化合物 (主鎖と側鎖の要件を満たす)
2. 要件①' 及び要件③を満たす高分子化合物 (主鎖と物性の要件を満たす)
3. 要件①及び要件③を満たす高分子化合物 (主鎖と物性の要件を満たす)

2.3. 修正した合理化案

第2回委員会で挙げられた有識者からの意見を反映して作成した 2.2.1-(5)の合理化案を、今年度委託事業内での成案として取りまとめた。

2.4. まとめ/今後の課題

2.4.1. まとめ

令和 4 年度及び令和 5 年度の同事業で作成した高分子フロースキーム試験結果データベースの解析結果を踏まえ、第 6 類及び第 7 類の高分子化合物について高分子フロースキーム試験に関する合理化案を NITE が作成した。委員会を開催し、作成した合理化案について有識者から意見を収集した。当初、委員会で示された合理化案は要件が複雑で理解しにくいとの意見が挙げられた。そこで、高分子フロースキーム試験の要否を判断するために必要な要件 (構造、数平均分子量、溶媒への溶解性) を集約した。本事業で作成した高分子フロースキーム試験を不要とする合理化案は有識者の賛同を得られたため、これを今年度委託事業内での成案とした。

2.4.2. 今後の課題

今年度委託事業内で作成した、高分子フロースキーム試験を不要とする合理化案の対象について、本合理化案の適用可否を高分子フロースキーム試験の運用面や行政的な観点等から検討し、高分子フロースキーム試験を不要とする範囲について検討する必要がある。

3. 化学物質の分解性・蓄積性に関する試験機関の技術力向上及び専門人材の育成に向けた取組

化審法の事前審査制度は、化学物質の安全性試験を行う化審法 GLP 試験機関の技術力及び化学物質の試験や評価・審査を担う専門人材のもとで成り立っている。化学物質の分解性及び蓄積性の分野において本制度の持続的運用を図るため、本年度事業では、これら技術力の向上と有能な専門人材の確保・育成に資する以下の取組を実施した。

3.1. 分解性・蓄積性に係る化審法 GLP 試験機関連絡会議の開催

分解度試験、濃縮度試験及び分配係数試験を実施する国内の優良試験所基準（GLP）試験機関を対象とした連絡会議を 2024 年 11 月 28 日に開催した。本会議では、試験技術や試験成績の評価技術等に係る共通課題を協議した。また、本会議には、化学物質の分解性・蓄積性評価手法に精通する有識者（5 名）も参加し、新規化学物質に係る審査の要諦について相互理解の促進を図った。

3.1.1. 令和 6 年度化審法 GLP 試験機関連絡会議

令和 6 年度化審法 GLP 試験機関連絡会議の概要を以下に示す。

日時	2024 年 11 月 28 日（木）14：00～16：00
場所	経済産業省 別館 11 階 1111 各省庁共用会議室
主催者	経済産業省
事務局	一般財団法人化学物質評価研究機構
出席者	経済産業省、独立行政法人製品評価技術基盤機構、分解性及び蓄積性の有識者（5 名）、株式会社エコトキシコロジー研究所、一般財団法人化学物質評価研究機構、富士フイルム株式会社、保土谷コントラクトラボ株式会社、株式会社三菱ケミカルリサーチ
議題	議題 1：化審法 301C で使用する活性汚泥分解活性の低下 議題 2：1 点検量線による被験物質濃度の算出 議題 3：後続試験が必要な分解度試験で生じた変化物 議題 4：下水処理場の汚泥提供について（化審法 301F）

3.1.1-(1) 議題 1：化審法 301C で使用する活性汚泥分解活性の低下

(1)-1) 議題の主旨

主催者である経済産業省から議題 1 について以下の説明を行い、出席者から意見を求めた。

- ・ 化審法の分解度試験（OECD TG301C 相当）において、基準物質であるアニリンの分解度が試験成立の基準値に達する確率は以前よりも低下し、一回で試験が成立することが期待できない。日本の環境がきれいになっており、分解度試験（OECD TG301C 相当）に用いる活性汚泥の活性を維持することは難しいのではないか。被験物質の分解は進んでいるにも関わらず、アニリンが分解されないために不成立となる試験もある。
- ・ 各試験機関の 2022 年度のアニリン分解度基準達成率のデータを解析したところ、5 社中 4 社のアニリン分解度基準達成率は 60% 前後であった。また、10% 前後であった試験機関が 1 社あったが、これはアニリン分解度が基準値に達しなかった汚泥について、複数の試験を繰り返し実施したことに起因する。

(1)-2) 出席者の主な意見・コメント

- ・ 試験機関としては、以前はアニリンの基準値達成率が 8 割程度であったが、近年は 6 割程度という印象を持っている。また、培養後期になると汚泥の活性が落ちる傾向にあるが、途中で活性が上がることもある。なお、多くの試験機関は一度アニリン分解度の基準に達しなかった場合は基本的には繰り返し使用していない。
- ・ 有識者としては、アニリンは生分解性の物質ではあるが、芳香環を持つため決して分解されやすいわけではない、との認識である。汚泥の培養を続けている間に環開裂に関わるような物質が栄養源として供給されなければ、分解に関与する微生物の割合が落ちていくはずである。時々、活性が回復することもあるのは、同じ培養条件の中でも微生物の種類は少しずつ変化しているもので、そのばらつきの範囲と考える。
- ・ 各試験機関における培養スケールの違いや輸送の有無などが、汚泥の活性に影響する要因として考えられたが、汚泥の頒布元と頒布先でアニリン分解度基準達成率が同程度なので、これらは主たる要因ではないと考えられる。活性汚泥の活性低下は環境浄化と培養方法が主たる要因と考える。
- ・ 有識者としても、輸送や保存・培養条件による分解活性への影響がないのであれば、環境が変わったことが活性低下の要因と考える。
- ・ 活性汚泥に含まれる微生物の種類や量を把握して、活性汚泥の改良や管理に活用することも考えられるが、例えば、アニリンなど芳香族化合物を分解する遺伝子をターゲットとした場合、当該遺伝子があることは分かるが、機能しているかは分からない。微生物と活性の相関性が不明確であるため、品質管理にはつながらないと予想される。

- ・ 試験機関としては、OECD TG301C 以外の易生分解性試験法と同様に、より生分解されやすい酢酸ナトリウムや安息香酸ナトリウムが基準物質として認められるとよいと考える。また、OECD TG301C では基準物質の分解度の基準値が7日で40%、14日で65%であるが、他の易生分解性試験は14日で60%であるため、基準値についても変更が考えられる。
- ・ 有識者としても、アニリン分解度基準達成率が低く、その要因として日本の環境変化が考えられるという現状に合わせて、制度ややり方を変える必要があると考える。
- ・ 基準物質の見直しについては、本年度の WoE 事業で有識者と議論している。

3.1.1-(2) 議題2：1点検量線による被験物質濃度の算出

(2)-1) 議題の主旨

主催者である経済産業省から議題2について以下の説明を行い、出席者から意見を求めた。

- ・ 1点検量線を用いた場合、強制的に切片を0と仮定しているため、濃縮度試験において算出された BCF の信頼性が低い。特に定量下限付近で誤差が大きくなることが懸念される。標準溶液の定量が1点のみであるため、カラムの劣化や分析機器の状態の変化に由来する日較差により、検量線の再現性や直線性に影響する恐れがあるため、お勧めしない。

