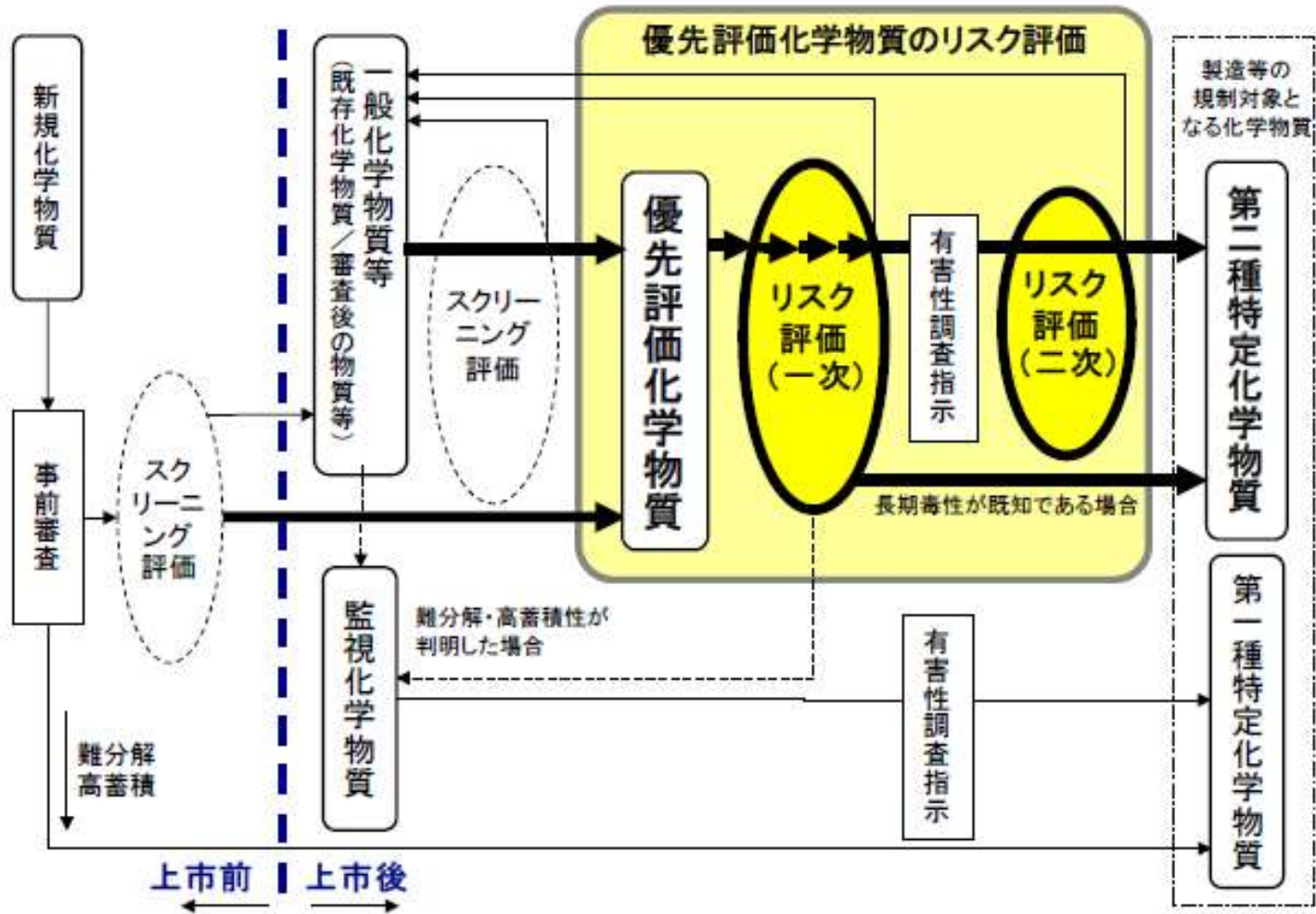


化学物質の安全管理に関するシンポジウム
化学物質のリスク評価の最新動向と今後の課題
平成26年2月21日(金)13:00~17:30
中央合同庁舎 第4号館 2階

生態リスク評価の最新動向と 今後の課題

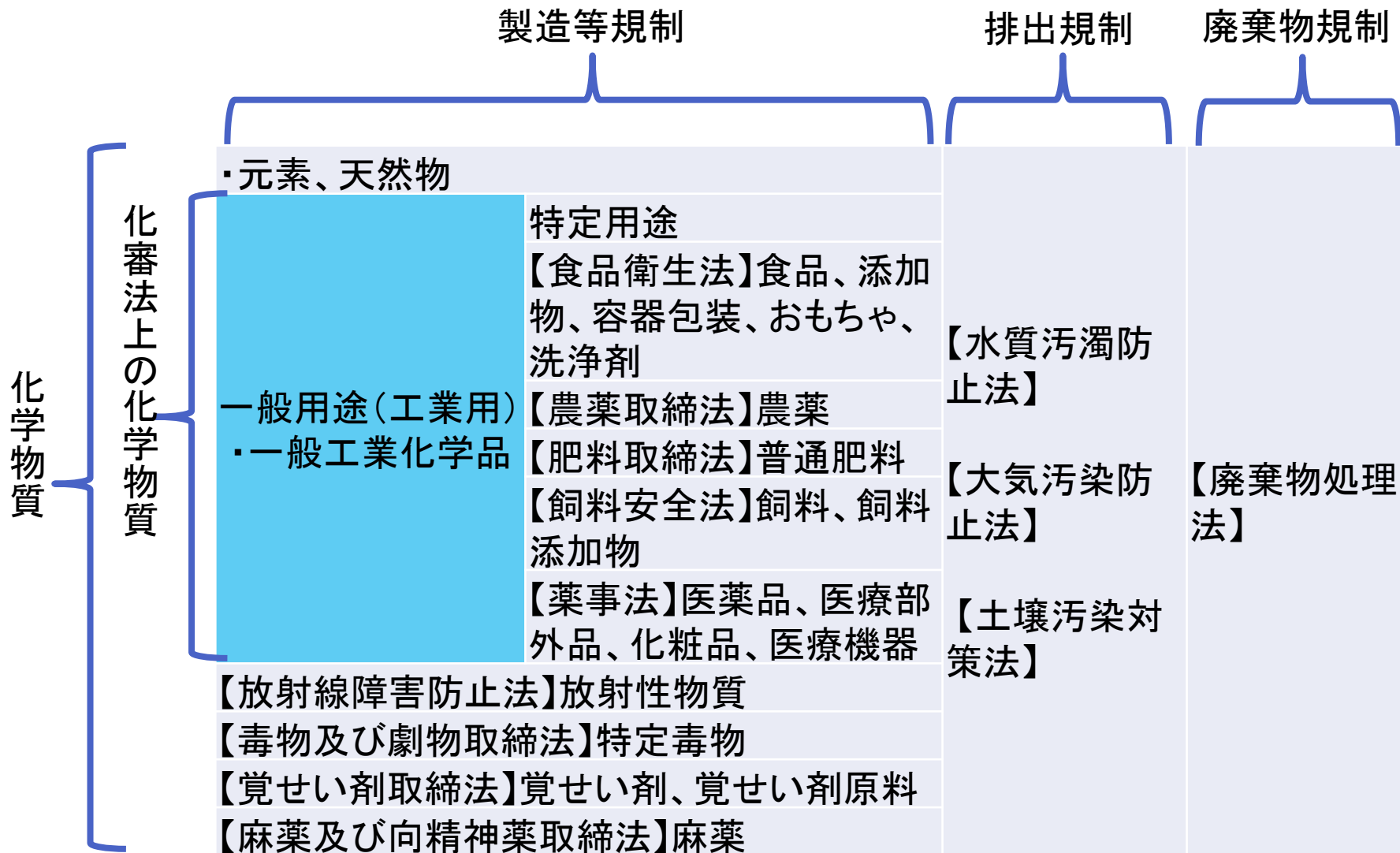
国立環境研究所
環境リスクセンター
環境リスク研究推進室
鑪迫典久

優先評価化学物質のリスク評価



化審法の枠組みにおける優先評価化学物質のリスク評価の位置づけ
(「優先評価化学物質のリスク評価手法について」より)

化審法の対象となる化学物質の範囲(逐条解説より)



初期リスク評価

暴露評価 × 有害性評価 = リスク評価

生態リスク:好ましくない生態学的事象が 発生する可能性

ステージ毎の好ましくない事象

分子レベル:遺伝子変化/劣化

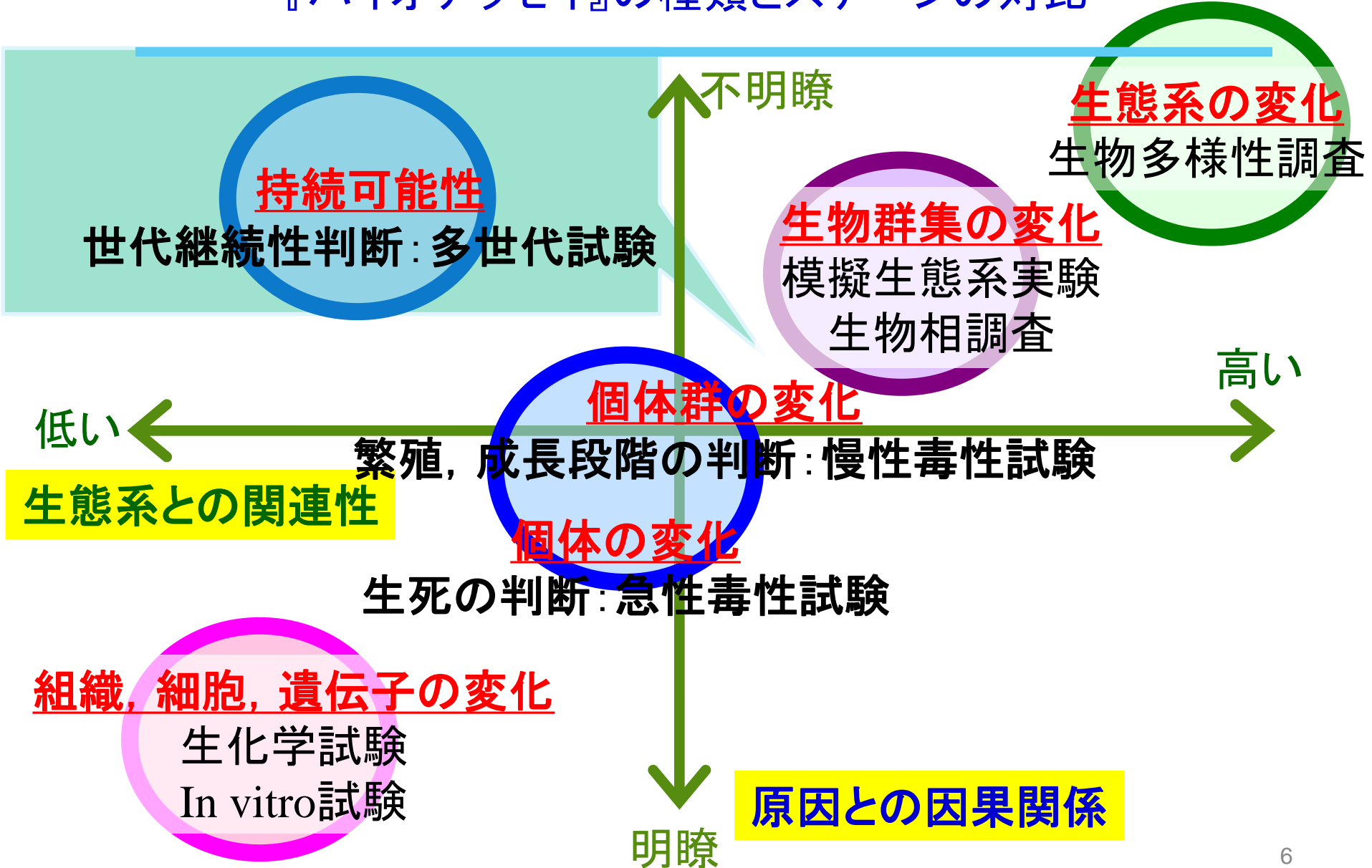
個体レベル:生存率減少、死亡、奇形

個体群レベル:個体群サイズ減少、繁殖率の減少

群集レベル:生物相変化、種多様性損失、種の絶滅

生態系レベル:生態系の悪化

環境影響評価に利用する『バイオアッセイ』の種類とステージの対比



現行の化学物質管理システムの中で、 今後の考慮すべき点

① 複数の化学物質による混合曝露について

- ① エンドオブパイプでの管理
- ② 重油などの混合物

$$\Sigma(\text{個別の毒性}) \neq \text{全体の毒性} \quad \Sigma_{N=1 \sim 20} C_n = 1048575$$

