

## 巻頭言

## 有明海のノリ養殖を巡る諸問題

平成12年度の有明海ノリ生産は例年にない不作になった。特に福岡県の生産額は平年の40%に激減し、ノリ生産者の怒りは専ら諫早湾干拓に向けられている。しかし、この不作は有明海の環境悪化による生態系の乱れが顕在化したものであり、その問題点を考察してみたい。

有明海のノリ養殖は、昭和27年以降熊本県から福岡・佐賀県へと急速に拡大し、現在3県のノリ生産量は全国の約40%を占める。この大規模生産が可能になったのは、英国の藻類学者Dr. Drewが1949年にアマノリ属の生活環に糸状体期の存在を発見したことに負う。当初アサクサノリが養殖されたが、昭和40年代にはスサビノリに替わった。

植物体を構成する元素のうち、窒素と燐以外は海水中に充分存在しており、藻類の成長を制限するのは無機三態窒素(N)と無機態燐(P)である。ノリの正常な成長には $N100 \mu g/L$ 、 $P12 \mu g/L$ 以上が好ましいが、このN、P濃度は赤潮の発生を誘発するのに十分な濃度でもある。沿岸域のN、Pは主に河川から供給される。また、有明海で発生する主要プランクトンは珪藻である。有明海に往く主要河川水中の珪酸(Si)濃度は他地域の河川水に比べて高く、有明海に珪藻プランクトンが発生し易い一因と考えられる。因に、筑後川は九州最大の河川であり、有明海への栄養塩供給量は凡そ $N=15$ 、 $P=0.5$ 、 $Si=300t/日$ である。

一般にプランクトンの増殖はノリに比べて数倍も速い。従って、プランクトン濃度が或レベルを超えるとノリは栄養競合に敗れる。水中のNは藻体に取り込まれた後、各種のアミノ酸に、さらにノリ特有の色素タンパク質等に合成される。アミノ酸はノリの旨味に、色素タンパク質は色調に関係し、両者の含量が高いノリは味も色調もよい。他方、色落ちしたノリでは両者の含量が著しく低く、旨味もなく黄緑色を呈する。ノリ葉体は一層の細胞層からなり、その

九州大学名誉教授  
財団法人化学物質評価研究機構 評議員  
小林 邦男



全面で細胞分裂を繰り返しながら成長する。環境水中のN、P濃度が極度に低下しても、ノリは約10日間は細胞内の色素体を分割しながら成長する。その結果、各細胞内の色素体は次第に減少し、遂には“色落ち”の状態になる。

平成12年度産ノリの相当量が、大発生した珪藻プランクトンとの栄養競合に敗れて色落ちノリとなり、市販不能になった。この珪藻プランクトン大発生の主原因は、同年11月初めに襲来した季節外れの台風20号と考えられる。この台風による豪雨で各河川や諫早湾干拓調整池等から多量の富栄養水が有明海に流出し、小潮期と重なって中央部に富栄養化水域が形成され、珪藻を中心とするプランクトンが異常増殖し、有明海全域に広がった可能性が大きい。

有明海的环境は明らかに悪化しており、ノリだけでなくタイラギやアサリ等の二枚貝も激減している。その原因として次のことが挙げられる。(1)干拓事業：干潟の喪失 水質浄化機能の低下と底生生物の生息基盤の減少。(2)ダム建設：河川流下砂質の減少 干潟の泥質化。(3)海底陥没・浚渫：凹地 有機質・泥質の堆積 底層貧酸素水塊の出現(特に夏季の成層形成期)。これらの複合的環境悪化による貝類等植物プランクトン捕食者の減少は赤潮を誘発し、ひいては色落ちノリの発生原因となる。有明海に安定した生態系を回復するには、まず干潟の耕耘や覆砂等により底生生物の生息基盤を改善し、次いで貝類の種苗を放流してその資源量を増やし、植物プランクトン量との間に適正な均衡を計ることが必要である。ノリ生産者もノリ網数を削減して海水の流れをよくするとともに、ノリ病害に対する酸処理剤の使用量を抑制し、有害な船底塗料の使用を規制するなど、漁場環境の改善に努めるべきである。

## CONTENTS

## 巻頭言

「有明海のノリ養殖を巡る諸問題」九州大学名誉教授

財団法人化学物質評価研究機構評議員 小林 邦男

## 本機構の活動から

- ・評議員会および理事会開催
- ・「特定計量証明事業者」認定取得
- ・第7回化学物質評価研究機構研究発表会開催

## CERI 財団法人 化学物質評価研究機構

## 特集1(化学物質安全部門 久留米事業所)

- ・既存化学物質安全性点検事業の加速化について
- ・生態毒性試験の現状
- ・化学物質OECD試験法ガイドラインの検討状況

## 競輪補助事業完了のお知らせ

## 無料クロマトセミナー

## 本機構の活動から

### 評議員会および理事会開催

平成14年6月13日、理事会が開催され、22名の評議員が選任されました。引き続き、評議員会が開催され、15名の理事が選任されました。

(総務・羽田野)

#### 評議員

(任期：平成14年8月1日から平成16年7月31日まで)

安部 明廣	東京工芸大学教授、東京工業大学名誉教授、日本学術会議会員
井上 聡一	株式会社イノアックコーポレーション代表取締役社長
井上 達	厚生労働省国立医薬品食品衛生研究所安全性生物試験研究センター長
小倉 正敏(新任)	社団法人日本化学工業協会常務理事・化学品管理部長
小野 宏	財団法人食品薬品安全センター常務理事
合志 陽一	独立行政法人国立環境研究所理事長、東京大学名誉教授
小林 邦男	九州大学名誉教授
櫻井 治彦	中央労働災害防止協会労働衛生調査分析センター所長、慶応義塾大学名誉教授
十川 照延	株式会社十川ゴム代表取締役社長
中西 準子	横浜国立大学大学院環境情報研究院教授
中村 洋	東京理科大学薬学部教授
西原 力	大阪大学大学院薬学研究科教授
野澤俊太郎	社団法人日本試薬協会会長
平石 次郎	独立行政法人産業技術総合研究所副理事長
保母 敏行	東京都立大学大学院工学研究科教授
堀江 一之	東京農工大学工学部有機材料化学科教授、東京大学名誉教授
前川 昭彦	財団法人佐々木研究所研究所長
三浦 昭	財団法人バイオインダストリー協会理事長
目崎 有司(新任)	日本産業ガス協会特殊ガス専門委員会委員長

