

課題番号：5-2204

研究課題名： 魚類に対する環境医薬品の影響評価法開発に関する研究  
～環境分析・分子応答・行動/繁殖解析による融合評価基盤の構築～

研究代表者名：征矢野 清（長崎大学）

体系的番号： JPMEERF20225004

重点課題： 主15 化学物質等の包括的なリスク評価・管理の推進に係る研究  
副16 大気・水・土壌等の環境管理・改善のための対策技術の高度化及び  
評価・解明に関する研究

行政ニーズ： （5-16）環境中の医薬が魚類の行動、繁殖等に及ぼす影響の評価手法  
に関する研究

研究実施期間：2022年度～2024年度

【研究体制】

サブテーマ1

井原 賢（高知大学）  
中田典秀（神奈川大学）  
竹内 悠（京都大学、R4年度）

サブテーマ2

宮川信一（東京理科大学）

サブテーマ3

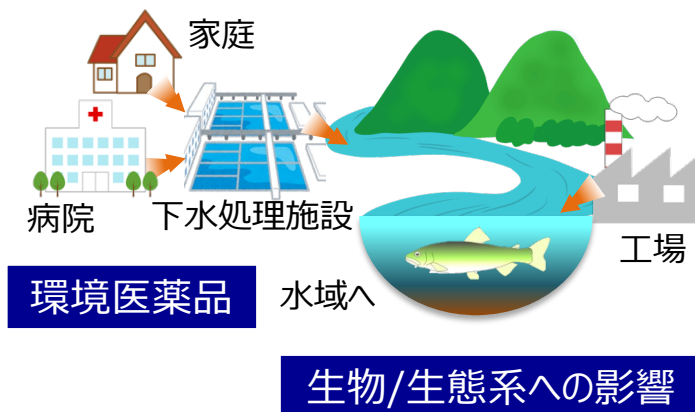
征矢野清（長崎大学）  
長江真樹（長崎大学）  
薙平裕次（高知大学）  
村田良介（長崎大学）  
天谷貴史（長崎大学）  
藤川稔晃（長崎大学）



# 1. 研究背景、研究開発目的及び研究目標

## 研究背景

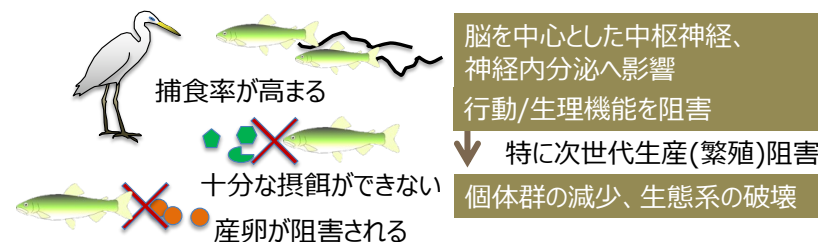
- ✓人が使用し水域へと排出された医薬品（環境医薬品）の水生生物の行動や繁殖への影響が懸念。
- ✓医薬品による生物影響を理解し、環境負荷を軽減させる努力が必要。
  - 環境研究総合推進費（R1-R3年度：【5-1952】）を実施
- ✓環境医薬品が魚類の次世代生産と水域生態系に影響を及ぼすことを世界に先駆けて報告。特に神経系に影響し、行動等の異常を誘導
  - 現在のOECDガイドライン等に沿った生物試験法では、その根拠を示すことは困難。



## 研究開発目的

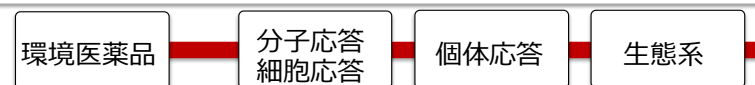
- ✓環境医薬品の調査研究を発展させ、*in vivo*試験法による新たな環境医薬品の影響評価手法の構築基盤を確立。
  - 分析・測定法高度化の基盤
  - 生物影響評価試験法開発の基盤