② 新たな化学物質の増加速度と規制との乖離、および 規制の有効性

- ① 環境中に存在する化学物質数と規制項目数の乖離

③ 新興化学物質の取り扱いについて

- ① ナノマテリアル
- ② 医薬品と機能性食品
- ③ 内分泌かく乱作用

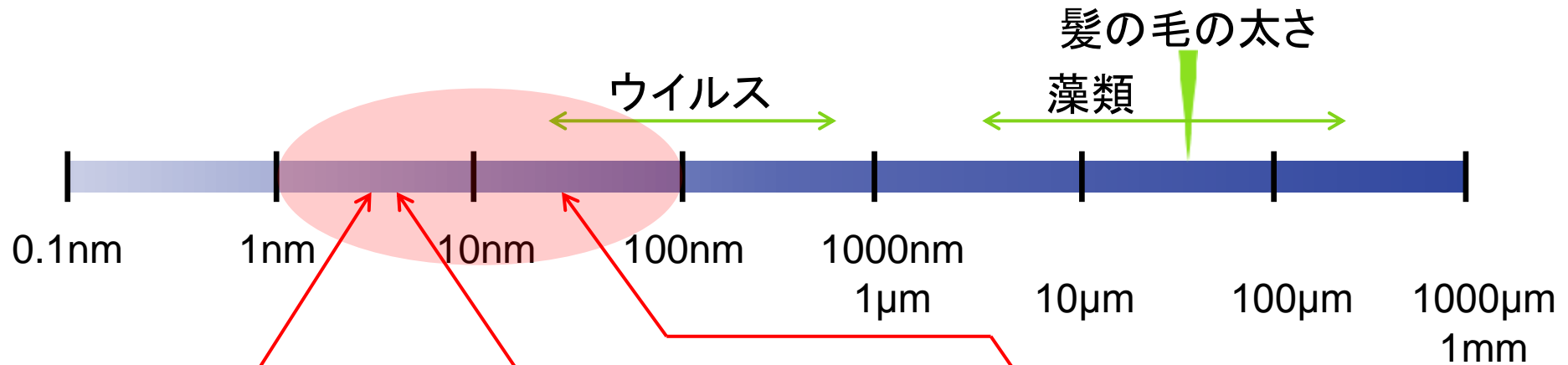
新興化学物質 (Emerging Chemicals)

環境中新興化学物質	測定法はあるか	試験法はあるか	リスク評価ができるか	留意点
ナノマテリアル	△まだ確立していない 様々な測定法、装置が提案されている。	△当面現行の試験法を使う。 試薬の調整方法のバリデーションが必要	×閾値があるか不明。 毒性値が質量換算で良いか。 エンドポイントは？	環境中には工業用ナノマテリアル以外にもナノ粒子が存在。 単独でリスク評価して良いか。
医薬品と機能性食品	○既存技術で可能、ただし標品有無、代謝物等変化物の扱いが不明	○当面一般化学物質の試験法を使用 (EMEA、FDA)	△野生生物のデータが少なく、 エンドポイントが不明。	明らかに生理活性がある。しかし生物側も多様。 複合影響大切。 ジェネリックなど。
内分泌かく乱作用	○既存技術で可能。測定下限値が厳しい	△既存の試験法は使えないので現在整備中。	△エンドポイントとハザードの関係。 多世代の必要性？	ホルモンとその作用は多種多様で、影響軸レベルでの評価も必要。

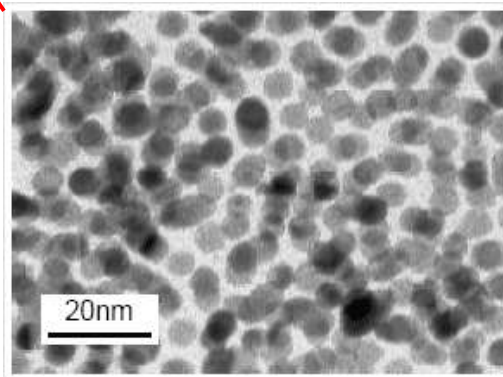
工業用ナノ材料について

ナノ素材：概要と特徴

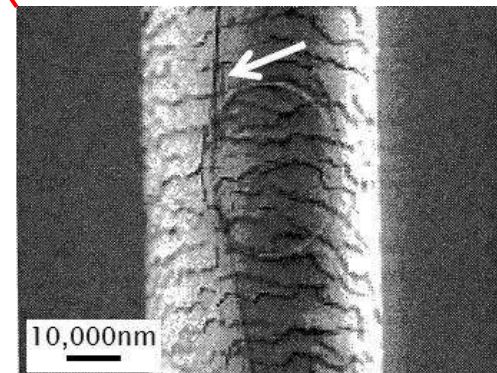
ナノ素材：少なくとも一次元のサイズが1～100nmの素材総称



二酸化チタンナノ粒子



金ナノ粒子の電子顕微鏡写真



ヒトの毛髪とCNTの比較

カテゴリー

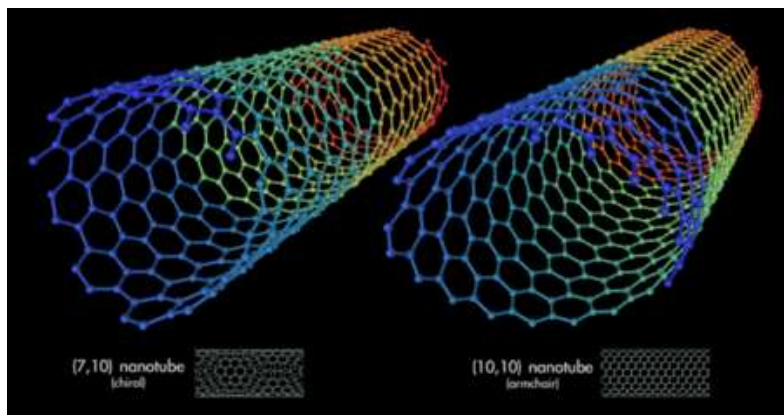


Figure. Model of CNTs

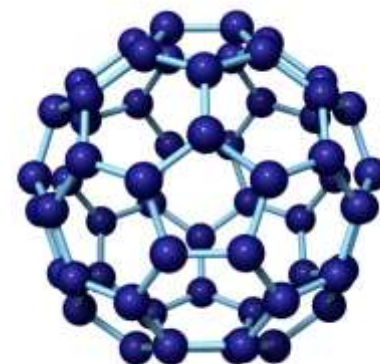


Figure. Model of Fullerene(C₆₀)

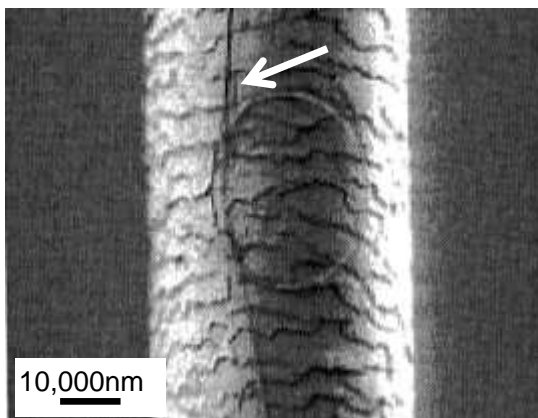


Figure. Comparison of CNT and human hair

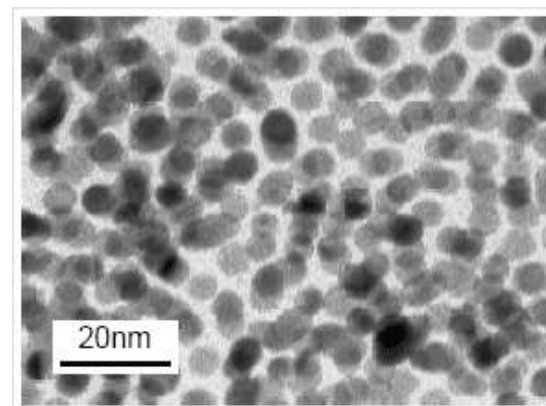


Figure. TEM photograph of nano Au particles

利用



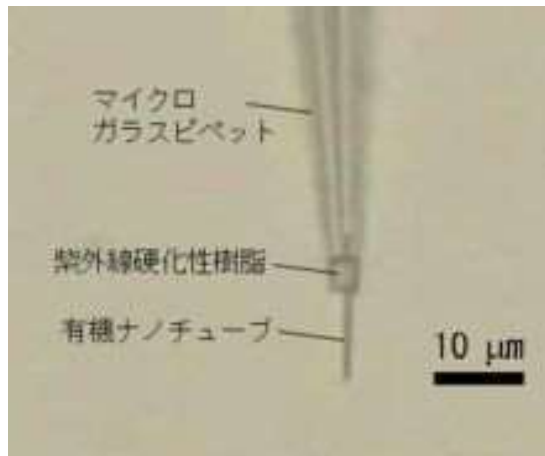
Cosmetics(nano-Pt)



Clothing(nano-Ag)



Photocatalyst(nano-TiO₂)



Nano-pipette(CNT)



Space Elevator Concept(CNT)

ナノ素材：概要と特徴

① サイズが小さい

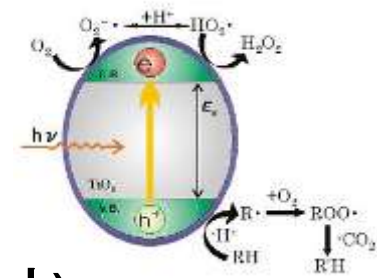
- 利点：小型化が可能，小さなスペースへの侵入が期待
- 活用：電子製品，ナノピペット，ドラッグデリバリー，etc.



ドラッグデリバリー：イメージ図

② 単位体積あたりの表面積が大きい

- 利点：化学反応の活性を高める，新しい特性を発現させる
- 活用：燃料電池，光触媒，etc.



光触媒の模式図

③ 軽さと強度，弾性を兼備する(炭素系素材)

- 利点：超硬度材料として利用可能
- 活用：航空機尾翼，軌道エレベータ構想，etc.



