Chemicals Evaluation and Research Institute, Japan

CERI NEWS

No.50 2005 July

巻頭言

生態学的死と行動評価

九州大学大学院　農学研究院
助教授　大嶋雄治

現在、化学物質の生態リスク評価が行われており暴露された魚の生死や繁殖パラメーター、バイオマーカーがそのエンドポイントとして評価されている。暴露実験を実施しても、その魚の遊泳力、摂餌能力、天敵からの回避能力は評価されていないのが現状である。しかしそれら行動影響はリスクとして評価するに値しないものであろうか。行動が低下した魚が生態系に在れば、餌を取れなかったり、天敵に食べられたり、性行動ができず死に至る。行動の低下は生態系での死（生態学的死、ecological death）に直結するのである。

生物は、呼吸、糖代謝、嗅覚のほかに神経の発達、内分泌系などが正常に機能して統合されて初めて適切な行動が可能となる。それら行動が正常に行われて初めて生態系内における生存が確保されるのである。つまり外見に異常はなくとも行動の不全は生態学的死を意味しているのである。

これまで多くの研究で農薬がacetylcholinesteraseを阻害することが良く知られているが、エネルギー代謝にもマイナスに作用して魚の運動性が低下することが報告されている。銅、農薬、ダイオキシンの暴露によって魚類の運動能力、嗅覚および視覚などの神経系、脳の情報処理阻害が起こり、摂餌能力の低下や天敵に対する回避能力の低下することが明らかになっている。農薬、カドミウムおよび銅に嗅覚暴露された魚は、群れの他の魚から出る警戒物質に対する反応が低下することが証明された。さらに、パルプ工場排水が流入する支流に生息するカダヤシのメスは、卵巣は通常の発達をしているがオス様の尻鰭（交尾鰭）を持ちオス様の性行動をとることが知られている。

我々はメダカを用いた一連の実験により、エストロゲンである17 β-estradiolやethynylestradiol に暴露されたオスでオス様性行動が抑制され、methylteststeroneなどアンドロゲン活性を持つ物質に暴露されたメダカのメスがオス様の行動を取ることを明らかにした（Oshima et al, 2003、Kang et al., 投稿準備中）。さらにPCBsによる多動状態、群行動の崩壊、さらにPCBsとTBTの複合暴露による性行動の低下を報告した（Nakayama et al., 2003, 2005, 2005）。目下、画像処理による行動解析と脳マイクロアレイによる遺伝子発現変動を組み合わせてその機構解明を進めている。

実際の生態系を考えた場合、化学物質が生物の行動に対する影響の評価は重要である。最新の知見では実際にあり得る濃度で水酸化PCBs等が脳神経培養細胞の発達に影響することが報告されている。化学物質による生物の行動への影響は生態系保全だけでなく人間社会の安全のためにも急がれる課題である。

CERI 財団法人 化学物質評価研究機構

CONTENTS

●巻頭言
「生態学的死と行動評価」
九州大学大学院　農学研究院　大嶋雄治

●本機構の活動から
・理事会及び評議委員会開催
・第10回記念化学物質評価研究機構研究発表会開催

●特集（化学物質安全部門Ⅰ　久留米事業所）
・はじめに　・環境調査　・高分子フロースキーム
・農薬取締法　水産動植物への影響に関する試験一部改正について
・分解性・蓄積性関連試験GLP機関連絡会について

●学会活動報告
・第32回日本トキシコロジー学会学術年会

●クロマトセミナー2005　開催のお知らせ

●編集後記

本機構の活動から

理事会及び評議委員会開催

平成17年6月16日に第226回理事会に引き続き第89回評議員会が開催されました。

第10回記念化学物質評価研究機構研究発表会開催

本機構は7月1日、経団連会館において第10回記念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250名弱の方々にご参加いただき、無事終了いたしました。

発表会は本機構理事長近藤雅臣の挨拶ではじまり、基調講演を経済産業省製造産業局化学物質安全室 辻　信一室長に「化学物質管理の国際動向とわが国の化審法」という演題で、特別講演を淑徳大学国際コミュニケーション学部北野　大教授に「私たちはどのような豊かさを明日の日本に求め、また作ってゆくべきか－文明の発達と環境破壊の視点から化学物質管理の最近の動向と課題」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「内分泌かく乱化学物質の魚類試験法開発」、「エチレンプロピレンゴム（EPDM）の水中における銅害メカニズムの研究」及び「発がん性物質の28日間投与によるラット肝臓におけるp53関連遺伝子の発現変動解析」の発表3題と基調報告「この10年のあゆみ」及び各事業部門の技術報告5題を紹介しました。

発表会は定刻に終了し、引き続き懇親会が行われ、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。

また、会場に各部門のパネル等を設置し、日ごろのご疑問等につきましてお答えできる場を設けました。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、今後ともよろしくお願いします。

機構の職員による発表の概要

発表1 内分泌かく乱化学物質の魚類試験法開発

久留米事業所 関 雅範

近年、内分泌かく乱化学物質問題が新たな環境問題としてクローズアップされているが、本機構は、この問題に対する社会的要請に応えるため、メダカを用いた試験法開発を行うとともに、内分泌かく乱作用が疑われる化学物質の試験を実施し、有害性に関するデータを社会に提供していることを報告した。さらに、本機構は現在国際的な試験法の標準化に向けた取り組みにおいて主要な役割を担っていることを紹介した。

発表2 エチレンプロピレンゴム（EPDM）の水中における銅害メカニズムの研究

東京事業所 伊東 寛文

近年、冷温水配管の需要拡大に伴い配管のジョイントに用いられるEPDMゴムパッキンの漏水事故が増加している。これらの漏水事故の原因を調査した結果、使用されたEPDMパッキンの内側には多量の銅、鉄等の金属元素の存在が確認された。これらの元素がレドックス反応を誘引することによって生ずる劣化、特に銅害を引き起こし劣化の促進化に繋がったことが判明した。浸せき試験の結果、特に加硫密度、架橋形態が銅害による劣化進行に大きな影響を及ぼしていることを確認した。これらの確認及び対策について紹介した。

発表3 発がん性物質の28日間投与によるラット肝臓におけるp53関連遺伝子の発変動解析

安全性評価技術研究所 齋藤 文代

遺伝子発現の動きから毒性を調べる新たな学問（トキシコゲノミクス）において、遺伝子の機能やネットワークに着目した解析を行い、既知の毒性分類には当てはまらない化合物群が一つのグループを形成した。このことは、既存の試験系では分類できないメカニズムが存在する可能性がある。“遺伝子の動き”を解析することが毒性メカニズム解析に役立つ可能性が示唆されたことを紹介した。

基調報告　この10年のあゆみ

理事 高月 峰夫

本機構の歩んできた10年における、研究業務の概要、各部所の事業展開について紹介した。

技術報告1 化学物質のライフサイクルにおける総合安全性評価

化学物質安全部門 大塚 雅則

化学物質の有害性が複雑化するのに伴い、開発から廃棄までのライフサイクルの各ステージで求められる安全性評価項目も多様化してきている。化学物質安全部門を軸にCERIのイントラネットが持つ安全性に関する高度な課題解決能力を紹介した。