(2)-2) 出席者の主な意見・コメント

- ・ 審査する立場（有識者）としては、検量線は毎回とるものとの認識である。切片を0にする根拠も分からない。バリデーションを取ったカラムでも日々の使用で劣化していき、検量線の傾きが変わることもあると思う。多点検量線での評価を求めたい。また、検量線が原点を通る直線から外れている時でも1点検量線で定量する場合、BCF または BMF を過大、過小評価するリスクがある。どうしても1点検量線で評価する場合、サンプルの濃度に近い標準で定量する等の対応をしてほしい。
- ・ 各試験機関は事前に多点検量線での直線性を確認している。また、試験機関によっては、2点絶対検量線を用いている。
- ・ 1点検量線を用いた場合、定量下限付近の精度は確かに劣るかもしれないが、濃縮度試験は極めて低濃度であり、評価対象は新規化学物質なので内標準物質もない。質量分析計を用いる場合、検量線等でたくさん分析していると、経時的な感度変動による分析結果の信頼性低下のリスクが大きい。また、濃縮度試験は分析点数が多いため、分析が1日で終わらない（分析結果の信頼性の担保がより難しくなる）可能性もあ

る。多点検量線を毎回とることがより望ましいと考える一方で、10%程度の誤差は前処理や生物間のばらつきによっても生じる。1点検量線は薬局方でも認められている手法であるため、試験機関としては引き続き利用していきたい。

- ・ 審査する立場（有識者）としては、感度の変動する分析メソッド自体が良くない可能性を考える。どんな場合でも検量線が原点を通るのかは疑問である。多点検量線にすれば標準濃度の問題はクリアできるはずである。多成分の場合でも多点検量線にすれば低濃度から高濃度までカバーできるのではないか。
- ・ 試験機関としては、濃縮度試験の分析回数と所有機器と人員を踏まえたキャパシティとして、毎回分析での多点検量線は難しい。なお、あくまで検量線が原点を通る場合にのみ1点検量線を採用している。
- ・ 各試験機関の負担も考慮しながら、今後も精度も担保できるやり方を試験機関と有識者間で検討できれば良いと考える。

3.1.1-(3) 議題3：後続試験が必要な分解度試験で生じた変化物

(3-1) 議題の主旨

主催者である経済産業省から議題3について以下の説明を行い、出席者から意見を求めた。

- ・ 化審法では分解度試験で生成した1%以上のすべての変化物を後続試験の評価対象とする。分解度試験の濃度レベルにおける1%は1 mg/Lであり、この濃度の変化物をすべて同定することは出来ないことがある。
- ・ 変化物が推定できた場合であっても、後続試験を実施するにあたり、後続試験に必要な量の変化物を合成・培養等により生成することは、後続試験を実施する上で大きな負荷となる。
- ・ 変化物の合成に成功しても、検出された変化物と合成した標準品のピークがクロマトグラム上で一致しないこともある。
- ・ 今回の議論は、変化物の合成の検討や変化物構造の同定をどこまで行うべきか、生成率がわからないような変化物をどう取り扱うか、が主眼である。「1%」という数字の変更については議論しない。

(3-2) 出席者の主な意見・コメント

- ・ 審査する立場（有識者）としても、最近の届出物質は複雑な構造であることが多いため、同定できないことがあるのは、ある程度仕方ないと考える。同定が難しい変化物をどこまで推定するべきかについては判断し難い。また、変化物の評価が必要である

ことは分かっているが、変化物の合成や単離は難しく、現実的にできない場合があることも理解できる。一方で、変化物の蓄積性評価を行うことは、届出者の負担が大きいと想像できるが、評価しなくていいわけではない。変化物の構造をある程度明らかにして親物質の構造と比べて評価をしていくしかないと考える。

- ・ 各試験機関とも、変化物の構造推定には時間を要している。被験物質の構造にもよるが、短くて2～3週間程度、最長2年ほど時間を要した事例もある。

3.1.1-(4) 議題4：下水処理場の汚泥提供について（化審法 301F）

(4)-1) 議題の主旨

主催者である経済産業省から議題4について以下の説明を行い、出席者から意見を求めた。

- ・ OECD TG301F 試験の実施に際し、下水処理場の活性汚泥を入手する必要があるが、試験機関が汚泥を採集することは営利目的と下水処理場にみなされ、汚泥の提供が許可されないことがある。

(4)-2) 出席者の主な意見・コメント

- ・ 実際に活性汚泥の提供を試験機関から依頼したところ、複数の下水処理場から「営利目的での活性汚泥の提供は難しい」という回答があった。
- ・ 試験機関から使用目的を説明した上で、活性汚泥を提供していただける下水処理場もある。
- ・ 有識者が所属する大学の場合は、一般企業よりも活性汚泥入手のハードルが低いと考えられるが、自治体によって対応がさまざまであるため、調査すれば協力可能な下水処理場はあると考える。
- ・ 現状、各試験機関は対応できているようだが、下水処理場を管轄する自治体の担当者が変わった場合、活性汚泥を入手できなくなる可能性があるため、行政として対応を検討する。

3.1.1-(5) 追加議題

(5-1) 議題の主旨

主催者である経済産業省から、追加議題について以下の説明を行い、出席者から意見を求めた。

- ・ 分解度試験において、28日後にBODが上昇傾向であるか否かの判定の目安を示すことはできないか。被験物質が分解しており、最後の1週間のBOD上昇がブランク系や基準物質系より大きい場合、上昇中と判定してよいなど、BODチャートの見た目以外で判定の目安があるとよい。
- ・ 分解度試験の培養液を用いた分配係数の評価について、分解度試験において複数の変化物が生成した際に、事前に解離性を確認したうえで保持時間が最も長い成分の分配係数(log Pow)が3.5未満である場合、HPLC法の性質上、その他の変化物の分配係数は3.5未満と考えられる。保持時間が最も長い成分から、その他の変化物を含めた蓄積性評価を実施できる可能性はないか。

(5-2) 出席者の主な意見・コメント

- ・ 審査する立場(有識者)としては、BOD曲線が横ばい(プラトー)ではなく、明らかに徐々に上昇している場合、この先も分解されると判断している。また、BOD分解度が10~15%程度ではなく、40%を超えるものは分解される可能性ありと判断している。化学物質の構造も確認するが、基本はBODチャートの見目で判断している。なお、毒性がある分解産物(変化物)が生じている場合は、BOD曲線が上昇傾向であっても後続試験を求める場合もある。
- ・ 有識者としても、分解度試験の培養液を用いた変化物の分配係数試験については、各変化物の解離性を確認した上であれば、保持時間が最も長い成分から他の変化物を含めた蓄積性を評価可能と考える。

3.1.2. まとめ／今後の課題

3.1.2-(1) まとめ

分解度試験、濃縮度試験及び分配係数試験を実施する国内の GLP 試験機関を対象とした連絡会議を開催し、試験技術や試験成績の評価技術等に係る共通課題を協議した。また、化学物質の分解性・蓄積性評価手法に精通する有識者（5名）も参加し、新規化学物質に係る審査の要諦について意見交換を行った。