軌道エレベータ構想

⇒ 多方面への活用が期待され，既に一部は実用化

既存研究

Adverse effects to wildlife has reported from 2004

- Concerns of risk

- Lipid peroxidation 脂質過酸化(Particulate)
- Protein oxidationタンパク質酸化(Particulate)
- Mesothelioma中皮腫(Fibrous)



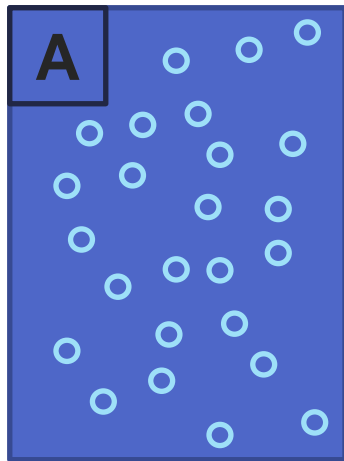
- Target organisms

- Mammalians人間 (Mice, Rats)
- Fishes魚 (Zebrafish, Medaka, etc.)
- Crustaceans甲殻類 (Water Fleas)

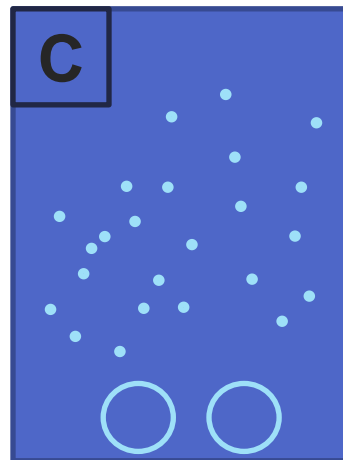
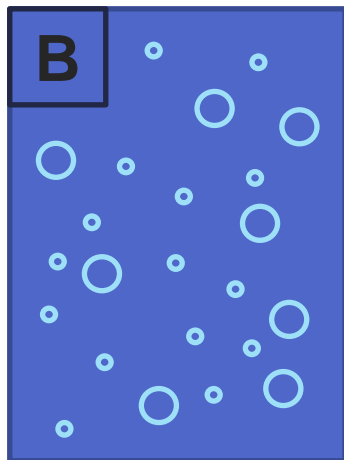
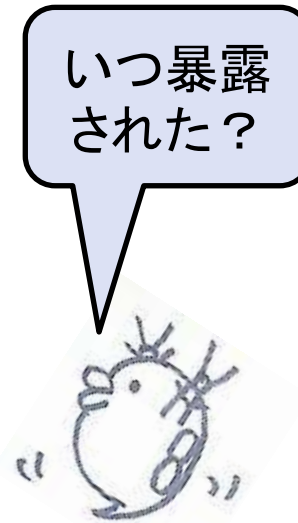
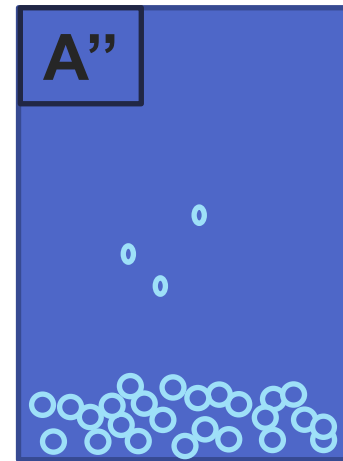
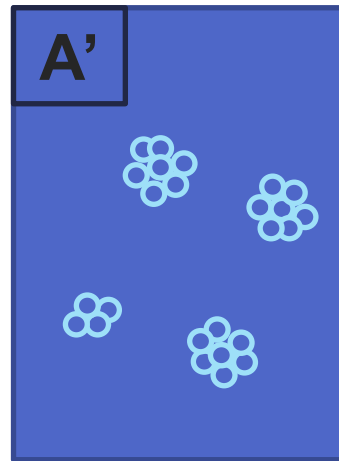