#### 湯川れい子

吉田 淑則

吉村 英敏

#### 音楽評論家

合成ゴム工業会会長

九州大学名誉教授

#### 理事

(任期：平成14年7月1日から平成16年6月30日まで)

理事長	近藤 雅臣 (大阪大学名誉教授)
専務理事	細川 幹夫
常務理事	山本 武人 (昇任)
常務理事	葦澤 孝二 (昇任)
理事	飯島 弘淳
理事	勝浦 洋
理事	阿南 忠明
理事	高月 峰夫 (新任)
理事	田所 博 (新任)
理事(非常勤)	池田 正之 京都大学名誉教授
理事(非常勤)	戸部満壽夫
理事(非常勤)	山下 晋三 京都工芸繊維大学名誉教授、大阪大学基礎工学部・理学部講師
理事(非常勤)	山本 明夫 東京工業大学名誉教授、早稲田大学理工学総合研究センター顧問研究員
理事(非常勤)	北野 大 淑徳大学国際コミュニケーション学部教授、経営環境学科長
理事(非常勤)	松本 和子 早稲田大学理工学部教授

### 「特定計量証明事業者」認定取得

本機構東京事業所環境技術部は、特定計量証明事業者認定制度 (MLAP: Specified Measurement Laboratory Accreditation Program) の審査に合格し、平成14年6月25日には認定機関である独立行政法人製品評価技術基盤機構 (NITE) からダイオキシン類に係る特定計量証明事業者として認定されました。

認定の区分は大気、水および土壌中のダイオキシン類濃度であり、今後、これらの計量証明書にはMLAPのロゴが付きます。この制度はダイオキシン類など、極微量物質について計量証明の信頼性の向上を図るため、平成13年6月の計量法改正により導入された認定制度です。平成14年4月1日にNITEに認定申請書を提出、実技試料の分析を行った後、5月末に品質システム審査お

よび技術審査が行われました。6月19日の評定委員会にて審査が行われ、6月25日、NITEにて今回第1回目となる認定証授与式が行われました。

(環境・赤木)



(当機構 鮫島所長 NITE 齋藤理事長)  
認定証授与式

## 第7回化学物質評価研究機構研究発表会開催

本機構は6月11日、経団連会館において第7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リスク評価室の栗原和夫室長に「化学物質の総合管理とPRTR」という演題でご講演いただきました。

特別講演は、毎日新聞社の横山裕道論説委員に「科学ジャーナリストからの報告 - 環境問題は今 - 」という演題でご講演いただきました。

お二人のご講演の間に、本機構職員が研究の一端として「化学物質のリスク評価およびリスク評価手法の開発プロジェクトにおける取り組みについて」、「マウス局所リンパ節増殖試験（LLNA）の非RI化の試み」、「水道水中の残留塩素によるエチレンプロピレンゴム（EPDM）の劣化メカニズムと劣化防止」の発表3題と各事業部門の技術報告5題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。この懇親会を利用して、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。

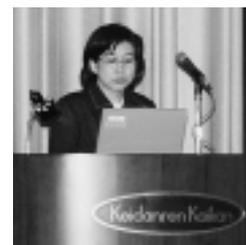
皆さまにとりまして有意義な公開研究発表会にしたいと考えておりますので、今後ともよろしくお願いたします。（企画・野村）



### < 機構の職員による発表の概要 >

#### 発表1 化学物質のリスク評価及びリスク評価手法の開発プロジェクトにおける取り組みについて

化学物質による環境汚染の未然防止に関する急速な国民の関心の高まりを背景に、化学物質管理促進法（以下PRTR法と略する）が先般制定され、化学物質の性状に関する科学的知見の充実と安全性の評価に関する国民の理解がより一層求められることとなった。しかしながら、現状では化学物質の有害性（ハザード）やリスク評価データの収集・整備はもとより、これら进行评估する手法についても、十分に整備・体系化されていない状況にある。このため、化学物質の有害性や暴露情報等に関するデータの収集・整備やこれを用いてリスクを評価するための手法を整備、提供することを通して、化学物質のリスクについて、行政、産業界、地域住民等の中で科学的知見に基づいた正確かつ適切な認識の醸成を図るための基盤整備を行うことが重要である。本プロジェクトは、PRTR法対象物質のうち、高生産量化学物質を中心に、当該物質の有害性情報、暴露情報等リスク評価のための基礎データを収集・整備するとともに、これらを利用したリスク評価手法を開発することを目的としている。



安全性評価技術研究所  
石井 聡子

#### 発表2 マウス局所リンパ節増殖試験（LLNA）の非RI化の試み

アレルギーは現代病として社会問題になっている。化学物質によって誘発されるアレルギーを事前に予測することは産業衛生上、極めて重要な課題であり、これまでも化学物質の安全性評価の一環として皮膚感作性試験（Guinea pig maximization test、Buehler testなど）による遅延性過敏症の発症予測が



安全性評価技術研究所  
武吉 正博

行われてきた。しかし、これらの試験はモルモットを使用し、動物愛護の問題に加えて、モルモット自体が高価である上、試験期間が長く経済的な負担も大きなものであった。

近年、英国のDr. Ian Kimberらのグループ（現 Syngenta Central Toxicology Laboratory）によって Murine Local lymph node assay（LLNA）が開発され、国際的な評価試験が実施され、本年度にはOECDの新試験法ガイドライン（TG - 429）として登録される予定となっている。

