

【5-1556】 化学物質による生態影響の新たな評価体系に関する研究

(H27-29 66,264 千円)

研究代表者 鑪迫 典久 (愛媛大学)

1. 研究実施体制

- (1) 繁殖影響試験など長期かつ多世代の影響を評価する試験法の開発 (愛媛大学 H29 / 国立研究開発法人国立環境研究所 H27~28)
- (2) 生態系を構成する主要生物を用いた試験法の研究および特殊な物性や作用を持つ物質を対象とした評価法の研究 (国立研究開発法人国立環境研究所)
- (3) *in vitro* 毒性試験・*in silico* 解析や作用メカニズムに基づく毒性予測手法の研究 (国立研究開発法人国立環境研究所)

2. 研究開発目的

諸外国の化学物質管理制度に用いられている生物試験法の動向を把握し、現行の化学物質審査法に補完すべき試験法の妥当性を検討し、新たな生物試験法を含めた次世代の化学物質評価体系案を提案する。まず、諸外国の試験法を精査し、その特性を明らかにした上で、我が国での必要性、実行可能性を検討し、重要度の優先順位を付けてリストを作成し、長期かつ多世代の影響を評価する試験法、新たな生物種を用いた試験法、特殊な物性や作用を持つ物質を対象とした試験法、*in vitro* 試験や *in silico* 解析など作用メカニズムに基づいた毒性予測手法を対象としてそれぞれ国内への導入を検討する。

魚類拡張一世代試験と多世代毒性試験法のエンドポイントの比較を行うことにより、多世代試験の必要性について考察する。具体的には既存のメダカ拡張 1 世代試験 (MEOGRT) の曝露期間を延長することにより魚類の多世代毒性試験とした。さらに、既存の OECD テストガイドラインの繁殖をエンドポイントとする No. 229 と 2 次性徴をエンドポイントとする No. 234 を続けて行い、1 世代と 2 世代の感受性比較をすることにより、多世代試験の有効性を検証する。

化学物質の環境中動態を考慮し、陸域、土壌、底質、海域に生息する生物を用いた試験法導入の必要性が考えられた。そこで試験作成されたリストに基づき、陸生植物、土壌生物、底生生物、海産生物を用いた試験法について、実際に標準物質を用いて毒性試験を行い、我が国への適用可能性について検討する。さらに動物愛護の観点からゼブラフィッシュの「胚期」と「仔魚期」における化学物質に対する「致死・亜致死影響」について検討する。

分子レベルから個体レベルの影響に至る化学物質の作用メカニズム (AOP) に基づいて、*in vitro* 毒性試験、*in silico* 解析など、迅速かつ簡便で高精度な毒性予測が可能な試験法について我が国での必要性、実行可能性を検討する。ミジンコ幼若ホルモンの

AOP を構築する。また、諸国ですでに規制に導入されている *in vitro*、*in silico* 試験について我が国に導入可能な試験法であるかどうかの検討を行う。

上記の導入可能な試験法を効率よく使用するためのアルゴリズムを考案した。

3. 本研究により得られた主な成果

(1) 科学的意義

本研究では、2種類の魚類多世代試験を実施した。今回用いたノニルフェノールでは魚類多世代試験と拡張一世代繁殖試験を比較する事によって、多世代試験の効果と意義を確認した。今回の被験物質では多世代試験の方が感受性は高かったが、拡張一世代繁殖試験との差は大きくなかったため、拡張一世代繁殖試験で十分に化学物質管理に役立てることができるかと判断された。化学物質の環境中動態を考慮すると、陸生、土中、底質、海域に生息する生物の試験について知見を得ておくことが望ましい。それら生物試験は国内生物種で試験を行う上で幾つかの技術的な課題を解決した。

特殊な物性・作用を持つ新興化学物質の中で、ネオニコチノイド系農薬に相応しいユスリカ試験法を検討した。内分泌かく乱化学物質は日本の EXTEND2016 で使用されている *in vivo* 試験と *in vitro* 試験は、試験数と対応可能なホルモン受容体の種類において、国際的に見て最も広範囲の作用に対応していることが確認された。ヨーロッパ諸国では *in vitro* 試験としてゼブラフィッシュの胚試験が活発に行われているが、その試験法と初期胚仔魚試験法 (TG212) の感受性比較を行い TG212 の優位性を確かめた。