研究背景: ナノ粒子の課題

ナノ粒子分散液(濃度: 100 mg/L) ... 平均粒径: 10 nm



時間経過
→



ナノ素材: 中身が違うのに同じとみなされる⇒ 一次元的な評価が出来ない

水生生物にとって、
水中濃度 (重さ) = ばく露量
になっていない

PEC/PNEC

の両方共に怪しい

3-6. 結果:電子顕微鏡写真

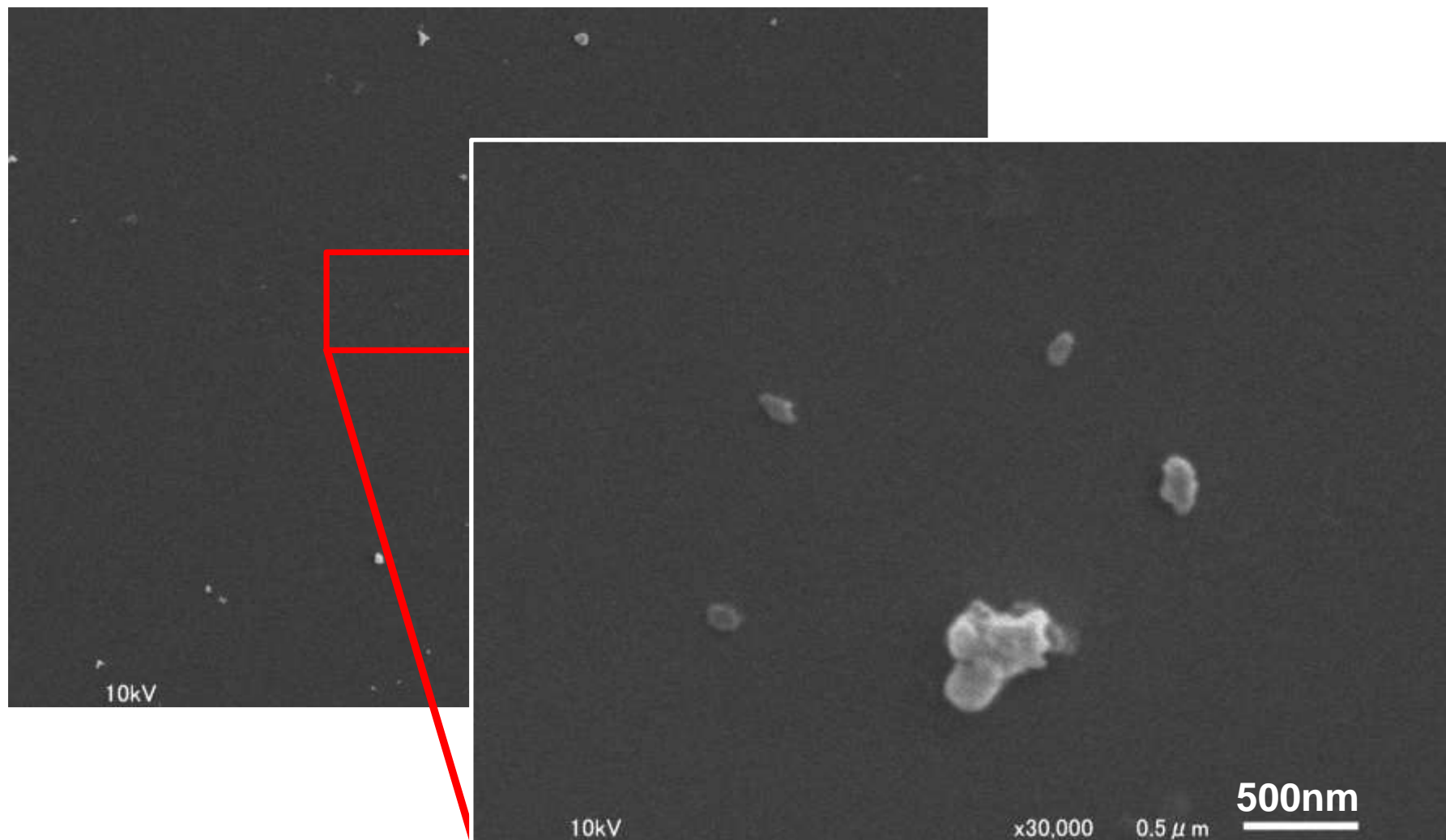


Fig. SEM写真: contrex 60h後分散液を蒸発させAu蒸着処理し撮影

結果と考察：影響濃度と各要素との相関

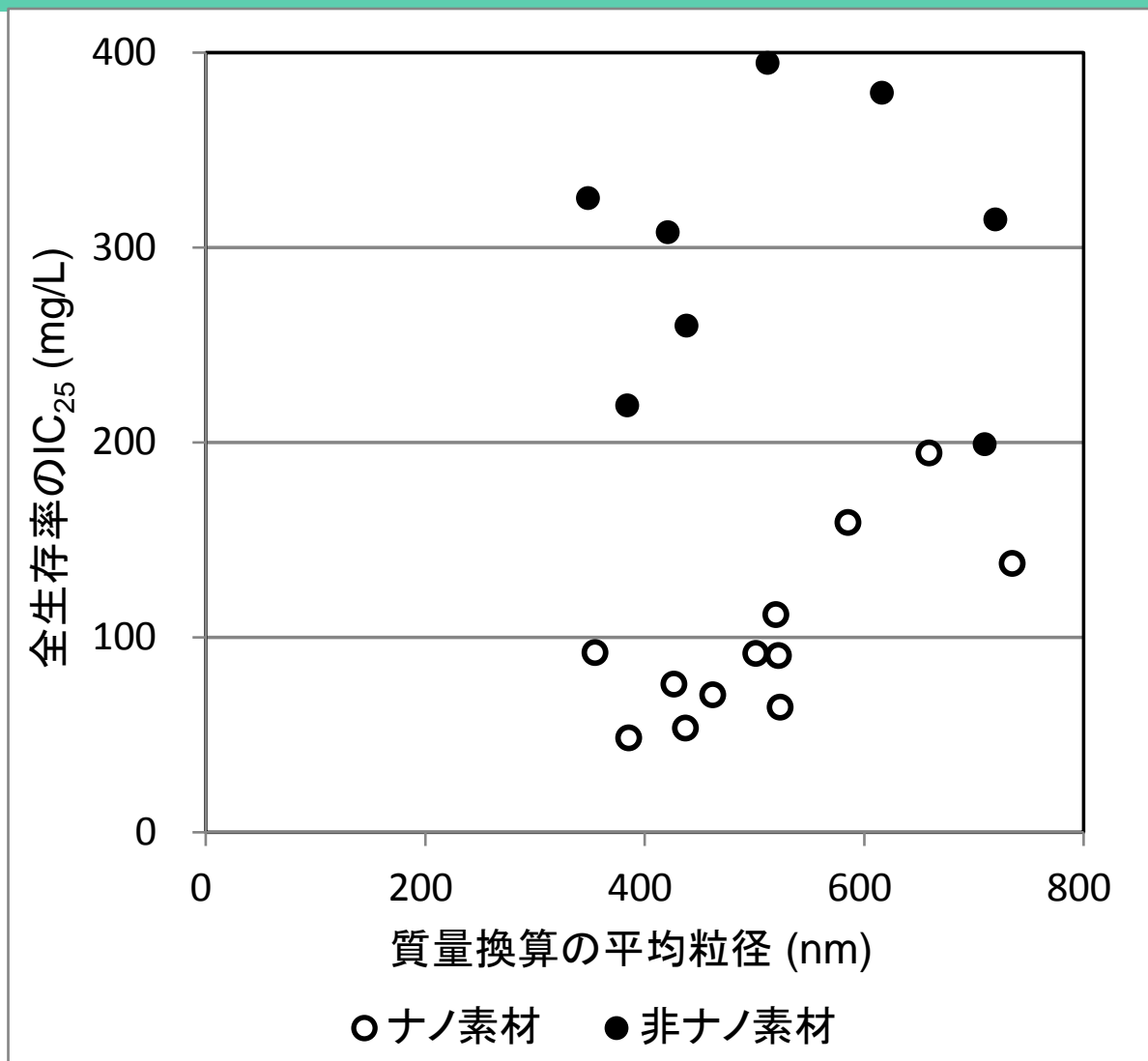


図. 全生存率のIC₂₅と平均粒径との関係

結果と考察：影響濃度と各要素との相関

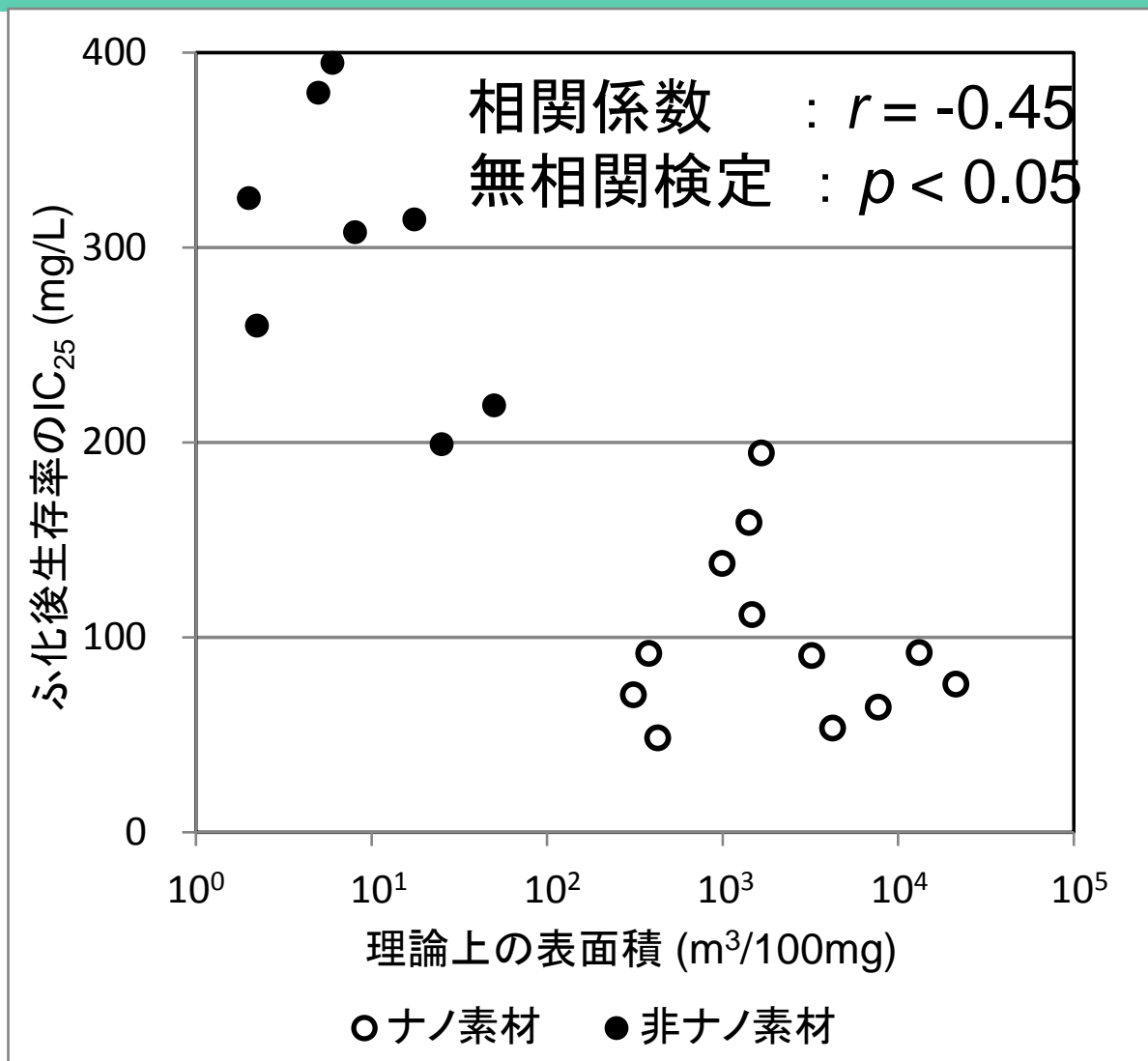
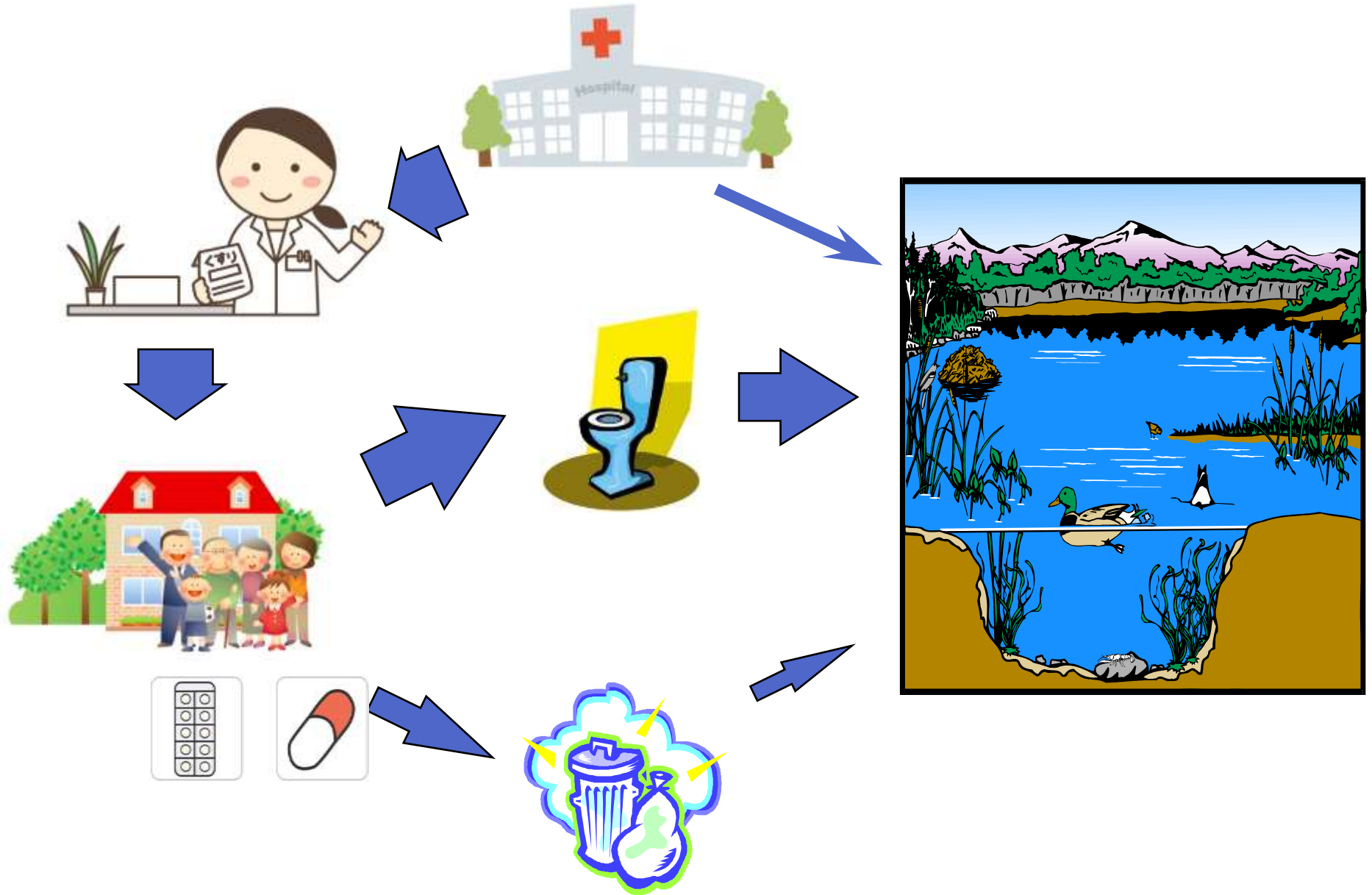


図. ふ化後生存率の IC_{25} と理論上の表面積との関係

環境中医薬品、機能性食品等

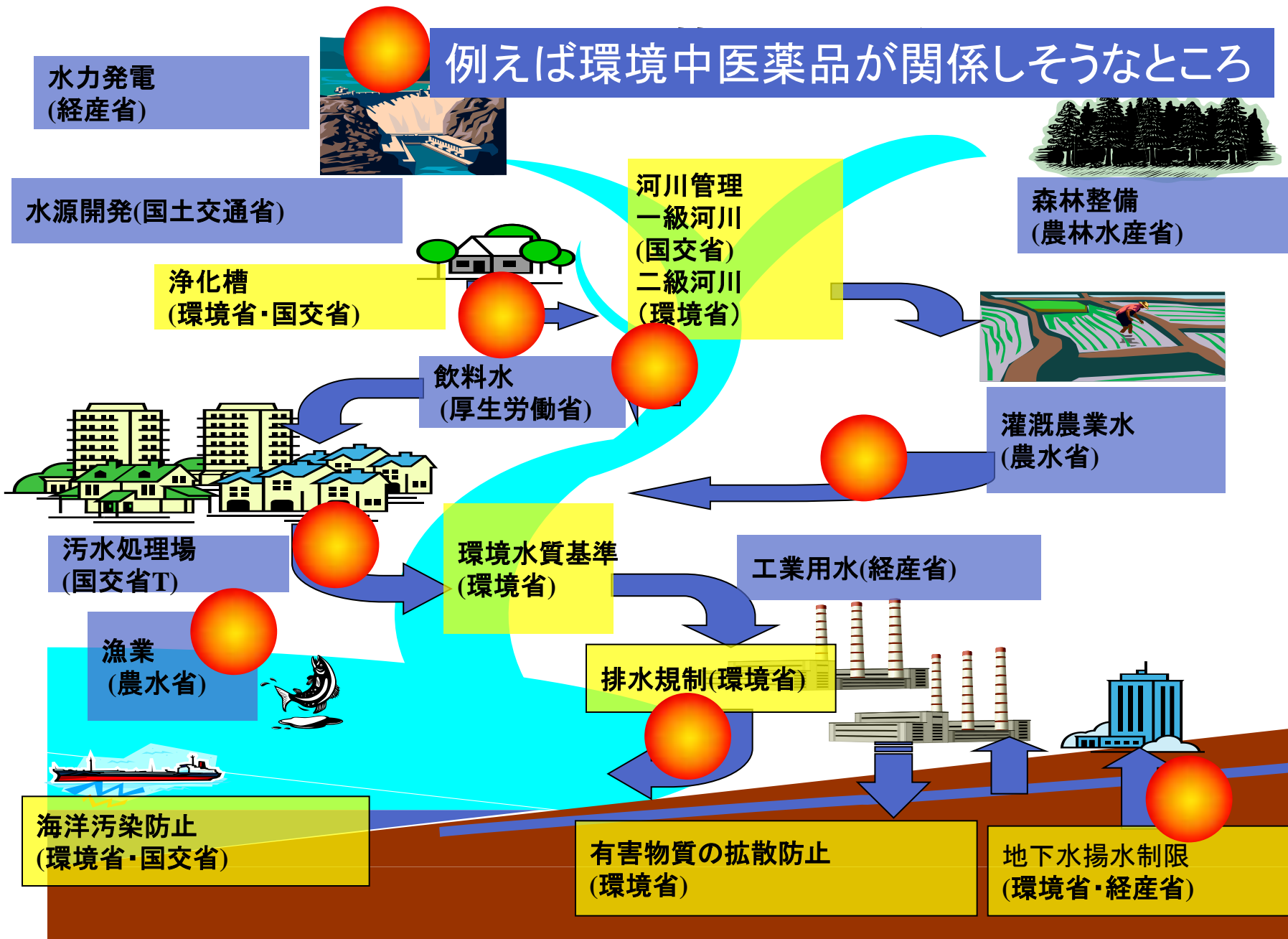
使用后/未使用の医薬品が環境中に!!