- ◆異常な行動は、捕食されるリスクを高め、生残率の低下を引き起こす。



環境医薬品の環境動態、魚類の分子・個体応答の知見を体系化し、環境医薬品の融合評価基盤を世界に先駆けて構築

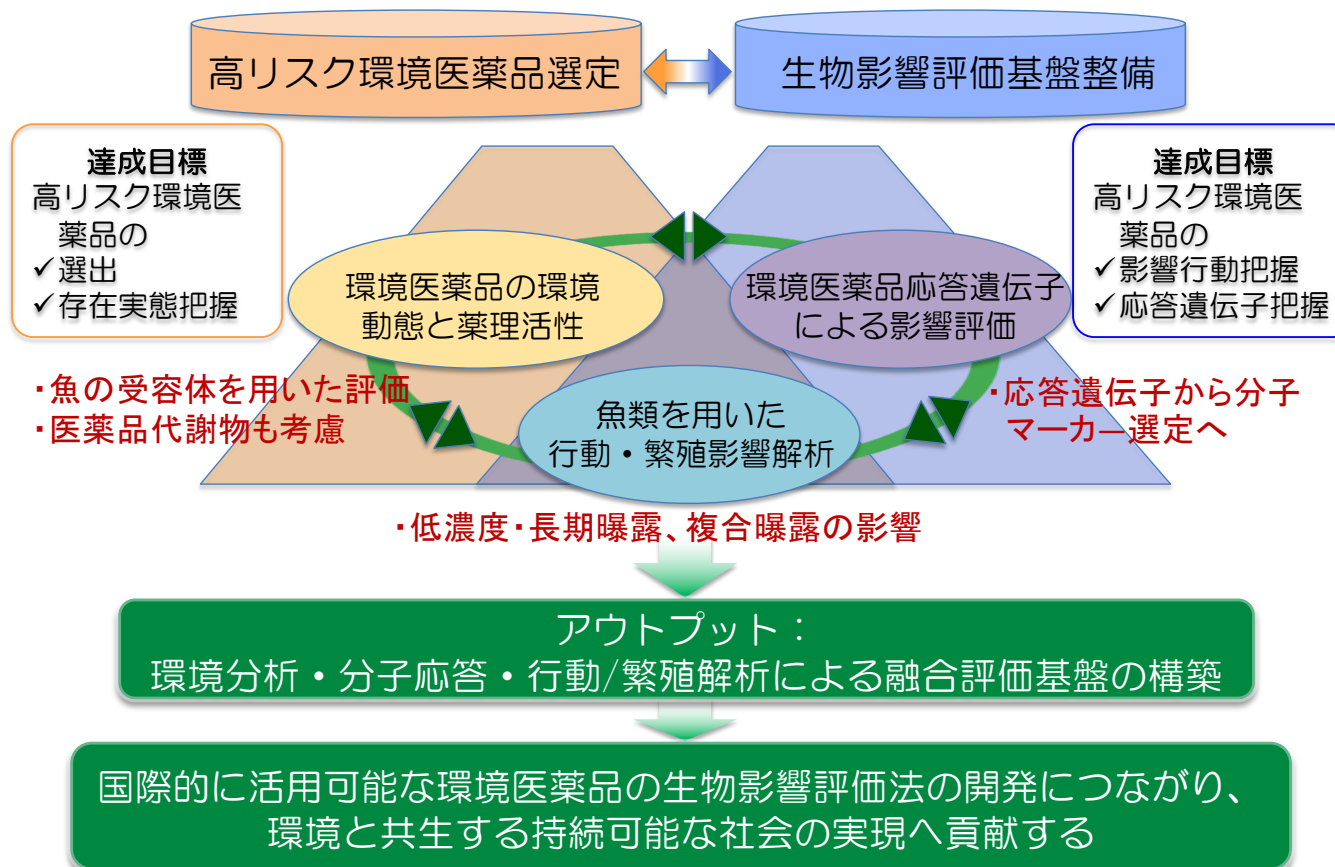
環境医薬品の汚染実態から個体・生態系影響へ連動した理解が必要



# 1. 研究背景、研究開発目的及び研究目標

## 研究目標（全体）

環境医薬品の新たな影響評価手法の開発に向けて、高リスク環境医薬品の選定と生物影響評価の基盤整備を目指す。



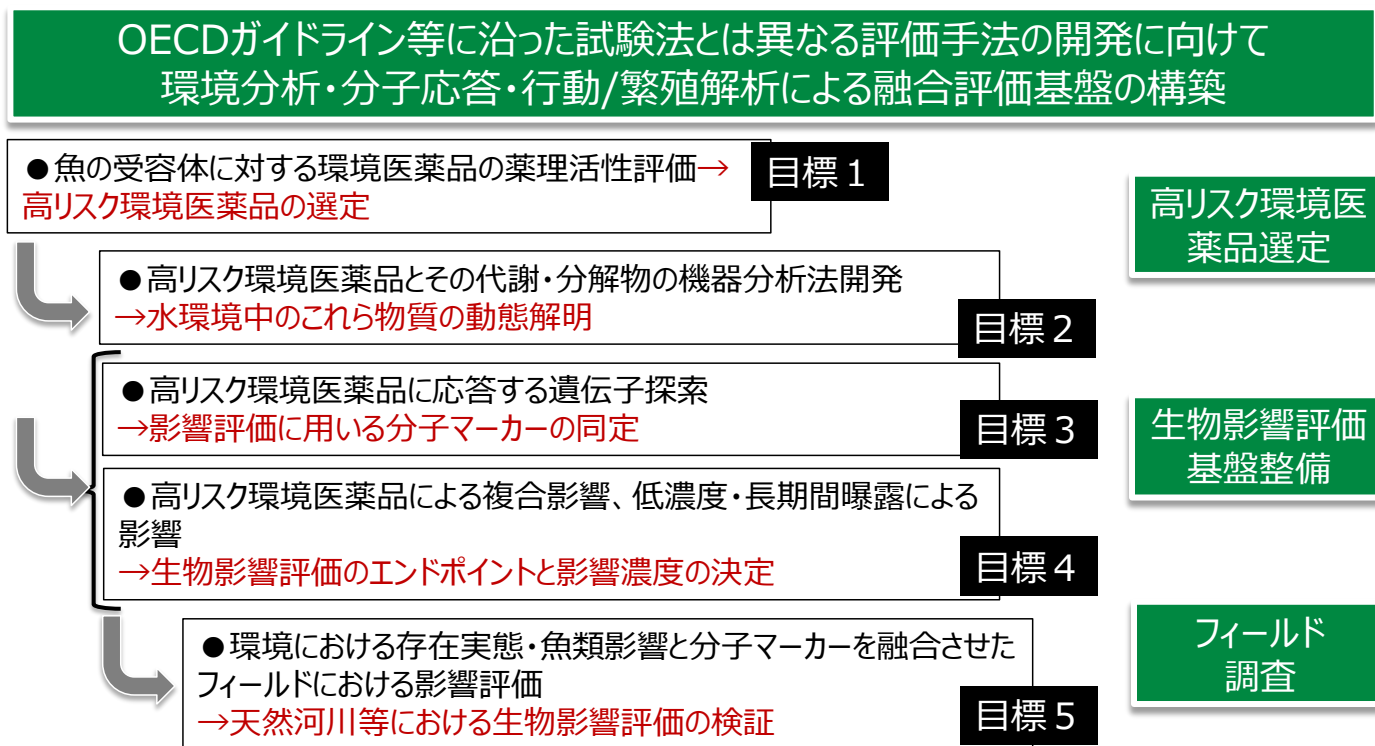
# 1. 研究背景、研究開発目的及び研究目標

## 研究目標（全体）

✓新たな生物影響評価試験法の開発に向けて、環境医薬品の環境動態、魚類の分子・個体応答の知見を融合させ、体系化する。

✓従来のOECD試験等では評価することが難しい、魚類の行動および繁殖への影響を評価軸とした影響評価手法を確立するための学術的基盤を構築する。

✓新たな評価試験法を開発することで環境政策へ貢献する。