技術報告２ 低温液化環境下での電気伝導率の測定

高分子技術部門 宮川 龍次

高分子技術部門では､主にゴム・プラスチックの抵抗率、誘電率、破壊電圧、耐アーク性試験等各種電気試験を行っている。今回、一般に測定困難とされる可燃性気体の低温液化環境下での電気伝導率の測定法を確立し、液体・固体・粉体にかかわらずいろいろな物質の電気試験が可能になったこと、通常では対応が困難な物質の評価にも装置の設計・製作から結果の解析まで一貫して対応していることを報告した。

技術報告３ 室内空気質簡易評価法の確立
—パッシブ法を用いたVOCs測定及びPFT法の適用—

環境技術部門 中村 利美

室内VOC sと換気量の測定を同時に行うことにより、より詳細な室内空気質の評価やVOCsに関する暴露評価が可能であること、また、新規に開発されたパッシブサンプラーの性能評価試験や捕集速度の確認が行えることを報告した。

技術報告４ 今後の標準物質の供給体制について

化学標準部門 松本 保輔

本機構が調製した標準物質を認定事業者あるいは一般ユーザーへ直接供給することが可能となり、113の特定標準物質につながりを持つ標準物質が分析現場で活用されることが予想される。当部では、標準物質の製造・供給に必要とされるISO/IEC17025及びISO Guide 34の認定を取得するとともに、毒物劇物製造業の登録も済ませ、新たな供給体制に対応するための準備を整えたことを報告した。

技術報告５ タンパク質分析用L-columnの開発

クロマト技術部門 田嶋 晴彦

ポストゲノムシークエンシング時代に突入した現在の重要な課題は、転写因子などの極微量なタンパク質及びペプチドの分離・同定であり、どこまで微量なタンパク質を同定できるかに関して熾烈な国際競争が展開されている。実際にプロテオーム解析に質量分析装置（MS）を用いる場合、試料が極微量であったり、複雑な混合物であったりすることが多いためにHPLCの効果的な使用が必要になる。プロテオーム解析に使用されるLC-MSでは、高感度化のために超低流速（数百nL/min）に対応したイオン源（nanoESI）とナノカラム（内径75um）の組み合わせが一般的に使用されている。本機構が有する気相エンドキャッピング法で作成したODSを充填したナノカラム（L-column）をプロテオーム解析に用いたところ、他社のナノカラムを使用した場合に比較してより微量なタンパク質を同定可能である事がわかった。また同一の濃度で比較した場合には、シークエンスカバー率が向上するために、より確実なタンパク質の同定が実施可能でありL-columnは、プロテオーム解析に対して極めて有用であることを報告した。

特集（化学物質安全部門Ⅰ　久留米事業所）

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（哺乳動物や細胞による毒性試験）を行っており、久留米事業所では以下の試験を行っています。

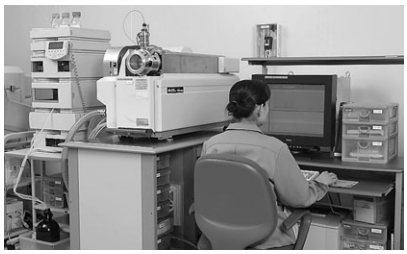
① 物理化学性状の測定
② 微生物での分解度試験
③ 魚類での濃縮度試験
④ 魚介類（藻類、甲殻類、魚類）での毒性試験
⑤ 医薬品の生体内動態及び安定性試験
⑥ 環境調査

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。これらの取り組みの中で、今回は環境調査についてと化学物質関連の最近の状況を紹介します。

なお、CERI NEWS No.47で久留米事業所落成についてご報告しましたが、その後無事に移転を終了しました。今回の移転においては、主として設備機器の更新と増設、アクアトロン棟の拡張及び動線の改善などを行いました。また、移転に当たりましては、できるだけお客様にご迷惑にならないように詳細な移転計画を作成し、短期間での移転を心がけました。予想以上にスムースな移転ができ、正味

久留米事業所全景

2か月足らずの期間で全部門の移転を終了することができました。これも、ひとえに皆様のご協力のお陰と感謝しています。久留米事業所はGLP施設のため、移転においては設備機器などのハード面及びデータや試資料を初めとするソフト面への信頼性の確保が要求されました。今回の移転に伴うGLP的対応については初めての経験でもあり、その信頼性確保については慎重に取り組み、多くの時間を割いて検討しました。その結果、11月と1月に行われました化学物質のGLP査察の適合確認を無事に受理することができました。現在は、新しい事業所において軌道に乗った業務を遂行していますが、明るい雰囲気の中で職員も気持ちよく試験や研究に取り組んでいる状況です。事業所という建物を充実させていただきましたので、今後は中身も充実させていくように努力を続けて行く所存です。今後とも皆様のご鞭撻をなお一層賜りますようよろしくお願い申し上げます。



新規導入した液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計

環境調査

本業務にかかわる部門では、主として計量証明事業（環境水、工場排水、産業廃棄物、土壌、底質、大気分析等）の化学分析と生物調査（底生生物、魚類、動植物プランクトン、陸上生物、植物調査等）の2グループで構成されています。環境実態調査では、環境状況を把握するために、実際に調査現場（河川、湖沼、工場、ダム堰等）に出向き、現地計測や試料を採取し、試験室にて分析を行っています。当事業所は、化学的観点と生物的観点の両方から環境調査を行うことができ、それらのデータを解析することにより、信頼性の高いデータを提供することができます。また、試験所認定機関である日本化学試験所認定機構（JCLA）より、水質試験項目（BOD、COD、DO、pH、SS）について認定を受けており［写真1］、信頼性の高い品質の確保にも努めています。

1．業務内容

○水質分析

- ■ 環境基準・排水基準に基づく水質分析
- ■ 河川・湖沼・地下水・ダム堰・海洋の水質調査
- ■ その他分析（農薬、内分泌攪乱化学物質など）

○土壌分析

- ■ 環境基準に基づく土壌・地下水分析
- ■ 土壌汚染対策法に基づく土壌、土壌ガス分析
- ■ その他分析（底質分析など）

○廃棄物分析

- ■ 産業廃棄物の有害物質に係る検定試験（溶出･含有試験）
- ■ 浸出水、地下水の分析

JCLA

日本化学試験所認定機構

認定証

事業者名称：財団法人　化学物質評価研究機構

所在地：東京都文京区後楽1丁目4番25号

試験所名称：久留米事業所

所在地：福岡県久留米市宮の陣3丁目2番7号

日本化学試験所認定機構は、上記の試験所が下記付属書に示す試験が、JIS Q 17025:2000（ISO/IEC 17025:2005）の要求事項を満足している事を認定します。