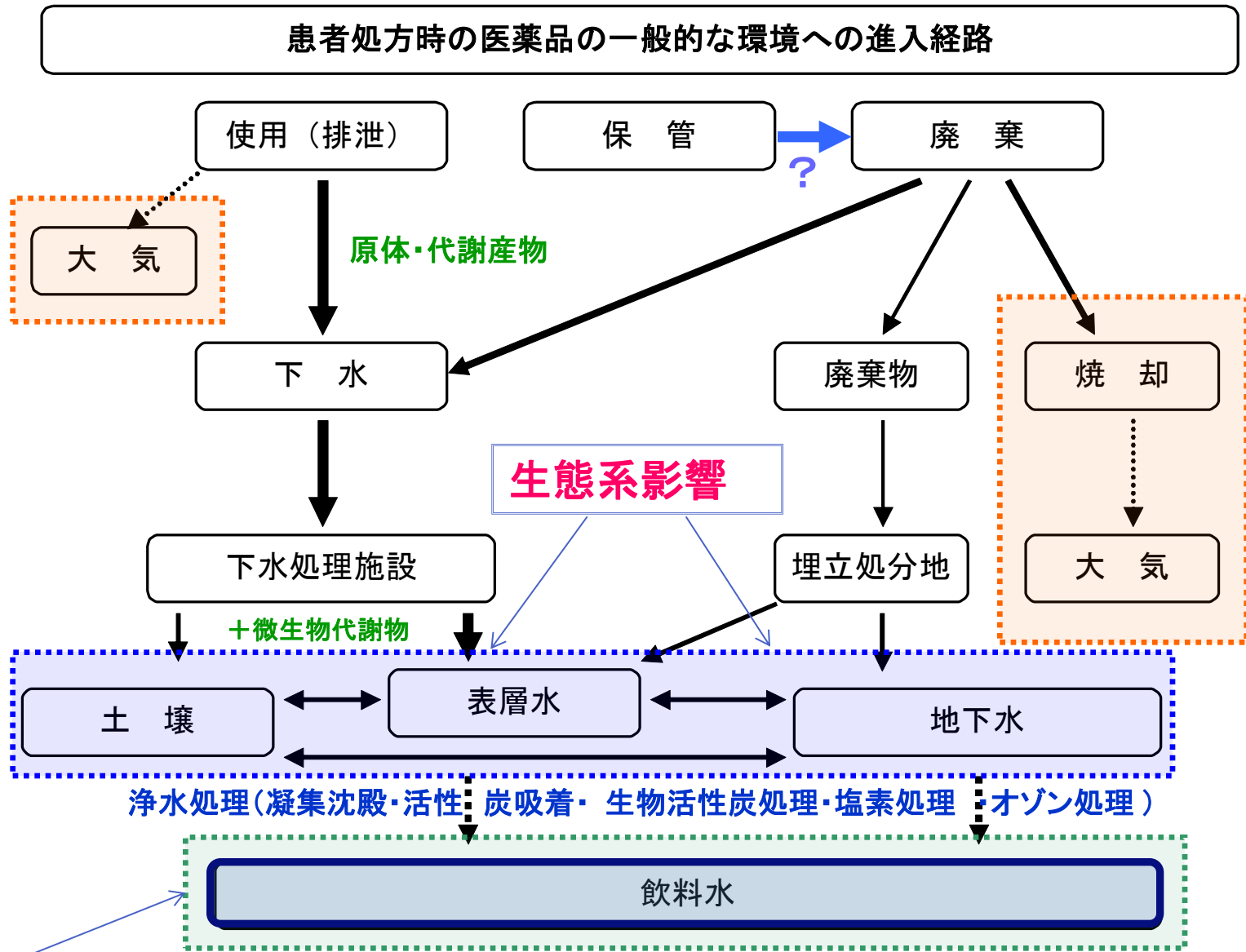
医薬品・機能性食品の特徴

- 全国の河川で検出されている
 - 検出＝影響ではない(量の議論)
- そもそも何らかの生理活性を持つ化学物質
 - 薬だから・・・
- 海外では環境リスク評価のガイドラインが策定
 - 欧州(EMEA)、米国(FDA)
- 畜産用の医薬品もある。

例えば環境中医薬品が関係しそうなところ



第37回日本トキシコロジー学会学術年会 西村哲治先生 資料(一部改)



健康影響

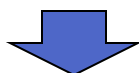
厚生労働科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
医薬品の環境影響評価法に関する研究(平成17年度～平成19年度 総合報告書)から転載

欧州医薬品庁(EMA)のガイドライン

環境リスク評価

ERA (Environmental risk assessment)の義務

表層水中での医薬品濃度 PEC (>10ng/L)



リスク評価

藻類生長阻害試験

魚類初期生活段階試験

ミジンコ繁殖試験

物理化学性状

生分解

土壌吸着

底質分解

水オクタノール分配係数

EMA (2006), acute tests replaced by:
Daphnid (OECD 211) and algae (OECD 201)
chronic tests and fish early life stage test
(OECD 210)

環境中医薬品・機能性食品の問題

- 既存の生物試験法は使える
→ただし、十分とは言えない。
- ヒトのMOA(モードオブアクション)と野生生物のMOAは異なるため、どこに影響が現れるのかわからない。
- 多品種少量生産が多いが、パンデミックなど、一時的に増加する場合がある。
- 下水処理場、病院排水など、必ず複合影響を考慮しなくてはならない。
- ジェネリック、代謝活性化薬等の扱いをどうするのか。
　　<限界>
- 環境リスクとベネフィットを比較すれば、明らかにベネフィットが大きい。
- 環境中で医薬品の影響だけ、を評価できない(界面活性剤や金属との相互影響)

化学物質の内分泌かく乱作用

化学物質の内分泌かく乱作用の特徴

- ごく微量で作用を示す可能性がある
 - 生命の調節に関与する。オス化、メス化は極端
 - 急性毒性は無い⇒有害性の評価が分かれる
- 内分泌にはいろいろな種類がある
- 従来の試験法では評価できない
 - 欧州(OECD)、米国(EPA)で新しい試験法を開発中
 - 日本発信の試験法も存在している
- 環境中での影響が顕在化しにくい

女性
ホルモン

抗女性
ホルモン

男性
ホルモン

甲状腺ホルモン

抗男性ホルモン

生殖腺
軸

抗甲状腺ホルモン

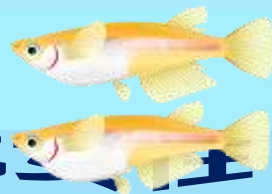
甲状腺
軸

幼若ホルモン

脱皮
ホルモン



女性
ホルモン



抗女性
ホルモン



男性
ホルモン

甲状腺ホルモン



抗男性
ホルモン



生殖腺
ホルモン



抗甲状腺
ホルモン

甲状腺
ホルモン



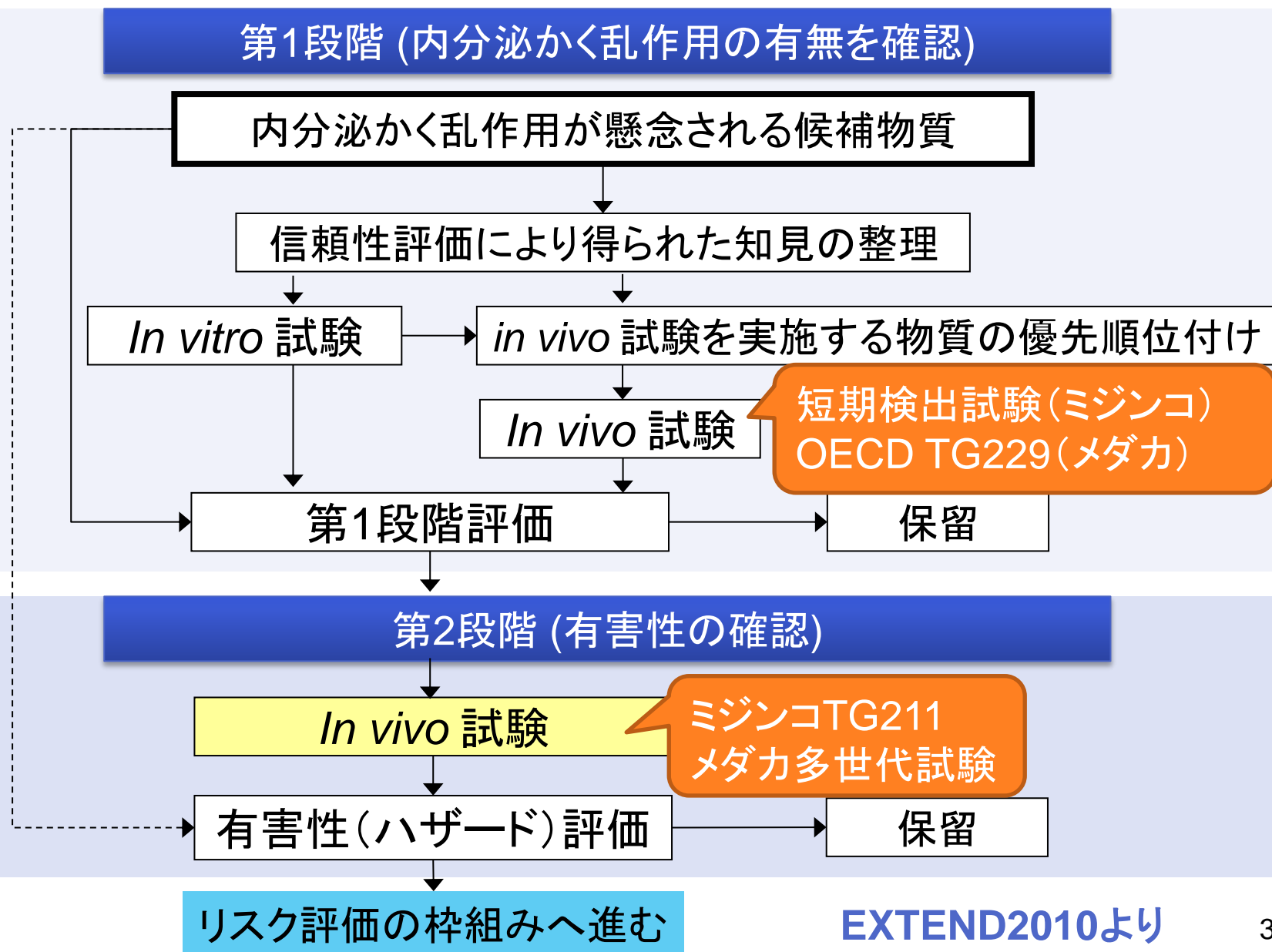
幼若
ホルモン



甲状腺
ホルモン



化学物質の内分泌かく乱作用の有害性評価の枠組み



OECD試験法の種類(魚類)