### エンドポイント・・・次世代生産からみる生態系への影響

- 環境医薬品の環境濃度・薬理活性と連結させた行動影響解析・応答遺伝子解析を用いて次世代生産を予測

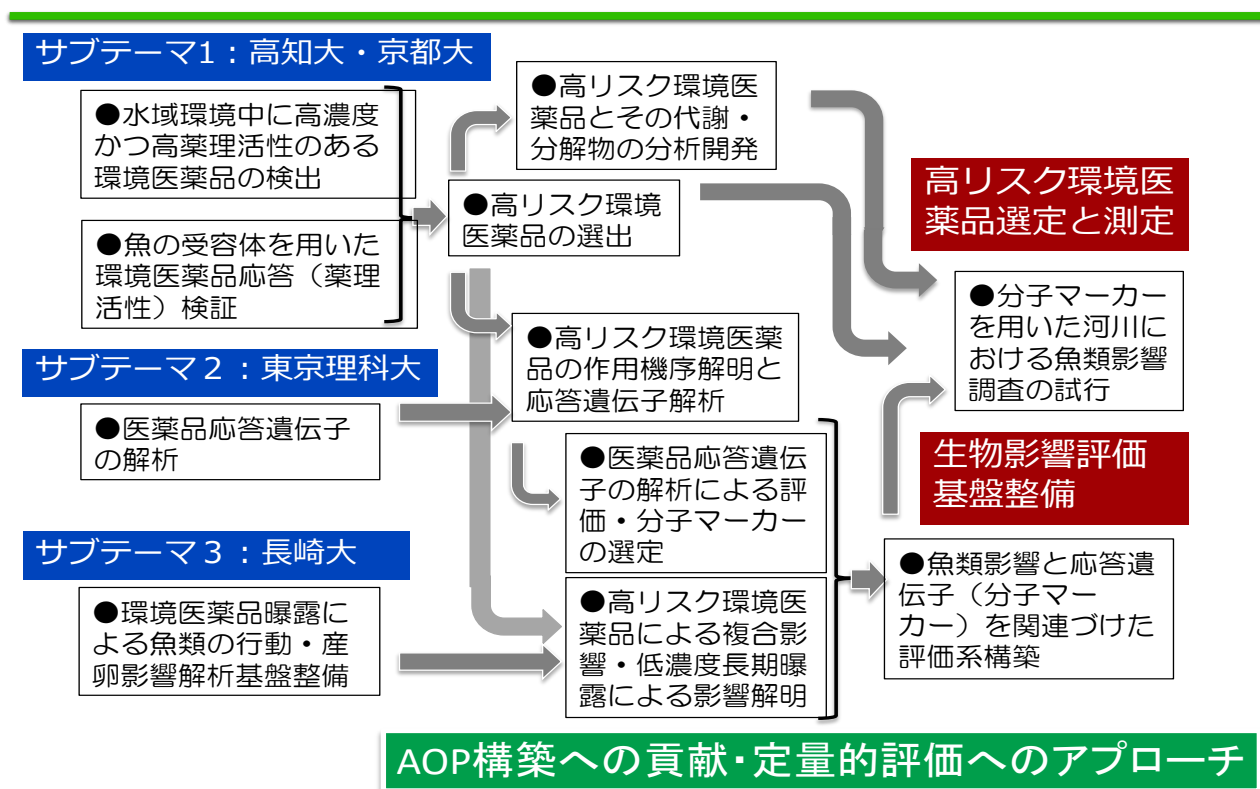
# 1. 研究背景、研究開発目的及び研究目標

## 研究目標（全体）

サブテーマ1：環境医薬品の魚受容体に対する薬理活性とその環境動態の把握（高知大学・神奈川大学）

サブテーマ2：環境医薬品の分子応答メカニズム解析（東京理科大学）

サブテーマ3：魚類を用いた環境医薬品の行動・繁殖影響解析（長崎大学・高知大学）



## 2. 研究目標の進捗状況（1）進捗状況に対する自己評価（サブテーマ1）

### サブテーマ1：環境医薬品の魚受容体に対する薬理活性とその環境動態の把握

#### サブテーマ1の研究目標

- 培養細胞試験による医薬品に対する魚類(メダカ・アユ等)受容体の薬理活性の解明。魚類曝露試験(サブテーマ3)で優先して評価すべき高リスク環境医薬品の選定。