この方法はマウスの耳に感作性を有する化学物質を塗布した際に感作性物質を認知したリンパ球から分泌されるサイトカインによって耳の直下にあるリンパ節内の細胞が特異的に増殖することを利用したものであり、化学物質の感作性を短期間に、且つ客観的に評価できる非常に有用な方法である。しかしながら、英国で開発された原法では細胞増殖反応を $[3H]$ -thymidineの細胞への取り込みを指標として評価するため、放射性同位体の使用を伴い、廃棄物処理の問題や安全性の問題などから我が国で広く普及するには多くの問題を抱えている。

当機構ではThymidineの類似物質である5-bromo-2'-deoxyuridine（BrdU）を用いたLLNA法のNon-R1化を目指し、実験方法の改良およびその検証を実施してきた。その結果、我々の開発したNon-R1手法は原法の測定原理に忠実で、且つ試験結果も試験物質の感作性の有無を良好に反映していることが示され、感作性物質の簡易なスクリーニング手法として有用であることが示された。

### 発表3 水道水中の残留塩素によるエチレンプロピレンゴム（EPDM）の劣化メカニズムと劣化防止

一般にEPDM（エチレンプロピレンジエンゴム）は、耐水性や耐薬品性さらには耐オゾン性に優れた汎用エラストマーとして過酷な環境下に曝される所で多用される。そのため、長寿命と高い信頼性が要求される水道用ゴムにも最適エラストマーとして選択されている。ところが、近年の環境悪化とともに、水質の悪化も加速度的に増してきた。そ



東京事業所高分子技術部  
宮川 龍次

の対策の結果、水道水中の残留塩素濃度が増大し、15年程前よりEPDMの残留塩素による劣化事故が報告されるようになってきた。最近ではさらに、日常生活で湯を使う機会が多くなったため、残留塩素+高温状態という2つの因子の相乗効果によりEPDM水道用パッキンの表面が短期間で崩壊に導かれる現象が多発している。しかし、これらEPDMの残留塩素による系統的な破壊メカニズムの研究は少ない。そこで発表者らは、過去に行ったEPDM製水道用パッキンの破壊事故調査結果を踏まえ、今回、塩素水劣化EPDMを用い、破壊メカニズムの解明を目的として、以下に示す項目について検討を行った。

1. 塩素水劣化EPDMのSEM（走査型電子顕微鏡）による表面観察
2. 塩素水劣化前後のゴム中の水分量測定
3. EPMA（電子線マイクロアナライザー）による塩素透過度の測定
4. 塩素水劣化EPDMの相対ラジカル量の測定
5. 架橋密度の測定
6. XPS（X線光電子スペクトル）、 $^{13}C$ -NMRによる劣化メカニズムの検討

その結果、水道水中の残留塩素によるEPDMの劣化メカニズムとして、以下の反応が推定された。すなわち、劣化の第一段階として、EPDMに配合されたカーボンブラックに水道水中の塩素が吸着する。次に、その塩素がEPDMのジエン成分側鎖のメチル基を攻撃し塩素化する。さらに、塩素化されたメチル基がほかのEPDM分子と反応することで架橋密度が上昇し、その結果硬化劣化し、ストレスクラッキング、崩壊、脱落が生じたものと推察された。さらに、上記劣化を防止するためには、劣化初期のカーボンブラックへの塩素の吸着を阻止すればよいと推察し、配合薬品の添加効果について検討を行ったところ、ポリブテンの添加が良好な結果を与えた。すなわち、ポリブテン未添加EPDMの場合、劣化トラブル（ゴム表面のはく離やゴム粉の流出）の原因の一つと考えられる多くのボイドがゴム表面上に認められたが、ポリブテンを添加した場合にはボイド発生は皆無になった。このことより、ポリブテンの添加が、水道水への使用期間延長に有効な手がかりを与えるものと判断される。

# 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安全センターの事業所として化学物質の安全性に関する試験研究を担当しています。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、久留米事業所では以下の試験を行っています。

- ・ 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
- ・ 医薬品の生体内動態および安定性試験
- ・ 環境調査

研究分野ではこれらの試験方法の改良とともに、内分泌攪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。これらの取り組みの中で、既存化学物質の安全性評価、化学物質の生態毒性評価を中心に最近の状況を紹介します。

なお、昨年(平成13年)10月に開所した東京事業所に化学物質安全室を設置しました。この化学物質安全室は化学物質GLP下では久留米事業所GLP組織の管理下に置かれています。化学物質安全室は標識化合物を用いた濃縮度試験が実施できる設備を備えており、13年度から試験を実施しています。

### 2. 既存化学物質安全性点検事業の加速化について

経済産業省は、化学物質のリスクを極小化し、適切に管理する社会システムの構築を目的として平成13年度に「化学物質総合評価管理プログラム」を立ち上げました。このプログラムの中の1つのプロジェクトとして「既存化学物質の安全性点検事業の加速化」があります。このプロジェクトはプログラムの立ち上げに先立ち、平成12年度から新エネルギー・産業技術総合開発機構(以下NEDOという)の補正予算の委託事業として実施されることとなり、当機構が受託し実施することとなりました。

本プロジェクトの目的は、早急に対応すべき物質の安全性点検を行いつつ、既存のデータおよび新たに取得するデータの体系化、集大成による知的基盤整備を図り、分解性、蓄積性にかかる化学物質特性予測システムを構築することにより、化審法上リスク管理の必要性の高い物質について分解性、蓄積性等の科学的知見に基づく点検を実施することです。

平成12および13年度は、PRTR指定化学物質で安全性点検が終了していない物質を中心に水への溶解度などの物理化学性状基本項目、分解性および蓄積性のデータを取得しました。また、化学物質特性予測システム構築に必要なデータベースを整備するとともに現行の分解性予測システムの精度検証ならびに精度向上に必要な記述子の選定、不足データを補うための簡易分解度試験を実施しました。蓄積性の予測システムに関しては濃縮倍率(BCF)と分配係数(logPow)の相関を導くためにシステムに組み込む市販のlogPow計算ソフトについて検証しました。

