

## 巻頭言

## 化学物質と教育改革

教育問題が盛んに論じられており、殺伐とした社会環境が心の教育の不足によるものともいわれこの点を重視しなくてはならないとされている。この点はたしかに戦後の物質文明重視の教育の欠陥といっても否定できないし、人間教育が重要であることは誰も肯定するものであるが、果たしてこれからの時代にこれだけで平和で豊かな、そして、意義ある人生を過ごして行けるのであろうか。これからの日本がIT、バイオ、宇宙の時代を率先して切り拓き、豊かで平和な社会形成を目指すのであれば、そして、日本人の特技を生かした技術立国を考えるのであれば、現在もっとも深刻な問題として提起されねばならないことは若人の理科ばなれの現実ではないかと考える。世界的にみて日本の若人の学問的实力は過去の栄光から遥かに落ちて二流どころとなってしまったといわれている。たしかに若い人達の間で携帯電話、コンピューターの普及は凄まじくその操作に関しては見事なものである。そして、初等教育へのコンピューターの導入が鋭意推進されている。この方針は確かに素晴らしいことかもしれないが、このことだけに終始すれば、それは単なるオペレーターの養成に過ぎないものであって、その原理、原則の発明、発展に寄与するものにはなり難いだけでなく、計算、言語、思考能力の減退にも繋がるのではないだろうか。理科の基礎学力の欠如した人にとって、これからの急速に進歩する科学社会に適応して行けるかどうか大きな疑問であるし、そうなればこの国はどうなるのであろうかと危惧するのは私だけではないと思う。ましてや昨今の『ゆとりある教育』と称する指導は、誤れば学力低下教育といっても良く、海外の優れた科学者や実業家のもとにオペレーターなどとして雇われ（少子であるから就職は楽である）外国資本に占拠された日本において被雇用者として家庭生活に満足している日本人社会の

財団法人化学物質評価研究機構  
理事長 近藤 雅臣

到来は必定であり、その頃は我々は存在しないにしてもこのような情景は見たくもないものである。むしろ崇高な人間性はもちろん、科学的知識を兼ね備えた知識社会の創造が望ましくそのための教育を今は始めるべきであろうと考えている。その中で化学物質の課題について考えてみたい。

いわゆる公害問題発生以来、今までに経験したことのない化学物質による被害をとおして、後追いの環境科学、行政から先取りの科学、行政への進展がみられつつあり、同時にジャーナリスト、一般国民の関心が高まって、環境汚染に関する科学的知識の向上による汚染防止への合理的取組ができるころまで進歩してきた。新しいサイエンスが勃興するときは、その行き着くところを目指して留まることのない急速な競争の進展がはじまり、まわりを顧みない風潮が過去において見られたことは記憶にも新しい。この現象はまさに陽光燦然たるころ影もまた濃しのたとえどおりであって、その影が公害問題としてのヒトの生活、環境破壊にまで影響したのである。まさに、先端科学は陽光燦然たる陽の科学であるが、この進展に伴って生じるかも知れないリスク、ハザードを未然に防止する科学すなわち陰の科学の共同的発展を期待する世界となってきた。したがって、これからの世界は科学的知識の基礎の上に豊かで充実した生活を送るための多くの選択肢をもった方向に進展するものと予測され、国或いは法律によって安全、平和な生活の最低線は担保されるにしても、その上の生活への要望を満足させるためには、与えられた多くの選択肢を自らに有利なものであるかどうかを選択する能力を身に付けなくてはならない世の中になるものと考えられる。そして、それが情報公開とそれに対する知的社会としての国民の判

## CONTENTS

## 巻頭言

「化学物質と教育改革」財団法人化学物質評価研究機構理事長 近藤 雅臣

## 本機構の活動から

・第6回化学物質評価研究機構研究発表会報告

特集1(化学物質安全部門)

・久留米事業所

## 競輪補助事業完了のお知らせ

外部発表

・論文投稿

化学標準物質の指定校正機関について

無料クロマトセミナー

断力であり、その判断力を養成するための理科教育が必要となってくる。

化学物質はあらゆる科学の発展の基礎を担う重要で必須の素材であることはいうまでもないが、過去のように合成、製造、販売という単純なものではなくなってきたし、その経路すべてにおいて安全性が問われる世の中になってきた。すなわち、化学者、化学技術者が化学の知識を持っているだけでは通用しない時代になってきたのである。毒性学、生命科学などをふくめた環境科学の広い分野の知識を兼ね備えていなくてはならない時代になってきた。私はこのような学問をあまり良い名称ではないが化学物質学と呼んでいる。さて、このような時代において今の中等教育における化学を含めた理科教育の実態はどのようなものだろうか。最近の調査では、小学校、中学校、高等学校と学年が進行するにつれ、理科が判らない、難しい、嫌いと思っている学生が増加しており高等学校では70%程度がこの部類に入るともいわれている。この原因については種々考えられるが、ひとつは教師の問題ではないだろうか。理科を得意とする先生は大学において科学を専攻した優秀な人材であることは間違いないが、それぞれの科目に生徒の興味を集中させる教育技法をマスターしているかどうかを考えなくてはならない。いかに学問的に立派な学者であっても、その人が必ずしも優秀な教育者とは限らないからである。そのような意味での専門教育者の養成が大切ではな

いだろうか。もうひとつは、実験が少ないことである。危険性を考えるあまり、十分な実験が行われていないのではないだろうか。科学への興味は実験を通じて、その不思議さ、疑問、そして、その解決への努力の面白さから起こってくるのではないだろうか。この点に関しては、産業界からの支援で充実するのではないかと考える。化学会社は化学教育にも貢献すべきであろうと思っているし、工場、研究所の一部に指導者をつけて生徒達に開放するののひとつの方法であろう。一方、高等教育においてはまず、知的成熟社会の構築に向けて文科系、理科系を問わず共通の基礎学習としてサイエンスの基礎を学ぶことにより安全性への正しい理解、生残への道を理解させることであろう。団体のトップがこれらの知識を持たなければ社会的使命を果たせない時代がきているからである。大学においては化学物質学部なるものを創設し、従来の化学系、薬学系、農学系、食品化学系、環境技術系などを包含し、基礎学習を共通のものにするのも一案であろう。また、上記の各系を学科としてもつ独立した化学物質大学の創設も考えてみてはと思う。これらの教育を受けた人達は、これまでとは違った技術者、社会人として活躍してくれるのではないが、P R T Rの実施をはじめ情報公開の時代において、自信のもてるデータが公表でき、また、それを冷静な科学的見識により批判できる知的社会が構築されるならばこれほど結構なことではないと考えている。