認定番号　：　JCLA 8

認定分野　：　試験対象分野－環境（水質）

試験技術分野－pH測定、BOD、蒸留分析、容量分析

COD

認定範囲は付属書参照

認定発効日：　2005年　1月15日

有効期限　：　2009年　1月14日

社団法人 日本化学工業協会　会長　大橋光夫

日本化学試験所認定機構　認定部部会一覧長　山本明夫

写真1　試験所認定証

○大気分析

- ■ 事業場の排出ガスの測定
- ■ 各種ガス分析

○生物調査

- ■ 底生生物、魚類、動植物プランクトン、陸上動植物の生息状況調査
- ■ 魚介類の出張展示、水生生物観察会への技術指導
- ■ その他調査（斃死魚類の原因究明調査など）

○環境影響評価

- ■ 化学物質の環境分布と生態系への影響評価

2．化学分析及び生物調査の応用例

河川やダム湖ではアオコが異常発生し、その毒性や臭気などが問題となります。当事業所では、生物の同定技術による原因種（ミクロキスティス・エルギノーサ）の同定［写真2］及び化学分析によるその毒性物質（Microcystin LR）の定量分析［図1］を行うことができます。また、水質分析データと藻類の出現傾向などを解析し、総合的に環境評価も行うことができます［図2］。

3．生物調査の紹介

○生物調査

生物調査は、魚類・底生生物（主に川底や海底を生活の場としている生物）・プランクトンといった水中の生き物をはじめ、陸上の様々な生き物までを対象とした調査や分析（同定）を行っています。なかでも、化学分析と生物分析の両方を生かした解析ができるのが特徴であり、水質調査とリンクした水圏生物の調査・分析［写真3］の需要が高くなっています。

生物調査では当然顕微鏡や肉眼で生物を分類する技術が必要とされます。しかし、その前にフィールドで生物を採集する必要があります。ボートを使った調査、潜水調査、足をすくわれそうな渓流などもあり、調査によっては投網

などの技術も要求されます［写真4］。

フィールドワークの次は、同定分析の前にソーティングという作業が必要です。調査で持ち帰ったサンプルには、砂、泥、ごみ、植物の破片などが混じっています。この中から生物をピンセットで一匹ずつコツコツと選り分けます［写真5］。例えばユスリカ、ミズミミズなど、体長が数ミリしかない極小の生物も数多くいます。これらの過程を経てようやく顕微鏡による同定分析［写真6］に移ることができます。またこの作業は、特に最新の知見に基づいた精度の高い分析技術を要求されます。

○生物調査の応用

生物学的水質判定

河川の水質はpH、BOD、SSなど理化学的方法により測定した値を用いて評価する方法がよく知られています。これに対し、河川に生息する生物（底生生物）の種類を調べることにより、水質の状態を知る方法があります。これは生物学的水質判定とよばれ、ある瞬間の水質をとらえる理化学的な水質調査に対して、数か月から数年の生物の生息期間を反映した長期の水質を総合的に把握することが可能です。図3には水の汚濁状況を4段階に分けたときの指標となる生物

