

MEOGRT 試験における TG240 からの逸脱と NOEC への影響について

「生態影響に係る有害性情報の詳細資料」（資料 1-3-1）においてキーデータとされた Watanabe らの MEOGRT 試験は TG240 に準拠して実施されたもののいくつかの逸脱事項があった。これらの逸脱の内容と NOEC への影響についての有害性評価における考え方を整理した。

TG240 からの逸脱事項：

- (1) 水温測定がおおむね週 1 回（TG では原則、毎日）
- (2) 水温が平均 $27.1 \pm 0.8^{\circ}\text{C}$ （TG では試験期間を通じた平均水温が $24 \sim 26^{\circ}\text{C}$ 、各水槽の逸脱は短期間で平均水温から 2°C 以内）
- (3) 59 日目（F0 繁殖期と F1 繁殖期の間）に溶存酸素濃度が一時的に低下（TG では全期間、飽和酸素濃度の 60% 以上）

[試験水温について]

国環研が実施した MEOGRT 試験では、OECD TG240 で定める試験水温を超える水温が測定されている。また、OECD TG240 では水温の測定は、原則、毎日行うこととしているものの測定はおおむね週に一度の実施であった（参考 1）。

同試験で用いた試験水は、別室に設置した調温槽（1000L、 $25 \sim 26^{\circ}\text{C}$ に調温、計画停電※¹時は $22 \sim 24^{\circ}\text{C}$ に低下）から常時給水し、最終的に、試験を実施した部屋の室温（以下「室温」という。）によって水温の管理を行っていた。このため、試験水温は、給水される水の温度と室温の間に収まっていたものと考えられる。また室温の変動に対する水温の応答は緩やかであると考えられる。室温については、F1 繁殖計測期間の 1 時間ごとの連続測定データ（参考 2。以下「室温データ」という。）によれば、F1 繁殖計測期間（1/7～1/27）はおおむね $27 \sim 29^{\circ}\text{C}$ の間に保たれていた※²が、1/16 は室温が $22 \sim 24^{\circ}\text{C}$ まで下がった時間があり※³、1/17、18、20、21 には室温が 30°C を超えていた時間があった※⁴。なお、10/17 の計画停電時の室温データの記録はないが、1/16 の室温と変動幅は同程度またはそれ以下と推察される。

上記の情報を踏まえ、MEOGRT 試験の OECD TG240 からの逸脱とそれによる影響を検討した。

※ 1 計画停電の詳細は以下のとおり。

- ・計画停電：平成 27 年 10 月 17 日 9:00-17:00、平成 28 年 1 月 16 日 9:00-16:30
（MEOGRT の実施期間：平成 27 年 9 月 30 日～平成 28 年 2 月 10 日）
- ・計画停電により停止した機器：
 - 3F に設置された調温槽（1000L）の温度調整ヒーター及びクーラー
 - 供給水の水温測定ロガー（1F で測定）
 - 1F 試験室の試験水槽下部に設置された 250L 貯水タンクから試験水槽上部の濃度調整ビーカー（1L）への揚水ポンプ

- 濃度調整ビーカー（1L）への薬物投入ポンプ
- 試験室の空調
- ・計画停電による影響：
 - 室温の低下、再通電後の室温のオーバーヒート
 - 3F 調温槽中の供給水の水温の低下（26℃→22～24℃）
 - 1F 揚水ポンプの停止による濃度調整後の水槽（30L）の水位低下による試験水槽への注水速度の低下（換水率の低下） ※ただし止水状態になった期間はない
- ※ 2 OECD TG240 で定める水温は 25℃±1℃とされている。
- ※ 3 1/16 に実験施設全体の計画停電（9:00～15:00 の 6 時間）が実施されたことが原因。1/16 に 24 回計測したうち 22～23℃が 1 回、23～24℃が 1 回。
- ※ 4 1/18 は 33～34℃が 1 回、32～33℃が 2 回、30～31℃が 1 回で 24 回計測中 4 回。その他の日は 31～32℃が 24 回計測中 1 回のみ。

【論点①】 定常的な水温の逸脱について

実測された水温、供給水の水温（25～26℃）及び F1 繁殖計測期間中のおおむねの室温（27～29℃）を踏まえると、F1 繁殖計測期間中の水温はおおむね 26～28℃の間で推移し、OECD TG240 で定める水温を定常的に逸脱していたと推定される。この推定は、実測された水温（27.1±0.8℃）と整合している。