## 本機構の活動から

### 第6回化学物質評価研究機構研究発表会報告

本機構は6月14日、経団連会館で第6回化学物質評価研究機構研究発表会を経済産業省のご後援により開催しました。発表会には400名弱の方々にご参加いただき、無事終了いたしました。

今回の発表会は「安全で安心できる社会を目指して」をサブテーマに本機構理事長近藤雅臣の挨拶ではじまりました。基調講演として、経済産業省製造産業局化学物質管理課化学物質安全室の野中哲昌室長に「化学物質の総合管理について」という演題でご講演いただきました。

化学物質の利用が広がる中で化学物質の安全性に係る関心が高まっています。このため、化学物質の有害性に関する科学的知見の充実を図るとともに、多種多様な取扱い実態に即した適切な管理を促進するために、化学物質管理促進法の施行、化学物質総合評価管理体制の構築、内分泌かく乱物質問題への対応、化学物質審査規制法の施行、有害大気汚染物質対策、国際協調などの諸政策についてお話しいただきました。

特別講演は、東京大学生産技術研究所の安井至教授に「ライフサイクルアセスメントは環境負荷を総合的に評価できるか」という演題でご講演いただきました。

環境負荷による影響を定量的に表現する方法としてのライフサイクルアセスメントについて、その歴史と現況、実施方法など貴重な内容であり、参加されました皆さんも熱



研究発表会

心に聞き入っていらっしゃいました。なお、講演に使用された資料は、先生個人のホームページ

( [http://plaza13.mbn.or.jp/yasui\\_it/](http://plaza13.mbn.or.jp/yasui_it/) )

で公開されています。

お二人のご講演の間に、本機構職員が研究の一端として「既存化学物質安全性点検事業の加速化」、「ラット<sub>2u</sub>-globulin と内分泌攪乱物質スクリーニングへの応用の試み」、「ゴム・プラスチック製品の事故原因調査とその手法開発」、「遺伝子トラップ法を用いた遺伝子改変マウス作製及び遺伝子機能解析への応用」について日頃の努力と成果を紹介いたしました。

発表会は定刻に終了し、引き続き懇親会が行われました。この懇親会では、発表会の限られた時間で討議できなかった課題について、発表者と聴講者の間で熱心に議論が交わされていました。

今後も皆様にとりまして有意義な公開研究発表会にしたいと考えておりますので、今後ともよろしく願いいたします。

#### - <本機構の職員による発表の概要> -

##### 発表1 既存化学物質安全性点検事業の加速化

久留米事業所 辻 敏昭

現在までに既存化学物質の安全性点検が終了した物質は約1,200物質で、既存化学物質全体(約20,000物質)の約5%程度である。今後も従来手法で実施すると膨大な時間と費用が必要となる。平成17年度までに、早急な安全性確認が求められる物質群(PRTR物質を中心に決定)を対象とする分解性、濃縮性及び物理化学性状試験を実施する。また、既存データ及び平成17年度までに実施する既存化学物質点検のデータを用いて、分解性、濃縮性に関する化学物質特性予測システムを開発する。

##### 発表2 ラット<sub>2u</sub>-globulin と内分泌攪乱物質スクリーニングへの応用の試み

安全性評価技術研究所 武吉 正博

<sub>2u</sub>-globulin (AUG) は成熟雄ラットの血清及び尿中に存在する分子量約19kDaの蛋白質であり、肝臓で生合成される。AUGの生合成や遺伝子の転写は各種ホルモン(Estrogen、Androgen、Growth hormone等)によって影響を受け、特にEstrogen暴露によって肝臓でのAUG遺伝子の転写や血清AUGレベルは著しく減少することが知られている。

本機構ではSandwich ELISA法によるラット血清中のAUGの測定方法を開発し、そのEndocrine Disrupter screening法への応用の可能性について検討した。

本法を用いてDiethylstilbestrol (DES)、Bisphenol A及びEthinylestradiol (EE)を無処置雄ラットに投与した際の血清AUG濃度の変動を観察した結果、DES及びEE投与によって著しい減少が認められ、病理組織学的に

精巢の萎縮性変化を認めなかった動物においても明らかな血清AUGの低下が認められている。また、Bisphenol Aの投与によっても用量依存的な血清AUGの減少が認められた。LH-RH antagonist (Antide)を動物に投与した実験、Hershberger assay protocolに準じて行った実験においてAUGの生合成に男性ホルモンが重要な因子となっていることが示唆され、血清AUGの測定によってはEstrogen作用物質の直接影響のみでなく、視床下部-下垂体-性腺軸を介する内分泌かく乱に関しても捕らえることが可能であると思われる。本蛋白質は通常行われている化審法28日間反復投与毒性試験などの試験試料を用いて評価することが可能であるため、Endocrine Disrupterの新規生物指標として有用と思われる。

##### 発表3 ゴム・プラスチック製品の事故原因調査とその手法開発

東京事業所 大武 義人

最近、高分子技術部で行った事故原因調査の中から、すでに成書\*になっている「フッ素ゴム製船尾管シール材の水劣化」及び「ポリカーボネートのソルベントクラック・加水分解・疲労劣化」事例を引用し、試験の組立て、調査手法、データ解析、さらには1か月前に高分子学会で発表した研究内容「リサイクル品の遊離ラジラル量をESR(電子スピン共鳴装置)にて定量的に把えて、物性の相関性より寿命を推定する方法」等、最新の事故、劣化解析手法を紹介した。

事故原因究明は、もともとマイナーなイメージで品質管理・保障の一つとして捉えがちだが、新商品開発の礎として積極的に取り組むことを提案した。CERIにおいては、過去数百件のゴム・プラスチック、紙、繊維、金属等、様々な材料の事故解析、さらには発火、爆発原因調査を行っている。この事故解析と劣化研究の基礎データをベースに依頼者に対し迅速な分析、解析と最適な対策、処理方法を提案できることを述べた。

\* 大武、古川共書 「材料トラブル調査ファイル」日刊工業新聞社(1999)

\* 大武 「高分子材料の事故原因究明とPL法」アグネ技術センター(1999)

##### 発表4 遺伝子トラップ法を用いた遺伝子改変マウス作製及び遺伝子機能解析への応用

安全性評価技術研究所 西川 尊樹

昨年、アメリカでヒトゲノム計画の目的である構造解析がほぼ終了したと報告されたことにより、遺伝子の研究は構造を把握することから個々の機能を解析する時代へと進んでいる。ヒトゲノム計画のひとつの目的は疾患の原因遺伝子の解明であるが、遺伝子の機能を解析するにあたって、遺伝子改変マウスを用いた解析方法が有用と考えられている。その理由として、マウスは遺伝子の解析が実験動物の