国外では試験期間/費用の削減、動物愛護の観点等から、生物試験の削減や代替試験法の開発が進められており、QSAR をはじめとする簡便かつ迅速な毒性予測手法の利用も進められていた。それらは、農薬関連の一部を除いて、まだ政策に使用するには十分な情報が揃っていないが、今後は積極的に導入していかなければならない。

ネオニコチノイド系農薬はミジンコに効かないためユスリカ幼生の急性毒性試験が農取法等で推奨されているが、国内産ユスリカを使った試験法を提案できた。

本研究で様々な試験法を開発したが、MAD でそれらのデータが輸入された場合にも、それらの知見を有しているため妥当性や信頼性の評価が可能となる。

上記の生物試験の集大成として、試験を減らすことに主眼を置いた試験選択アルゴリズム案と化学物質に予想される曝露経路を基に試験法を選択するアルゴリズム案を提案した。ただし、現行の生物試験体系を否定するものではなく、将来試験数が増加した場合の参考となることを期待する。

(2) 環境政策への貢献

<行政が既に活用した成果>

- 1) ネオニコチノイドの評価系の一つである国内産ユスリカを用いた急性毒性試験は、農薬取締法の中で試験実施が決められたが、民間の試験機関内でうまく実施することが

出来なかった。生態影響に関する化学物質審査規制/試験法セミナー（「国民との科学・技術対話」の実施）を通じてノウハウを伝える事により試験実施が実現した。

- 2)環境省 EXTEND2016 の中で確定試験に位置づけられている、メダカ拡張一世代繁殖試験は多世代試験ではないという意見があったが、本研究の成果から、多世代試験とほぼ同等の試験であることが示された。このことは、EXTEND2016 がリスク評価に十分な枠組であることが証明された。
- 3)EU で採用されているゼブラフィッシュの胚試験（FET）を日本でも急性毒性試験の代替法として採用できるかどうかの検討がされていたが、化学物質の卵膜透過性などの問題があることが本研究の初期胚仔魚試験法（TG212）の感受性比較から明らかとなり、FET の採用可否判断の材料となった。
- 4)OECD が世界に参加を呼びかけている AOP-wiki（web プラットフォームの百科事典）に、ミジンコ幼弱ホルモンの AOP を登録し、国際的な研究協力に貢献した。生態毒性試験分野では日本初である。

<行政が活用することが見込まれる成果>

生物種や試験方法によって応答する化学物質が異なるため、試験の種類が増えると様々な化学物質の影響をカバーできるようになることが予測できた。年々増加している化学物質はその種類も増加しているため、それらに対処すべく生態毒性試験を充実させていく必要が生じることが予測できる。しかしすぐに国内の管理体制の中に生物試験を増やすことは難しい。そこで化学物質管理分野での化学品安全性データの相互受理（MAD）を利用すれば、他国にて規制目的で作成された試験データを受け入れることができる。MADによって様々な試験結果を受け入れることができる国内の素地を作ることが必要であり、本研究の成果により、日本で採用されていない試験法の結果でも十分に活用できる可能性が示されたことは意義がある。

また、持続可能な生態系を保全することが化学物質管理の一つの目標であり、そのためにまず次世代に影響が無いように生物個体群を維持することが必要であり、近年になり長期・多世代試験法が開発されているが、本研究でそれらの知見を深め、国内での実施可能性を示したことは重要である。

4. 委員の指摘及び提言概要

全体としては、所定の成果をあげたと評価される。しかしながら、諸外国の最新情報の整理や提供の意義は認められるが、成果はあくまでわが国における各生態影響試験の必要性、優先度や適用可能性に対する研究でなければならない。現時点での成果は、諸外国の生態影響試験の評価にとどまり、経常的な研究の域を越えていないと考える。また、本課題で開発した試験法に新規性は乏しく、例えば、多世代影響試験法を提案したが、多世代試験の必要性を強く示唆するものではない結果が得られている。

5. 評点

総合評点：A