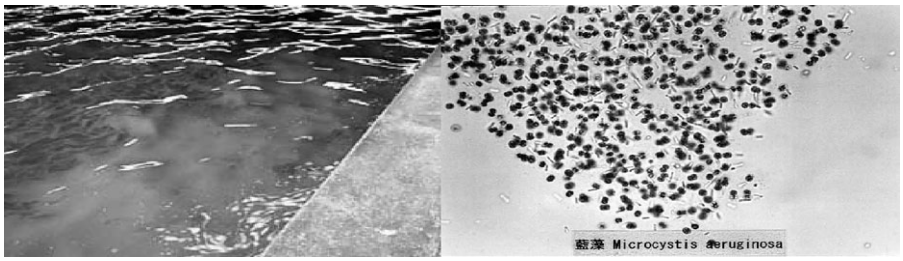


写真2 アオコの発生（左）と原因種ミクロキスティス・エルギノーサの同定（右）

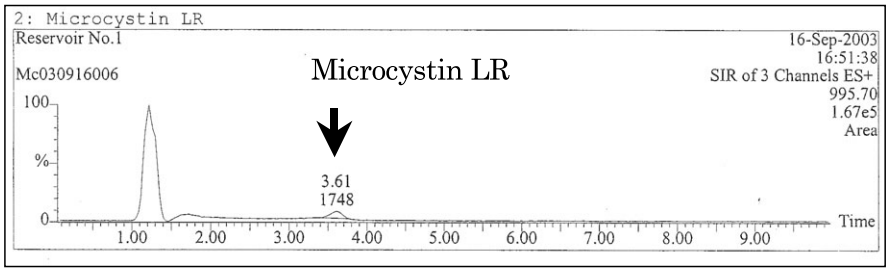


図1 LC／MSによるMicrocystin LRの検出例

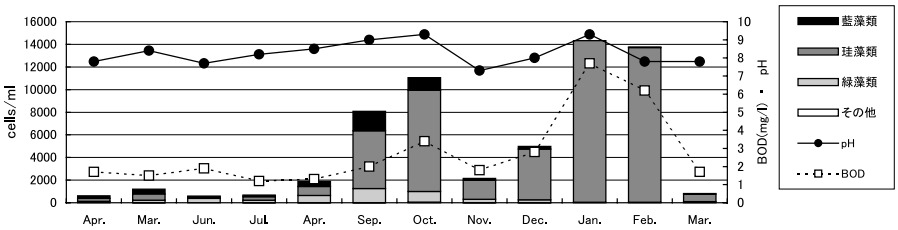


図2 河川における植物プランクトンと主要水質項目との関係

写真3 魚卵・稚仔魚の調査

写真4 投網による生物採集

写真5 底生生物のソーティング

写真6 底生生物の同定分析

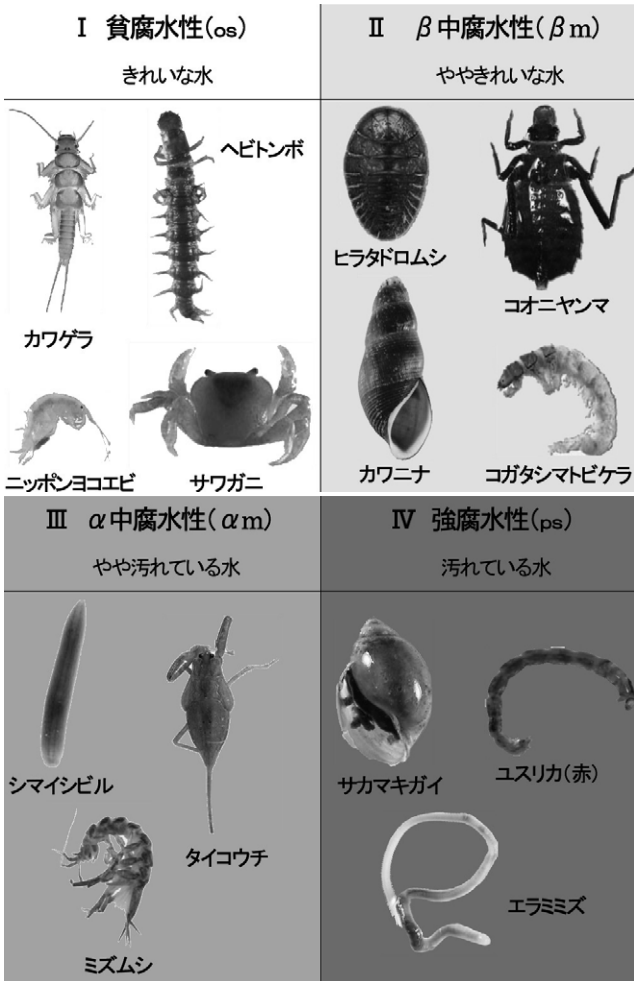


図3 水質の指標となる生物（指標生物）の例

の出現例を示しています。これらの出現頻度などを評価して図4に示すような水質階級地図を作成することができます。また、最近では簡便化した方法により小学校での総合学習などにも取り入れられています。

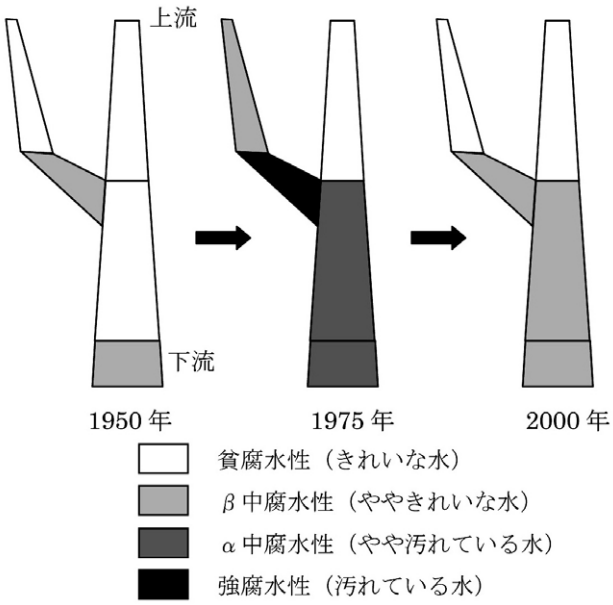


図4　水質階級地図（経年変化）の例

4．トピックス

○土壌汚染分析

近年、土壌汚染による人の健康への影響の懸念や対策の確立への社会的要請が強まり、平成15年2月15日から「土壌汚染対策法」が施行されました。当事業所は、指定調査機関として指定を受けています。特定有害物質として次の物質が規制されています（表1参照）。

○外来生物

この6月から「特定外来生物による生態系等に係る被害の防止に関する法律（外来生物法）」が施行されました。事業所のある久留米市に程近い有明海でも近年新たに2種の外来生物（カラムシロ［写真7］とトライミズゴマツボ）が発見されました。当事業所職員も共同研究に参加して形態や分布域などを報告[1]しました。国内外の他産地の有用種（アサリなど）を放流する有明海では、絶滅の恐れがあると評価される在来の貴重種などが全く別種の外来生物によって生息空間を奪われる恐れに加えて、同時に混入してくる在来種と同種の外来生物によって遺伝的かく乱が引き起こされる可能性もあります。

写真7　有明海に侵入した外来生物カラムシロ

表1　特定有害物質の溶出基準及び含有量基準

特定有害物質	項　　目	溶出量基準	含有量基準
第1種	ジクロロメタン	0.02mg/1以下	―
	四塩化炭素	0.002mg/1以下	―
	1,2―ジクロロエタン	0.004mg/1以下	―
	1,1―ジクロロエチレン	0.02mg/1以下	―
	シス―1,2―ジクロロエチレン	0.04mg/1以下	―
	1,1,1―トリクロロエタン	1mg/1以下	―
	1,1,2―トリクロロエタン	0.006mg/1以下	―
	トリクロロエチレン	0.03mg/1以下	―
	テトラクロロエチレン	0.01mg/1以下	―
	1,3―ジクロロプロペン	0.002mg/1以下	―
	ベンゼン	0.01mg/1以下	―
第2種	カドミウム	0.01mg/1以下	150mg/kg以下
	全シアン	検出されないこと	50mg/kg以下
	鉛	0.01mg/1以下	150mg/kg以下
	六価クロム	0.05mg/1以下	250mg/kg以下
	砒素	0.01mg/1以下	150mg/kg以下
	総水銀	0.0005mg/1以下	15mg/kg以下
	セレン	0.01mg/1以下	150mg/kg以下
	ふっ素	0.8mg/1以下	4,000mg/kg以下
	ほう素	1mg/1以下	4,000mg/kg以下
	アルキル水銀	検出されないこと	―
第3種	ＰＣＢ	検出されないこと	―
	チウラム	0.006mg/1以下	―
	シマジン	0.003mg/1以下	―
	チオベンカルブ	0.02mg/1以下	―
	有機燐	検出されないこと	―

1）Tamaki, A., Mahori, N., Ishibashi, T. & Fukuda, H., 2002：Invasion of two marine alien gastropods *Stenothyra* sp. and *Nassarius (Zeuxis) sinârus̑*（Caenogastropoda）into the Ariake Inland Sea, Kyushu Japan. *The Yuriyagai,* 8（2）：63-81.

（久留米・内田、石橋）

高分子フロースキーム

1．制定の経緯

一般的に、高分子化合物は分子サイズが大きいために生体膜を通過できず、したがって生体に対して毒性影響を及ぼし難いと考えられています。このような観点から、高分子化合物に対しては低分子化合物より簡略化された試験法により安全性が評価されています。我が国においては、昭和60年11月に「高分子化合物安全性評価フロースキーム」（化学物質審議会試験判定部会試験法分科会高分子小委員

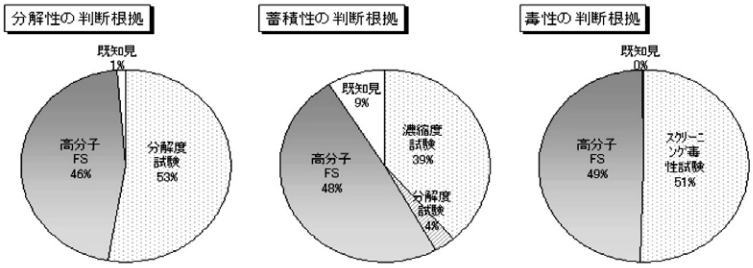
会報告)、いわゆる「高分子フロースキーム」がとりまとめられて以来、現在に至るまで基本的に同じ試験法で高分子化合物の安全性が評価されてきました。