#### 1) 安全性データの取得

NEDOよりPRTR指定化学物質等早急な安全性点検が必要と考えられる物質および予測システム開発に必要と考えられる物質についてNEDOより試験実施の指示を受け国内のGLP試験機関\*1のご協力をいただき試験を実施しました(表-1参照)。

また、これまで分解性試験の分解生成物が構造不明等の理由で蓄積性試験が困難であった物質については、ラジオアイソトープ(RI)ラベル化法を取り入れ、試験実施を加速化しました。

\*1: 広栄テクノサービス株式会社、株式会社日本医学臨床検査研究所、保土谷コントラクトラボ株式会社、株式会社三菱化学安全科学研究所

表-1 平成12および13年度に実施した試験項目と実施試験数

試験項目	実施試験数
物理化学性状基本項目	150
分解性試験	137(追加、補足試験を含む)
分配係数の測定	13
蓄積性試験	54

なお、試験結果は順次、経済産業省化学物質審議会審査部会で審査されます。化学物質審議会審査部会における審査結果は経済産業省広報により公表されます。平成14年3月26日付けの経済産業広報に公表された物質数を表-2に示します。

表-2 経済産業広報で公表された物質数

評価項目	公表物質数
難分解ではないと判断される物質	14
難分解ではあるが高濃縮性ではないと判断される物質	14
難分解かつ高濃縮性と判断される物質	0
難分解性と判断される物質	19

2) 化学物質特性予測システムの構築<sup>\*2</sup>

## (1) 分解性予測システムの構築

現行システム (<http://www.cerij.or.jp/> 「公開情報 DATA」) での検証結果 (経験則と構造活性相関 (SAR)) を表 - 3 に示します。

経験則で 510 物質、SAR で 271 物質を用いて検証を行いました。

表 - 3 現行システムにおける的中率 (%)

	経験則	S A R
易分解	69	79
難分解	89	88
全体	84	83

これらの的中率を上げるとともにフォールスネガティブの出ないシステム構築を目指し、新規記述子 104 種を追加し、システムの精度を高める予定です。また、より精密に生分解性への寄与の基礎データを取得するためベンゼン、ピリジン、シクロヘキサンおよびナフタレン骨格構造の 1 置換物質で未試験の物質の簡易分解度試験を実施しました。

## (2) 蓄積性予測システム

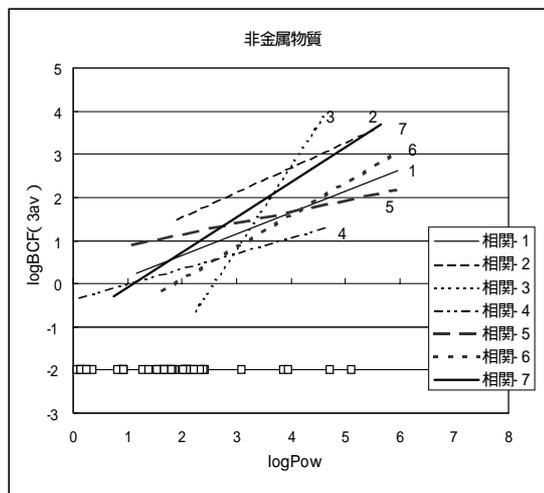
一般に魚類への BCF は化学構造との直接的な相関より物理化学的性質との相関が良く、特に水 / 脂肪間分配のモデル系である水 / オクタノール間の分配係数 (Pow) と良い相関があることが知られています。そこでまず、分配係数を分子構造から計算するソフトのうち代表的な ClogP<sup>1)</sup> および KowWIN<sup>2)</sup> を用いて化学物質の分配係数を算出し、実測値と比較することにより各ソフトの適用範囲と予測精度を調べた結果、両ソフトには殆ど差はないと考えられました。

次に、BCF の実測値がある非金属化合物に着目しこれらの化合物を物質の骨格構造と物質の生態毒性作用 (生態毒性の予測においても logPow を用いるケースが圧倒的に多いため) での分類を行った。

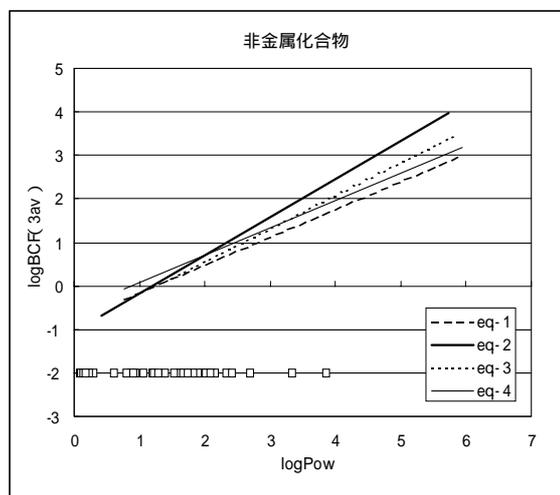
では物質を部分構造、骨格構造で分類し、現在までに 7 本の logPow - logBCF の相関式を得ています。

では化学物質がその毒性の現れ方や作用により 4 種類に分類される方法<sup>3)</sup> に基づいて 4 本 (3 本に集約することも可能) の logPow - logBCF の相関式を得ています (図 - 1 参照)。

図 - 1 非金属化合物に対する相関図



分類



分類

## (3) 今後の検討

分解性予測システム構築においては新規記述子を導入したシステムでの予測精度の検証と生分解性への寄与の基礎データを取得するための更なる簡易分解度試験を実施していく予定です。

蓄積性予測システムの構築においては 2 種類の分類法で得られた予測式を検証するとともに、両予測式を並行して使用し、分類フローに対する適正判断および再検討等を行う必要があります。また、金属物質や例外物質については新たな予測手法を検討していく予定です。