中で最も進んでいること、実験動物として確立され、その系統は遺伝学的にも制御されていること、遺伝子工学および発生工学の手法が確立され応用可能なことなどが挙げられる。マウスの遺伝子を破壊することによって作製する遺伝子改変マウスは将来的に薬剤開発等に直結すると考えられ、付加価値が高く、特許の対象にもなりうることから大規模な遺伝子改変マウスの作製が日本、アメリカ、イギリス、ドイツなどで現在進行中であり、その遺伝子の機能解析も進められている。

遺伝子改変マウスの作製法は主として2つの方法がある。ひとつは化学物質のエチルニトロソウレア（ENU）による点突然変異誘発を利用する方法であり、もうひとつ

は遺伝子トラップベクターをES細胞（胚性幹細胞）に導入し、遺伝子を破壊して遺伝子改変マウスを作製する遺伝子トラップ法である。ENU法を用いた遺伝子改変マウスの作製はアメリカ、ドイツ、イギリス、日本などですでに実施されているが、遺伝子トラップ法を用いる遺伝子改変マウスの作製については、遺伝子改変ES細胞クローンの作製は大規模に行われているが、マウスの作製となるとまだ大規模には行われていない。

今回は、本機構で遺伝子トラップ法を用いて約40系統の遺伝子改変マウスを作製した経験をもとに、遺伝子トラップ法を用いた遺伝子改変マウス作製技術の概要と解析結果について報告した。

## 特集 1（化学物質安全部門）

### 久留米事業所

#### 1. はじめに

久留米事業所は日田事業所とともに化学物質の安全性に関する試験研究の実施を受け持っています。日田事業所では健康影響評価に関する試験（哺乳動物による毒性試験）を中心に行っており、久留米事業所では物理化学性状の測定、微生物での分解度試験、魚類での濃縮度試験、魚介類（藻類、甲殻類、魚類）での毒性試験、環境調査、医薬品の生体内動態及び安定性試験を行っています。研究分野ではこれらの試験方法の改良とともに、内分泌かく乱化学物質等の環境影響評価法に関する研究開発を行っています。これらの取り組みにおける最近の状況を紹介致します。

#### 2. GLP 関連

久留米事業所での試験業務は環境調査を除いて全てGLP適合で行っています。環境調査業務ではJIS Z9325（ISO/IEC9325）による試験所認定を受けております（平成13年1月15日）。試験業務では対象化学物質により適用GLPが異なっており、現在4つのGLPが適用されています。平成12年3月から1年に渡り、表1に示しました4省庁による5つのGLP適合性確認調査が行われました。1年間にこれほどの数の調査を受けるのは当事業所としても初めての経験でしたが、全て適合確認をいただき無事終了することができました。

表1 GLP適合性調査内容

GLP	対象分野	調査または査察時期	適合確認年月日
農薬GLP	物理化学性状試験	平成12年3月	平成12年 5月26日
農薬GLP	生態毒性試験	平成12年9月	平成12年11月27日
化学物質GLP	物理化学性状試験 分解度試験 濃縮度試験	平成12年8月	平成12年11月17日
医薬品GLP	トキシコキネティクス測定	平成13年2月	平成13年 5月11日
環境省GLP	生態毒性試験	平成13年3月	平成13年 3月29日

#### 1) 農薬GLP

農薬取締法に基づく農薬に関する登録手続きは、平成11年から農薬GLPの公布、物理化学性状・生態影響試験の試験指針公表及びGLP化適用拡大と近年めまぐるしく変わって来ています。これらの動きについて平成12年の年末には説明会が開催され、「農薬の登録申請に関する試験成績について」と題して1つにまとめられました。久留米

事業所では、物理化学性状試験については平成12年3月に、生態毒性試験については同年9月に施設適合確認の調査を受けました。調査では、全体としては適合しているとの評価をいただきましたが、試験系の分離に関し、被験物質を取り扱う区域の分離、または試験及び分析時におけるコンタミネーションによる汚染防止をより完璧に行うことの必要性を指導されました。9月に行われた生態毒性試験の適

合性調査においても、同様に試験器具の洗浄等の重要性について指導されました。

農薬GLPの場合、農薬検査所によって調査が行われ、この報告に基づいて農林水産省が適合確認書を発行することになっています。また、この適合書とは別に農薬検査所から「改善を要する事項」が提示され、改善対応の報告が求められ内容を確認されます。久留米事業所では共に対応が終わり無事に施設適合の確認が終了しました。

## 2) 化学物質GLP

新規化学物質に適用される化学物質審査規制法に基づく施設の査察が平成12年7月に行われました。化学物質GLPでは、施設点検マニュアル、自主点検マニュアルなど運用方針が経済産業省から公表されたり、査察時に指摘事項確認書を作成されるなど透明性が一段と進んだ感がありました。当施設は化学物質GLPの改正後初めて査察を受ける試験施設であること、国際査察(MJV)を控えていることなど、今後の査察の方向性に対して重要な査察ということで査察官の意気込みが感じられた査察となりました。分解度試験ではアニリンが対照物質としてより明確化するよう指導されました。濃縮度試験では改正濃縮度試験の実施状況についても詳しく査察されていました。査察後の講評では、信頼性保証の体制は常により良くしていくことの必要性などのご指導をいただきました。指導に対してより良いGLP組織を目指し、改善に取り組んでいます。

## 3) 医薬GLP

平成13年2月には薬事法に基づく医薬品機構によるトキシコキネティクス測定に関するGLP調査がありました。施設調査では区域、装置、ラベルなどSOPとの整合性を確認されたり、スタディオオーディットでは報告書に記載された内容について根拠となる資料との照合、抜き取りで生データについて計算による確認などが行われました。これらは基本的には他の省庁の査察(調査)と違いはありませんが、医薬品機構は日本では唯一のGLP調査の専門機関であり、調査官の経験が多いためか、非常に効率よくこれらの作業が行われ、試験責任者及び信頼性保証担当者にと

って信頼性の確保の作業を行う上で非常に参考になった調査でした。

今回の医薬品機構による調査のトピックとしては、被験物質の分析(特性分析、安定性試験)にもGLPを適用するように指導されたことです。試験委託者で分析されている場合には、受託試験機関としてGLP適合の分析か否か確認するよう指導されました。これまで、このような指導はなかったこともあり、戸惑っている試験施設も多いと思われる。この点は日本QA研究会でも取り上げられ話題となっているところです。

