

NPE の変化物であるノニルフェノールの有害性評価に係る経緯と論点

平成31年3月22日
経済産業省化学物質管理課
化学物質安全室

1. 経済産業省と環境省の前回審議(H30.3.23)以降のやりとり経緯概要

- ✓ 平成30年3月23日の3省合同審議会において、NPEの変化物であるノニルフェノール(以下、NPという)の国立環境研究所(以下、国環研という)によるMEOGRT試験について、試験水温及び溶存酸素の低下を中心に両省専門家間で議論をするものの結論が出ず継続審議となった。
- ✓ 審議会直後から、上記審議会の質疑でも明確にならなかった試験水温及び溶存酸素の低下に関する当省専門家の追加質問を環境省に提出し、その後、数次の質疑のやりとりを継続した。
- ✓ 当省専門家としては、OECD TG240のMEOGRTは、平成30年3月23日の3省合同審議会において環境省専門家も発言されたとおり、“内分泌かく乱作用”の影響を検出するために開発された試験法であるため、試験水温の管理が特に重要であり、TG240でも厳格な温度管理の規定が定まっているとの認識であったため質問を継続していたが、環境省からはOECD TG240の指定水温域からの逸脱は問題ないという主張であり、また、国環研試験の試験水温やその管理の状況等の全容が不明のままであったため、国環研試験の妥当性について判断ができなかった。
- ✓ そのような状況で、当省専門家は最終的な意見書の準備を進め、昨年12月にも数次にわたり、試験水温とその管理状況に関する具体的な質問を当省から環境省に追加提出した。
- ✓ この試験水温とその管理状況に関する具体的な内容に関する両省専門家同士の打ち合わせを昨年末に実施したものの、依然、試験水温及びその管理状況に関する回答はいただけなかったため、これまで開示されていない試験水温データそのものの提出を環境省に求めた。
- ✓ 本年1月10日に、その試験水温に関するデータが環境省の整理紙とともに当省に提出があったため、当省専門家はこの時点で初めて、国環研のMEOGRT試験はTG240指定水温域からの定常的な水温の逸脱があったこと、F1繁殖期に停電があり水温に急激な変化があったこと、水温の測定が1回/週程度(TG240では毎日測定)であったことなどを知ることができ、その検証を開始することとなった。
(下記、「(参考)環境省から提供のあった水温測定データ及びF1繁殖期近辺の室温データ」を参照)。

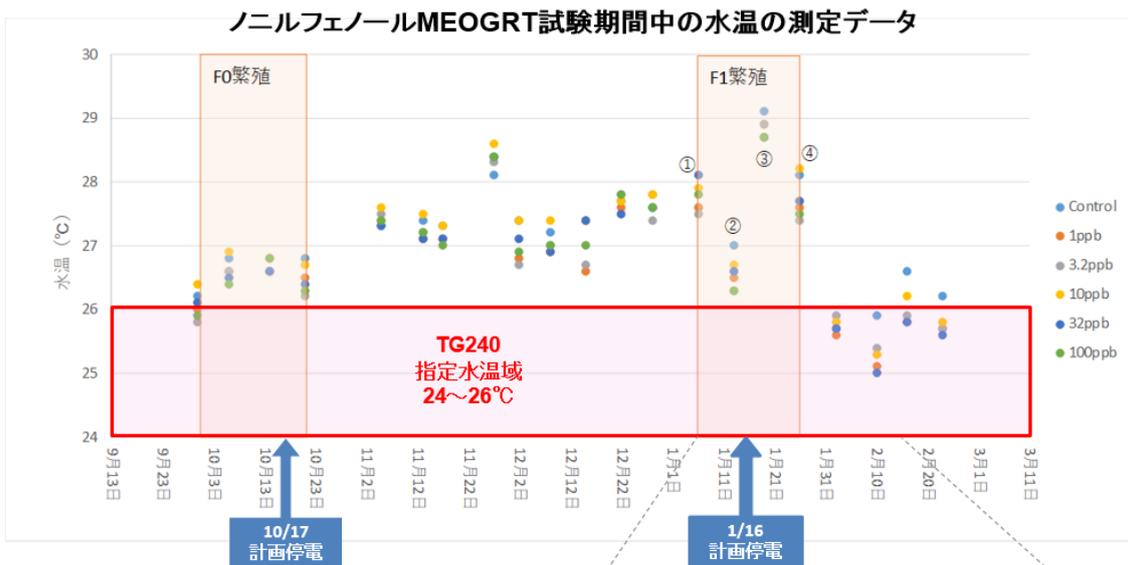
36 ✓ 本年1月18日の3省合同審議会において、環境省から平成30年3月23日審議
 37 会以降の現状報告がなされ、厚労省及び環境省専門家と経済省事務局間で質疑が
 38 あった。