2．適用範囲

この試験法が適用可能な物質は、数平均分子量が1,000以上で、かつ一般的な高分子化合物が有する以下のような物理化学特性を備えた物質です。

・分子量分布をもつ。
・蒸留、昇華・再結晶など普通の分離、精製の手段の適用が難しい。
・溶媒には不溶の場合が多いが特定の溶媒に極めて良く溶解するものもある。
・低分子のような一定の溶解度を示さない（架橋構造の場合には、膨潤化が見られる)。
・融点が明瞭でない。
・加工を行うことによって、皮膜、繊維を形成したり、結晶化が進むことがある。

分子量が測定できない場合は製造設計意図、架橋前の高分子化合物の測定結果、合成方法等の情報から高分子であることが確認できれば本フロースキームが適用できます。なお、平成15年度においては新規化学物質の届出件数の内、半数近くが高分子フロースキームを判断根拠として判定されています（図1参照)。



平成15年　分解性の判断根拠

	件数
分解度試験	146
高分子フロースキーム	126
既知見等	4
合計	276

平成15年　蓄積性の判断根拠

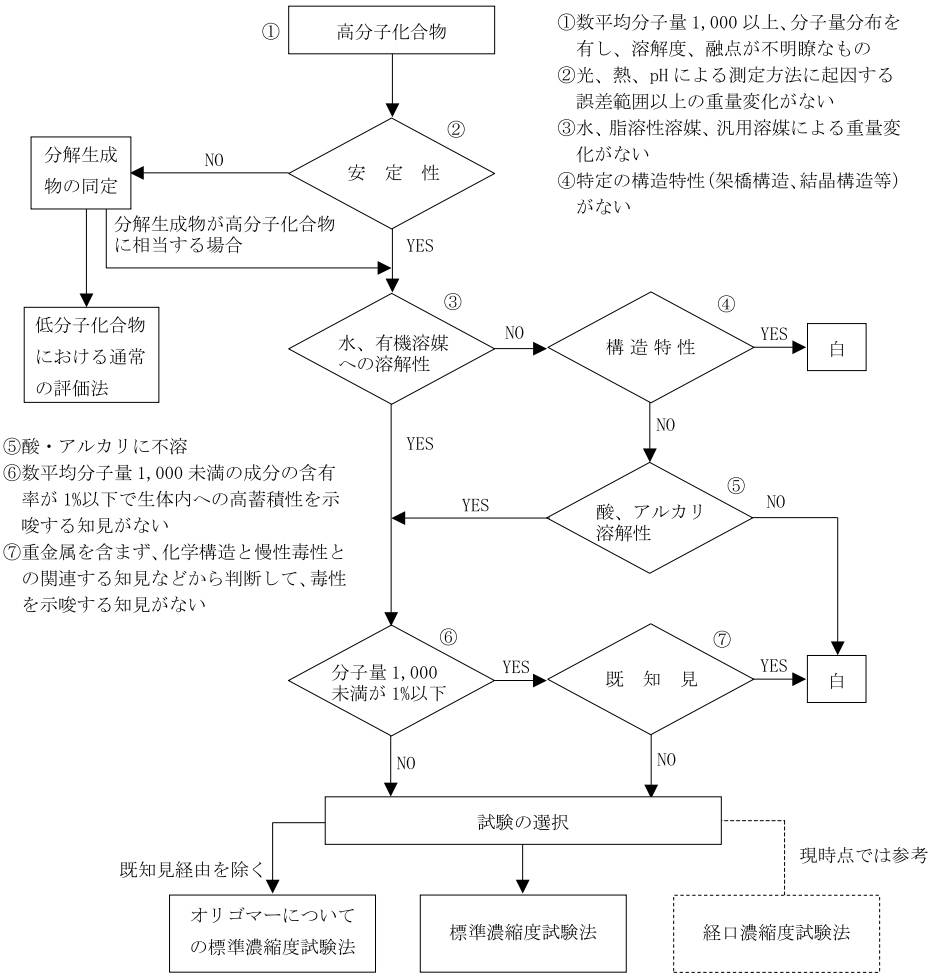
	件数
濃縮度試験	99
分配係数試験	9
高分子フロースキーム	126
既知見等	23
合計	257

平成15年　毒性の判断根拠

	件数
スクリーニング毒性試験	130
高分子フロースキーム	126
既知見等	1
合計	257

図1　化審法の施行状況（平成15年)、経済産業省製造産業局化学物質管理課化学物質安全室作成資料

高分子化合物の安全性評価のフロースキーム



高分子化合物安全性評価フロースキーム高分子小委員会報告書（昭和 60 年 11 月）より

3．試験法の概略

高分子フロースキームは、大きく分けて以下の三つの試験から構成されます。

①分子量分布の測定

前述した数平均分子量が1,000以上であることの確認の他に、重量平均分子量や分散度を測定します。また、分子量1,000未満の割合が1%未満でなければ本フロースキームは適用できません。

②安定性試験

環境中に存在する水及び人の胃液中での高分子化合物の安定性を評価します。具体的には40℃でpH1.2、4、7及び9の緩衝液中に被験物質を添加し、室内光を当てて一定期間空気と接触させながら撹拌します。この試験の前後で被験物質の性状に変化があるかどうかを機器分析により判断します。測定項目は試験前後における被験物質の重量、赤外吸収スペクトル、サイズ排除クロマトグラフィーによ

る平均分子量及び分子量分布、また緩衝液中への被験物質由来の溶存有機炭素の溶出濃度等です。

③溶解性試験

水、脂溶性溶媒及び汎用性溶媒の三つのカテゴリーに属する各種溶媒に対する溶解性をみます。これらの溶媒に対して溶解性を示さない物質は生体膜透過による蓄積という現象を起こしえないと考えられます。しかしながら、現状は水溶解性や有機溶媒溶解性の高分子化合物も多数あり、これらの溶媒に溶解しても②の安定性試験において安定であることが確認されれば試験は可能です。

4．CERIの取り組み

本機構では通常の高分子化合物のみならず、水溶性高分子に対しても試験実施が可能な体制を整えています。また、過去の豊富な知見を基に高分子化合物の構造から最適な試験デザインを設計することが可能です。

分子量分布測定においては、一般的なTHFやDMFを溶離液とする通常分析はもとより、ヘキサフルオロイソプロパノール（HFIP）を溶離液とした測定やポリエチレン、ポリプロピレン等の測定で用いられるオルトジクロロベンゼン（ODCB）を溶離液とした高温GPC測定にも対応可能です。

化審法では試験終了後、ヒアリング、予備審査、本審査へと続きますが、本機構では試験実施のみならず、当局からの指摘事項への対応といったアフターケアも重視しています。また、資料作成・提出の代行業務も実施しています。化審法申請に関しては30年以上に及ぶ豊富な経験と実績を持ち、高分子フロースキーム試験については300試験以上の経験を持っています。さらに、化審法改正に伴って水溶性高分子等に生態毒性評価が必要となりましたが、生態毒性試験に関しても十分な試験実績をもっています。