今回の GLP 試験機関連絡会議の開催により、試験機関、行政及び有識者に間で化審法関連試験や審査における課題等について共通認識を持つことができた。また、それぞれの立場から意見交換ができたことにより、相互理解が促進された。

3.1.2-(2) 今後の課題

今回の GLP 試験機関連絡会議の議題であった「OECD TG301C 活性汚泥の分解活性の低下」及び「濃縮度試験における 1 点検量線」については、今後も継続的な検討や議論が必要である。前者については、試験法に定められた活性汚泥の問題であるため、制度上の課題とも言える。試験機関からは基準物質の変更（追加）が提案されており、有識者もこれに理解を示している。今後は制度（試験法）の改訂に向けた検討が必要である。また、後者については、試験機関と有識者の相互理解は進んだものの、お互いの見解の相違は埋まらなかった。この課題の解決には、科学的な妥当性と試験機関における実効性の両立が必要となる。より踏み込んだ議論ができるように、来年度以降も協議の場の設置が望まれる。なお、現時点で下水処理場からの活性汚泥の入手の難しさは課題となっていないが、下水処理場を管轄する自治体から試験機関に説明を求められることが多いため、国が定める分解度試験に下水処理場汚泥が必要であることを説明する行政発信の文書があると、自治体から活性汚泥入手の許可が得られやすくなる可能性がある。

3.2. 分解性・蓄積性に関する専門人材の確保・育成のためのプロモーション活動

化学物質の安全性評価に関係する有識者及び専門人材やその候補が一堂に会する学会主催の会合において、化審法の事前審査制度に関する認知及び理解の向上を目的とした化審法 GLP 試験機関での分解性・蓄積性に関する試験及び業務内容の紹介を行った。会合後、参加者に対してアンケート調査を行った。

3.2.1. 会合の概要

会合の概要を下記に示す。

開催日時	令和 6 年 7 月 2 日 (火) 18:15～19 : 50
開催場所	JMS アステールプラザ (広島県広島市)
学会名	第 3 回環境化学物質合同大会 (主催 一般社団法人日本環境化学会、日本環境毒性学会)
会合名	自由集会 4「化審法における化学物質の安全性評価の現状と展望 ～生分解性及び生物蓄積性の評価とは?～」
参加者数	38 名 (集会開催関係者 11 名含む)

3.2.2. 演題の概要

行政、学術界及び産業界の演者が化学物質審査規制法と自身の仕事、研究を紹介した。

<演題及び内容>

- 化審法って何? (経済産業省)
化審法の制定背景及び目的、新規化学物質の審査・確認制度、リスク評価の進め方、関連審議会、化学物質管理で必要とする人材、経済産業省及び化学物質管理課化学物質安全室等について説明された。
- 化学物質管理の展望について (有識者)
化学物質管理を学問と捉えること、化学物質のリスクと利益を考慮して審査する難しさ、人材育成、規制と実情のジレンマ、シミュレーションの基礎となる知見の重要性、産官学での話し合いの重要性等について説明された。
- 化学物質の安全性評価 (製品評価技術基盤機構 (NITE))
NITE 及び安全審査課、新規化学物質の審査に必要な試験データ、判定基準・試験法見直しに関する NITE の貢献 (分子量による生物蓄積性の判定基準の制定、類推・構造活性相関による判定) 等について説明された。

- 生物蓄積性の評価とは？（有識者）

有機スズ化合物の歴史と蓄積性に関する研究結果、蓄積性評価に関する人材育成の課題等について説明があった。

- 環境安全性と民間企業（日本化粧品工業会）

家庭用品の環境安全性評価、ステークホルダーと日本化粧品工業会の環境に対する関心の高まり、化審法と化粧品の関係、欧州 REACH における化粧品原料の規制等について説明された。

- GLP 試験機関の仕事（化学物質評価研究機構）

優良試験所基準（GLP）の目的及び GLP 試験施設の役割、分解度試験及び濃縮度試験、OECD テストガイドライン、餌料投与方法における濃縮性基準の検討研究、分解度試験と濃縮度試験の面白さ等について説明された。

なお、時間の都合上、上記の発表後に予定されていた自由討論は割愛された。

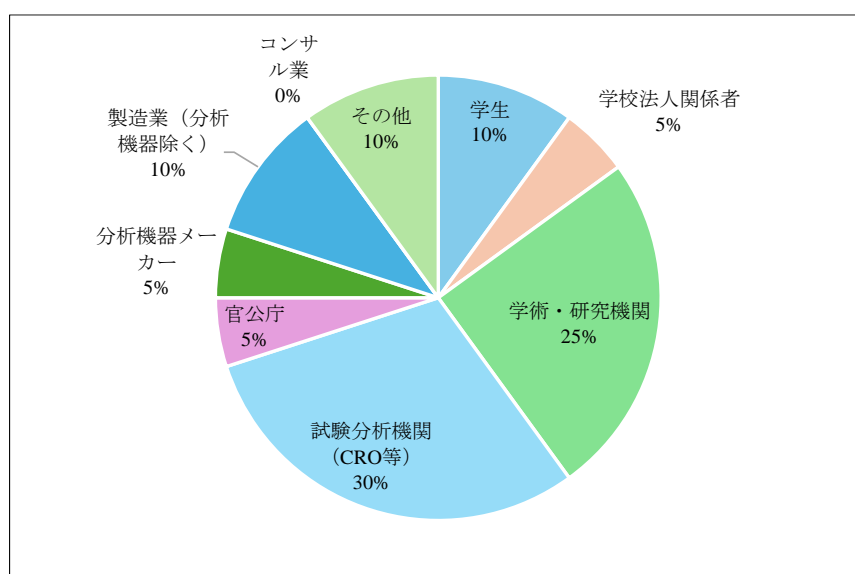
3.2.3. アンケート集計結果

会合後、参加者に対して行ったアンケートの集計結果を以下に示す。参加者は27名、アンケート回答者は20名（回答率は74%）であった。回答数を括弧内の数値で示す。なお、円グラフは無記載数を除いて作成した。

3.2.3-(1) 参加者の情報

● 参加者の業種（図表 3.2.3-(1)-1 参照）

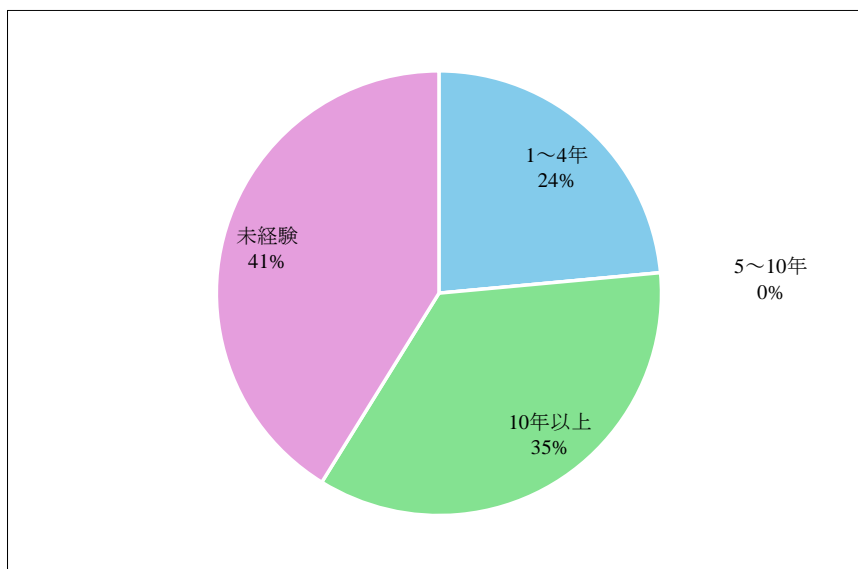
学生（2）、学校法人関係者（1）、学術・研究機関（5）、試験分析機関（CRO等）（6）、官公庁（1）、分析機器メーカー（1）、製造業（分析機器除く）（2）、コンサル業（0）、その他（2）