この逸脱による影響について、NP 以外の物質で実施した MEOGRT 試験（26.7±0.7℃、25.6±0.8℃）と本試験の F1 世代におけるコントロール区のペア・1 日あたりの平均総産卵数の変動を比較したところ、温度による傾向の違いは認められない（参考 3）。これを踏まえると、F1 世代において TG240 で定める水温から定常的に 1℃程度逸脱していたことは本試験の結果に大きな影響を与えていないと推察される。

【論点②】 10/17、1/16 の停電による低温について

1/16 の計画停電による空調の停止により、当日の室温は 24 回計測中 22～23℃が 1 回、23～24℃が 1 回計測された。（他の 22 回は 24～29℃の範囲内であった）。一方、試験水の循環装置は運転を続けており、タンクに貯留されていた 25～26℃の試験水が試験系に供給され続けていた。このため、TG240 に定める水温の下限 24℃からの逸脱はないか、あったとしてもその程度は大きくなく、本試験の結果に影響を与えていないと推察される。10/17 の計画停電についても、上記のとおり、1/16 の室温と変動幅は同程度またはそれ以下と推察されるため、本試験の結果に影響を与えていないと推察される。

【論点③】 1/17～1/21 の高温について

1/16 の計画停電後、室温は 1/18 に 30℃を超えたデータが 24 回計測中 4 回、1/17、1/20、1/21 は 30℃を超えたデータがそれぞれ 24 回計測中 1 回計測されている（他の 23 回は 27～30℃の範囲内であった）。

供給水温は低いものの、室温変動からは、高温側への逸脱の可能性が推定される。この逸脱による影響について、NP 以外の物質で実施した MEOGRT 試験 ($26.7 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$ 、 $25.6 \pm 0.8^{\circ}\text{C}$) と本試験 ($27.1 \pm 0.8^{\circ}\text{C}$) の F1 世代におけるコントロール区のペア・1 日あたりの平均総産卵数の変動を比較したところ、傾向の違いは認められなかった (参考 3)。このことから、この逸脱はなかったか、あったとしても本試験の結果に大きな影響を与えていないと推察される。

なお、計画停電以降の平均総産卵数及び平均受精卵数から LOEC を算出すると $2.95 \mu\text{g/L}$ 、計画停電実施前までのデータから算出すると $1.27 \mu\text{g/L}$ となり、本試験において計画停電以降に室温が高温となったことにより毒性が増強される傾向は認められない。

[溶存酸素について]

F1 世代の受精後 9 週目に、ペアリングを行うため DMY 判定を実施。DMY 判定中の個体はステンレスメッシュ付きガラス円筒を用いて同一水槽内で分けし維持していたところ、3 日後の 59 日目に一部の円筒で溶存酸素の低下が確認された。

【論点④】溶存酸素の一時的な低下について

59 日目の溶存酸素の低下後、溶存酸素が低下したもの、低下していないものからランダムに繁殖ペアが選ばれたため、酸素低下のダメージを受けたとされる個体は全試験区にランダムに分配されているが、他のペアと比べて、成長や繁殖が低い個体がみられなかった (例えば総産卵数の変動係数は、ほぼ繁殖がみられなかった $89.4 \mu\text{g/L}$ 濃度区を除くと 15~32%と小さい) ことから、酸素低下を受けた個体と受けなかった個体に差はなかったと推察される。