\* 2 : 予測システム開発は大阪大学ならびに独立行政法人製品評価技術基盤機構と共同で実施しているものです。 (久留米・辻)

## 参考文献

- ・ ClogP for Windows (1995) Version 4.0 (1999), BioByte Corp.
- ・ KowWIN Version 1.66, (2000), Syracuse Res. Corp.
- ・ Verhaar, H.J.M.他, Chemosphere, 25, 471 - 491 (1992)

### 3. 生態毒性試験の現状

久留米事業所において魚類での試験業務を開始したのは、1973年（昭和48年）に制定された「化学物質の審査および製造等の規制に関する法律」（化審法）と同じ時期で約30年前になります。化審法で求められる試験の一つに濃縮度試験がありますが、その試験濃度を定めるために、メダカによる急性毒性試験を行ない、魚への毒性がどの程度あるのかを知ることが必要でした。

当時、魚類での毒性試験は一般的ではなく、淡水区水産研究所（当時）などの研究機関からの指導を受けながら、また、水生生物への影響に関する多くの研究が行われていた米国環境保護庁の研究所への研究員の派遣などを行ない、魚類更には甲殻類等への影響評価法に関して実施と研究に取り組んできました。この間、国内外で生態毒性評価の必要性が広く認識されるようになり、さまざまな取り組みが行われてきました。

ここでは、その中で大きな流れをみながら生態影響評価の現状を紹介します。

#### 1) OECDでの取り組み

経済協力開発機構（OECD）において、化学物質の安全性について国際的な取り組みが開始され、1981年（昭和56年）には化学品の安全性に関するテストガイドライン初版が出されました。この時点から安全性は人の健康影響とともに環境影響をカバーすべきであるという考えが出てきています。環境影響分野ではこの中に藻類生長阻害試験、ミジンコ類急性遊泳阻害・繁殖試験、魚類急性毒性試験が含まれています。また、1982年（昭和57年）にはOECDで化学物質の有害性を特定するために必要な上市前最小データセット（MPD）項目が採択され、この中に、生態影響関係では上記3試験がこの中に含まれていました。現在もこれらの試験項目の結果が初期評価データとして利用されています。国内では、その後、当時の通産省や環境庁で生態影響に関する試験法や評価体系の整備などへの取り組みがなされ、本機構もこれらの取り組みに参画してきました。

#### 2) 高生産量化学物質の生態影響評価

国内の生態毒性試験の実施体制が整備される中、1995年（平成7年）には環境庁（現、環境省）において既存化学物質の生態影響に関するデータの収集が開始されました。試験方法としては前述のOECD試験法ガイドラインの藻類生長阻害試験、ミジンコ類急性遊泳阻害・繁殖試験、魚類急性毒性試験およびその後ガイドライン化された魚類延長毒性試験、魚類初期生活段階試験をベースに国内版の試験法が策定され使用されています。

#### 3) 農薬の生態影響試験法の改正

農薬はもともと生理活性のあるもので、直接農地に施用するものであるため、生態系への影響の問題は散布時の魚介類の斃死事故、レイチェル・カーソンの「沈黙の春」での警告により、広く認識されています。勿論、現在の農薬は当時の農薬と比べればその安全性は格段に高くなっており、「沈黙の春」のようなことが起きる状況とは全く違っています。農薬においては、農薬取締法のもとに安全性が管理されており、昭和40年には農政局長通達として「魚類に対する毒性試験法」が出され、以後を農薬の生態毒性試験が行なわれてきました。また、ミジンコ類の試験法も暫定法ですが同時に実施されてきました。これらの方法は魚類では48時間の試験であり、OECDガイドラインの96時間と異なっており、また、ミジンコでは3時間の試験でこれもOECDガイドラインの48時間とは異なっていました。試験技術の進歩に応じた試験方法とするため、上市前最少データセット（MPD）項目を導入した水産動植物への影響についての試験法の改正が2000年（平成12年）に行なわれました。試験方法はOECDの試験法ガイドラインをベースに農薬での試験への適用性を検討し、農薬用の試験法として作成したものが用いられています。

#### 4) 化学物質の生態影響評価

**工業化学物質の生態影響評価の導入の検討はじまる**：工業化学物質においても2001年からその化審法での安全性評価にも生態影響評価を導入する検討が始まりました。環境省では「生態系保全等に係る化学物質審査規制検討会」が設置され、検討結果が2002年3月に「生態系保全のための化学物質の審査・規制の導入について」としてまとめられています（環境省：<http://www.env.go.jp/>）。2002年4月から経済産業省では化学物質の生態系への影響も視野に入れた「化学物質総合管理政策研究会」を発足し、非常に集中した検討がなされているようです（経済省：<http://www.meti.go.jp/>）。農薬等とは異なり工業化学物質はもともと生理活性を目指したのではなく、製造・使用・廃棄の中で環境に放出されてもどのような影響を及ぼすか直感的には理解しにくいものです。また、生態系での生物相の変化が起きても、それを特定の化学物質が原因であると客観的に科学的に実証することも難しいでしょう。しかし、工業化学物質はその種類、数が多く、あるものは生産量が高く、環境調査でも検出されることがあるという点、近年の環境ホルモンの問題などから、工業化学物質もあるものは残留し、環境の生物、生態系に影響を及ぼすのではないかという疑いは否定できません。このため、工業化学物

質においても生態影響評価が必要であるという点は基本的には合意されているところです。

**工業化学物質の生態影響評価の問題点：**次の問題として、生態系への影響をどのように評価するのか、どのような場合にどのようなデータを収集するのか、どのように審査・規制に用いていくのかなどが議論されているようです。生物の生息場所である環境は大気、水、陸上の3コンパートメントに分けられますが、その大きさ、生息する生物の種類と量、化学物質の分布の多さなどから水環境系への影響がまず重要であるという点も合意されるようです。従って、水系の生物への影響を調べることが優先されるでしょう。