39

40 **(参考)環境省から提供のあった水温測定データ及びF1繁殖期近辺の室温データ**

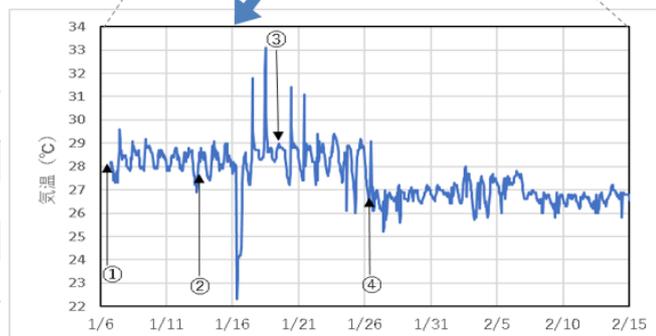
- 41 ✓ 試験水温の測定は不定期に1回/週程度(TG240では毎日測定)。
- 42 ✓ 試験水温を室温で管理(なお、室温データは下図の期間のみしかない)。
- 43 ✓ F1繁殖期までTG240指定水温域 25±1℃を定常的に逸脱。
- 44 ✓ F1繁殖期中の1/16及びF0繁殖期中の10/17の2回、計画停電があり、F1繁殖
 45 期中の停電の際は、サーキュレーターの故障(詳細不明)が原因で、水温が高くなっ
 46 ている。
- 47 ✓ また、1/16は室温が22~24℃まで下がった時間があり、1/17、18、20、21には室温
 48 が30℃を超えていた時間があった。
- 49 ✓ 11/22~12/2の間に原因不明の高水温あり。

50



F1繁殖計測中の水温(°C)

繁殖期間	平均	最小-最大
①1/6:開始前日	27.8	27.5-28.1
②1/13:7日目(1週目の最後)	26.8	26.3-27.0
③1/21:13日目(2週目終了前日)	28.8	28.7-29.1
④1/26:20日目(3週目終了前日)	27.8	27.4-28.2



試験を実施した部屋の室温の測定データ(1/6~2/15)

※環境省からの1月10日提供資料より作成。

51

52

53 2. OECD TG240¹及び国環研報告書²の記載事項の整理など

54 (1) OECD TG240

55 ① OECD TG240 水温関連部分等の抜粋

56 ・試験有効性基準

TEST VALIDITY CRITERIA

8. The following criteria for test validity apply:

- The dissolved oxygen concentration should be $\geq 60\%$ of air saturation value throughout the test;
- The mean water temperature over the entire duration of the study should be between 24 and 26°C. Brief excursions from the mean by individual aquaria should not be more than 2°C.
(仮訳)平均水温は試験期間中を通して24～26°Cとします。個々の水槽の平均水温からの逸脱は短期間であったとしても2°Cを超えてはなりません。
- The mean fecundity of controls in each of the generations (F0 and F1) should be greater than 20 eggs per pair per day. Fertility of all the eggs produced during the assessment should be greater than 80%. In addition, 16 of the recommended 24 control breeding pairs ($> 65\%$) should produce greater than 20 eggs per pair per day;
- Hatchability of eggs should be $\geq 80\%$ (average) in the controls (in each of the F1 and F2 generations);
- Survival after hatching until 3 wpf and from 3 wpf through termination for the generation F1 (i.e. 15 wpf) should be $\geq 80\%$ (average) and $\geq 90\%$ (average), respectively in the controls (F1);
- Evidence should be available to demonstrate that the concentrations of the test chemical in solution have been satisfactorily maintained within $\pm 20\%$ of the mean measured values.

Regarding water temperature, while not a validity criterion, replicates within a treatment should not be statistically different from each other, and treatment groups within the test should not be statistically different from each other (based on daily temperature measurements, and excluding brief excursions).