## 4) 環境省GLP

環境省はGLP基準を作成し公表していますが、通知として公式に試験施設の適合確認は行われてはおりません。環境省から試験を委託する時にその試験項目について信頼性確認のための調査が行われているようです。久留米事業所におきましても委託された生態影響試験について、平成13年3月に調査が行われました。GLP適合性調査という点では他省庁と変わるところはありませんが、GLPの形骸化の防止、日常的な科学的な取り組みの必要性に関し、調査中に具体的な問題の中で指摘、指導をいただきました。講評でも試験に関する科学的、技術的な指導がありました。

## 3. 既存化学物質安全性点検の加速化事業

### 1) 既存化学物質安全性点検の加速化の背景、目的及び目標

昭和48年より、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律(以下「化審法」という。)制定時の国会付帯決議に基づき、経済産業省は約20,000の既存化学物質について国民の安全を確保する観点から国の責務として安全性点検作業を実施してきました。その成果として、PCB、DDT等国内で問題となった物質やその類似物質、毒性の疑いの指摘や環境中から検出された物質などを優先して、平成12年までに1,229物質の点検が終了(通産省公報に公表)しています(図1)。これらの点検が終了した物質の評価分類を表2、また評価の結果、特定化学物質又は指定化学物質として規制を受けた物質の例を表3に示しました。

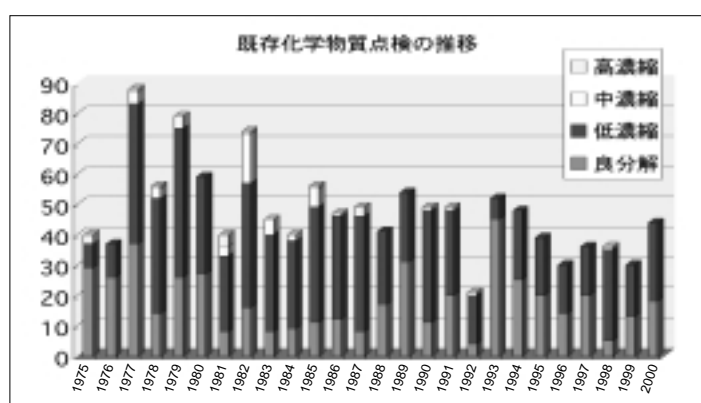


図1 既存化学物質安全性点検の推移  
(昭和50年～平成12年)

表2 既存化学物質安全性点検における評価の分類

判定区分	物質数（占有率％）
分解性が良好	469物質（38％）
難分解性で高濃縮性ではないと判断される物質	698物質（57％）
濃縮性が中程度と判断される物質（昭和60年までの分類）	43物質（3％）
濃縮性が高いと判断される物質	19物質（2％）

表3 既存化学物質安全性点検結果による規制物質例

規制区分	物質例	物質数	規制内容
第1種特定化学物質	PCB、HCB、DDT、アト`リ、TBTO等 N,N`シ`トリル`パ`ラフェニル`アミン、N`トリル`N`キリル`パ`ラフェニル`アミン又はN,N`シ`キリル`パ`ラフェニル`アミン*1 2,4,6`トリ`t`フ`ルフェノール*1	11物質  (H13.1.6に2物質追加)	原則製造輸入禁止
第2種特定化学物質	トリクロロエレン、テトラクロロエレン、四塩化炭素等	23物質	取扱い数量の届出表示義務 技術上の指針の遵守
指定化学物質	クロロム、1,2`シ`クロロエタン、二硫化炭素等	89物質（422物質）	取扱い数量届出

\*1：平成13年1月にこれら2物質が第一種特定化学物質に追加されました。

一方、現在までに点検が終了した物質数は、約20,000物質という既存化学物質全体の数からみれば5％程度であり、十分な数のデータ（科学的知見）を取得したとはいえない状況にあります。これに加え、化学物質管理促進法の制定に伴いPRTR物質に関する情報の充実が必要とされるなど、化学物質に関する国民の関心や不安の高まりに対して一層の科学的知見の充実が望まれています。

このような状況から、経済産業省は「化学物質総合評価管理プログラム」を立ち上げ、その中で既存化学物質点検の抜本的な見直しを行うこととし、これを受けて新エネルギー産業技術開発機構（NEDO）は「既存化学物質の安全性点検の加速化プロジェクト」を委託事業として実施することとなりました。

この事業では、早急に対応すべきリスク管理の必要性の高い物質の試験を実施するとともにデータの体系化、集大成による知的基盤整備を図り、構造活性相関手法の開発と活用により、点検を行うことを目的としています。平成17年度までに、試験の実施とともに、構造活性相関手法による化学物質特性予測システムを用いて原則年間国内取扱量が100 t以上の既存化学物質の点検を終了させることを目標としています。

## 2）既存化学物質安全性点検事業の加速化の実施内容

### （1）既存化学物質に関する分解性、濃縮性試験等の実施と安全性の確認

早急な安全性確認が求められる物質群（PRTR関連物質を中心に毎年NEDOから提示される物質）を対象とし、

化審法に定められた「新規化学物質等にかかる試験の方法について」に規定された試験法を用い、久留米事業所を含めた国内の化学物質GLP基準適合施設において濃縮性、分解性及び物理化学性状試験を実施します。通常の濃縮度試験条件で魚体と反応性の高い物質や通常の分離分析法ができない物質についてはラジオアイソトープ（標識化合物）を用いた濃縮度試験等の開発的取り組みも実施します。

### （2）分解性、濃縮性に関する化学物質特性予測システムを構築

化学物質の安全性点検には極めて多大の労力を要するため、今後も従来の方で点検を実施することは膨大な時間と費用を要します。このため、化学物質の分子構造と分解性、濃縮性の相関性を見出し、未点検物質の点検を加速化させる高精度な推計手法を開発することとしました。

現在までに実施してきた既存化学物質に関する分解性、濃縮性試験のデータ及び今後平成17年度までに実施する既存化学物質点検のデータを用いて、化学構造等を基本とした構造活性相関の精度向上に加え、経験則による評価方法を取り入れることにより、さらに高精度なフォールスネガティブ（高リスク物質（難分解、低濃縮）を低リスク物質（良分解、低濃縮）と見誤る失敗）の結果が出ない分解性、濃縮性の予測が行えるシステムを構築を目指します。化審法上リスク管理の必要性の高い物質について定量的構造活性相関手法を活用することにより得られる分解性、濃縮性の科学的知見に基づく点検を実施します。