- 魚体内での環境医薬品応答機構解明につながる医薬品の魚受容体反応解析(サブテーマ2への情報提供)。
- 河川及び下水処理場放流水における高リスク環境医薬品の存在実態の把握。魚の体内における医薬品やその代謝物の動態把握。

#### 令和4年度研究計画

- 魚受容体(メダカ・アユ)を用いた培養細胞試験によって、魚受容体に対する環境医薬品の薬理活性の網羅的解明。
- 河川と流域内の下水処理場の放流水の溶存態および懸濁態中の抗うつ薬成分の濃度計測。魚体や餌試料の分析手法の検討。

#### 令和5年度研究計画

- メダカ・アユで新たにクローニングされた魚類受容体も用いた医薬品の魚受容体に対する薬理活性試験の継続。培養細胞試験の結果から魚類への高リスク医薬品を提示。
- 関東地方等の河川と流域内の下水処理場の放流水（溶存および懸濁態）、河川底質中の抗うつ薬成分の濃度計測。

#### 令和6年度研究計画

- 培養細胞を用いた医薬品の魚受容体に対する薬理活性試験の継続。
- 河川と流域内の下水処理場の放流水（溶存および懸濁態）および河川底質の抗うつ薬成分の濃度の計測の継続。医薬品の魚類への取り込み経路と体内動態の評価。