(仮訳)水温に関しては、妥当性の基準ではありませんが、同一処理区内および処理グループ間で互いに統計的に異なるべきではありません(こうした統計処理は毎日の水温測定に基づき行い、短期間の逸脱を除きます)。

57

58 ・試験器具一式

DESCRIPTION OF THE METHOD

Apparatus

11. Normal laboratory equipment and especially the following:

¹ OECD TG240(OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS Medaka Extended One Generation Reproduction Test (MEOGRT), Adopted: 28 July 2015

² 平成 27 年度化学物質の内分泌かく乱作用に関する試験法開発に係る業務報告書(改訂版), 平成 28 年 3 月国立研究法人 国立環境研究所

- (a) oxygen and pH meters;
- (b) equipment for determination of water hardness and alkalinity;
- (c) adequate apparatus for temperature control and preferably continuous monitoring;
- (d) tanks made of chemically inert material and of a suitable capacity in relation to the recommended loading and stocking density (see Annex 3);
- (e) suitably accurate balance (i.e. accurate to ± 0.5 mg).

59

60 ・試験生物

Test animals

Selection and holding of fish

16. The test species is Japanese medaka *Oryzias latipes* because of its short life-cycle and the possibility to determine genetic sex. (中略)

61

62 ・暴露環境

PROCEDURE

Conditions of exposure

28. During the test, dissolved oxygen, pH, and temperature should be measured in at least one test vessel of each treatment group and the control. As a minimum, these measurements, except temperature, should be made once a week through the exposure period. The mean water temperature over the entire duration of the study should be between 24 and 26°C throughout the test. Temperature should be measured every day throughout the exposure period. The pH of the water should be within the range 6.5 to 8.5, but during a given test it should be within a range of ± 0.5 pH units. Replicates within a treatment should not be statistically different from each other, and treatment groups within the test should not be statistically different from each other (based on daily temperature measurements, and excluding brief excursions).

63

64 ・試験報告書に記載すべき試験環境

Test report

59. The test report should include the following:

Test conditions:

(中略)

- Water quality within test vessels, pH, temperature (daily) and dissolved oxygen concentration;

(中略)

65

66

67

68 **②OECD TG240 制定にかかる OECD VMG-eco 等における議論経緯**

69 TG240 承認に関わる OECD コメントラウンドでは、2011 年に開催された VMG-eco
70 (Validation Management Group for ecotoxicity testing: 生態毒性試験検証管理グループ会合)
71 8、2013 年に開催された VMG-eco 9、2014 年に開催された VMG-eco 10、2015 年に開催され
72 た WNT (Working group of National co-ordinators of the Test guidelines programme) 27 におい
73 て、TG240 の水温及び影響等に関して検討された。その議論経緯の概要は以下のとおり (参
74 加国等のコメントの詳細は【別紙 1 (委員限り)】参照)。

75

76 **<水温について>**

77 ▶ 試験成立条件で提案された水温 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ に対しては、「試験区間で異なる水温で試験が行われ
78 った場合、 $23\sim 24^{\circ}\text{C}$ 、 $26\sim 27^{\circ}\text{C}$ のような温度差は試験結果に影響をもたらす」との指摘か
79 ら、「1 回の測定時に複数回の測定間で 2°C を超えて変動しないようにし、各試験区の平均
80 測定温度は 1°C 未満の差でなければならない」と提案され、「 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ の推奨温度範囲を提
81 案、個々の水槽の平均値からの短期間の逸脱は、 2°C を超えてはならない」とのコメント
82 もされた。

83 ▶ また、「 27°C は高すぎで 24°C は低すぎる。発達速度を上げ試験短縮を図るために試験温度
84 を可能な限り高くする要望はあるが、高すぎる温度は適切な発達にとって弊害をもたら
85 す」とのコメントがあった。

86 ▶ 最終的な水温に係る試験成立条件は、 $24\sim 26^{\circ}\text{C}$ となっており、 27°C は除かれた。

87

88 **<水温測定の頻度について>**

89 ▶ 水温の測定頻度、試験結果の信頼性に関しては、TG240 案について「1 週間に 1 回測定す
90 るのでは十分ではない」、「水温はすべての試験水槽で測定する必要があり、すべてのパラ
91 メータの測定は、すべての試験水槽が類似していることを保証するため、レプリケート間
92 において交互に行われるべきである」など、水温測定は頻繁に行う必要性が示されている。