### (3) 取得データの利用形態

分解性、濃縮性について新たに取得、整備されたデータ及び構築される化学物質特性予測システムによる評価方法は一般公開される予定です。

#### 4. 化学物質の安全性試験における質量分析法の利用

質量分析計 (mass spectrometer, MS) は構造解析に古くから用いられてきた機器ですが、近年、安全性試験の分野でも試験物質の定量等に幅広く用いられるようになっていきます。久留米事業所においても、現在10台のMSが稼働中であり、安全性試験、医薬品分析、環境調査などの業務に広く利用しています。

MSは、試料中の成分をいろいろな方法でイオン化して、得られたその成分特有のイオンを質量/電荷 ( $m/z$ ) にしたがって分離し、各イオンの強度を測定するものです。通常、ガスクロマトグラフあるいは高速液体クロマトグラフと結合し、目的成分を分離した後、MSに導入するシステムで用いられます (GC/MS及びLC/MS)。イオン化法にはGC/MSで用いる電子イオン化法 (EI) や化学イオン化法 (CI) の他に、LC/MSで用いる高速原子衝撃イオン化法 (FAB) や大気圧イオン化法 (API) などがあります。中でもAPIはLC/MSのイオン化法として近年高性能化が進んでおり、高電場中に移動相を噴射してイオン化するエレクトロスプレーイオン化法 (ESI)、移動相を高温にして大気中に噴射しコロナ放電によりイオン化する大気圧化学イオン化法 (APCI) が実用化されています。目的成分が解離基を有するなど比較的高極性の場合にはESIを、低～中極性の場合にはAPCIを用いることができ、これらイオン化法の発達によりMSで分析できる化学物質の範囲が格段に広がっています。

質量分析法では、ほんのわずかな試料量から、目的成分の分子量、分子構造などの情報が得られます。また、MSは検出限界がpptやppqレベルという超微量であり、目的物質の高選択性でかつ極めて高感度な定量分析が可能であり、河川水中の環境ホルモンの微量分析等にも活用しています。

化学物質審査規制法の分解度試験においては、被験物質が変化し残留した場合、その変化物による濃縮度試験、スクリーニング毒性試験が要求されるため、変化物の定性分析が必須となります。変化物は微量であるため赤外分光光度計 (IR) や核磁気共鳴 (NMR) による分析は困難であり、MSが威力を発揮します。更に高度な分析法として、イオンの精密質量を測定し元素組成を求めることができる高分解能MS (HRMS) や、第1MSにある特定のプリカーサーイオン (前駆イオン) を選択し、そのイオンを衝突活性化することにより生じるプロダクトイオンを第2MSで分離検出するタンデムMS (MS/MS) があります。MS/MSでは、特定イオンの構造解析、同定を行うことができ、混合成分の超微量分析にも用いられます。変化物の追跡では場合によっては、HRMSやMS/MSスペクトルを



高速液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析計 (LC/MS/MS)

測定し、それらの情報から元素組成の推定や部分構造の推定を行っています。

濃縮度試験においても、試験濃度が極めて低いことや化学物質の特性により、ガスクロマトグラフや高速液体クロマトグラフなどでは分析感度が十分でない場合や分析試料中の夾雑物との分離のために選択性が十分でない場合が多くあります。このような場合もMSを用いた定量分析が威力を発揮します。また、試験魚中から被験物質由来と考えられる代謝物 (変化物) が検出された場合には、その構造の推定が必要になります。この場合、分解度試験よりも更に微量となることが多くMSは必要不可欠な機器となっています。

安全性試験においても高感度の分析が求められることが一層多くなり、これに対応して今後も多彩な化学物質を高選択性で超高感度に分析できるMSの技術はますます進歩すると予想されます。このため、ご依頼された安全性試験をより高い信頼性と正確かつ素早い対応で実施するため、常に最先端の装置と利用技術を取り入れていきたいと考えています。

#### 5. 魚類による内分泌かく乱物質試験の現状について

経済協力開発機構 (OECD) でも1996年頃より内分泌かく乱影響に対する取り組みが始まり、環境生物に関しては最初に魚類に関する検討が1998年より開始されました。その専門家会議が1999年にはロンドンで、2000年には日本で開催されています。2001年3月には生態影響試験法の妥当性確認に関する会合 (VMG-eco) の第一回目が開催されています。この会合において、魚類の短期試験法として提案された「14日間試験」と「繁殖試験」が論議され、「14日間試験」がより簡便であるためスクリーニング法として推薦され、妥当性確認へのステップに進むことになっています。「14日間試験」は、成魚や稚魚を用い、14日間暴露を行い、生存、行動、外観、生殖腺体指数及び生殖腺の組織像への影響やピテロジェニン誘発などを調べる試験です。

このような状況の中で久留米事業所では環境省での内分泌かく乱物質への取り組みの一環として魚類による *in vitro* と *in vivo* の内分泌かく乱評価法の開発を行っていますのでそれぞれの現状を紹介します。

1) in vitro 試験法

内分泌かく乱作用の主要メカニズムとしては、生体に暴露された化学物質が核内のホルモン受容体に結合して、そのホルモンが支配している特定タンパク質の遺伝子の転写を引き起こすホルモン様活性があります(図2)。このメカニズムによると、化学物質のホルモン受容体への結合性あるいは結合とその後起こる遺伝子の転写活性を測定することにより化学物質の内分泌かく乱作用性を評価することができます。このような考えから、内分泌かく乱物質の評価試験体系を検討した米国環境庁の諮問機関EDSTAC (Endocrine Disruptors Screening and Testing Advisory Committee) では、ホルモン受容体への結合性アッセイ及び遺伝子の転写活性を測定するレポーター遺伝子アッセイをプレスクリーニング試験法として位置付けています。