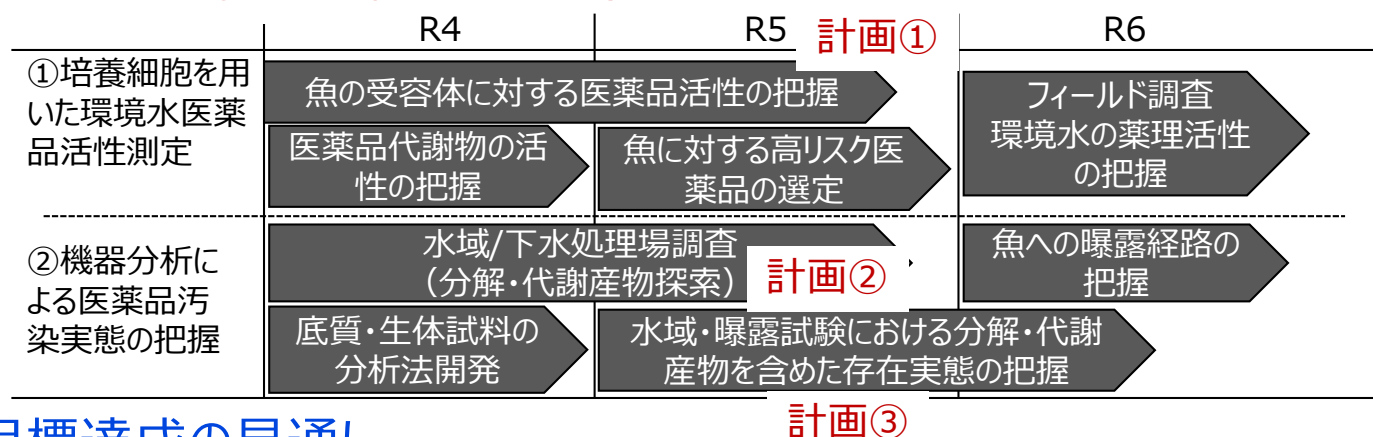
**【事項評価】 計画通りに進展している**



## 2. 研究目標の進捗状況 (2) 自己評価に対する具体的な理由・根拠と目標達成の見通し (サブテーマ1)

### 成果に基づく自己評価とその理由

- GPCR阻害薬や抗うつ薬は、ヒトよりも魚の受容体を強く阻害する場合があること、ヒトでも魚でも複数の受容体を阻害すること、代謝物も阻害活性を保つことを明らかにした。**計画① 中間報告書 (図1-6)**
- 鶴見川流域における高リスク医薬品類の存在実態を明らかにし、先行研究において実施された淀川水系での調査結果と比較した。地域によらずこれらの医薬品による汚染が恒常的に発生していることを明らかにした。**計画② 中間報告書 (図7,8)**
- 医薬品類の魚体内の動態については、chlorpromazineを対象として脳内におけるそれを調べ、代謝物も含めた解析を行った。**計画③ 中間報告書 (図10)**



➤ 医薬品の薬理活性、環境分析、魚体内動態など、当初掲げた計画通りに進んでいることから、「**計画通りに進展している**」と評価した。

### 目標達成の見通し

目標とする

- 魚類受容体を用いた高リスク環境医薬品を選定と水環境における薬理活性の把握
- 河川、下水処理場放流水、魚体内における、高リスク環境医薬品の存在実態把握は、達成可能

➤ 医薬品の薬理活性と河川等の存在濃度から、魚類への影響および生態系への影響を評価することは十分可能であると考えられる。

## 2. 研究目標の進捗状況（1）進捗状況に対する自己評価（サブテーマ2）

### サブテーマ2：環境医薬品の分子応答メカニズム解明

#### サブテーマ2の研究目標

- 高リスク環境医薬品に対する生物応答を、メダカ・アユの脳や生殖腺の転写産物・代謝物の変動解析によって、分子レベルで解明。（サブテーマ1への情報提供、サブテーマ3の曝露試験の結果と連携した評価系構築へ）。
- メダカやアユの脳や生殖腺における医薬品応答遺伝子発現の時空間的に解明。
- 影響評価法の根拠の裏付けとなる魚類の医薬品応答に対するAdverse Outcome Pathway (AOP) の構築。（サブテーマ1、3の成果と融合）。

#### 令和4年度研究計画

- 医薬品曝露したメダカの脳や生殖腺のトランスクリプトーム解析とメタボローム解析の実施。
- 環境医薬品影響の発現機序を理解するための行動変化や繁殖にリンクした遺伝子発現や代謝物の同定

#### 令和5年度研究計画

- アユも含めたオミクス解析を継続実施と分子マーカーの選定。遺伝子発現から環境医薬品影響の表現型を予想するかを検討（サブグループ3との協力）。
- 定量RT-PCRや*in situ*ハイブリダイゼーション法などによる、医薬品応答が起きるメダカの脳領域の決定（サブグループ1との協力）。