93 ▶ また、「試験水槽間と日間の水温には上限・下限があり、各試験区につき 1 水槽で 1 週間
94 に 1 回の測定だけでは、水温の厳格な規定 (例えば、 $\pm 1^{\circ}\text{C}$) を制御するのは難しい」こ
95 と、「実際には $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ で試験間の差は 4 度になることもある (※当初の指定水温域案)。
96 成長率を正規化する唯一の方法は積算水温モデル※であり、繁殖率や魚の成長や大きさの
97 違いの理由を特定するのに役立つ。毎日の平均水温の報告と積算水温の計算も検討する」
98 ことなどが示されている。

99 ※積算水温モデル：魚貝類の産卵やふ化の適温範囲における、水温と産卵・ふ化までの日数
100 との積。

101 ▶ 試験は濃度区ごとに複数の試験容器で実施されることから、「同じ濃度区の試験容器間で
102 水温に統計学的な有意差がないこと」、また、「試験容器の水温に濃度区間で統計学的な有
103 意差がないこと」を確認するために、原則、毎日、水温測定をすることが記載された。

104

105 (2)国環研報告書

106 ①国環研報告書の試験水温に関する記載等抜粋

1.2 実施内容

承認された **OECD TG240 に基づいて MEOGRT を実施し**、試験条件の確認等を行うとともに、各エンドポイントに関するデータ等を取得する。試験物質として、SPEED'98 においてフルライフサイクル試験が実施されている 4-ノニルフェノールを用い、試験条件の違いや MEOGRT の妥当性について検討する。また、得られたデータを踏まえて、試験生物数の削減等、試験の簡素化に繋がる試験条件の変更案及びその妥当性等について検討を行う。各エンドポイントの統計学的検出力を踏まえた試験物質の有害性評価の観点等から、試験生物数を削減することの妥当性等について検討する。

107

1.3.3 試験環境及び条件など

(3) 試験条件

ばく露は、前述の **OECD TG240 に準じて、以下の条件で行った。**

・水温: $25 \pm 1^\circ\text{C}$

108

1.3.6 試験有効性基準

以下の条件が満たされたとき、この試験は有効とする。

- ・ 溶存酸素が試験期間を通じて飽和酸素濃度の60%以上であること。
- ・ **試験期間を通じた平均水温が 24°C から 26°C の間であること。各水槽の水温の平均値からのずれは 2°C 未満であること。**
- ・ 各世代 (F0およびF1) の対照区における各ペアの日平均総産卵数の平均が20以上であること。計測期間中のすべての卵の受精率が80%以上であること。推奨される24ペア中16ペア (>65%) において各ペア日平均総産卵数が20以上であること。
- ・ 各世代 (F1およびF2) の対照区におけるふ化率が80%以上であること
- ・ F1の対照区において、受精後3週目までのふ化後の生存率が平均80%以上、および受精後3週目からF1終了時 (受精後15週目) までの生存率が平均90%以上であること。
- ・ 試験期間中において被験物質濃度が測定平均値の $\pm 20\%$ 以内に十分維持されていることを示す証拠が得られていること。

109

1.4 結果

1.4.1 試験環境

表 1-3 に水温、pH、溶存酸素の試験期間中を通じた平均値と標準偏差をまとめた。試験液の平均水温は $26.9 \sim 27.2^\circ\text{C}$ の範囲であり、**試験有効性基準の $24 \sim 26^\circ\text{C}$ を約 1°C 上回っていたが、各水槽の水温の平均値からの変動は 2°C 未満であった。** pH の最小値は 7.3、最大値は 8.7 で、

各濃度区で平均値±0.5 程度変動していた。溶存酸素飽和度は全ての試験区において飽和酸素濃度の 60%以上であった。

表 1-3 試験期間中の平均水温、pH、溶存酸素

設定濃度 ($\mu\text{g/L}$)	水温($^{\circ}\text{C}$)	pH	溶存酸素(mg/L)(飽和度%)
Control	27.1 \pm 0.80	7.96 \pm 0.38	7.92 (100%) \pm 0.33
1	26.9 \pm 0.94	7.97 \pm 0.34	7.89 (99.0%) \pm 0.30
3.2	26.9 \pm 0.90	7.95 \pm 0.33	7.89 (99.0%) \pm 0.30
10	27.1 \pm 0.91	7.93 \pm 0.31	7.83 (98.8%) \pm 0.33
32	26.9 \pm 0.95	7.91 \pm 0.31	7.85 (98.6%) \pm 0.31
100	27.2 \pm 0.75	7.82 \pm 0.27	7.72 (97.5%) \pm 0.21