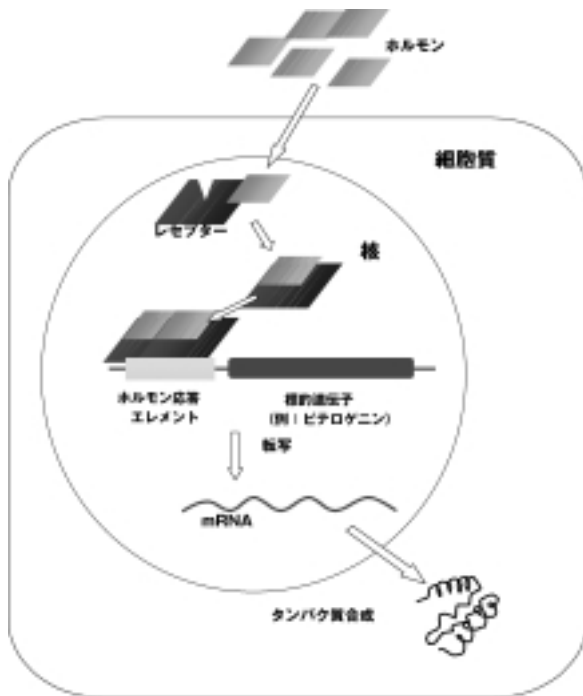


図2 ホルモンの作用模式図

ところで、ホルモン受容体タンパク質のアミノ酸配列は、生物種によって大きく異なっています。種々の生物種のエストロゲン受容体アミノ酸配列を図3に示しました。この図でドメイン E (塗りつぶした部分) は、エストロゲン受容体が結合するリガンド結合ドメインLBD (Ligand Binding Domain) と呼ばれていますが、ヒトとメダカやニジマスと比較すると60%程度しか一致していません。これは、ヒトのエストロゲン受容体への結合性と環境生物のエストロゲン受容体への結合性は大きく異なる可能性があることを示唆し、ホルモン受容体への結合試験やレポーター遺伝子アッセイ法により環境生物の内分泌かく乱作用を評価するためには環境生物のホルモン受容体を用いることが重要であることを示しています。このような観点から環境生物のホルモン受容体への結合試験法及びレポーター遺伝子アッセイ法を開発して、環境生物の内分泌かく乱作用のスクリーニング試験法とすることを検討しています。

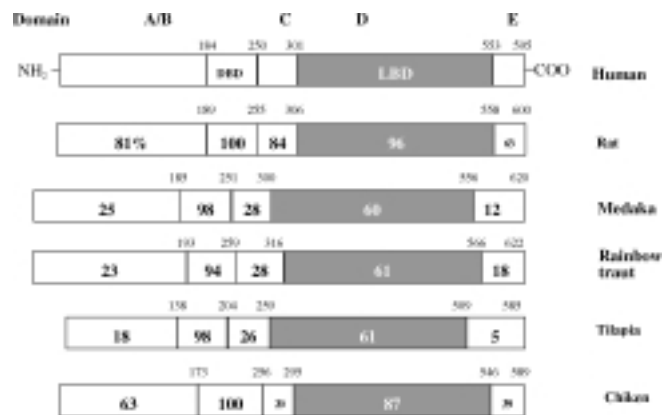


図3 さまざまな生物種のエストロゲン受容体のアミノ酸配列の相同性 (ヒトエストロゲン受容体を100%とした)

図4に、我が国における生態毒性試験の標準魚となっているメダカのエストロゲン受容体へのエストラジオールとクメストロールの結合曲線を示しています。エストラジオールの結合度が50%となる濃度を100とした時のクメストロールの濃度は0.13であり、植物ホルモンであるクメストロールのエストロゲン受容体への結合強度は天然ホルモンのエストラジオールの0.13%であることを示しています。このように、結合試験及びレポーター遺伝子アッセイでは、化学物質の結合性及び遺伝子転写活性化を簡便に精度よく定量化することができます。しかし、化学物質がホルモン受容体へ結合し、遺伝子の転写活性を示すためには、生体内への取り込み、ホルモン受容体が局在している核内への移動等の過程があり、これらの値だけから化学物質の内分泌かく乱作用性を直接的に評価することは困難です。結合試験やレポーター遺伝子アッセイを環境生物の内分泌かく乱作用のスクリーニング法として用いるためには、これらの試験結果を次に述べるin vivo試験と比較して、これらの試験法が適用できる範囲と両者の試験結果の関係を明らかにしなければならないと考えています。

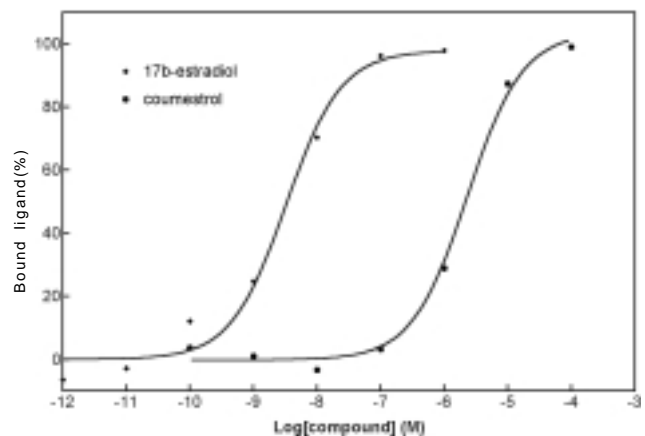


図4 メダカエストロゲンレセプターへの phytoestrogen の結合曲線



## 2) in vivo 試験法

In vivo 試験法としては、表4に示したメダカによる各種試験法の開発を行っています。

魚類は「受精卵 発生・ふ化 成長 成熟 繁殖 受精卵」というライフサイクルを繰り返しています。フルライフサイクル試験はこの全ての段階を含め化学物質に暴露し内分泌かく乱作用に関するエンドポイントについて測定、観察するものです。他の試験はいずれもフルライフサイクル試験での一部の段階と一部のエンドポイントを用いた試

験設計となっています。そのため、用いた成長段階、試験期間、エンドポイントなどにより、得られる試験結果の意味と限界性が異なってきます。

これらの試験法は暴露の時期、試験期間、エンドポイントなど基本的な試験デザインの検討はほぼ終わり、陽性対象物質によるバリデーションを行っており、同時に内分泌かく乱作用が疑われている化学物質での体系的なデータの蓄積をすすめています。これらのデータは順次公表しており、メダカの試験法が国際的にも広く認められつつあります。

表4 メダカを用いた内分泌かく乱化学物質の試験方法

試験法	概要	位置づけ
パーシャルライフサイクル試験	受精卵からふ化、成長、成熟するまで約2ヶ月化学物質に連続して暴露し、胚のふ化率とふ化日数、ふ化後の生存率・成長・行動、性転換（二次性徴と生殖腺組織学的検査）、ピテロジェニン（卵黄タンパク前駆体）産生などを調べる。	OECDの14日試験に発生、ふ化を加えた。
繁殖試験	成熟したメダカを用いて21日間連続して化学物質に暴露し、産卵数、卵の受精率とふ化率、性転換（二次性徴と生殖腺組織学的検査）、ピテロジェニン産生及び次世代への影響などを調べる。	OECDの繁殖試験と同様
フルライフサイクル試験	受精卵から次世代が成熟するまで連続して約6ヶ月化学物質に暴露し、パーシャルライフサイクルと繁殖試験における全てのエンドポイントへの影響を調べる。	最終段階の試験
ピテロジェニンアッセイ	成熟したメダカを用い、14日間連続して化学物質に暴露し、ピテロジェニンの誘発を調べる。	OECDの14日試験においてピテロジェニンの誘発のみを調べる。