図表 3.2.3-(1)-1 参加者の業種

- 参加者の化学物質管理（化学物質に関する法規制対応、自主管理、安全性評価等）に関する経験年数（図表 3.2.3-(1)-2 参照）

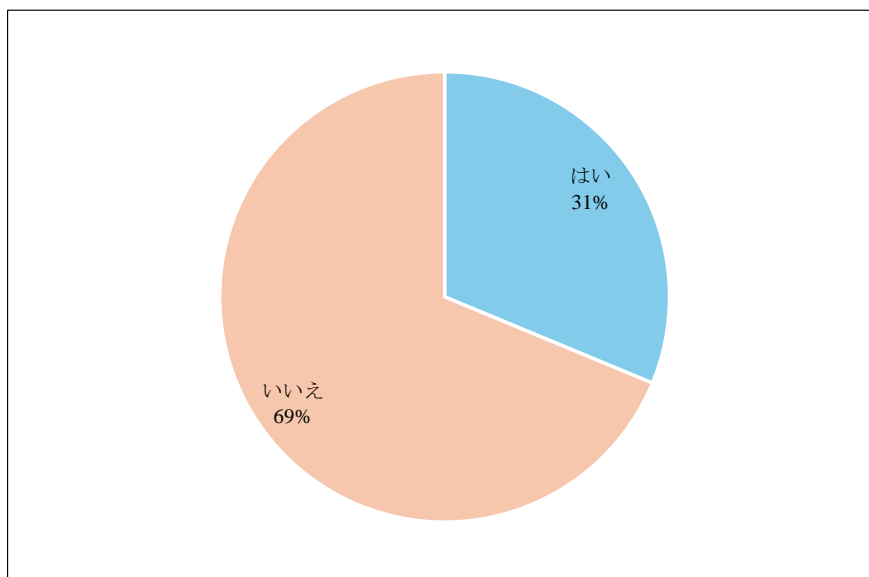
1～4年目（4）、5年～10年（0）、10年以上（6）、未経験（7）、無記載（3）



図表 3.2.3-(1)-2 参加者の化学物質管理に関する経験年数

- 現在、分解性や蓄積性に関する研究・業務・学習を行っているか（図表 3.2.3-3 参照）

はい（5）、いいえ（11）、無記載（4）

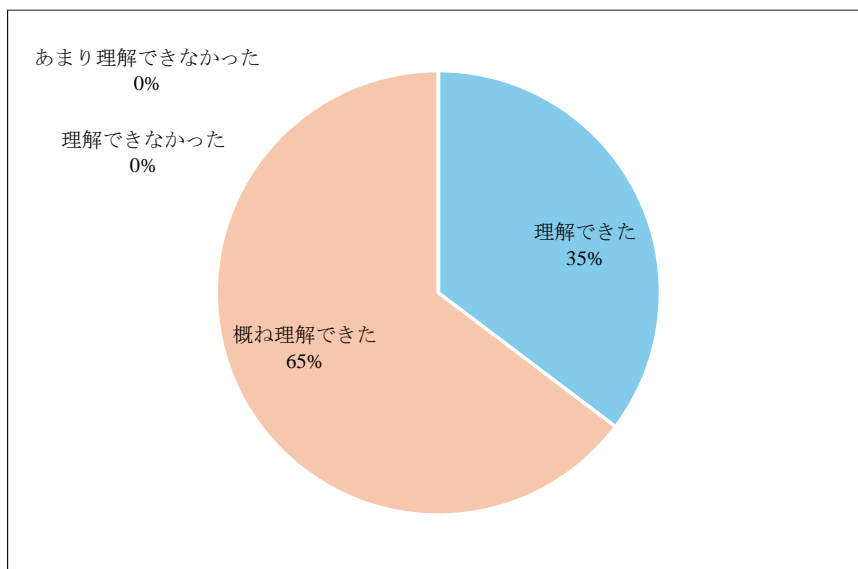


図表 3.2.3-(1)-3 分解性や蓄積性に関する研究・業務・学習の現在の実施状況

3.2.3-(2) 会合に対する感想

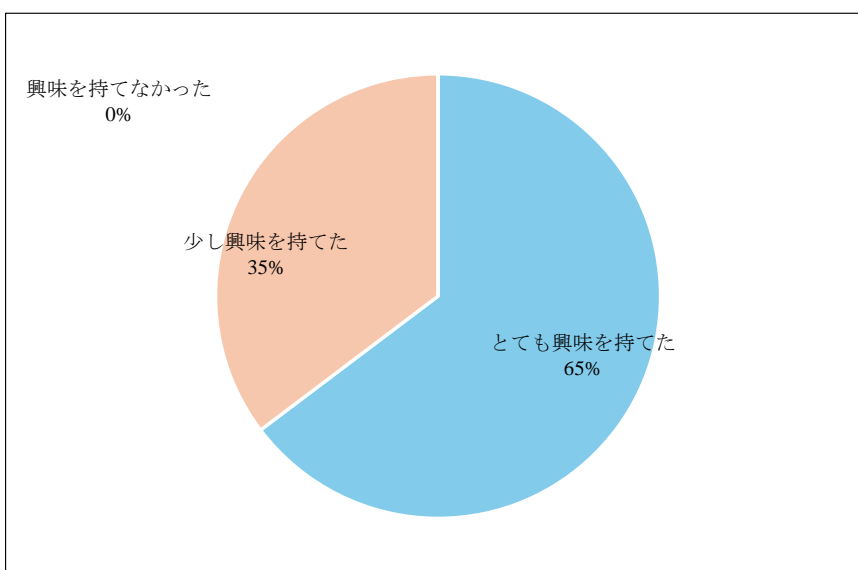
- 日本の化学物質管理（化審法）、生分解性、生物蓄積性について理解できたか（図表 3.2.3-(2)-1 参照）