110

111 (参考)昨年 3 月審議会前の経済省と環境省の試験水温に関するやりとり(H30.3.23 審議会資料として公開)

<p>(経済省の H30.2/27 質問)</p> <p>TG240 が定義する水温の有効性基準は 24~26$^{\circ}\text{C}$であるが、この範囲を逸脱し、試験区によっては最大で約3$^{\circ}\text{C}$も上昇している。この逸脱した温度上昇により、化合物の取り込みが促進され、毒性への影響の可能性がある。また、遺伝的メス(XX)の表現型のオス化が促進される可能性がある。何故に、このような温度設定になったのかの説明を記載する必要がある。</p>	<p>(環境省の H30. 3/5 回答)</p> <p>試験期間中の平均水温は各試験区において 26.9~27.1$^{\circ}\text{C}$であり、試験法記載の 24~26$^{\circ}\text{C}$の範囲から約 1$^{\circ}\text{C}$高くなっていますが、平均からの変動は±2$^{\circ}\text{C}$以内に抑えられており条件の 1 つを満たしていました。各週の測定値は、水温の上限範囲である 26±2$^{\circ}\text{C}$の幅にほぼ入っていましたが、F1 孵化後の 4 週目と 11 週目の測定値が 0.1~0.9$^{\circ}\text{C}$ほど範囲を超えていました。温度上昇に伴う化学物質の取り込み、代謝、排泄量の変化、および影響の増加または低減に影響を与えた可能性は否定できませんが、どの程度全体の結果に影響を与えたかは不明です。化審法の審査では、一時的な温度の変化については軽微な影響として取り扱っています。</p>
--	--

112

113 ※【別紙2】化審法における優先評価化学物質に関するリスク評価の技術ガイダンス Ⅲ. 生態影響に

114 関する有害性評価 Ver. 1.0 抜粋

115

116 3. 経済産業省専門家の論点

117 (1)水温と魚類毒性の関係について(水温の重要性) ※詳細は【別紙3】参照。

118 ①変温動物である魚類における水温の重要性

- 119 ✓ 水温が魚類の生理機能に影響を与えることから、同様に魚類に対する化学物質影響も水
120 温の影響を受けると考えられている。それは、化学物質の代謝(解毒)、化学物質の生物
121 利用可能性(水溶解度など)、トキシコキネティクス(取り込み、分布、代謝、排泄)、化学
122 物質-受容体の結合性など様々な要因が、水温影響を受けると考えられるからである。
123 更に、水温が化学物質の魚毒性に影響を示すことを示す報告がある。

124

125 ②魚類毒性と水温の関係

- 126 ✓ 水温と化学物質の魚類毒性の関係は、農薬について西内(1997年)、Mayerら(1986
127 年)、無機化学物質を含む様々な化学物質について辻ら(1986年)によって調べられて
128 いる。83.2%の農薬および75.3%の様々な化学物質において、水温が上昇すると魚類毒
129 性が強く現れていた。

130

131 (2)国環研 MEOGRT 試験結果による PNEC 値について

132 ①メダカの最適温度について

- 133 ✓ 本試験の水温の妥当性の根拠として環境省様から26~28℃がメダカの繁殖の適温
134 と主張しその根拠として岩松鷹司先生の新版メダカ学全書(2006年)を引用しているが、
135 正確には25~28℃である。何故に25℃を26℃に変更されているかは不明。この温度は
136 飢餓状態のような劣悪な環境条件でのメダカでも十分な栄養と同温度にすると産卵する
137 と述べているだけで、通常の栄養状態のメダカの繁殖の最適な温度とは説明されていな
138 い。事実、同先生は全訂増補版メダカ学全書(2018年)では通常メダカの繁殖・産卵の最
139 適温度は25~26℃であると報告している。
- 140 ✓ 岩松先生が著者の一人であるNPのメダカ3世代試験の報告書(2004年)では、試験水
141 温は25℃であり、繁殖のために水温を上げることはしていない。
- 142 ✓ メダカを繁殖・販売している業者が日本に多数存在するが、彼らのWebsiteにはメダカの
143 繁殖方法が記載されおり、最も販売量の多いと推定される“めだか本舗”のサイトには、産
144 卵の適温は25℃とある。またその他の多くの販売会社の説明でも、産卵の温度はほとん
145 どが25℃を推奨している。
- 146 ✓ USEPAが出しているMMT(Medaka Multigeneration Test)及びMEOGRT試験の
147 Validation report(MMT ISR final)で、USEPAと環境省が水温について議論し、①これま
148 でのメダカを用いた生態毒性試験での温度範囲との整合性、②繁殖性の最適温度、③
149 XXmale出現を最小限に抑えるといった点を総合的に考察し、25℃±0.5℃が適切である
150 との結論を得ている。さらに、追加試験も行って25℃±1℃を指定水温域に決定してい
151 る。