5．試験法の課題

①水溶性高分子への対応

高分子フロースキームが制定された当初は、高分子化合物とは水にも溶媒にも溶解しない、石ころのような物質を想定していたと考えられますが、現在では水溶性やpHに依存して溶解するもの、イオン性や機能性高分子など多種多様な高分子化合物が開発され、化審法における高分子化合物の取扱いについての見直しが必要となってきました。具体的には水溶性ポリマーの重量変化に替わるべき新たな評価方法及び反応性官能基を有する高分子化合物に対する客観的な判断基準が求められています。

②国際的な調和

諸外国においても高分子化合物に対しては、簡略化された試験法で安全性が評価されています。しかし、既存化学物質から構成される高分子化合物及び新規モノマーが2%未満の高分子化合物に対する評価法や、オリゴマー含有量の制限等に関して我が国とはかなり異なっているのが実情です。国際的ハーモナイゼイションの観点からも今後合理的に解決しなければならない課題であると考えています。

6．高分子フロースキームの今後の展望

本機構においては経済産業省からの委託研究として、高分子フロースキームを見直すことを目的として、平成6年度から種々の有害性情報や海外における評価方法に関する最新情報の収集を行ってきました。

平成16年度は経済産業省や大学及び主要ラボから参加していただき、「高分子フロースキーム見直し委員会」を設置してこれまでに収集した有害性情報や、海外における評価方法等を集大成することにより、本委員会において具体的に試験方法を策定する作業に取りかかりました。平成17年度も前年度に引き続き、同委員会を通して合理的な試験方法を作成すべく、高分子フロースキームのGLP化も視野に入れて取り組んでいます。　（久留米・松元）

農薬取締法　水産動植物への影響に関する試験一部改正について

本年4月から施行されています農薬取締法に基づく農薬登録保留基準については、平成15年3月農薬による水産動植物への影響をより適切に評価する観点から改正が行われ、個別の農薬ごとに魚類、甲殻類及び藻類への評価をして環境大臣が基準値を定め、当該農薬にかかわる環境濃度予測結果が基準値を上回った場合、登録を保留することになっています。これに伴い、新たな試験が導入されましたのでその試験の内容をご紹介します。

水産動植物登録保留基準では、標準的な急性毒性影響試験法として、魚類についてはコイ又はヒメダカの96時間LC_{50}（半数致死濃度）を、甲殻類等についてはオオミジンコの48時間EC_{50}（半数遊泳阻害濃度）を、藻類については緑藻の72時間EC_{50}（半数影響濃度）を算出する試験を行い、このうち魚類及び甲殻類等については通常10の不確実係数を適用して、生物分類群ごとの急性影響濃度を算定し、その最小値を登録保留基準値とします。

さらに、今年3月の一部改正においてこれらの試験に加えて、より実環境に近い試験系による国際的に整合が取れた試験法として、(1) 追加生物種試験（生物間種の感受性差評価）、(2) 異なる成長段階での試験（異なる成長段階の感受性差評価）、(3) フミン酸を含む水での試験（環境中有機物質影響評価）の3種の追加試験（6試験項目）が導入されました（表1）。登録申請者は、任意に必要な試験を選択して実施できることとしています。ただし、追加試験は、標準試験の結果、魚類の急性影響濃度が最も小さい場

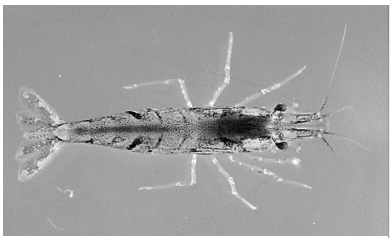
合は魚類について、甲殻類等の急性影響濃度が最も小さい場合は甲殻類等について実施できることになっています。

追加された6試験項目の試験の概要は以下のとおりです。なお、これらの試験では農薬原体が対象となります。

(1) 追加生物種試験 (生物間種の感受性差評価)

①ヌマエビ・ヌカエビ急性毒性試験

供試生物は、淡水産のミナミヌマエビ(*Neocaridina denticulata*)又はヌカエビ(*Paratya compressa improvisa*)で、成体と形態的に異ならない段階のもので未抱卵の個体を試験区ごとに少なくとも10個体を用いる。水温は20～24℃の範囲で22℃を標準とする。暴露期間は96時間。暴露方法、観察及び測定等は魚類急性毒性試験等に準じる。なお、観察時に脱皮が観察された場合は記録する。24、48、72及び96時間の死亡率から各時間のLC_{50}を算出する。



Neocaridina denticulata

②ヨコエビ急性毒性試験

供試生物は、淡水産のヨコエビ(端脚目)。*Gammarus fasciatus*、*G. pseudolimnaeus*、*G. lacustris*及び*Hyalella azteca*が望ましいが、他の端脚目を用いることもできる。試験区ごとに少なくとも20個体を用いる。水温は18～23℃を標準とする。暴露期間は96時間。暴露方法、観察及び測定等は魚類急性毒性試験等に準じる。なお、観察時に脱皮が観察された場合は記録する。24、48、72及び96時間の死亡率から各時間のLC_{50}を算出する。

Gammarus nipponensis

③ユスリカ幼虫急性毒性試験

試生物は、ユスリカ属(*Chironomus yoshimatsui*、*C. tentans*及び*C. riparius*)が推奨されるが、他のユスリカ属を用いてもよい。試験には2～3齢幼虫を、試験区ごとに少なくとも10個体を用いる。水温は20～25℃を標準とし暴露期間は48時間とする。暴露方法、観察及び測定等は他の急性毒性試験に準じる。24及び48時間の死亡率から各時間のLC_{50}を算出する。

Chironomus yoshimatsui

(2) 異なる成長段階での試験(異なる成長段階の感受性差評価)

①魚類(ふ化仔魚)急性毒性試験

供試魚としてヒメダカ(*Oryzias latipes*)のふ化仔魚(24時間以内齢)を用いる他、暴露方法、暴露期間、環境条件等は魚類急性毒性試験(2-7-1-1)に準じる。

②ミジンコ類(成体)急性遊泳阻害試験

供試生物として給餌して飼育した生後7日齢のミジンコを用いる他、暴露方法、暴露期間、環境条件等はミジンコ類急性遊泳阻害試験(2-7-2-1)に準じる。

(3) フミン酸を含む水での試験(環境中有機物質影響評価)

魚類急性毒性・ミジンコ類急性遊泳阻害共存有機物影響試験

供試生物としてヒメダカ又はオオミジンコ(*Daphnia magna*)を用いる。暴露方法、暴露期間、環境条件等は魚類急性毒性試験(2-7-1-1)及びミジンコ類急性遊泳阻害試験(2-7-2-1)に準じる。