理解できた（6）、概ね理解できた（11）、あまり理解できなかった（0）、理解できなかった（0）、無記載（3）



図表 3.2.3-(2)-1 会合内容の理解度

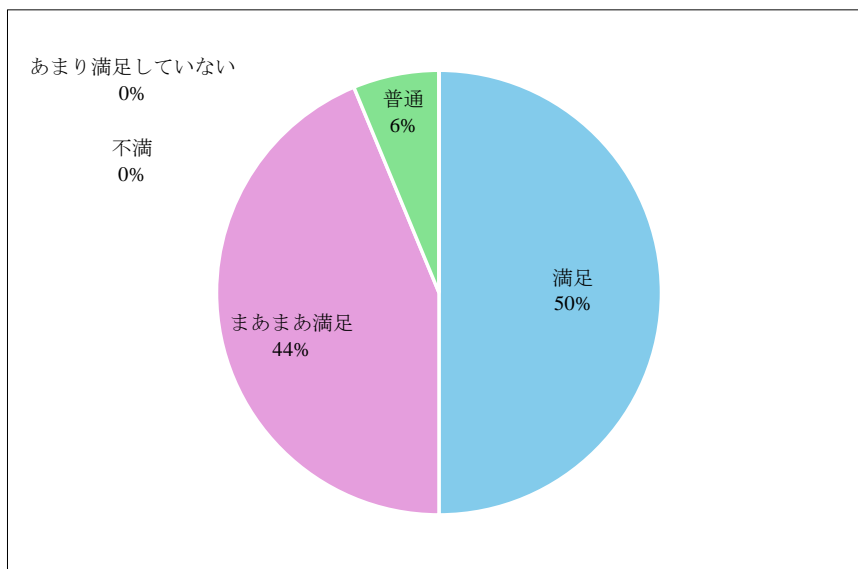
- 会合を通じて化学物質管理に興味を持てたか（図表 3.2.3-(2)-2 参照）
とても興味を持てた（11）、少し興味を持てた（6）、興味を持てなかった（0）、無記載（3）



図表 3.2.3-(2)-2 化学物質管理に関する興味

- 会合内容の満足度かどうか（図表 3.2.3-(2)-3 参照）

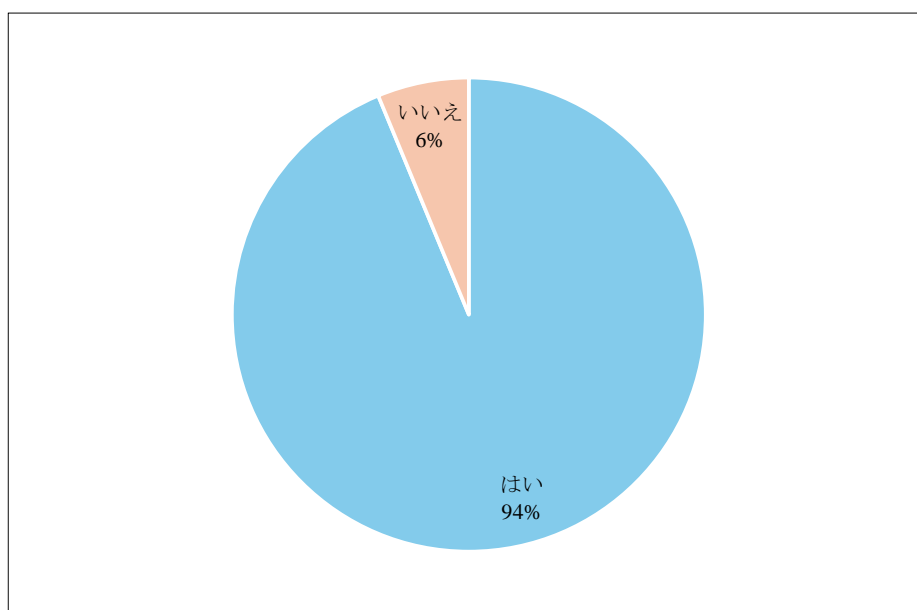
満足（8）、まあまあ満足（7）、普通（1）、あまり満足していない（0）、不満（0）、無記載（4）



図表 3.2.3-(2)-3 会合内容の満足度

- 今後、化学物質管理に関する講義やセミナーがあれば参加したいか（図表 3.2.3-(2)-4 参照）

はい（15）、いいえ（1）、無記載（4）



図表 3.2.3-(2)-4 化学物質管理に関する講義やセミナーへの参加意思

3.2.4. まとめ/今後の課題

3.2.4-(1) まとめ

分解性・蓄積性に関する専門人材の確保・育成のためのプロモーション活動として、化学物質の安全性評価に関係する有識者及び専門人材やその候補が一同に介する学会主催の会合において、行政、学术界及び産業界の計6名の演者が化学物質審査規制法と自身の仕事、研究を紹介した。また、参加者に対してアンケートを実施した。

参加者の業種として、学術・研究機関や試験分析機関の割合が高く、学生は少なかった。参加者の多くは満足度が高く、会合の内容に興味を持っていただけた。また、会合の内容に対する参加者の理解度も高かった。今後の化学物質管理に関する講義・セミナーを望む参加者が多く、その中でオンライン開催を希望する意見が多かった。

3.2.4-(2) 今後の課題

分解性・蓄積性に関する専門人材の確保・育成のためのプロモーション活動を開催した時間帯には、同時に多数の会合が開催されていたため、関心ある方々全員が参加することは難しい状況であった。特に、学生向けの企業紹介会合も開催されており、化学物質管理分野の将来の人材育成という観点では、そのような会合と重ならないように又は共催できるように学会事務局と事前に調整することが望ましい。

参加者からは化学物質管理に関する講義・セミナーを望む意見が多かったが、開催頻度を高める場合、マンネリ化を防ぐために毎回同じ内容にならないように工夫することが望ましい。今回実施できなかった自由討論の時間を設けることは、その解決策の一つとなる可能性がある。

IV. まとめ及び今後の課題

1. 化審法における WoE 等の導入及び公定試験法の運用見直しに向けた検討

1.1. 分解性評価に関する検討テーマ（分解度試験）

1.1.1. まとめ

本年度事業では、化審法の公定試験法と OECD TG301 シリーズとの整合化及び TG302C の試験法に係る課題として【1】基準物質の選定、【2】被験物質濃度の設定、【3】試験液量の設定及び【4】試験期間の設定の4点を挙げた。【1】については、化審法 301C の基準物質として酢酸ナトリウム及び安息香酸ナトリウムを追加することを提案し、有識者から容認する意見が多数得られた。【2】については、化審法 301F で ThOD 濃度として 50~100 mg/L を許容することを提案し、有識者全員から同意が得られた。【3】については、化審法 301F の試験液量を 300 mL に限定しないことや追加試験として液量を変更した試験を実施することに関して、有識者からは妥当との意見もあったが、液量の変更が変化物分析に与える影響や異なる試験条件で得られた結果を審査する難しさについての指摘もあった。

【4】について、化審法 301C 及び化審法 301F において試験期間 28 日間の試験を実施せずに 60 日間の試験で評価することに関しては、有識者全員が否定的であった。一方、追加試験として 60 日間の試験を許容することに関しては、有識者全員から同意が得られた。

1.1.2. 今後の課題

【1】基準物質の選定については、化審法 301C でアニリン以外に酢酸ナトリウムと安息香酸ナトリウムを試験法に追加するための調整が必要である。【2】被験物質濃度の設定に関しては、低濃度試験として許容できる濃度レベル及び結果の扱いについて具体的なケーススタディを行い、考え方を整理する必要がある。【3】試験液量の設定に関しては、試験液量を変更した試験結果の扱いについて具体的なケーススタディを行い、考え方を整理する必要がある。【4】試験期間の設定に関しては、試験期間を変更した試験結果の扱いについては具体的なケーススタディを行い、考え方を整理する必要がある。