- 152 ✓ そのような決定経緯から考えても、繁殖目的で水温を上げる必要はないと考えるし、その
153 点については当時、環境省も合意済みと認識している。
- 154 ✓ 以上より、26～28℃で試験を実施する必要はなく、ガイドライン通り 25℃前後が適温と考
155 える。

156

157 ②試験の水温状況

158 i 水温データが不足している（週 1 回期日不規則測定）

- 159 ✓ TG240 は、内分泌攪乱化学物質の疑いのあるものを含む化学物質の生態学的危害
160 およびリスクアセスメントに関連するデータを与えるために、複数世代にわたって暴露さ
161 れた魚に基づく包括的な試験である。TG240 を作成するに当たり、温度管理について
162 は世界各国の専門家による議論がなされた。結果、毎日の水温測定は必須となった経
163 緯がある。

164 【参考】日々の水温測定が重要であることを示唆する Germany コメント

165 「No.88 Germany

166 One measurement per week is not enough.

167 There is a limit given for water temperature (+/- 2° C between tanks and days).

168 With only one measurement per week in only one vessel per treatment, this is
169 hard to control and will not stand any discussion.]

- 170 ✓ 水温に係る試験有効性基準に、試験期間中の平均水温が24～26℃であることに加えて、
171 短期間の水温の逸脱が2℃を超えないことというものがあるが、週 1 回程度の水温
172 測定なので、例えば数日間の水温の逸脱をとらまえられる。試験有効性基準の客観
173 的な確認のために、本 TG では試験方法で毎日の水温測定が求められている。
- 174 ✓ しかし、毎日の水温は測定されていないためデータが不足している。
- 175 ✓ 具体的には、今回判断に使えるデータは、室温が安定しない実験室での週 1 回の期
176 日不規則測定でのデータのみであり、その中の 11 月 22 日頃の水温に、理由がわから
177 ない高温が記録されていることから、記録されていない水温についても逸脱があった可
178 能性は否定できず、水温の全体像を把握するにはデータが不足していると考える。
- 179 ✓ また、日々の試験群間、試験群内での温度差は規定により統計的有意差がないことを
180 確認することとなっているが、それも確認できておらず、水温データが不足していると考
181 える。

182

183 ii 水温は室温で管理されており、その室温データも不足している

- 184 ✓ データが保存されていないなどの理由から、室温のデータなどは全期間(9月30日～
185 2月10日:134日)のうちのわずか30%に相当する41日分(1月6日～2月15日)し
186 かいただけではない。
- 187 ✓ また、試験期間中に2回の停電(10月と1月)と、2回目はそれに伴うオーバーヒートが
188 あり、その時期と重なるF1繁殖期に少なくとも4回室温が30℃を超えている。その原因

189 はサーキュレーター故障とのことであるが、詳細は不明であり、停電・オーバーヒート
190 以外の原因で高温になった時期があった可能性も否定できない。現に、11月22日頃
191 の水温に、理由がわからない高温が記録されている。

192

193 iii 平均水温について

194 ✓ F1 繁殖期後に水温が下げられており、今回のエンドポイントが F1 の産卵数であるた
195 め、その時期までの平均水温が影響を及ぼしていると考えられるが、それは試験全期
196 間の平均水温より高くなる。

197

198 iv まとめ

199 ✓ 本試験は上記のような事情があったことから、記録されていない日の水温についても
200 逸脱があった可能性は否定できず、週 1 回程度の水温測定では、水温の全体像が判
201 明したとは言えず、実際の水温は、ガイドライン指定の平均水温域よりも1~2°Cの上昇
202 であったとは言えない。

203 ✓ また、判明している水温から推測すると、F1 の繁殖期までの平均水温は試験全期間の
204 平均水温より高くなるため、試験全期間の平均水温以上の影響を受けていると推測す
205 る。