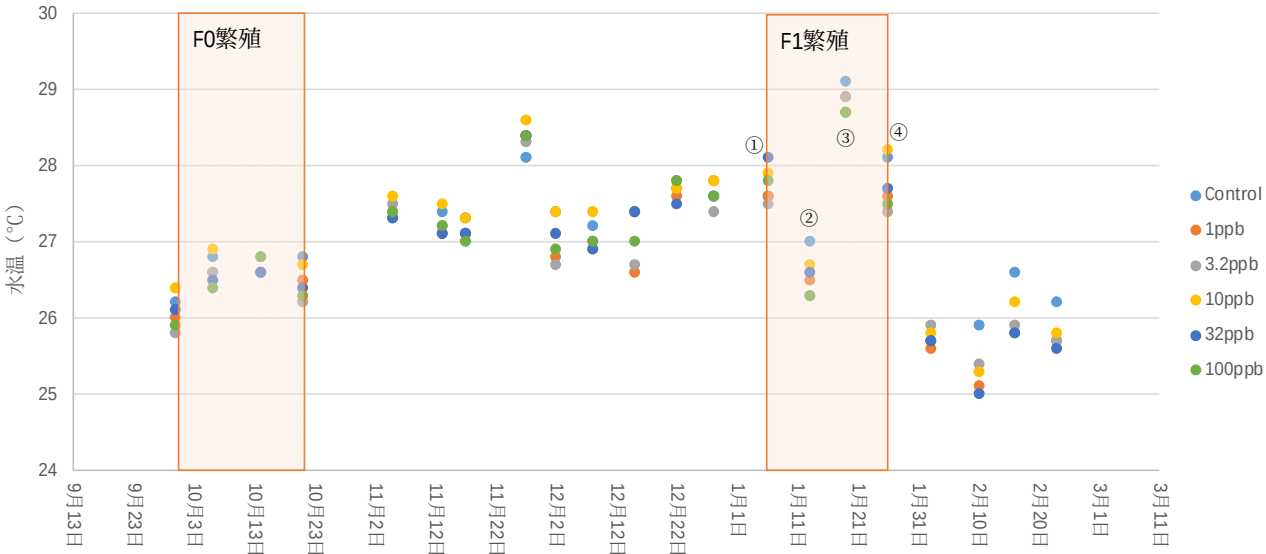
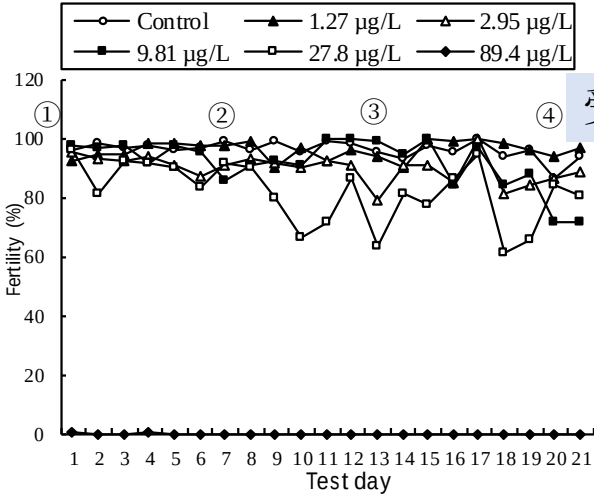
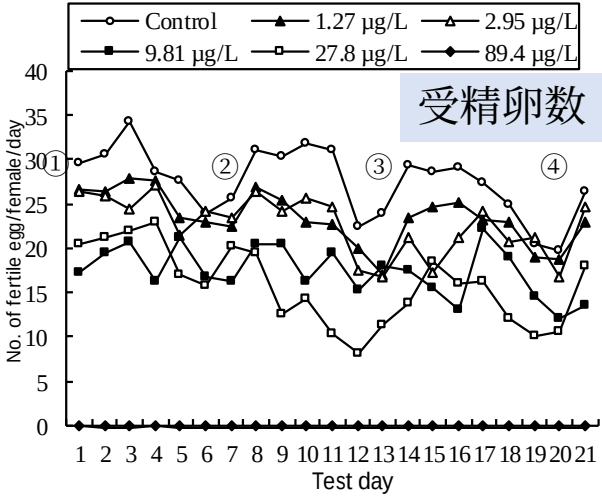
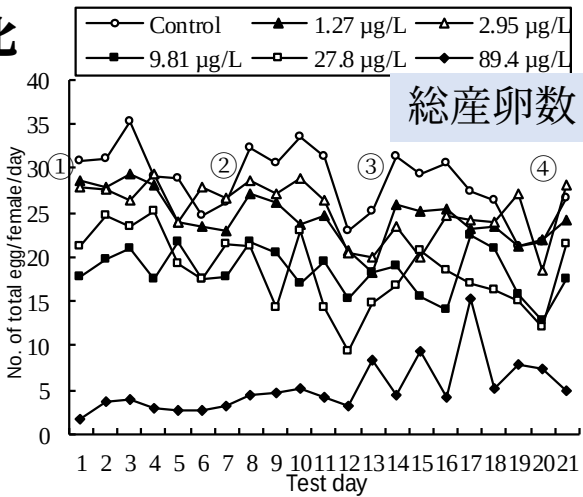
また、対照区の産卵数に F0 と F1 で異常に起因すると考えられる差が認められないため、短時間の溶存酸素低下によってそれ以降の実験に何らかの影響があったとは考えにくい。

[添付資料]