現在までに得られた結果では、産卵や生存への影響などよりもかなり低い濃度において雄の生殖腺異常やピテロジェニン誘発が起こっています。これが多くの物質で確認されれば内分泌かく乱作用を検出するには繁殖より雄の生殖腺異常やピテロジェニン誘発をエンドポイントとする方がより簡便で感度が高い試験系を組み立てることができることとなります。一方、生殖腺や器官の機能に多少の影響があっても生物の生存や繁殖のような最終的な生態学的影响は現れるとは限らないということを示唆しています。簡便法で陽性である化学物質は次の段階の評価法、例えば現在検討しているパーシャルライフサイクル試験やフルライフサイクル試験によってその有害性の確認と作用濃度の特定を行うことが必要となります。しかし、これらの試験法は時間と費用を要するため、多くの内分泌かく乱作用が疑われる物質を短期間で低いコストで評価していくために

は、in vitro、in vivoの試験法の精度を高めるとともに、どのような組み合わせや順序で試験を実施していくのかということが次の問題となっています。

## 6. おわりに

化学物質の安全性評価の試験分野でのGLPへの対応、分析技術への取り組み、既存化学物質の安全性評価への取り組み状況、また、研究面では内分泌かく乱化学物質についての魚類での評価方法の開発状況を紹介しました。このように、従来の試験の実施に加え、試験手法の開発、データの収集、評価、解析、また、化学物質特性予測システムの開発等により、安全・安心な国民生活の実現に貢献できるより質の高いサービスが提供できるよう努力して行きたいと考えております。

## KEIRIN 00 競輪補助事業完了のお知らせ

本機構は、日本自転車振興会の「平成12年度化学物質安全性評価基盤整備補助事業」により「OECD化学物質安全性評価活動協力」及び「化学兵器関連物質分析技術の整合化」を実施いたしました。

「OECD化学物質安全性評価活動協力」では、OECDの環境政策局環境衛生・安全課事務局に人材を派遣し、内分泌かく乱物質等に対する試験法開発の国際協力及び高生産量物質のリスクアセスメント等の活動を支援いたしました。

「化学兵器関連物質分析技術の整合化」では、東京事業所環境技術部において化学兵器禁止条約に規定する対象化学物質の安全管理、条約機関へのスペクトルデータ等の提供による技術的貢献、国内化学産業に対する産業検証データベースの構築などを目的として、四重極型ガスクロマトグラフ質量分析装置（HP6890本体・HP5973 A質量検出器）をリースにて導入しました。本装置の導入により、化

学兵器禁止条約機関（OPCW）中央分析データベースの早急な構築、化学兵器関連化学物質による事故の防止などに寄与することが可能となりました。



四重極型ガスクロマトグラフ質量分析装置

### 外部発表（平成12年4月～平成13年3月）

#### 論文

本機構職員による学会発表記録（論文）を事業所順に掲載いたします。

#### (1) 東京事業所

- 1) 大武義人：ゴム材料のトラブルと原因究明、日本ゴム協会誌（平成12年10月号）
- 2) 大武義人：高分子（ゴム・プラスチック）におけるPL法、日本分析化学会 ぶんせき（平成12年11月号）
- 3) 大武義人：汎用プラスチックのリサイクルとポリエチレンの生分解性、環境新聞（平成12年2000号）
- 4) 大武義人：ポリエチレンの生分解性と分解菌、高分子学会 高分子（平成13年6月号）
- 5) 松本保輔：試薬のJIS規格とISO規格、日本分析化学会 ぶんせき（平成13年6月号）

#### (2) 久留米事業所

- 1) Yokota, H., Tsuruda, Y., Maeda, M., Oshima, Y., Tadokoro, H., Nakazono, A., Honjo, T. and Kobayashi, K., "Effect of Bisphenol A on the early life stage in Japanese medaka (*Oryzias latipes*)", *Environ. Toxicol. Chem.*, 19, 1925-1930 (2000)
- 2) Yokota, H., "Full life-cycle test as the definitive testing method", *Proceedings, International Symposium Endocrine-Disrupting Substance Testing in Medaka*, Nagoya, Japan. pp. 111-112 (2000)

- 3) 田嶋晴彦、辻村和也、山口政俊：液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法による河川及び下水放流水中の17-エストロジオール分析法の開発、分析化学、49、843（2000）

#### (3) 日田事業所

- 1) Ishida, J., Takada, M., Nohta, H., Iizuka, R., Ymamguchi, M., "4-Dimethylaminobenzylamine as a sensitive chemiluminescence derivatization reagent for 5-hydroxyindoles and its application to their quantification in human platelet-poor plasma", *J. Chromatogr. B*, 738: 199-206 (2000)
- 2) Shinoda, K., Mitsumori, K., Uneyama, C., Uehara, M., "Induction and inhibition of testicular germ cell apoptosis by fluoroacetate in rats", *Arch Toxicol*, 74 : 33-39 (2000)

#### (4) 安全性評価技術研究所

- 1) Hiromatsu, K., Yakabe, Y., Katagiri, K. and Nishihara, T., "Prediction for biodegradability of chemicals by an empirical flowchart", *Chemosphere*, 41, 1749-1754 (2000)
- 2) Yakabe, Y., Hiromatsu, K., Kawahara, K. and Nakahara, M., "Determination of 1-octanol/water partition coefficients of isocyanate compounds by an HPLC method", *Toxicol. Environ. Chem.*, 77, 199-206 (2000)