206

207 ③最適温度からの逸脱許容程度

208 i 許容されているのは一時的な逸脱

209 ✓ Brief excursion の brief は短期間を意味する。TG において逸脱が認められているのは
210 一時的な期間であり、常時 2°C 以内の逸脱や、平均水温の逸脱が 2°C 以内であればい
211 いということではないと解釈すべき。もし常時 2°C 以内の逸脱を認めると解釈すると、試験
212 水温は 22°C~28°C と広域となり、水温に関する各国間での議論結果と反することとなる。

213 ✓ なぜなら、TG240 の Validity Criteria の記述「Brief excursions from the mean by
214 individual aquaria should not be more than 2° C.」と、後半に水温に関して追記されてい
215 る記述「(based on daily temperature measurements, and excluding brief excursions). (若
216 干の逸脱を除いて、毎日測定した水温に基づき)」を併せ読むと、本試験は毎日水温測
217 定することが前提であり、その中で水温が逸脱した日があればその水温は除いていい、
218 ただし、若干の日数に限ると読むのが自然であるからである。

219 ✓ なお、MEOGRT 試験の素過程を規定する 3 種の OECD ガイドライン (TG229、TG234、
220 TG236) の変動可能温度幅は 2°C で TG240 と同じである。しかし、逸脱の許容条項はなく
221 TG240 にのみ定められているもの。MEOGRT 試験は長期試験なので、逸脱事故が起き
222 る可能性があるため、そのような際に一時的な逸脱であれば許容する条項がつけられて
223 いると推測できる。

224

225 ii 本試験の逸脱の程度

- 226 ✓ 本試験は、水温の全体像が判明したとは言えず、実際の水温は、環境省様が主張する1
227 ~2°Cの上昇であったとは考えていない。
- 228 ✓ 魚類は変温動物であり、温度管理は哺乳類などの恒温動物と比べて変化による影響が
229 大きく、仮に数°Cの上昇であっても、微小な変化とは言えない。
- 230 ✓ また、仮に数°Cの上昇であっても、試験期間の温度差の総和・蓄積は大きくなり、影響の
231 可能性が高いと考える。
- 232 ✓ また、開示された限定的なデータから推測するとF1の繁殖期までの平均水温は試験全
233 期間の平均水温より高くなるため、試験全期間の平均水温以上の影響を受けていると考
234 える。
- 235 ✓ 「長期試験で失敗したくない、産卵を確実にしたいため、26もしくは27度前後に調整して
236 行った」との発言もしくは説明があったが、水温は開示された限定的なデータから推測す
237 ると試験開始後から一定せず、徐々に上昇しF1繁殖期前までは、水温は27度前後で、
238 F1繁殖期は28°C前後で推移しているようにグラフから見える。当初からTG240の水温
239 域内での試験の意思はなく、試験設計の段階から逸脱しているのであれば、若干な逸脱
240 とは言えない。

241

242 ④水温と毒性値の関係を加味した水温逸脱の試験結果への影響の大きさ

243 i 水温と毒性の一般的な関係

- 244 ✓ 1970年代より、水温と魚毒(主に農薬)の関係が良く研究され、多くの化合物は水温が上
245 昇すれば毒性が強くなることが知られている。一部の化合物は逆の方向を示すものがあ
246 るが、限定的である。若林等の論文では、「温度上昇により毒性が上昇するのは、溶存酸
247 素が低下し呼吸速度が増加するため、鰓からの呼吸量が増大し、その結果、化合物の吸
248 収量が増加するためと考えられ、ほとんどの化合物において、温度が10°C上がるとLC50
249 は2~4倍変わる。」と報告されている。これはQ10理論に従うためとされている。

250 【参考】Q10理論

251 魚の代謝機能は温度が10°C上昇すると通常2倍になるとの理論。通常、冷血動物で
252 はQ10理論が成り立つといわれている。

253 ↑温度上昇に伴い急性毒性が強くなる理由

254 【参考】呼吸速度=1400*体重^{0.65}/溶存酸素濃度

- 255 ✓ また、最近も、水温上昇により物質の毒性が増強されるという報告がいくつか発表されて
256 いる。
- 257 ✓ これは、多数の農薬等のデータを俯瞰した、上記3.(1)で説明のあった参考資料(資料1
258 -3-2別紙3)からも読み取れる。