本試験は、カチオン性の化学物質のようなフミン酸と著しい相互作用が推定される農薬に対して有効と考えられる。予備試験において、フミン酸濃度を10 mg/Lで簡便な試験を行い、もしフミン酸非存在下で得られた毒性よりも緩和される傾向がみとめられる場合には本試験を行う。フミン酸濃度は2.5、5及び10 mg/Lとし、各フミン酸添加区で急性毒性試験を実施する。また、別にフミン酸未添加区についても試験を行う。暴露開始時(試験生物を入れる前)に各試験区のTOCを測定しておく。フミン酸各濃度区で算出された急性毒性値(96時間LC_{50}又は48時間EC_{50})とTOC測定値との関係を回帰分析し、TOC濃度1.5 mg/Lにおける急性毒性値を算出する。この値をフミン酸未添加(0 mg/L)のときの96時間LC_{50}又は48時間

表1 水産動植物への影響に関する試験*

試験項目	識別番号
魚類急性毒性試験	2-7-1-1
魚類(ふ化仔魚)急性毒性試験	2-7-1-2
ミジンコ類急性遊泳阻害試験	2-7-2-1
ミジンコ類(成体)急性遊泳阻害試験	2-7-2-2
ミジンコ類繁殖試験	2-7-2-3
魚類急性毒性・ミジンコ類急性遊泳阻害共存有機物影響試験	2-7-3
ヌマエビ・ヌカエビ急性毒性試験	2-7-4
ヨコエビ急性毒性試験	2-7-5
ユスリカ幼虫急性毒性試験	2-7-6
藻類生長阻害試験	2-7-7

*農薬の登録申請に係る試験成績について(別添)農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針水産動植物への影響に関する試験(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知、一部改正平成17年3月16日消安第9260号)農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針、太字が追加試験に該当

EC_{50}で除してTOC濃度1.5 mg/Lにおける毒性緩和係数を求める。

登録保留基準値を設定するに当たり、上記6項目試験に加えて魚類のコイ、ヒメダカ以外の魚種（ニジマス、ブルーギル、ファットヘッドミノー、ゼブラフィッシュ及びグッピー）のデータも含めて、得られたデータの生物種数に応じて不確実係数は通常の10から2～10の値が適用されることになっています。詳細については、環境省「16年度水産動植物登録保留基準設定検討会」報告（http：//www.env.go.jp/water/sui-kaitei/h16rep_suisan.pdf）をご参照ください。

本機構では魚類、ミジンコ類及び藻類を用いた農薬GLP適合試験を年間100件以上実施してきており、またその他の水生生物を用いた影響試験についても20年以上の経験と実績がありますので、新たに導入されました上記の各試験についても安心してご依頼いただける体制が整っています。

（久留米・野坂）

分解性・蓄積性関連試験GLP機関連絡会について

平成17年5月18日に経済産業省で行われました上記GLP機関連絡会において、試験実施に当たっての注意事項について説明がありましたので紹介いたします。

1．分解性にかかわる試験等について

①加水分解性が認められる物質についても基本的に試験法通知に定める分解度試験を実施すること

②やむを得ず混合物での分解度試験を行う場合は被験物質の直接定量は可能な限り混合物成分それぞれが分離できるようなクロマトグラフィー条件により行うこと。さらに、クロマトグラムのピークごとの分解性に差が生じていないか確認し、可能な限りピーク比等によるピークごとの分解度も算出すること

③被験物質の水溶解度が100 mg/L未満の場合には、水溶性の分解生成物等が生成しDOCが測定されたとしても、その測定結果からはDOC分解度とはならないので注意すること

2．蓄積性にかかわる試験等について

①濃縮度試験

a．難水溶性物質において、高濃度区と低濃度区との間でBCFに濃度依存性が見られる場合には、その設定濃度区が対水溶解度以下であることの証明が審議会において求められることがある。

b．BCFが100倍以下でも28日後もさらに上昇傾向が見込まれる場合には、その化学構造、対水溶解度、BCFの濃度依存性などにより、審議会において議論になる場合があるので、必要に応じて試験期間の延長を考慮する。

c．特定のマススペクトルピークなど特定ピークを用いて、BCFを算出する場合には、当該ピークを選択した理由について説明する。

② 1-オクタノールと水との間の分配係数測定試験（フラスコ振とう法）

a．有機金属化合物、界面活性効果のある物質、混合物などは適用できない。

b．logPow値が試験法で信頼性を保証している範囲より低い -2未満となっても、基本的に蓄積性（高濃縮性でない）の評価は可能と考える。

③ 1-オクタノールと水との間の分配係数測定試験（HPLC法）

a．「高濃縮性でない」の判定基準は、フラスコ振とう法と同じ3.5未満。

b．フラスコ振とう法で適用できない混合物、構造不明の分解生成物などの評価もピーク分離ができれば可能となることがある。

c．分解生成した構造不明物質でも逆相クロマトグラフィーによる溶出順位が被験物質より速ければ（より極性が高ければ）、被験物質が「高濃縮性でない」と評価できた場合には、「高濃縮性でない」と評価可能となることがある。この場合、構造不明物質のlogPow値を必ずしも測定する必要はない。

d．基本的にlogPow値が0未満となることはないが、どの基準物質より溶出順位が速いなど、明らかにlogPow値が3.5より小さいと考えられる場合には、蓄積性の評価は可能になると考える。

e．基準物質は、可能な限り被験物質と構造が類似する物質を選択する。

その他、高分子フロースキームや参考情報などの説明があり、ご依頼いただいた試験の評価に直接関係のある内容となっております。社会のニーズに伴い、多種多様の化学物質が必要となる一方、安全性評価に関しては、混合物や高分子材料など、多くの科学的知見が求められるようになりました。今後、化審法の届出がさらにスムースに行えますよう職員一同鋭意努力して参ります。

写真1　分解度試験関連における閉鎖系酸素消費量測定装置

なお、化審法対応の試験に関しては、化審法制定以来約4,000物質以上について実施しており、この経験を生かして、現在下記の試験についても対応可能となっております。

分解度試験関連
(1) OECDテストガイドライン301A～F
(2) OECDテストガイドライン302C
(3) グリーンプラ認証
申請用（OECD 301C、JIS K6950）
(4) 呼吸阻害試験
（OECD209）

濃縮度試験関連
(1) ニジマスの濃縮度試験
ニジマスの濃縮度試験を開始しました。OECDテストガイドラインでも推奨魚の1種であるニジマスは、他魚種（コイやヒメダカなど）と異なり低水温（13～17℃）による飼育が必要です。試験が実施できるように設備的な対応を行いました。
(2) RIラベル化法による濃縮度試験
分解度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）ラベル化法により試験実施が可能ですので、是非ご相談下さい。

（久留米・下川、屋形）

学会活動報告

2005年6月29日から7月1日の3日間、第32回日本トキシコロジー学会学術年会が江戸川区総合区民ホールにて開催されました。本学会は、生命安全科学分野の発展に貢献することを目的としており、化学物質の安全性確保及び創薬研究の推進に大きな役割を果たしております。
毒性発現機序の多面的な解析への期待が高いトキシコゲノミクスをはじめ、トキシコロジー領域の最新の研究成果が発表・討論されました。大学、研究機関、医薬企業等の各分野より約1200名が参加し盛況でした。この学術年会では、本機構から以下の演題で口頭及びポスター発表を行いました。