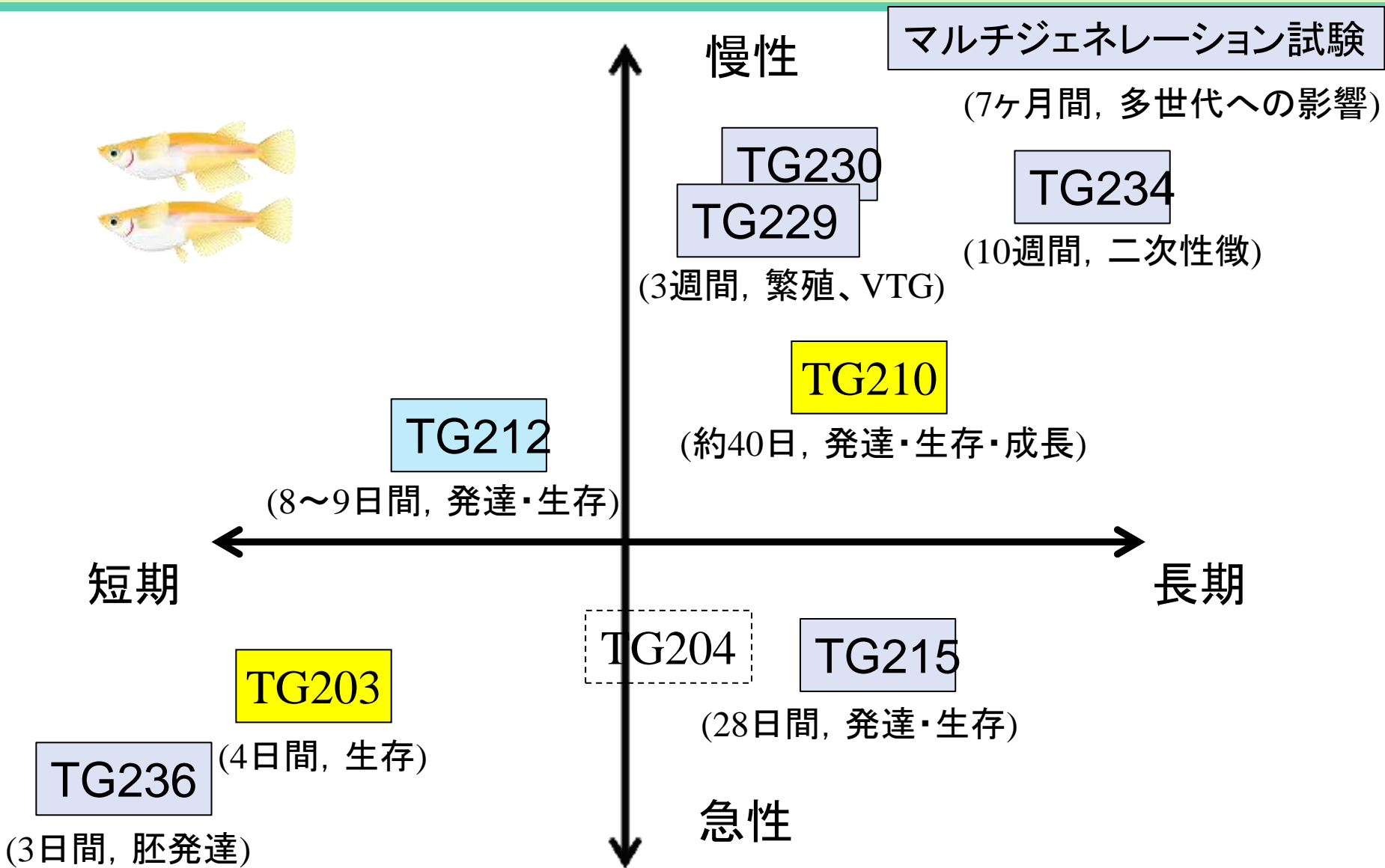


図. 魚類を用いた生態影響試験の分類(概念)

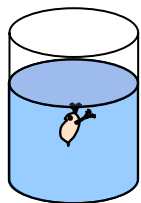
OECD魚類生態毒性試験法の開発(標準化)

- (1) 魚類21日間試験(TG230)
- (2) 魚類短期繁殖試験(TG229)
- (3) 魚類性発達試験(TG234)
- (4) 魚類(メダカ)多世代繁殖試験(MOGRT)

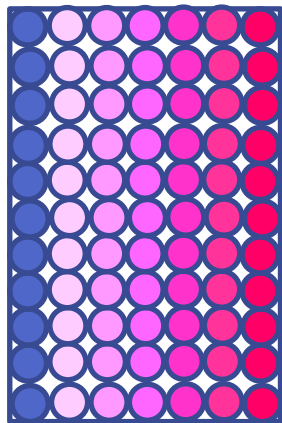
メダカ多世代試験(multi-generation test): 確定試験



オオミジンコ繁殖阻害試験TG211別添7

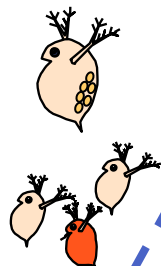


仔虫

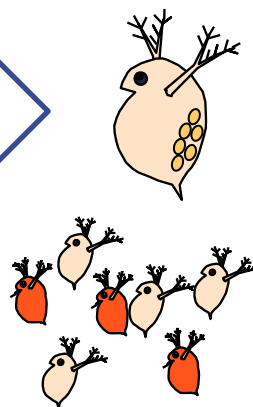


Cont+6濃度

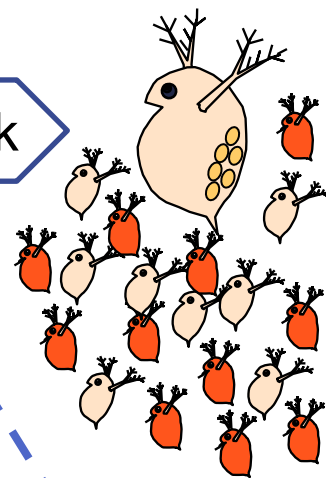
1week



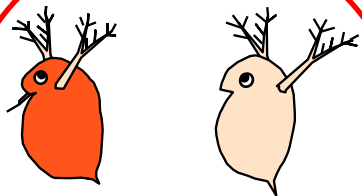
2week



3week

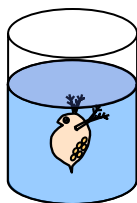


短期試験法

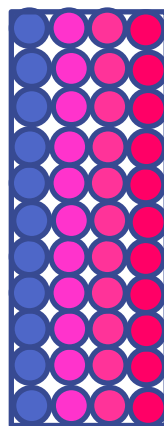


オス₃₃

メス

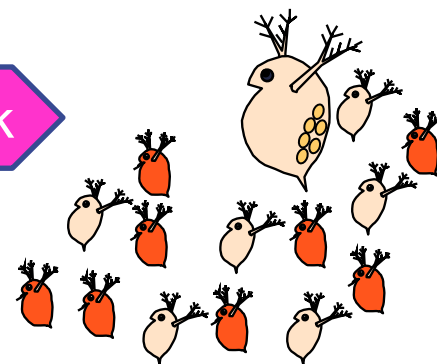


10~17日
前後の親

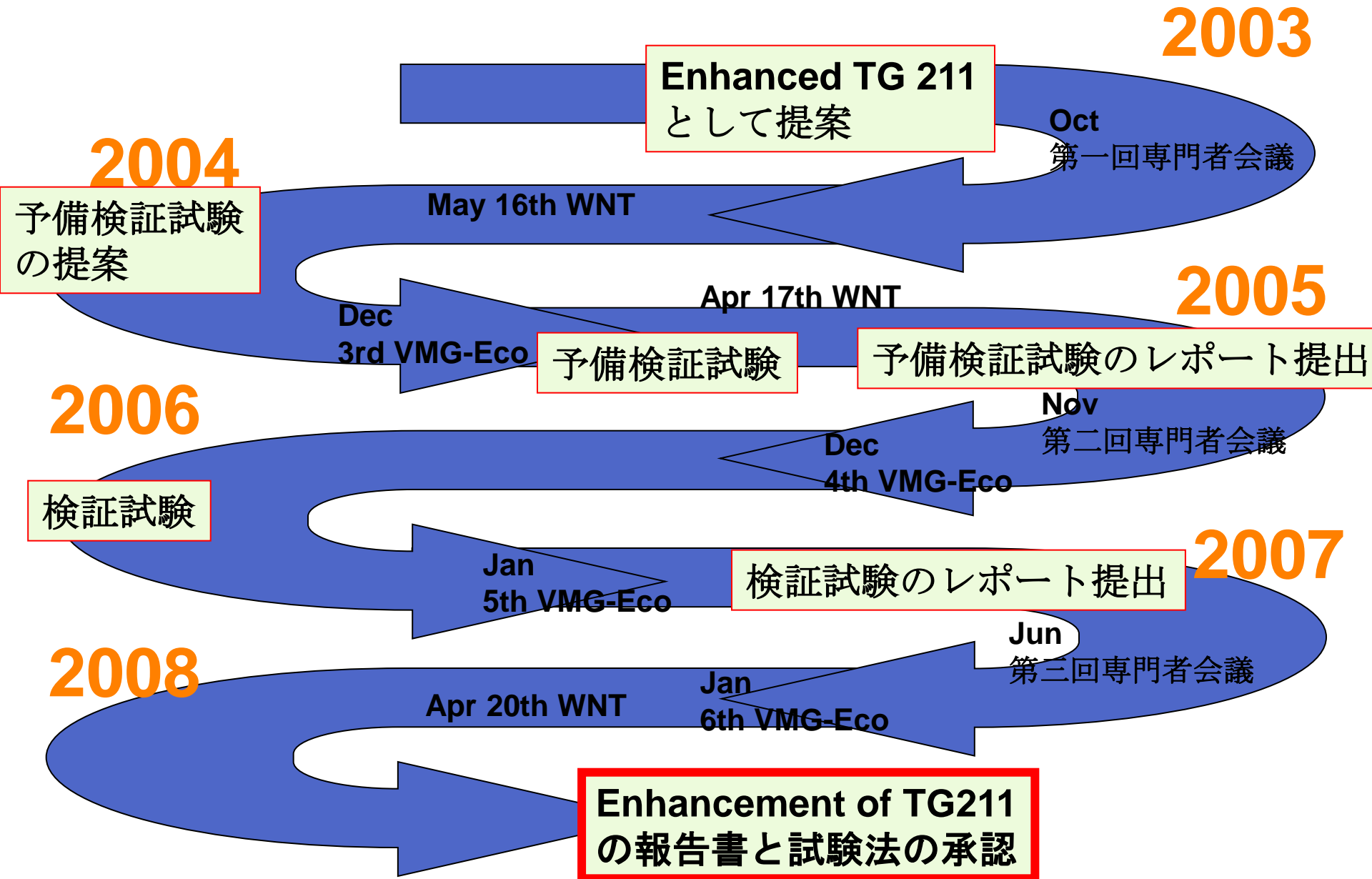


Cont+3濃度

1week

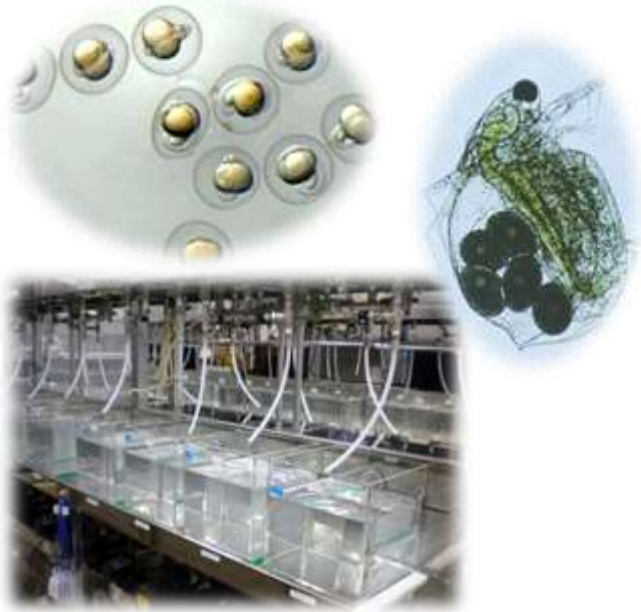


OECD TG 211annex7が承認されるまでの道のり



環境研究の基盤整備

生態影響試験に関する標準機関 (レファレンス・ラボラトリー) 機能の整備



背景

- 政策に資する生態毒性試験結果の**試験法統一による精度管理**や**信頼性向上**の必要性
 - 改正化審法
 - 試験困難物質への対応
 - 複合影響
- 新規生態影響**試験法開発**の必要性
 - 内分泌かく乱物質、PPCPs、ナノマテリアル等の新興化学物質を対象とした、新たな評価手法の開発が国際的に推進
- 国内・国外試験機関との**協調**
 - 海外の新たなフレームワーク、ガイドラインへの対応
 - 国内で将来的に生物応答を利用した排水管理手法(WET)の導入に伴う、生態影響試験実施機関の啓発、および結果の精度管理