現在利用可能な試験方法としては前述のOECD試験法ガイドラインの試験があります。これらの試験は前述のように国内外での利用実績もあり、国内での実施の受け皿も一定程度整備されており、すぐにでも実施できる項目です。前述の環境省のまとめでは生態系が維持されていくための基本的な構造である食物連鎖の中での生産者である藻類、一次消費者であるミジンコ類、二次消費者である魚類を対象とした急性毒性試験を基本的な試験として位置づけることが適当というのが大方の意見であったと述べられています。これらの

試験が生態影響評価にどの程度有効で、十分なものか、あるいは不十分で更に高度な試験法開発や実施体制の整備が必要なのかは、今後の議論で方向が決められていくものと考えられます。

**試験方法：**前述の環境省のまとめで有力視されている3種生物での試験はどのようなものであるか、長期の試験も含め関連OECD試験法ガイドラインの概要を表-1にまとめました。水系の生物での毒性試験の基本的構成は生物を化学物質を溶かし込んだ水に入れ、どの程度の濃度で影響（死ぬか等）がどうかを調べるものです。哺乳動物では経口投与がよく行われますが、水生生物試験では通常、水暴露で行なう点が異なります。

\*表に示した料金、試験期間は標準的な見積りの中で最小限のものです。いずれの試験でも試験濃度と影響の関係を求めるため、試験濃度は一定であることが求められます。このため、必要に応じて、一定期間毎に試験液を交換する換水式あるいは連続的に試験液が交換される流水式で試験を行ないます。また、試験物質濃度が維持されたかどうかを化学分析により確認することが必要ですが、分析方法の開発と実施の難易度は物質により異なりますので、かかる費用と時間も異なってきます。

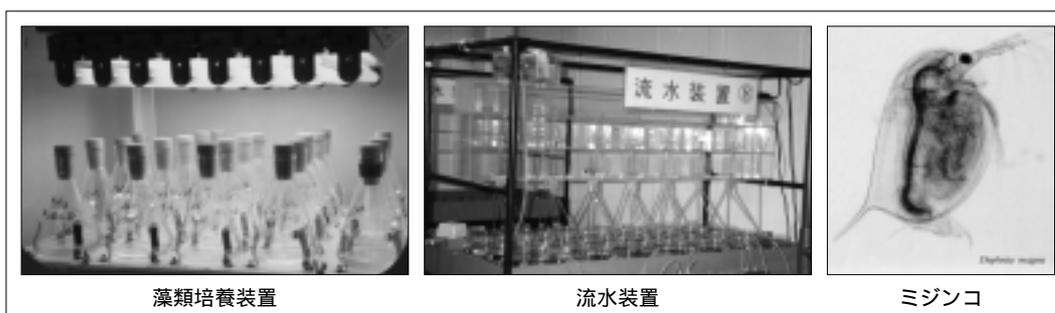


表 - 1 生態毒性OECD試験法

試験名	試験生物	試験方法概要	最小費用最短期間*
藻類生長阻害試験	単細胞緑藻類	藻類を段階的濃度の試験物質を含む培養液中で、照射下で72時間培養する。24時間毎に生物量を測定し、対照区に対する各濃度の生長阻害率を求め、50%生長阻害濃度(EC <sub>50</sub> )、最大無影響濃度(NOEC)を算定する。	95万円2ヶ月
ミジンコ類急性遊泳阻害試験	オオミジンコ	生後24時間以内の幼生を段階的濃度の試験物質を含む試験液に48時間暴露する。各濃度での遊泳阻害率を調べ、50%遊泳阻害濃度や最大無影響濃度を求める。	75万円2ヶ月
魚類急性毒性試験	メダカ、コイ、ニジマス、ファットヘッドミノールなど	魚を段階的濃度の試験物質を含む試験液に96時間暴露する。各濃度での死亡率を調べ、LC <sub>50</sub> や最大無影響濃度を求める。	80万円2ヶ月
ミジンコ類繁殖試験	オオミジンコ	生後24時間以内の幼生を段階的濃度の試験物質を含む試験液で21日間給餌しながら飼育する。この期間中、親ミジンコの死亡数、産仔数、症状などを観察し、50%繁殖阻害濃度や対照群と比較して繁殖(産仔数)に対する最大無影響濃度を求める。	240万円3ヶ月
魚類初期生活段階(卵と仔稚魚期)試験	メダカ、コイ、ニジマス、ファットヘッドミノールなど	受精卵を段階的濃度の試験物質を含む試験液に入れ、ふ化後稚魚に至るまで飼育する。この期間中、卵のふ化数、仔稚魚の死亡数、成長等を調べ、対照群と比較して長期的な無影響濃度を求める。	280万円4ヶ月

**構造活性相関**：生態影響評価のため生物を用いた試験を行ないますと、相当な時間と費用がかかります。このため、化学物質の生態毒性の予測評価に構造活性相関を用いられないかということも検討されています。もっとも一般的に行われているやり方は、化学物質の物理化学性状の中で水と油のどちらに移行しやすいかを示す水/オクタノール分配係数の大きさにより毒性の強さを予測する方法です。これは、同じ濃度でも分配係数の大きい物質は生物体内に取り込まれやすく、体内濃度が高くなりやすく、その結果毒性が強くなる傾向があるということを利用したものです。特異的な毒性を示すような官能基がなく不活性な物質では体内への取り込まれやすさが毒性の強さを支配する主な因子となるわけです。この方法を実用化するためには、どの程度の精度、またどのような構造の化学物質への適用性があるか、現在までの知見を整理して検証していくことが必要であると考えられます。

#### 5) 久留米事業所での実施実績

久留米事業所では過去30年間生態毒性試験を実施してきましたが、過去3年間に実施した試験項目と実施数を表-2に示します。試験実施数は年々増加傾向を示しており、生態毒性試験の必要性が高まっていることが伺えます。工業化学物質での生態毒性試験が導入されればさらに必要性が高くなると予想されます。