1.2. 蓄積性評価に関する検討テーマ（ヨコエビを用いた水暴露法による濃縮度試験）

1.2.1. まとめ

2024年6月に OECD TG321 として採択されたヨコエビを用いた水暴露法による濃縮度試験（HYBIT）について、OECD テストガイドラインや HYBIT のリングテスト報告書等の公表文献を調査し、試験条件等を整理した。HYBIT は従来の魚類を用いる濃縮度試験 OECD TG305-I と比べ、試験生物の違いに起因する飼育方法及び試験条件等の相違点があった。HYBIT は OECD TG305-I よりも短い試験期間で実施できる利点はあるものの、雌雄の選別

作業が必要であることや試験期間が短いことに伴うサンプリング頻度の増加等、魚類を用いた濃縮度試験よりも増加する実験操作があった。

海外における HYBIT の活用状況については、REACH の蓄積性評価のガイダンスや EU 加盟国委員会の HYBIT に関する議事録等の公表文献の調査並びに欧州の規制当局及び試験機関への聞き取り調査を行った。REACH では、HYBIT の結果を蓄積性の評価に用いる場合、HYBIT の BCF 値だけではなく、その BCF 値によっては追加情報（OECD TG319A、OECD TG319B 等）も求められる評価基準となっていた。この点は OECD TG305-I の結果を用いる蓄積性の評価基準にはない考え方であった。HYBIT は REACH に導入されて間もないため、蓄積性評価に HYBIT の結果が使用された事例は 2025 年 1 月時点で 1 物質のみであった。今後、REACH では、蓄積性評価の試験が必要と判断された場合、OECD TG305-I ではなく HYBIT を要求していく方針である。また、REACH の蓄積性評価のガイダンスは改訂中であり、HYBIT を含めた蓄積性評価のフロースキームの見直しが行われている。その成果は 2026 年に公表される予定である。

日本国内の蓄積性評価の有識者へのヒアリングでは、HYBIT の調査結果を紹介した上で、化審法での新規化学物質の蓄積性評価における HYBIT の結果の活用等について意見を伺った。有識者からは、主にヨコエビと魚類の生物学上の違いや、両者の食物連鎖における位置（栄養段階）の違いが指摘された。また、魚類はヨコエビを捕食するため、ヨコエビ中の化学物質の魚類への移行を考慮すると、HYBIT で得られた BCF を現在の化審法における魚類の濃縮度試験の BCF に基づいた基準で評価することは困難であるとの意見が挙げられた。有識者の意見を考慮すると、化審法における化学物質の蓄積性評価に HYBIT を活用するためには、評価対象とする生物種の範囲を明確に定めた上で、試験に用いるヨコエビと魚類の違いを把握し、これらの違いが蓄積性評価に及ぼす影響について十分に検討し、活用可否の議論を行った上で新たな評価基準を策定する必要があると考えられる。

1.2.2. 今後の課題

化審法における新規化学物質の蓄積性評価に HYBIT を活用することについて、日本としての方針や考え方を整理する必要がある。現行の化審法の濃縮度試験に用いるコイ（魚類）と比べると、ヨコエビ（甲殻類）は血流動態、代謝能力や脱皮の有無等の数多くの生物学的及び生理学的な相違点がある。また、両試験動物は食物連鎖における位置づけも異なる（ヨコエビは魚類の下位に位置する）。これらの点を踏まえ、化審法における HYBIT の活用の可否を判断するためには、以下に示す項目等について調査や検討が必要と考えられる。

- 蓄積性の評価対象とする生物種の定義
- 栄養段階の異なる生物間における食物連鎖を介した生物濃縮の知見の収集
- 多様な物質について、ヨコエビと魚類（コイ）の BCF の相関性の調査（実験データ取得を含む）
- HYBIT と合わせて蓄積性を評価できる可能性のある試験（例：OECD TG319A 及び OECD TG319B）の検討

1.3. 蓄積性評価に関する検討テーマ（餌料投与法による濃縮度試験）

1.3.1. まとめ

本年度事業では、「BCF と BMF の回帰式の精度向上に寄与する被験物質選定」と「回帰式取得に向けた試験法の設計（試験条件）」について、文献その他の既存の知見、昨年度事業の実施結果等を参考にし、有識者による委員会における意見等に基づき、検討内容を取りまとめた。BCF と BMF の回帰式の精度を向上させるための BMF データを取得する物質（被験物質）を図表 1.3.1-(1)-4 に示す 7 物質とすることに有識者の合意が得られた。また、餌料投与法試験の予備検討において、試験実施が困難な場合の代替物質（3 物質）についても、有識者の合意が得られた。さらに、決定した被験物質を用いた餌料投与法試験の実験デザイン（複合暴露か否か、濃度区数）及び試験条件についても有識者の合意が得られた。

1.3.2. 今後の課題

本年度の検討結果に基づき、選定した被験物質の餌料投与法試験を実施し、試験データを集積する。また、集積した試験データに基づき、回帰式を作成し、餌料投与法による評価範囲の拡充〔高濃縮性ではない判定基準 {経口生物濃縮係数 (BMF) 0.007 未満} の見直し、高濃縮性 {生物濃縮係数 (BCF) 5,000 L/kg 以上に相当} の BMF 基準の設定及びグレーゾーン (BCF1,000 L/kg 以上～5,000 L/kg 未満に相当) の BMF 範囲の設定〕を検討する。

2. 高分子化合物の評価に関する合理化案の取りまとめ

2.1. まとめ

令和 4 年度及び令和 5 年度の同事業で作成した高分子フロースキーム試験結果データベースの解析結果を踏まえ、第 6 類及び第 7 類の高分子化合物について高分子フロースキーム試験に関する合理化案を NITE が作成した。委員会を開催し、作成した合理化案について有識者から意見を収集した。当初、委員会で示された合理化案は要件が複雑で理解しにくいとの意見が挙がった。そこで、高分子フロースキーム試験の要否を判断するために必要な要件

(構造、数平均分子量、溶媒への溶解性)を集約した。本事業で作成した高分子フロースキーム試験を不要とする合理化案は有識者の賛同を得られたため、これを成案とした。

2.2. 今後の課題

今年度委託事業内で作成した、高分子フロースキームを不要とする合理化案の対象について、本合理化案の適用可否を高分子フロースキーム試験の運用面や行政的な観点等から検討し、高分子フロースキーム試験を不要とする範囲について検討する必要がある。

3. 化学物質の分解性・蓄積性に関する試験機関の技術力向上及び専門人材の育成に向けた取組

3.1. 分解性・蓄積性に係る化審法 GLP 試験機関連絡会議の開催

3.1.1. まとめ

分解度試験、濃縮度試験及び分配係数試験を実施する国内の GLP 試験機関を対象とした連絡会議を開催し、試験技術や試験成績の評価技術等に係る共通課題を協議した。また、化学物質の分解性・蓄積性評価手法に精通する有識者（5名）も参加し、新規化学物質に係る審査の要諦について意見交換を行った。

今回の GLP 試験機関連絡会議の開催により、試験機関、行政及び有識者の間で化審法関連試験や審査における課題等について共通認識を持つことができた。また、それぞれの立場から意見交換ができたことにより、相互理解が促進された。