#### 令和6年度研究計画

- オミクス解析および分子マーカー解析から、影響評価法の根拠の裏付けとなるメダカとアユの医薬品応答を解明。これを基盤として魚類の医薬品応答に対するAOPを構築。

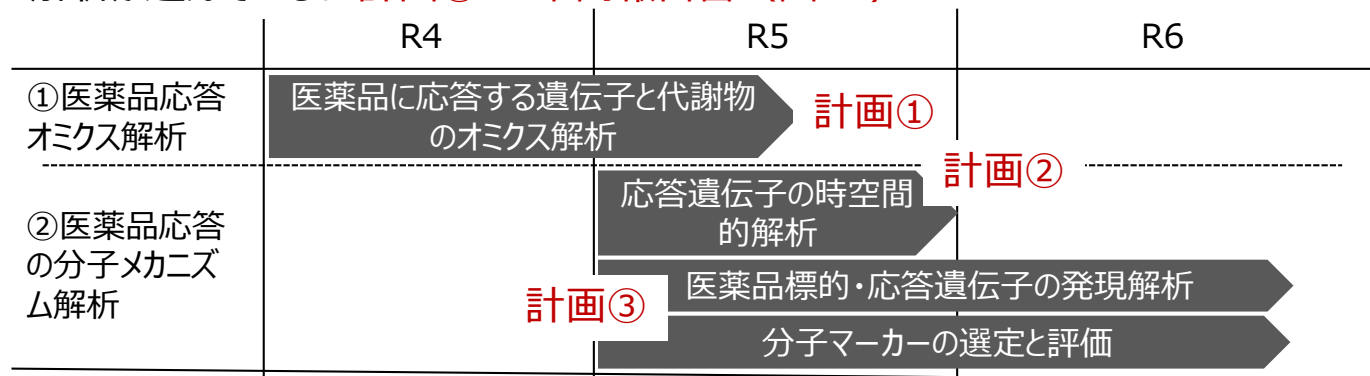
**【事項評価】 計画通りに進展している**



## 2. 研究目標の進捗状況 (2) 自己評価に対する具体的な理由・根拠と目標達成の見通し (サブテーマ2)

### 成果に基づく自己評価とその理由

- 医薬品類曝露によって引き起こされる異常な行動や生殖への影響がみられる条件下で、網羅的なメタローム解析とトランスクリプトーム解析を実施し、作用機序解明と評価に用いる分子マーカー選定に向けた初期解析を終えている。計画① 中間報告書 (図11-14)
- 異なる曝露条件で変動した代謝物 (群) や遺伝子 (群) の個別解析を開始しており医薬品曝露によって体内で起きている現象を、分子レベルで着実に捉えつつある。計画② 中間報告書 (図12-13)
- 医薬品の標的候補であるモノアミントランスポーターの *in situ* hybridization 解析により、医薬品応答が起きる脳内の領域の解析が進んでいる。計画③ 中間報告書 (図15)



➤ 医薬品の作用機序解明と評価に最適な分子マーカーの選定に向かって、当初掲げた計画通りに進んでいることから、「計画通りに進展している」と評価した。

### 目標達成の見通し

目標とする

- 医薬品応答遺伝子の解析による評価・分子マーカーの選定
- 魚類影響と応答遺伝子 (分子マーカー) を関連づけた評価系構築は、達成可能

➤ 影響評価法の根拠の裏付けとなる魚類の医薬品応答に対するAOP構築につなげることは十分可能であると考えられる。

## 2. 研究目標の進捗状況（1）進捗状況に対する自己評価（サブテーマ3）

### サブテーマ3：魚類を用いた環境医薬品の行動・繁殖影響解析

#### サブテーマ3の研究目標

- 高リスク環境医薬品の低濃度・長期曝露により、魚類の各発達段階における成長や繁殖への影響を解析（サブテーマ1、2と連携）。
- 実環境を想定した高リスク環境医薬品の複合曝露による行動・繁殖機能への影響解析（サブテーマ1、2と連携）。
- 分子マーカーの利用を含めた高リスク環境医薬品の魚類影響評価試験法開発推進（サブテーマ2と連携）。
- アユを対象とした河川調査の実施し、実環境に生息する魚類を用いた評価の有効性を検証（サブテーマ1、2と連携）。

#### 令和4年度研究計画

- メダカとアユを用いて、長期間・低濃度での抗うつ薬・抗精神病薬の単独曝露による影響解析を実施。
- 下水処理水など、複数の抗うつ薬・抗精神病薬が混在する実環境を想定した複合曝露による行動・繁殖機能への影響解析。

#### 令和5年度研究計画

- 前年度に引き続き、長期間・低濃度曝露、複合曝露の影響解析を実施。
- 河川におけるフィールド調査地点の準備・予備調査の実施。

#### 令和6年度研究計画

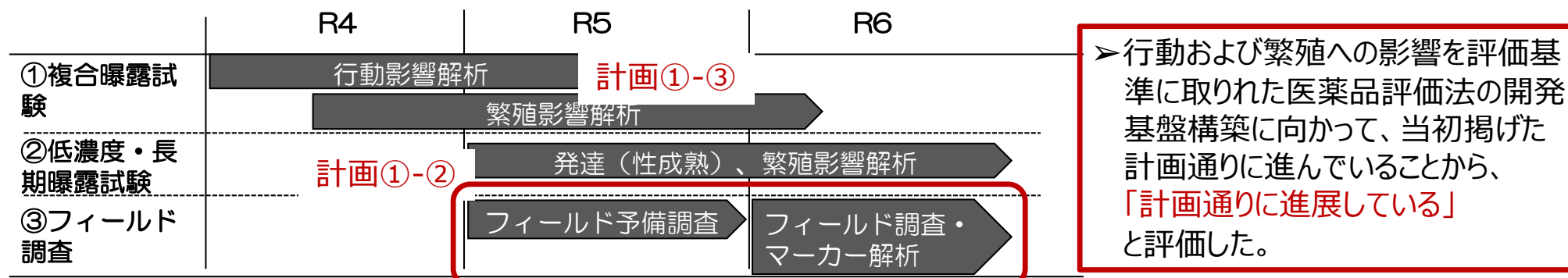
- グループ全体で構築した環境医薬品のAOPに基づき、バイオマーカーの利用を含めた簡便かつ有効な抗うつ薬・抗精神病薬の魚類影響評価試験法開発に向けた以下の取り組み実施。1）行動の異常を引き起こす環境医薬品群を構造的・機能的特徴の整理、2）環境医薬品影響を評価する異常行動の基準化。3）分子応答からの環境汚染強度を推定する技術。
- アユを対象としたフィールド調査の実施と、分子応答による評価基準の決定。