#### 6) 内分泌攪乱作用検出試験法

近年、内分泌攪乱作用の問題が起こり、本機構でもその評価法に取り組んでいます。久留米事業所においては30年間の技術の蓄積をベースに魚類を用いた評価法の開発を行なっています。これらの多くは環境省のSPEED 98（環境ホルモン戦略計画）の一環として九州大学と共同で研究開発を進めており、成果は順次、学会誌、国際シンポジウムなどで公表しています。開発中のメダカによる試験法を表-3に示します。これらの試験法は基本的な試験デザインの検討はほぼ終わり、陽性対照物質によ

表-2 久留米事業所における生態影響試験の実績

試験項目	供試生物種	実施試験数			合計	
		11年度	12年度	13年度	数	割合(%)
短期	コイ	27	26	49	102	19.2
	ヒメダカ	27	32	22	81	15.3
	温水淡水魚	1	0	0	1	0.2
	冷水淡水魚	0	0	0	0	0.0
	海水魚	2	4	2	8	1.5
	ミジンコ	32	43	56	131	24.7
	淡水甲殻類	0	3	6	9	1.7
	海水甲殻類	1	2	3	6	1.1
	藻類	18	38	62	118	22.3
	海水藻類	1	2	0	3	0.6
他生物(貝類など)	2	2	2	6	1.1	
長期	魚類	5	9	9	23	4.3
	ミジンコ	9	19	12	40	7.5
その他	甲殻類	0	0	0	0	0.0
	その他生物	0	2	0	2	0.4
合計		125	182	223	530	100

表-3 メダカを用いた内分泌攪乱化学物質の試験方法

試験法	概要	特徴
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ヶ月間化学物質に暴露し、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)、ピテロゲン産生、産卵数、卵の受精率とふ化率および次世代への影響などを調べる。	「受精卵 発生・ふ化 成長 成熟 繁殖 受精卵」という全ライフサイクルにわたる試験で、一般毒性および内分泌攪乱作用に関するエンドポイントを用いる。このため、影響の時期、内容、強さを把握でき、更にリスク評価に必要な環境影響濃度の算定に最も有効なデータが得られる。
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ヶ月間化学物質に暴露し、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)、ピテロゲン産生などを調べる。	受精卵から成長し、成熟初期までの生活段階を用いており、内分泌攪乱化学物質の性分化への影響を調べることができる。
繁殖試験	成熟したメダカを用いて21日間化学物質に暴露し、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)、ピテロゲン産生および次世代への影響などを調べる。	産卵数、受精率、ふ化、生存率、生殖行動への影響等の繁殖への影響に着目した試験
ピテロゲンアッセイ	成熟したメダカを用い、14日間化学物質に暴露し、ピテロゲンの産生を調べる。	雌性ホルモン様物質はオスのピテロゲン産生を誘導することが知られており、これを内分泌攪乱作用の検出指標として用いるアッセイ法

るバリデーションと内分泌攪乱作用が疑われている化学物質の中で優先的に試験すべき物質のデータの取得を進めています。

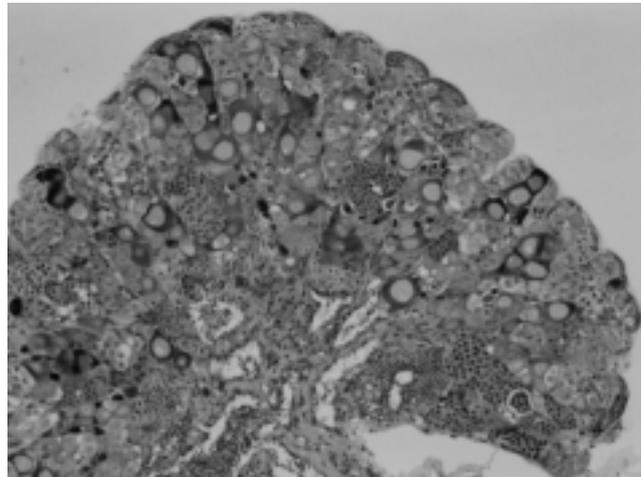
OECDでも魚類に関する検討が1998年より開始され、現在、Tier 1のスクリーニング法が中心に進められていますが、そこでは以下の二つの試験法ガイドライン案が出ています。

- a. 14 - day Fish Assay for Identification of Potential Endocrine Disrupting Chemicals
- b. Short - term Reproduction Test with the Fathead Minnow for Identification of Endocrine Disrupting Chemicals

aの「14日間試験」は我々が検討しているピテロゲンアッセイにピテロゲニン誘導以外のエンドポイントを加えたものです。bは繁殖試験に相当します。これらの試験法ではファットヘッドミノー、メダカあるいはゼブラフィッシュなどの魚種が推薦されています。パーシャルライフサイクル試験、フルライフサイクル試験などの試験法はOECDでのガイドライン化に向けて日本の実績をアピールしつつあるところです。

現在までに得られた結果から、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（写真参照）や雄のピテロゲニン（雌特有の卵黄タンパク質前駆体）産生が起こることがわかってきています。つまり、作用検出のエンドポイントには繁殖より雄の生殖腺異常やピテロゲニン産生の感度が高いこととなります。一方、これらに影響が出る濃度であっても生物の生存や繁殖のような最終的な生態学的な影響が現れるとは限らないことを示しています。従って、有害性の確認と作用濃度の特定には最終的にはフルライフサイクル試験を行なうことが必要になります。しかし、これらの試験法は時間と費用を要するため、多くの内分泌攪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、生産量、環境分布等を考慮しながら、in vitro、in vivoの試験法をどのように実施していくのかという検討が必要と考えられます。

本年（2002年）11月には当機構も参加しています「SCOPE/IUPAC内分泌活性物質の環境安全性に関する国際プロジェクト（正式名：内分泌活性物質の環境に対する影響：その科学の現状と将来の課題）」の一環として、国際シンポジウムおよびワークショップが横浜で開催されます。このシンポジウムにおいて魚類の評価法と現在までの知見に対しても、上記の点を含め、レビューと今後の方向性が示されると期待されます。（久留米・前田）