- 参考 1 ノニルフェノール MEOGRT 温度変化と F1 繁殖への影響
- 参考 2 試験を実施した部屋の室温の測定データ
- 参考 3 NP 以外の物質で実施した MEOGRT 試験と本試験の F1 世代におけるコントロール区のペア・1 日あたりの平均総産卵数の変動の比較

(参考1) ノニルフェノールMEOGRT温度変化とF1繁殖への影響

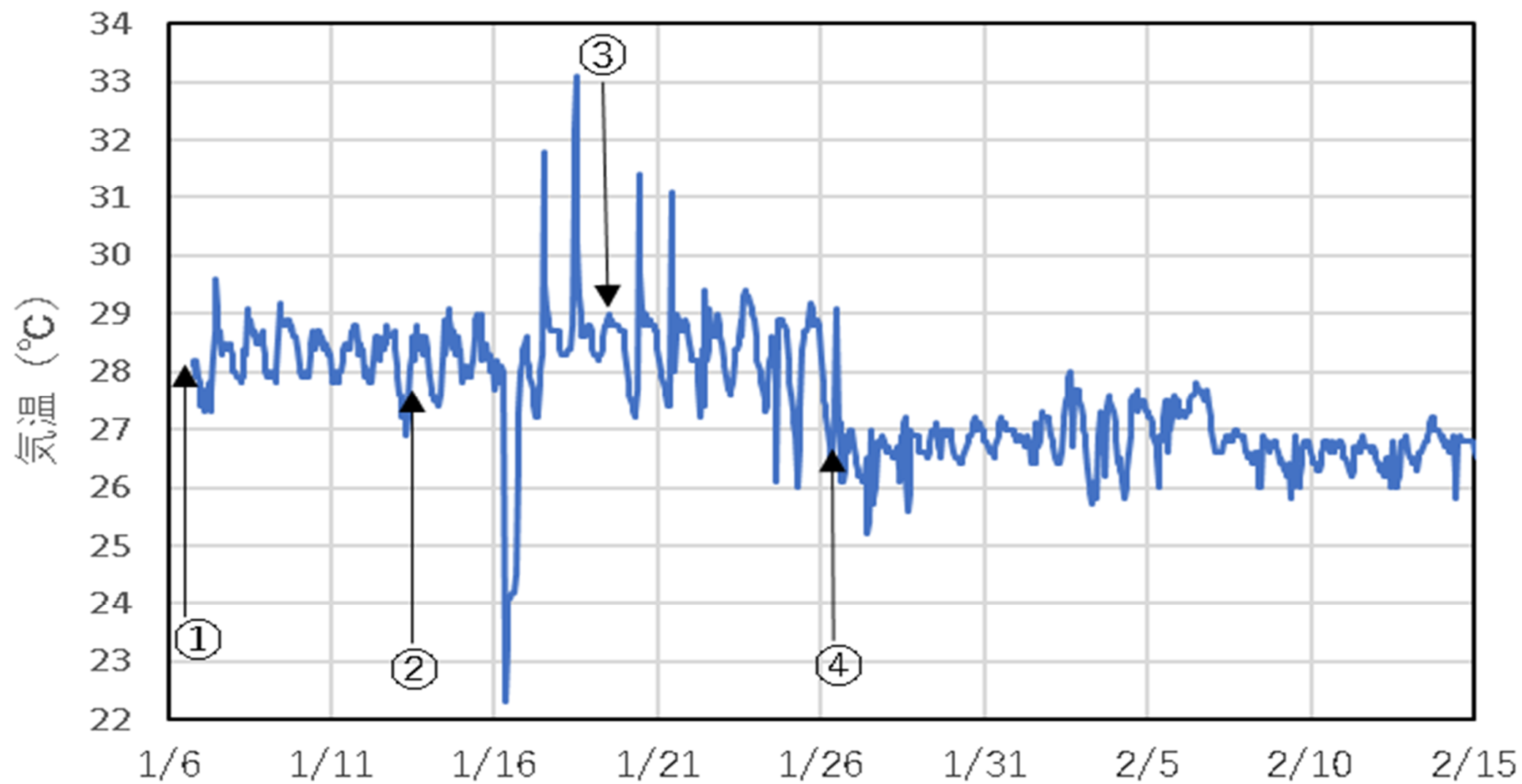
経日変化



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
③1/19：13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

(参考 2) 試験を実施した部屋の室温の測定データ



(参考3) NP以外の物質で実施したMEOGRT試験と本試験のF1世代における
コントロール区のペア・1日あたりの平均総産卵数の変動の比較