中立的な試験機関のリードラボが、
国内外の機関と連携して推進する必要がある

目的

国内外における生態影響試験の標準化を目指す中核機関としての機能を整備する。

(1) 国内外の機関との連携・協力

最新の環境リスクに関する研究動向や社会情勢を踏まえ、国内外の関連機関と連携し、新規試験法の開発(OECDガイドライン等のプロトコール作成協力、パイロットテスト・リングテストへの参加および企画等)を推進する。

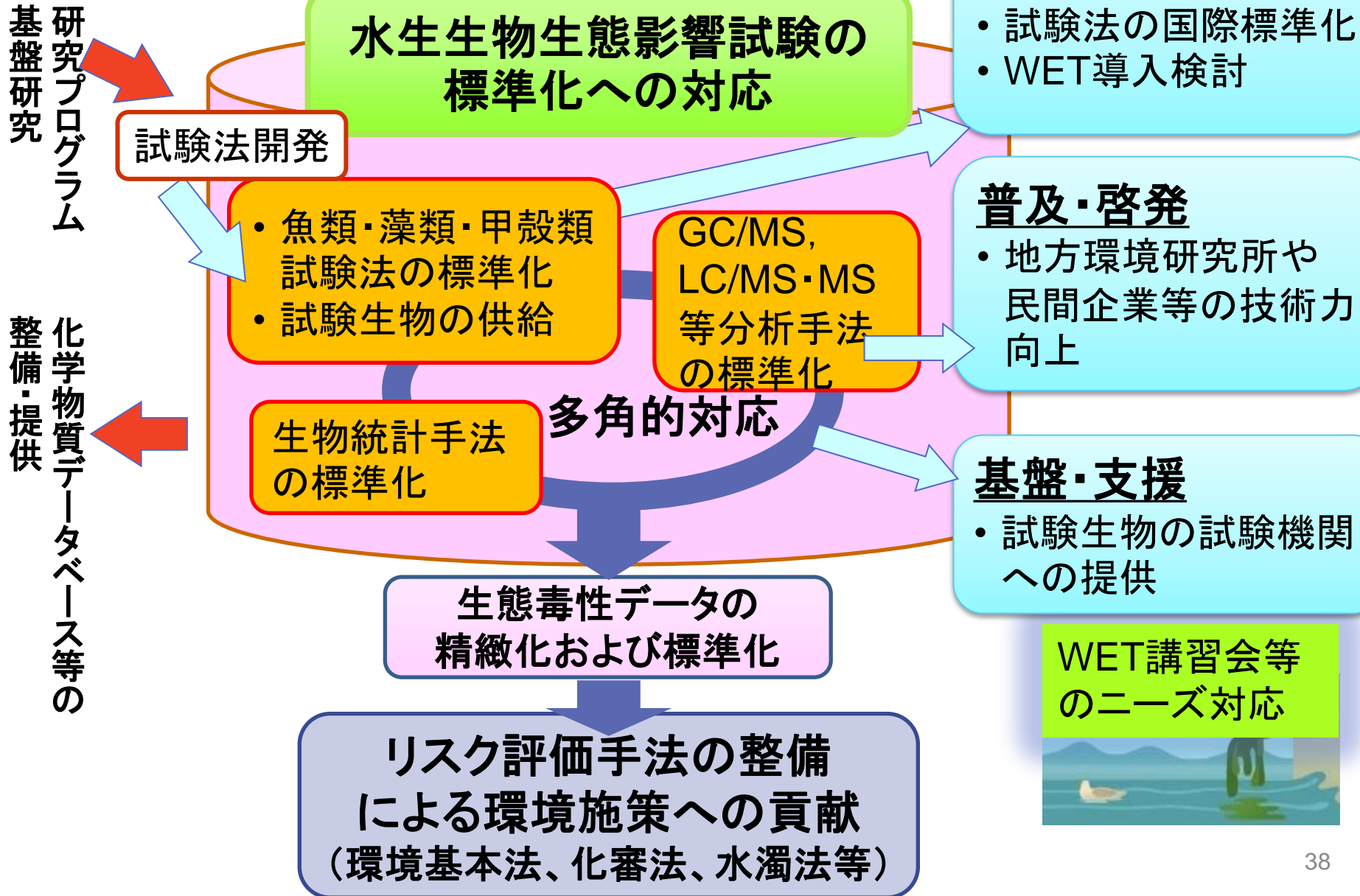
(2) 生態影響試験法の普及・啓発

様々な生態影響試験法の中から特に環境リスク評価に必要とされる手法について、国内の試験機関に実習指導等を実施することによって技術を標準化し、試験精度の向上を図る。

(3) 生態影響試験の基盤整備・支援

法規制上位置づけられている試験用生物(メダカ等)の効率的な飼育・供給体制を整備し、試験機関への生物提供を行う。

全体計画図



(1) 国内外の機関との連携・協力

① 国内機関との連携:

地方環境研究所

大学等および公的研究機関

環境省GLP取得機関

その他の環境コンサルタント

② 国外機関との連携:

OECD会議への参加

試験法開発のための国際間リングテストへの参加

米、英、中、韓等との共同研究

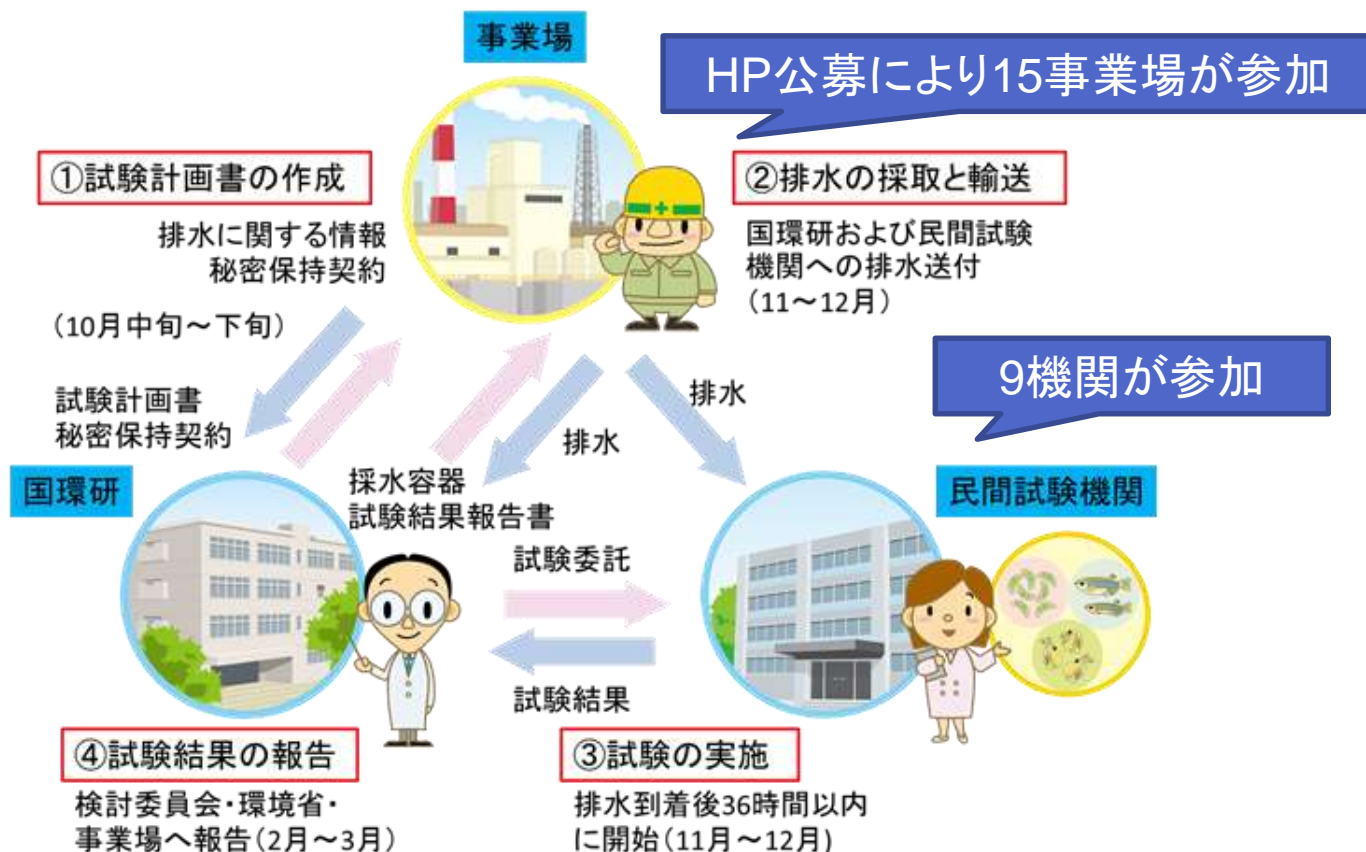
生態毒性試験の国際調和に関する国際会議への対応

生物応答を用いた事業場排水実態調査

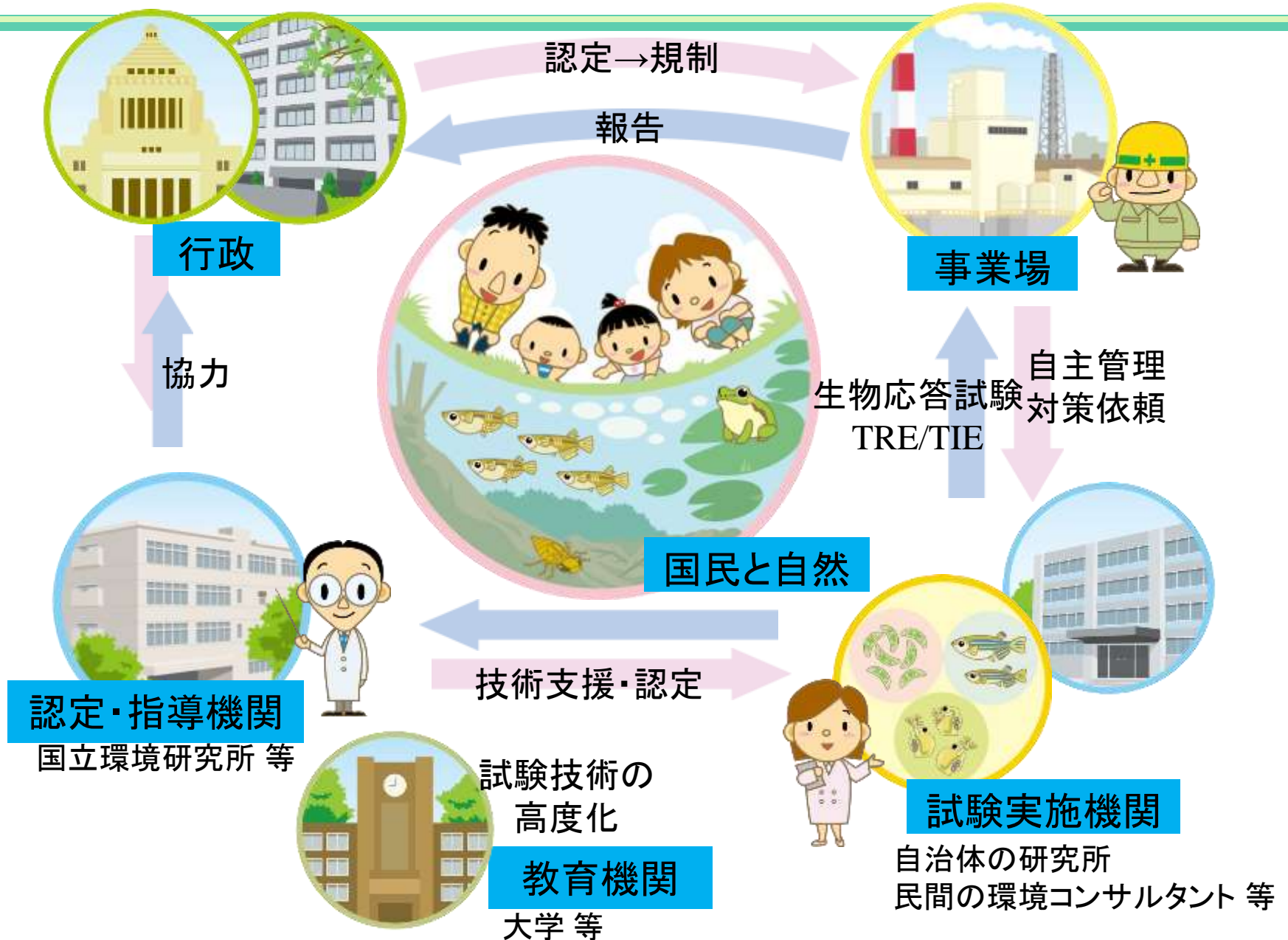
■ 目的

- 「**生物応答を用いた排水試験法(検討案)**」に基づいた試験を**実際の事業場排水**を対象として実施し、試験法検討案の課題や事業場排水の生物影響の実態解明。
- ①試験法検討案の改訂、②制度・運用上の課題検討及び③排水改善のための対応策を含めた情報収集。

■ 調査概要



生物応答を利用した排水管理



生態影響試験の国際調和に関する国際会議への対応

- **第25回OECD-WNT会合(4月・パリ)**
 - 第25回OECD 試験ガイドラインに関するナショナルコーディネーター会合に出席し、生態影響試験法に関するガイドラインおよび生態リスク評価に関するガイダンス文書の検討・承認のための論議に参加した。
 - TG210改正案の承認、巻貝を用いた試験法提案、他
- **第9回OECD VMG-eco会合(10月・Webex会議)**
 - メダカ多世代試験法(MMT)の開発に関する検討、他
- **第9回日米二国間協力実務者会議(10月・ワシントン)**
 - 日本(国環研、いであ)および米国(EPA)の実務者により内分泌かく乱作用に関する試験法について議論した。
 - メダカ多世代試験、甲殻類(日本:ミジンコ、米国:カイアシ、アミ)および両生類(アフリカツメガエル)を用いた有害性確認試験
- **第14回 化学物質の内分泌かく乱作用に関する日英共同研究ワークショップ(12月、名古屋)**
 - アンチアンドロゲン試験法開発ほか
- **日韓共同研究ワークショップ(2月、麗水)**
 - 日韓PFOS/PFOA環境汚染実態調査など

日米二国間協力実務者会議

2004年より、US EPAとの研究協力によって魚類・両生類・無脊椎動物を用いた多世代試験法あるいはライフサイクル試験法の開発を行っている。



日本 (国環研, いであ(株))

無脊椎動物

ミジンコ多世代試験

↑
感受性比較のために共通物質について試験

魚類

メダカ短期繁殖試験

メダカ多世代試験

両生類

パーシャルライフサイクル試験など

US (EPA)

無脊椎動物

カイアシ類ライフサイクル試験,

アミ類多世代試験

(2) 生態影響試験法の普及・啓発

生態影響試験実習セミナーの開催

- 背景：生態影響試験に係る技術等の普及・啓発、国内の技術的な基盤の向上および環境リスク評価に用いられるデータの信頼性および精度の向上への取り組み
- セミナー開催の目的：事業所排水の生態影響評価を行うWETなどのために、生態影響試験の導入を目指している地方公共団体の環境研究所、企業、大学などを対象に、生態影響試験の基礎的な知識や技術の普及を図り、試験導入を援助する

化審室の請負業務セミナーの開催

生態影響試験実習セミナーの開催概要

目的:

生態影響試験の導入を目指している地方環境研究所、企業、大学などを対象に、座学と実習を通じて、生態影響試験の基礎的な知識や技術の普及を図り、試験導入を援助する。

取り上げた生態影響試験:

第1、2、5回目

- ・ オオミジンコ遊泳阻害試験
- ・ ニセネコゼミジンコ繁殖試験

第3、4回目

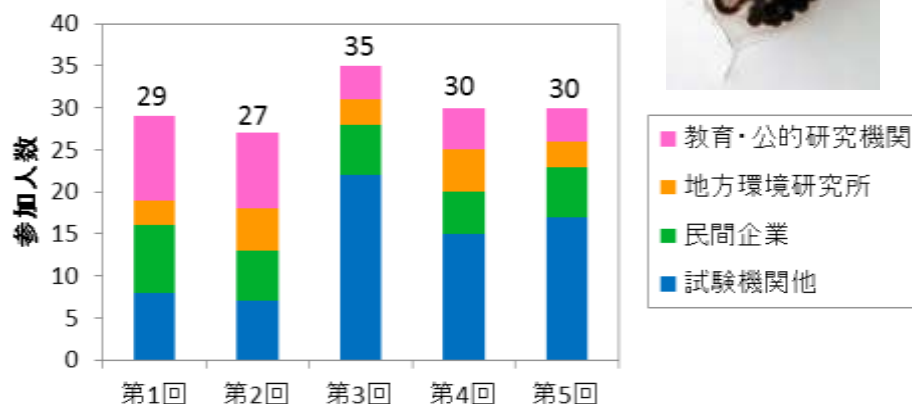
- ・ ゼブラフィッシュ胚・仔魚期毒性試験



内容:

- ・ 生態影響試験法の解説
- ・ 試験生物の飼育方法や試験に関わる基本的な操作の実施
- ・ 生態影響試験に必要な設備、器具等の紹介
- ・ 生態影響試験に関わる質問、相談受付

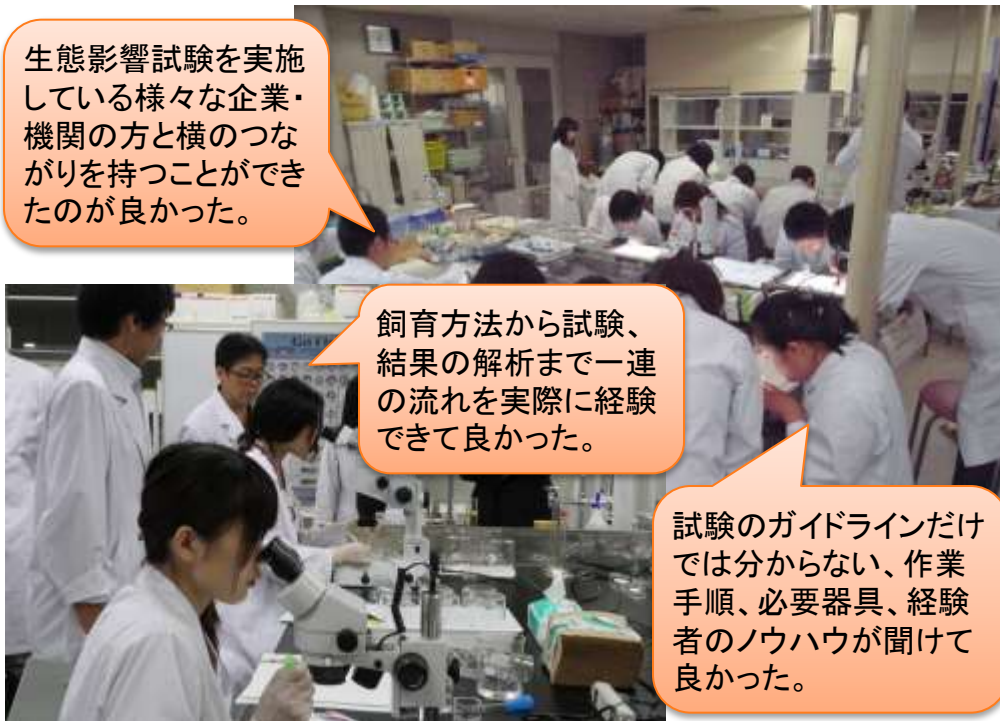
参加者数と内訳:



生態影響試験を実施している様々な企業・機関の方と横のつながりを持つことができたのが良かった。

飼育方法から試験、結果の解析まで一連の流れを実際に経験できて良かった。

試験のガイドラインだけでは分からない、作業手順、必要器具、経験者のノウハウが聞けて良かった。



例) 第5回セミナーのスケジュール

日	時間	内容
一 日 目	10:00	開会の挨拶
	10:05	実習セミナーの概要と諸注意
	10:15	班分けとテキスト等の確認
	10:20	座学(1) オオミジンコを用いた遊泳阻害試験の概要
	10:55	実習(1) オオミジンコを用いた遊泳阻害試験の開始
	12:00	昼食(自己紹介)
	13:00	座学(2) オオミジンコを用いた遊泳阻害試験の注意点
	13:15	座学(3) ニセネコゼミジンコを用いた繁殖試験の概要
	14:00	実習(2) ニセネコゼミジンコを用いた繁殖試験の開始
	16:00	休憩
	16:15	座学(4) ニセネコゼミジンコの飼育方法
	16:45	質疑応答・本日の実習のまとめ・明日の予定確認
	17:00	懇親会
	二 日 目	10:00
10:05		座学(5) オオミジンコを用いた遊泳阻害試験の観察方法
10:25		実習(3) オオミジンコを用いた遊泳阻害試験の観察
11:05		見学 1F実験室の案内と器具の説明
12:00		昼食
13:00		実習(4) ①ニセネコゼミジンコを用いた繁殖試験の観察、②模擬試験の仔虫カウント
		実習(5) 飼育操作の実施

日	時間	内容
二 日 目	14:30	座学(6) ニセネコゼミジンコを用いた繁殖試験の注意点
	14:50	座学(7) ニセネコゼミジンコを用いた繁殖試験の統計解析について
	15:30	休憩
	15:40	講義: 生物応答を利用した排水管理手法について(講演者: 淑徳大学教授 北野大、三菱化学メディエンス(株)新野竜大、徳島大学 山本裕史)
	17:00	解散(明日の予定確認)
三 日 目	9:30	本日の日程説明
	9:40	実習(6) オオミジンコを用いた遊泳阻害試験の終了
	10:10	実習(7) ニセネコゼミジンコを用いた繁殖試験の換水
	12:00	昼食(ミジンコ マル秘映像)
	13:00	座学(8) オオミジンコを用いた遊泳阻害試験結果の解析、結果の講評・解説
	14:00	講義: 生態影響試験について
	14:20	全体を通しての質疑応答、アンケートの実施
14:50	閉会の挨拶	
	15:00	解散

ゼブラフィッシュの産卵

(3) 生態影響試験の基盤整備・支援

生物統計の標準化

- 生物応答による排水管理手法のための統計処理手法について情報収集を実施
 - 国内での統一手法の確定
 - 統計ソフトの供給と講習
 - 最新の統計手法の導入検討: 一般化線形モデル (generalized linear model; GLM) GLM、TST (Test of Significant Toxicity) Analysis

試験生物の試験機関への提供

- 試験生物としての使用するための品質管理
- 生物供給と維持管理のシステム
- 餌、培地等の供給: 例えば、ユスリカ試験でのほうれん草、ニセネコゼミジンコでのYCTなど

ご清聴ありがとうございました



Ceriodaphnia dubia
ニセネコゼミジンコ