**【事項評価】 計画通りに進展している**

## 2. 研究目標の進捗状況（2）自己評価に対する具体的な理由・根拠と目標達成の見通し（サブテーマ3）

### 成果に基づく自己評価とその理由

- メダカを用いた実験により、正確な単独医薬品（抗うつ薬および抗精神病薬）の行動および最小影響濃度（LOEC）および最大無作用濃度（NOEC）を明らかにした。**計画① 中間報告書（図16, 17）**
- 複合曝露によって、個々の医薬品濃度がメダカの生理機能（行動・繁殖）に対して無作用濃度であっても、それら医薬品が相加的に作用することで有意な影響を引き起こすことを突き止めた。**計画② 中間報告書（図16,17, 表2）**
- アユとメダカの曝露試験により、魚種によって同じ医薬品でも誘導される異常な行動に違いがあることを明らかにした。**計画③ 中間報告書（図18-21）**



### 目標達成の見通し

目標とする

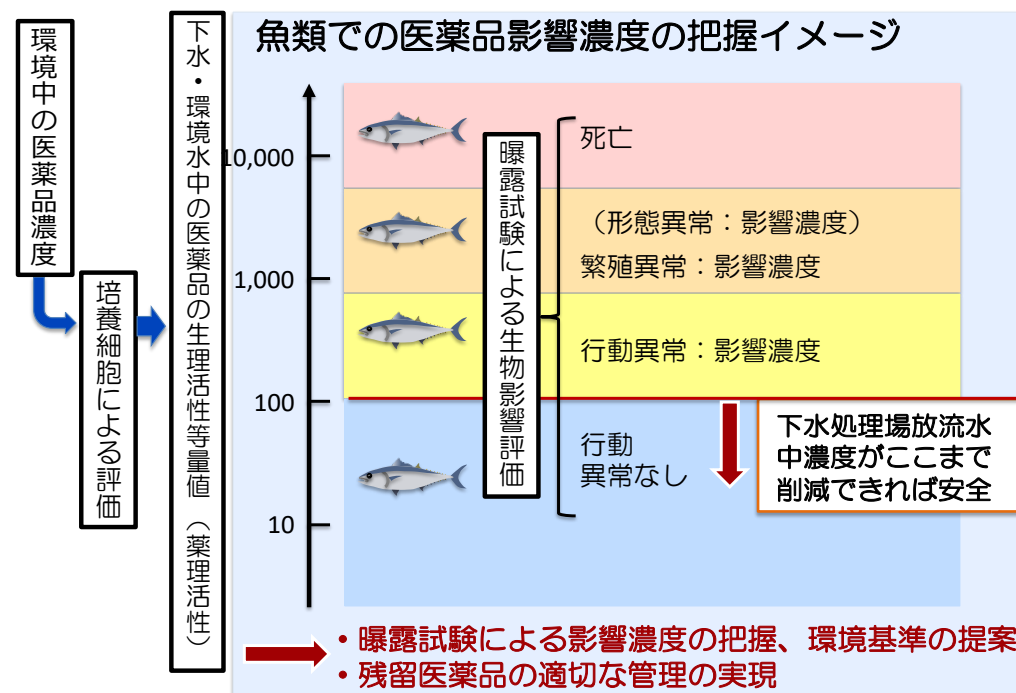
- 行動をエンドポイントとした環境医薬品評価
- 医薬品の次世代生産による生態系影響評価は、達成可能

➤ フィールド調査：コロナの影響もあり、予備調査の遅延が認められるが、R6年度に集中して実施予定

➤ 環境中の医薬品動態と薬理活性、体内での作用機序と結びつけた個体応答の理解、とそれに基づく新たな評価法の提案は可能である。

### 3. 研究成果のアウトカム（環境政策等への貢献）

- ✓科学的に検証した医薬品の環境動態と水生生物影響の知見に基づいた評価試験法を国として整備する必要がある。
  - 本研究はその学術的基盤となる知見を提供。
  - 令和4年度第2回PPCPsによる生態系への影響把握研究班会議（令和4年11月22日）において、成果を報告。
- ✓医薬品の適切な取り扱いと健全な生態系維持のための水域環境管理が必要とされる。
  - 魚類に対して強い影響を持つと推定される抗うつ薬や医薬品由来の化学物質の代謝物の情報を提供。
- ✓今後世界的に必要とされる「行動を含めた生物応答を評価対象に含む環境評価法」の開発が必要である。
  - 環境医薬品によって誘導される異常な行動の情報と、それが魚種によって異なるなどの情報を提供。
- ✓医薬品を下水処理でどこまで削減すべきかの基準の提案につながる科学的情報を提供し、我が国の環境政策の立案に貢献する。
- ✓環境負荷の少ない医薬品開発の科学的情報を提供する。



## 4. 研究成果の発表状況

---

### 【誌上発表(査読あり):1 件】

- ・H. ZHANG, D. KATO, O.M. IHARA, M.D. JÜRGENS, A.C. JOHNSON, J. CHEN, H. TANAKA AND M. IHARA: Environ. Sci. Technol. 2023, 57(16), 6444-6454. (IF: 11.4) Biological-activity-based prioritization of antidepressants in wastewater in England and Japan.