- 3) Asai, D., Tahara, Y., Nakai, M., Yakabe, Y., Takatsuki, M., Nose, T., Shinmyozu, T. and Shimohigashi, Y., "Structural essentials of xenoestrogen dialkyl phthalates to bind to the estrogen receptors", *Toxicol. Lett.*, 118, 1-8 (2000).
- 4) Sawaki, M., Shinoda, K., Hoshuyama, S., Kato, F., Yamasaki, K., "Combination of a Teratoma and Embryonal Carcinoma of the Testis in SD IGS Rats: A Report of Two Cases", *Toxicologic Pathology*, 28 (6) 832-835 (2000)
- 5) Takeyoshi, M., Anai, S., Shinoda, K., "Changes in serum  $\alpha_2$ -globulin levels in male rats given diethylstilbestrol and applicability to a screening test for endocrine-disrupting chemicals", *Arch Toxicol*, 74: 48-53 (2000)
- 6) Takeyoshi, M., Anai, S., Shinoda, K., "Hepatic  $\alpha_2$ -globulin mRNA levels and diethylstilbestrol-associated testicular atrophy in rats", *Reprod Toxicol*, 14: 355-357 (2000)
- 7) Sawaki, M., Yamasaki, K., Hoshuyama, S., Shinoda, K., Kato, F., Shiraiishi, K., "Genital tract development in peripubertal female CD<sup>®</sup> IGS Rats", *Comparative Medicine*, 50 (3) 284-287 (2000)
- 8) Aso, S., Anai, M., Noda, S., Imatanaka, N., Yamasaki, K., "Twenty-eight-day repeated-dose toxicity studies for detection of weak endocrine disrupting effects of nonylphenol and atrazine in female rats", *J. Toxicol Pathol*, 13: 13-20 (2000)
- 9) Yamasaki, K., Sawaki, M., Noda, S., Muroi, T., Maekawa, A., "Immature Rat Uterotrophic Assay of Diethylstilbestrol, Ethynyl Estradiol and Atrazine", *J. Toxicol Pathol*, 13: 145-149 (2000)
- 10) Yamasaki, K., Ashby, J., Lefevre, PA., Sawaki, M., "Comparison of Reproductive Tissue Weights in the Enhanced Hershberger Assay of 17-Methyltestosterone between Peripubertal and Castrated Rats", *J Toxicol Pathol*, 13: 173-178 (2000)
- 11) Yamasaki, K., Sawaki, M., Takatsuki, M., "Immature Rat Uterotrophic Assay of Bisphenol A", *Environ Health Perspect*, 108: 1147-1150 (2000)
- 12) Aso, S., Baba, R., Noda, S., Ikuno, S., Fujita, M., "Hypoplastic basement membrane of the lens anlage in the inheritable lens mouse (lap mouse)", *Teratology*, 61: 262-272 (2000)
- 13) Yamasaki, K., Sawaki, M., Noda, S., Takatsuki, M., "Effects of Age and weaning on the Immature Rat Uterotrophic Assay Using Ethynylestradiol", *Exp. Anim.*, 50 (1) 87-89 (2001)
- 14) Aso, S., Ishikawa, A., Wakana, S., Baba, R., Fujita, M., Namikawa, T., "The eye lens aplasia (elap) maps to mouse chromosome 2", *Exp. Anim.*, 50 (1) 97-98 (2001)
- 15) Takeyoshi, M., Yamasaki, K., Yakabe, Y., Takatsuki, M., Kimber, I., "Development of non-radio isotopic endpoint of murine local lymph node assay based on 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) incorporation.", *Toxicol Lett*, 119 (3) 203-208 (2001)

## 化学標準物質の指定校正機関について（お知らせ）

財団法人化学物質評価研究機構 東京事業所は、平成13年6月25日付経済産業省告示第472号で経済産業大臣から下記の標準物質の指定校正機関に指定されました。

標準ガス	
エタノール標準ガス	
標準液	
モリブデン標準液	1,1 - ジクロロエチレン標準液
ストロンチウム標準液	<i>cis</i> -1,3 - ジクロロプロペン標準液
すず標準液	<i>cis</i> -1,2 - ジクロロエチレン標準液
タリウム標準液	1,1,1 - トリクロロエタン標準液
セレン標準液	1,1,2 - トリクロロエタン標準液
ベンゼン標準液	<i>trans</i> -1,3 - ジクロロプロペン標準液
<i>o</i> -キシレン標準液	フタル酸ジエチル標準液
<i>m</i> -キシレン標準液	フタル酸ジ - <i>n</i> - ブチル標準液
<i>p</i> -キシレン標準液	フタル酸ジ - 2 - エチルヘキシル標準液

（東京事業所 化学標準部）

## 無料クロマトセミナー

平成13年度クロマトセミナーを次のとおり開催いたします。皆様のご参加をお待ちしております。なお、ご参加は無料です。

## セミナー内容

## 「ビギナーのためのクロマトグラフィー」

講師：東京都立大学大学院工学研究科 応用科学専攻  
教授 保母敏行先生  
クロマトグラフィーの利用、応用をするときに、是非とも知っておきたい基礎的事項の解説

「大口径キャピラリーカラム **G-column®** について」

講師：本機構職員  
**G-column®** の特徴と使用方法及び、バックドカラム  
・キャピラリーカラムとの違いについての解説

## 開催日時

	日 時	会 場	募集人数
46回 (福岡)	平成13年 8月24日(金) 13:30~17:00	福岡市天神ビル (第9会議室)	100名
47回 (大阪)	平成13年10月24日(水) 13:30~17:00	大阪科学技術センター (大ホール)	250名
48回 (東京)	平成13年12月19日(水) 13:30~17:00	総評会館 (大会議室)	250名

\*定員になり次第、締め切らせていただきます。

セミナー参加ご希望者は、参加ご希望日、お名前、お勤め先およびお勤め先住所、お電話番号、FAX番号をご記載の上、FAXまたはお葉書にて下記宛にお申し込み下さい。また、本機構ホームページからもお申し込みができますのでどうぞご利用ください。

財団法人化学物質評価研究機構 東京事業所クロマト技術課セミナー係  
〒131-0032 東京都墨田区東向島4-1-1 TEL 03-3614-1101 FAX 03-3614-1109

## 編集後記

暑中お見舞い申し上げます。

第34号夏季号をお届けいたします。

巻頭言は本機構理事長の近藤雅臣の記事を掲載いたしました。就任のご挨拶をかねた記事は教育問題にもふれており、「人間性豊かな日本人を育成する」という教育改革の理念に期待せざるにはられません。

さて、特集は化学物質安全部門（久留米事業所）を掲載

いたしました。

次号は化学物質安全部門として日田事業所を予定しております。

また、本号には本機構職員の「学会発表記録（論文）」を掲載させていただきました。併せてご高覧ください。

暑い日が続いております。どうぞご自愛くださいませ。

（企画・小倉）

化学物質評価研究機構  
ホームページ

<http://www.cerij.or.jp>

CERI NEWS 第34号 夏季号 発行日 平成13年7月

編集発行 財団法人化学物質評価研究機構 企画部

〒112-0004 東京都文京区後楽1-4-25 日教販ビル7F

Tel:03-5804-6132 Fax:03-5804-6139 mail to:cerinews@cerij.or.jp