エストロジール暴露のメダカオス精巣の異常組織像の例（H & E染色）。精巣組織中に多数の卵母細胞が観察される。倍率は100倍。

#### 4. 化学物質 OECD 試験法ガイドラインの検討状況

OECDテストガイドラインは経済協力開発機構（OECD）のパリ本部で必要に応じて随時、新規作成/改定が行われております。久留米事業所の業務に関連するガイドラインの検討状況を紹介いたします。

##### 1) 採択されたテストガイドライン

最近の動きとしましては2002年4月24日にOECD議会で、以下の3つの新規ガイドラインが採択され、2つのガイドラインの改定が承認され、併せて第14回増補版として近々発行される予定になっております。

##### 新規テストガイドライン

- ・ 土壌中好気/嫌気分解試験法（TG307： Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil）
- ・ 底質中好気/嫌気分解性試験法（TG308： Aerobic and Anaerobic Transformation in Aquatic Sediment Systems）

##### 2) 検討中のテストガイドライン

現在検討中のテストガイドラインとしては以下のものがあります。

##### 物理化学性状試験分野

- ・ 分配係数スローステアリング法（Estimation of the Partition Coefficient of Highly Hydrophobic Compounds by Slow - Stirring Method） - 新規作成
- ・ 分配係数pHメトリック法（TG 122： Estimation of Partition Coefficient of Ionisable Substance by pH - Metric Method） - 新規作成

- ・ 分配係数 HPLC 法  
( TG 117 : Partition Co - efficient, HPLC method ) - 改定
  - ・ 加水分解試験法 ( Hydrolysis as a Function of pH ) - 改定
  - ・ 分配係数 HPLC 法 ( TG 117 : Partition Co - efficient, HPLC method ) の改定は、先頃開催されたテストガイドライン作成/改定の実質的意思決定会合であるテストガイドラインナショナルコーディネーター会合 ( 14<sup>th</sup> Meeting of the Working Group of the National Co - ordinators of the Test Guidelines Programme、5月29 - 31日 ) に提出されています。
  - ・ 難水溶性物質に対する本質的生分解性試験法  
( TG 302D : Inherent Biodegradability for Poorly Water Soluble Substance )
  - ・ 好気性生分解性試験ヘッドスペース法  
( TG310 : Aerobic Biodegradability - Head Space Method )
  - ・ 嫌気性生分解性試験法  
( TG311 : Anaerobic Biodegradability )
- このほか、生態毒性分野、健康影響分野においても各種のガイドラインの新規作成、改定が行われているところです。 ( 久留米・宮地 )

#### 分解性/濃縮性分野

以下の試験法の新規作成が行われています。

- ・ 溶出試験法 ( Leaching Study )
- ・ 水中での光分解試験法  
( Phototransformation of Chemicals in Water )
- ・ 土壌中での光分解試験法  
( Phototransformation of Chemicals in Soil )
- ・ 土壌生物での濃縮性試験法  
( Bioaccumulation in Sediment worms )
- ・ 表層水中での好気分解シミュレーション試験法  
( TG 309 : Aerobic Mineralisation in Surface Water - Simulation Biodegradation Test )

#### 5. おわりに

化学物質の安全性評価の試験分野での既存化学物質の安全性評価への取り組み状況、また、生態毒性の分野を中心に現状を紹介しました。今後も従来の試験の実施に加え、社会のニーズに合わせた試験手法の開発、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、より良い化学物質の安全性評価に貢献できるよう努力して行きたいと考えております。



## 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13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」および「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、化学物質の安全性に関する試験法開発および高生産量物質のリスクアセスメントに関わる情報の収集・整理等のさまざまな国際的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、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、東京事業所環境技術部にガスクロマトグラフ質量分析装置をリースにて導入いたしま

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

## 無料クロマトセミナー

平成14年度クロマトセミナーを次のとおり開催いたします。皆さま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

#### 「液体クロマトグラフィー100のテクニック」

講師：岡山学院大学 食物栄養学科 助教授 松下 至先生  
液体クロマトグラフィーを使用するときに、是非とも知っておきたい基礎的事項について自らの著書を交えながら解説いたします。

#### 「L-カラムODS使用の留意点」

講師：本機構職員  
L-カラムODSの特徴と実際に液体クロマトグラフを使用する場合の留意点について解説いたします。

### 開催日程

	日 時	会 場	募集人数
49回 (福岡)	平成14年8月23日(金) 13:00~17:00	福岡市天神ビル 11階 (第10号室)	100名
50回 (大阪)	平成14年9月27日(金) 13:00~17:00	大阪科学技術センター 8階 (大ホール)	250名
51回 (東京)	平成14年11月29日(金) 13:00~17:00	総評会館 2階 (大会議室)	250名
52回 (埼玉)	平成14年12月6日(金) 13:00~17:00	大宮ソニックシティ ホール棟4階 (国際会議室)	150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部セミナー係  
〒345-0043 埼玉県北葛飾郡杉戸町下高野1600番  
TEL 0480-37-2601 FAX 0480-37-2521

### 編集後記

第38号夏季号をお届けいたします。酷暑の折、皆さまいかがお過ごしでしょうか。  
巻頭言は、「有明海のノリ養殖を巡る諸問題」について九州大学名誉教授小林邦男先生から頂戴しました。誠にありがとうございました。  
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。

また、本機構東京事業所環境技術部は、特定計量証明事業者認定制度の審査に合格し、平成14年6月25日には認定機関である独立行政法人製品評価技術基盤機構（NITE）からダイオキシン類に係る特定計量証明事業者として認定されました。今後とも一層のご指導とご愛顧を賜りますようよろしくお願い申し上げます。  
(企画・吉岡)

化学物質評価研究機構  
ホームページ

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

CERI NEWS 第38号 夏季号 発行日 平成14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@ceri.jp