1．cDNA microarrayを用いたdiethylstilbestrol（DES）投与に伴う血清α2u-globulin変動メカニズムの解析　（発表者：日田事業所　武吉 正博）

Diethylstilbestrol（DES）投与に伴う血清α2u-globulin（AUG）レベルの減少メカニズムを解析するため、肝臓における遺伝子発現をDNA microarrayを用いて網羅的に解析すると共にELISA法にて血清AUGの変動を同時に検討した。Agilent社製 glass cDNA maicroarrayを用いて網羅的に遺伝子の変動を観察した結果、DESの投与用量及び血清AUGと連動した一連の遺伝子群が抽出され、変動した遺伝子群の中で特にRat senescence marker protein 2A gene（SMP-2）と血清AUGの変動との関連性が注目された。SMP-2はAndrogen repressibleな蛋白であり、肝細胞がAndrogenに対して感受性を有する時期に発現が抑制され、AUGが誘導される期間はSMP-2の発現が抑制されることが報告されている。本研究により毒性メカニズムの解析におけるcDNA maicroarrayの有用性が示された。

2．Flutamideを用いた子宮内･経乳汁暴露における出生仔への離乳後継続投与、非投与による影響の比較　（発表者：日田事業所　野田 修志）

Flutamide（FLT）を子宮内･経乳汁暴露した出生仔への離乳後継続投与の有用性について検討することを目的とし、雌Crj: CD（SD）IGSラットに0.4、2、10 mg/kgのFLTを妊娠6から分娩後20日まで経口投与、得られた雄出生仔のうち各腹約半数に母動物と同用量のFLTを投与し、離乳後継続投与群、離乳後非投与群でみられた影響を比較した。その結果、子宮内･経乳汁暴露後の出生仔への離乳後継続投与は、内分泌かく乱作用が次世代へ及ぼす影響を詳細に検討するにあたって有用な方法であることが示唆された。一方、10 mg/kg群の雌出生仔でcleft phallusがみられ、FLTの子宮内･系乳汁曝露によって雌出生仔の外部生殖器に形態異常が誘導されることが明らかとなったことを報告した。

両演題とも、最新の研究テーマであり、内分泌かく乱作用の影響評価に関する基礎的データを提供するものとして期待されています。
また、学術年会の期間中展示ブースを開設し、トキシコロジーに関連する試験の、リーフレットを作成し皆様にご利用いただきました。中でも、遺伝子発現解析、プロテオーム解析、LLNA、遺伝毒性試験等についてはニーズが高く、高品質なデータ提供が可能なことを皆様にご理解頂く良い機会となりました。
さらに、本機構の試験責任者との情報交換・質疑応答は、より詳細な情報を得ようという創薬研究担当者に好評であり、相互のパートナーシップも一層深まったものと考えます。

（化学物質安全センター管理部・稲井）

クロマトセミナー2005　開催のお知らせ

【講演内容】

「LC/MSを駆使した医薬品研究」　山梨大学 クリーンエネルギー研究センター　　橋本豊先生

LC/MSをうまく使いこなすためには、MSの知識と同時にLCの知識が不可欠であり、また、MSの知識の中では特にイオン化に関する知識が重要である。これらについての解説と、LC/MSによる微量分析法を自分で確立する方法を解説。

「失敗例から学ぶHPLCのノウハウ･テクニック」　　本機構職員

受託分析機関としての経験･失敗談から逆相系HPLCのノウハウをわかりやすく説明。

【参 加 費】無料

【申込方法】FAX 又はホームページからお申込みください。定員になり次第、受付を締め切らせていただきます。

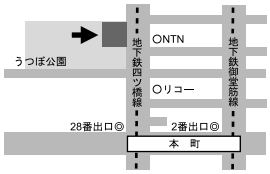
ホームページ申込み：本機構ホームページよりお申込みください。（URL　http://www.cerij.or.jp）

【スケジュール】開場13:00　講演開始13:30（終了予定17:00）

第61回 10月7日（金）大阪会場

大阪科学技術センター
8階大ホール（定員300）

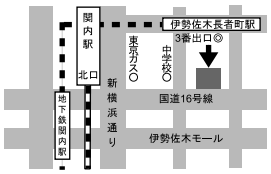
大阪市西区靭本町1-8-4
地下鉄四ツ橋線本町駅 28番出口徒歩3分
http://www.ostec.or.jp/



第62回 10月20日（木）横浜会場

ラジアントホール（定員150）

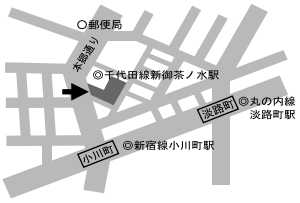
横浜市中区長者町5-85
明治安田生命ラジオ日本ビル1Ｆ
JR関内駅北口 徒歩約5分
横浜市営地下鉄伊勢佐木長者町駅
3番出口徒歩１分



第63回 10月21日（金）東京会場

総評会館（定員200）

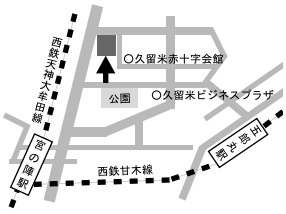
千代田区神田駿河台3-2-11
千代田線新御茶ノ水駅 B3出口徒歩0分
新宿線小川町駅 徒歩3分
丸の内線淡路町駅 徒歩5分



第64回 11月7日（月）久留米会場

（財）化学物質評価研究機構
久留米事業所（定員50）
※講演は二題とも本機構職員が行います

福岡県久留米市宮ノ陣3-2-7
西鉄天神大牟田線宮の陣駅 徒歩10分
JR久留米駅 タクシー15分



セミナー参加ご希望者は、参加ご希望日、お名前、お勤め先及びお勤め先住所、お電話番号、FAX番号をご記載の上、FAX又はお葉書にて下記宛にお申し込み下さい。

財団法人 化学物質評価研究機構　東京事業所　クロマト事業部セミナー係
〒345-0043　埼玉県北葛飾郡杉戸町下高野1600番　TEL 0480-37-261　FAX 0480-37-2521

編集後記

第50号夏季号をお届けいたします。
暑中お見舞い申し上げます。
巻頭言は、国立大学法人九州大学大学院　農学研究院　大嶋雄治先生から「生態学的死と行動評価」という表題で頂戴いたしました。誠にありがとうございました。
今回の特集は、化学物質安全部門・久留米事業所について掲載させていただきました。
また、本号では７月１日開催の第10回記念公開研究発表会発表概要を掲載させていただきました。ご高覧ください。
さらに、当日、雨にもかかわらず多数おいでいただきまして誠にありがとうございました。紙上を借りて厚く御礼申し上げます。　（企画部　赤木）

化学物質評価研究機構 ホームページ　**http://www.cerij.or.jp**

CERI NEWS　第50号　夏季号　　発行日　平成17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

古紙配合率100％再生紙を使用しています