3.1.2. 今後の課題

今回の GLP 試験機関連絡会議の議題であった「OECD TG301C 活性汚泥の分解活性の低下」及び「濃縮度試験における 1 点検量線」については、今後も継続的な検討や議論が必要である。前者については、試験法に定められた活性汚泥の問題であるため、制度上の課題とも言える。試験機関からは基準物質の変更（追加）が提案されており、有識者もこれに理解を示している。今後は制度（試験法）の改訂に向けた検討が必要である。また、後者については、試験機関と有識者の相互理解は進んだものの、お互いの見解の相違は埋まらなかった。この課題の解決には、科学的な妥当性と試験機関における実効性の両立が必要となる。より踏み込んだ議論ができるように、来年度以降も協議の場の設置が望まれる。なお、現時点で下水処理場からの活性汚泥の入手の難しさは課題となっていないが、下水処理場を管轄する自治体から試験機関に説明を求められることが多いため、国が定める分解度試験に下水処理場汚泥が必要であることを説明する行政発信の文書があると、自治体から活性汚泥入手の許可が得られやすくなる可能性がある。

3.2. 分解性・蓄積性に関する専門人材の確保・育成のためのプロモーション活動

3.2.1. まとめ

分解性・蓄積性に関する専門人材の確保・育成のためのプロモーション活動として、化学物質の安全性評価に係る有識者及び専門人材やその候補が一同に介する学会主催の会合において、行政、学术界及び産業界の計6名の演者が化学物質審査規制法と自身の仕事、研究を紹介した。また、参加者に対してアンケートを実施した。

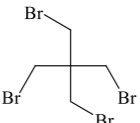
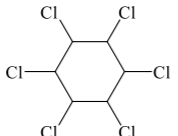
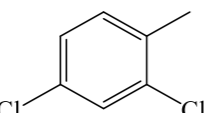
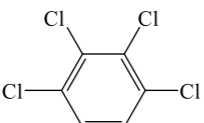
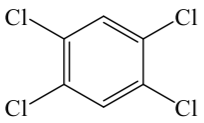
参加者の業種として、学術・研究機関や試験分析機関の割合が高く、学生は少なかった。参加者の多くは満足度が高く、会合の内容に興味を持っていただけた。また、会合の内容に対する参加者の理解度も高かった。今後の化学物質管理に関する講義・セミナーを望む参加者が多く、その中でオンライン開催を希望する意見が多かった。

3.2.2. 今後の課題

分解性・蓄積性に関する専門人材の確保・育成のためのプロモーション活動を開催した時間帯には、同時に多数の会合が開催されていたため、関心ある方々全員が参加することは難しい状況であった。特に、学生向けの企業紹介会合も開催されており、化学物質管理分野の将来の人材育成という観点では、そのような会合と重ならないように又は共催できるように学会事務局と事前に調整することが望ましい。

参加者からは化学物質管理に関する講義・セミナーを望む意見が多かったが、開催頻度を高める場合、マンネリ化を防ぐために毎回同じ内容にならないように工夫することが望ましい。今回実施できなかった自由討論の時間を設けることは、その解決策の一つとなる可能性がある。

表 1-1 第 1 候補物質：ハロゲン元素を 2 個以上有する物質（脱ハロゲン化により代謝されると予想される物質群）

被験物質 (CAS No.)	構造式	BCF ^{*1}	BCF _L ^{*2}	脂質含量 (%)	log Pow ^{*3}	水溶解度 ^{*4} (mg/L)	ヘンリー定数 ^{*5} (atm·m ³ /mol)	生体内変換 速度定数 k _M ^{*6} (/day) 計算値	BCF 計算値 (A) ^{*6} Including biotransformation rate estimates	BCF 計算値 (B) ^{*6} Assuming biotransformation rate of zero	A/B
1,3-ジブロモ-2,2-ビス (プロモメチル) プロパン (3229-00-3)		822	934	4.4	3.99 (実測値)	1.6 (実測値)	4.04×10⁻⁵	1.794	713	1,011	0.705
1,2,3,4,5,6-ヘキサクロロ シクロヘキサン (608-73-1)		791	565	7	3.72~4.14 (実測値)	0.24~31.4 (実測値)	2.56×10⁻⁴	4.084×10⁻²	1,322	1,409	0.938
2,4-ジクロロトルエン (95-73-8)		939	1,067	4.4	4.24 (実測値)	16.2	3.26×10 ⁻³	1.861×10 ⁻¹	831.4	1,753	0.474
1,2,3,4-テトラクロロ ベンゼン (634-66-2)		1,710	1,900	4.5	4.6 (実測値)	5.92 (実測値)	1.62×10⁻³	7.968×10⁻²	1,336	3,734	0.358
1,2,4,5-テトラクロロ ベンゼン (95-94-3)		3,930	3,447	5.7	4.64 (実測値)	5.95×10 ⁻¹ (実測値)	1.62×10⁻³	7.745×10⁻²	3,499	4,046	0.865

太字：ヘンリー定数<2.19×10⁻³ atm·m³/mol（揮発性のあるトリクロロベンゼンの値）、k_M<0.1、A/B >0.4

k_M：生体内変換速度定数。BCFBAF v. 3.01 (US Environmental Protection Agency, USA) において、構造式、log Pow 及び分子量から算出される。

*1 コイで実施した BCF データ (<https://www.nite.go.jp/chem/qsar/toolbox.html>)、NITE 化審法データベース (J-CHECK)、低濃度区における BCF

*2 脂質含量 5%で標準化した BCF

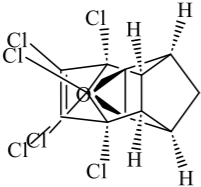
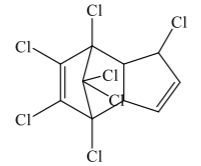
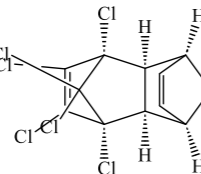
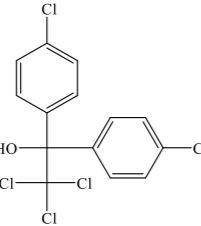
*3 KOWWIN v. 1.68 (US Environmental Protection Agency, USA)より算出した。実測値がある場合はその値を示す。

*4 WSKOWWIN v. 1.42 (US Environmental Protection Agency, USA)より算出した。実測値がある場合はその値を示す。

*5 HENRYWIN v. 3.20 (US Environmental Protection Agency, USA)より算出した。

*6 BCFBAF v 3.01 (US Environmental Protection Agency, USA) 、Arnot-Gobas BCF BAF method より算出した。