259

260 ii NPの毒性と水温の関係

- 261 ✓ 血液学的検査により、NPは慢性的・急性的にも魚に強い貧血を惹起することが判明して
262 いる。

- 263 ✓ 貧血の理由として、NPはリン脂質に高い親和性を示すことから、赤血球へ直接作用して
264 膜の安定性を欠き溶血を促進する、もしくはNPが浸透圧を変化させることと考えられて
265 いる。
- 266 ✓ 水温の上昇に伴い溶存酸素が低下し、呼吸速度が増加するため、鰓からの呼吸量が増
267 大し、その結果、NPの吸収量も増大する。その結果、一般毒性としての貧血が増強する
268 可能性が高いと推察する。この貧血作用により、各組織への酸素運搬能力を欠いている
269 ことが考えられ、それは繁殖性にも影響を与える可能性が高い。
- 270 ✓ また、異なる温度(20℃と30℃)条件下で、NPによるゼブラフィッシュでのビテロジェニン
271 の遺伝子発現を比べると、温度が高い方が1.5～2.5倍遺伝子発現が増え、温度により
272 エストロゲン様活性が高まったと報告されている。
- 273 ✓ さらに、他のエンドクリン物質では、成長段階の異なるメダカを用いて温度を変えてビテロ
274 ジェニンの遺伝子発現誘導を調べたところ、温度上昇とともに、また幼若段階で発現誘導
275 を増強されることが判明した。
- 276 ✓ このように、NPを含むエストロゲン様作用を保有している化合物は水温の上昇とともにエ
277 ストロゲン様活性が上昇することが示唆される複数の報告があり、ビテロジェニンと同様にエ
278 ストロゲン応答遺伝子の転写活性が増大している可能性が高い。
- 279 ✓ 以上より、温度上昇により一般毒性とエストロゲン活性が上昇する可能性が高いと考え、
280 それは繁殖性にも影響を与えると考える

281

282 iii NP 毒性と本試験のエンドポイントとの関係

- 283 ✓ 本試験では種々の毒性項目(エンドポイント)で測定されているが、そのうちの、二次性
284 徴、生殖腺形態・精巣卵はエストロゲン様活性に関連していると推測する。
- 285 ✓ 死亡を含めてその他のエンドポイントは一般毒性(貧血)とエストロゲン作用の両方が寄与
286 している可能性があるという推測する。
- 287 ✓ 産卵数は一般毒性とエストロゲン作用両方の温度変化による影響を確認する必要がある
288 と考える。

289

290 ⑤まとめ

- 291 ✓ 要約すると、
- 292 ✓ ①ガイドライン制定の経緯などからみても、本試験では水温の管理が非常に重要である。
293 ②本試験では停電が2回、原因不明の水温の上昇等があるが、週1回程度の水温測定
294 であるために、水温の全体像が不明である。
- 295 ✓ ③そのために日々の群間比較、群内比較もできず、実際の平均水温も不明であると言わ
296 ざるを得ない。
- 297 ✓ ④開示された限定的(1日/7日、14%)な水温データから判断しても、メダカの最適温
298 度、briefの意味などを考慮すると今回の温度の逸脱は許容できない程度である。

- 299 ✓ ⑤NP の両毒性(一般毒性とエストロゲン様作用)は水温の変化で毒性値は変化する可能
300 性が高いと考えられる
- 301 ✓ 以上より、実際の水温の全体像が不明で、開示された限定的なデータから判断しても逸
302 脱は許容できない程度なので、本データを定量的リスク評価のための PNEC 値として採
303 用することはできないと判断する。

304

305 4. 結論

- 306 ✓ ①ガイドライン制定の経緯などからみても、本試験では水温の管理が非常に重要であるこ
307 と、②本試験では水温の全体像が不明で、そのために実際の平均水温も不明であると言
308 わざるを得ないこと、③メダカの最適温度、brief の意味などを考慮すると今回の温度の逸
309 脱は許容できない程度であること、④NP の両毒性(一般毒性とエストロゲン作用)は水温
310 の変化により毒性値は変化する可能性が高いと考えられることから、NP による一般毒性、
311 エストロゲン様作用があることを否定するものではないが、本データを定量的リスク評価の
312 ための PNEC 値として採用することはできないと判断する。
- 313 ✓ なぜなら、リスク評価で有害性評価値として採用される PNEC 値の決定は二特指定の際
314 の規制値になる可能性が高いことを踏まえ、安全サイドにたてばよいということではなく、
315 可能な限り正確なデータを用いて評価すべきと考えているからであり、本試験のデータを
316 採用できると判断するのであれば、その判断の根拠、理由を示すべき。

317

318

319

以 上