### 【誌上発表(査読なし):5 件】

- ・G. YAMAGISHI, T. IGUCHI and S. MIYAGAWA:  
Epigenetic regulation of sex determination and toxicity in non-mammalian vertebrates, Wiley, 415-448 (2022)  
Genomic and Epigenomic Biomarkers of Toxicology and Disease: Clinical and Therapeutic Actions. (執筆担当: 山岸弦記、宮川信一)
- ・征矢野清: 季刊「Ebuheb (エブオブ)」海の環境NPO法人OWS, vol. 85, 2-5 (2022)  
環境医薬品による新たな水域汚染を考える

### 【口頭発表:17 件】

- ・H. TANAKA, M. IHARA, N. NAKADA, H. ZHANG, H. YAMASHITA, S. HANAMOTO: The 24th UK-Japan Annual Scientific Workshop on Research into Environmental Endocrine Disrupting Chemicals, On-line (2022)  
Prediction and management of emerging chemicals in the water environment
- ・宮川信一: 東京理科大学総合研究院フォーラム2022 (東京) (2022)  
環境中に存在する化学物質の生物影響
- ・長江真樹、Ha Jeongchul、松田莉奈、韓語笑、岩田桃子、中田典秀、莚平裕次、井原賢、宮川信一、村田良介、征矢野清: 環境化学物質3学会合同大会 (徳島) (2023)  
メダカ繁殖機能に及ぼすヒト医薬品の複合曝露影響

### 【国民との科学・技術対話:4 件】

- ・中田典秀、環境保全に関する中高生対象講演会「とやまの環境を考えよう」(オンライン、魚津工業高等学校)、2022年10月、私たちの健康と環境～私たちが飲んだ薬はどこへ行く? (約50人)
- ・【予定】一般公開シンポジウム「環境医薬品問題を考える(仮)」、(主催: 本プロジェクト、2023年11月25日、北海道大学獣医学部、札幌)にて講演

## 4. 研究成果の発表状況

### 実施済み

#### 特別企画3 環境医薬品の最新動向に関するシンポジウム

#### 環境化学物質3学会合同大会

(第30回環境化学討論会、第24回環境ホルモン学会研究発表会、第26回日本環境毒性学会研究発表会)

2022年6月14日(火)～16日(木)

富山国際会議場

15:20-  
井原賢(高知大学)：環境医薬品の生態毒性研究の最新動向

15:40-  
征矢野清(長崎大学)：魚類の次世代生産や行動に与える環境医薬品の影響を明らかにすることの意義：淡水域生態系における重要種アユに及ぼす環境医薬品の影響を例として

16:00-  
長江真樹(長崎大学)：抗うつ薬および抗精神病薬のメダカの行動および繁殖機能への影響

16:16-  
宮川信一(東京理科大学)：魚受容体のクローニング、医薬品曝露での遺伝子変動

16:32-  
中田典秀(神奈川大学)：環境医薬品の水環境存在実態

### 予定

【5-2204】主催シンポジウム 環境医薬品問題を考える(仮題)

2023年11月25日(土曜日) 北海道大学、札幌

共催：北海道大学獣医学研究科



## 5. 研究の効率性

---

- 本研究では、環境医薬品の新たな影響評価手法の開発に向けて、高リスク環境医薬品の選定と生物影響評価の基盤整備を進めているが、環境医薬品に対する新たな評価系を構築するにあたり、水環境中の環境医薬品の濃度および薬理活性（サブテーマ1）、魚に取り込まれた後の分子応答（サブテーマ2）、その結果として現れる行動変化と繁殖影響（サブテーマ3）について、知見の相互理解と利用を進めながら、研究に取り組んでいる。
  - 定期的な会議に実施：2022年度は高知、富山、長崎にて、2023年度は徳島、札幌にて研究会議（一部オンライン）
- 上記の活動と関連し、毎年学会等において共同でシンポジウムを開催している。
  - 2022年は富山で開催された環境化学物質3学会にて、2023年は11月に札幌（北大）でシンポジウムを開催（予定）。
- 経費は、サブテーマによって必要とする機器や補助人材などが異なることから、全体で協議し、最適化を図っている。
- 環境研究に携わる若手人材育に向けて、学部学生、大学院生、若手研究者を交えた交流会を実施、計画している。