表 1-2 第 1 候補物質：ハロゲン元素を 2 個以上有する物質（脱ハロゲン化により代謝されると予想される物質群）

被験物質 (CAS No.)	構造式	BCF ^{*1}	BCF _L ^{*2}	脂質含量 (%)	log Pow ^{*3}	水溶解度 ^{*4} (mg/L)	ヘンリー定数 ^{*5} (atm·m ³ /mol)	生体内変換 速度定数 k_M ^{*6} (/day) 計算値	BCF 計算値 (A) ^{*6} Including biotransformation rate estimates	BCF 計算値 (B) ^{*6} Assuming biotransformation rate of zero	A/B
<i>rel</i> -(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> ,8 <i>S</i> ,9 <i>S</i> , 11 <i>R</i>)-3,4,5,6,13,13-ヘキサ クロロ-10-オキサペンタ シクロ[6.3.1.1(3,6).0(2,7). 0(9,11)]トリデカ-4-エン (72-20-8)		12,600	9,000	7	5.20~5.40 (実測値)	1.95×10 ⁻¹ ~2.5×10 ⁻¹ (実測値)	6.81×10⁻⁸	6.732×10⁻³	6,344	10,780	0.588
ヘプタクロル (76-44-8)		15,600	16,957	4.6	5.47~6.10 (実測値)	1.8×10 ⁻¹ (実測値)	1.76×10⁻⁴	1.383×10⁻²	6,442	15,100	0.427
<i>rel</i> -(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,6 <i>S</i> ,7 <i>S</i> ,8 <i>S</i>)- 1,8,9,10,11,11-ヘキサ クロロテトラシクロ [6.2.1.1(3,6).0(2,7)]ドデカ -4,9-ジエン (309-00-2)		9,450	6,750	7	6.50 (実測値)	1.7×10 ⁻² (実測値)	3.87×10⁻⁴	6.91×10⁻³	4,494	18,660	0.241
2,2,2-トリクロロ-1,1-ビス (4-クロロフェニル) エタノール (115-32-2)		7,000	7,085	4.94	5.02 (実測値)	8.0×10 ⁻¹ (実測値)	5.59×10⁻¹⁰	1.855×10⁻²	6,785	8,150	0.833

太字：ヘンリー定数 $<2.19 \times 10^{-3}$ atm·m³/mol（揮発性のあるトリクロロベンゼンの値）、 $k_M < 0.1$ 、A/B > 0.4

k_M ：生体内変換速度定数。BCFBAF v. 3.01 (US Environmental Protection Agency, USA) において、構造式、log Pow 及び分子量から算出される。

*1 コイで実施した BCF データ (<https://www.nite.go.jp/chem/qsar/toolbox.html>)、NITE 化審法データベース (J-CHECK)、低濃度区における BCF

*2 脂質含量 5% で標準化した BCF

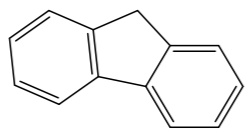
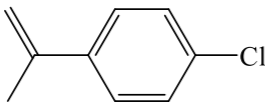
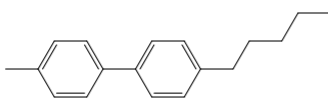
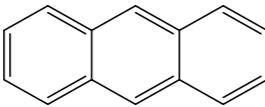
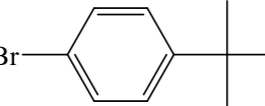
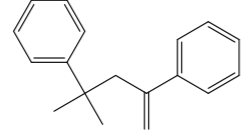
*3 KOWWIN v. 1.68 (US Environmental Protection Agency, USA) より算出した。実測値がある場合はその値を示す。

*4 WSKOWWIN v. 1.42 (US Environmental Protection Agency, USA) より算出した。実測値がある場合はその値を示す。

*5 HENRYWIN v. 3.20 (US Environmental Protection Agency, USA) より算出した。

*6 BCFBAF v 3.01 (US Environmental Protection Agency, USA)、Arnot-Gobas BCF BAF method より算出した。

表 1-3 第 2 候補物質：第 I 相反応において、脱アルキル化、エポキシ化により代謝されると予想される物質群

被験物質 (CAS No.)	構造式	BCF ^{*1}	BCF _L ^{*2}	脂質含量 (%)	log Pow ^{*3}	水溶解度 ^{*4} (mg/L)	ヘンリー定数 ^{*5} (atm·m ³ /mol)	生体内変換 速度定数 k_M ^{*6} (/day) 計算値	BCF 計算値 (A) ^{*6} Including biotransformation rate estimates	BCF 計算値 (B) ^{*6} Assuming biotransformation rate of zero	A/B
9H-フルオレン (86-73-7)		830	1,064	3.9	4.18 (実測値)	1.69 (実測値)	1.67×10⁻⁴	5.042×10 ⁻¹	893.6	1,538	0.581
1-クロロ-4-イソプロ ペニルベンゼン (1712-70-5)		948	1,030	4.6	4.62 (実測値)	8.376	3.21×10 ⁻³	1.134×10 ⁻¹	1,090	1,253	0.870
4-メチル-4'-ペンチル ビフェニル (64835-63-8)		1,060 (BCF _{ss})	—	—	6.82	4.14×10 ⁻²	1.56×10⁻³	1.026×10⁻²	6,570	14,490	0.453
アントラセン (120-12-7)		2,710	2,710	5	4.45 (実測値)	4.34×10 ⁻² (実測値)	5.13×10⁻⁵	2.734×10 ⁻¹	1,121	2,743	0.409
1-ブロモ-4-tert-ブチル ベンゼン (3972-65-4)		2,850 (BCF _{ss})	—	—	4.79	3.022	5.54×10⁻³	9.56×10⁻²	1,958	5,438	0.360
4-メチル-2,4-ジフェニル ペンタ-1-エン (6362-80-7)		4,410	3,021	7.3	6.51	7.716×10 ⁻²	8.18×10⁻⁴	9.266×10⁻²	1,711	18,530	0.0923

太字：ヘンリー定数 $<2.19 \times 10^{-3}$ atm·m³/mol (揮発性のあるトリクロロベンゼンの値)、 $k_M < 0.1$ 、A/B > 0.4

k_M ：生体内変換速度定数。BCFBAF v. 3.01 (US Environmental Protection Agency, USA) において、構造式、log Pow 及び分子量から算出される。

*1 コイで実施した BCF データ (<https://www.nite.go.jp/chem/qsar/toolbox.html>)、NITE 化審法データベース (J-CHECK)、低濃度区における BCF もしくは、BCF_{ss}

*2 脂質含量 5% で標準化した BCF

*3 KOWWIN v. 1.68 (US Environmental Protection Agency, USA) より算出した。実測値がある場合はその値を示す。

*4 WSKOWWIN v. 1.42 (US Environmental Protection Agency, USA) より算出した。実測値がある場合はその値を示す。

*5 HENRYWIN v. 3.20 (US Environmental Protection Agency, USA) より算出した。

*6 BCFBAF v 3.01 (US Environmental Protection Agency, USA)、Arnot-Gobas BCF BAF method より算出した。

二次利用未承諾リスト

報告書の題名

令和6年度化学物質規制対策（化学物質の分解性及び蓄積性に係る総合的評価の導入に関する調査）報告書

委託事業名

令和6年度化学物質規制対策（化学物質の分解性及び蓄積性に係る総合的評価の導入に関する調査）

受注事業者名

一般財団法人化学物質評価研究機構

頁	図表番号	タイトル
32	図表1.2.2-(1)-4	ヨコエビの脂質含量測定結果
32	図表1.2.2-(1)-5	試験水濃度に関する結果
33	図表1.2.2-(1)-6	BCFに関する結果
35	図表1.2.2-(1)-7	9物質におけるヨコエビ及びコイのBCF
53	図表1.3.1-(1)-3	候補物質をプロットした BMF_{kgL} と BCF_L の相関図