

推定法

第3段階で代謝物等を考慮するものにあ

っては、次式で計算する。

$$PEC_{i \text{ 表流水LEVEL3}} = \frac{DOSE \times F_{pen} \times F_{pi} \times 10^3}{W_{person} \times D} = DOSE \times F_i \times 0.0033 [\mu \text{ g/L}]$$

3-5 代謝物の扱い

(1)推定式の意味

医薬品は、服用者の体内において代謝を受け、代謝物を生成する。代謝物等の割合は医薬品によって異なり、その比率は人を対象とした実際の試験結果によって得ることができる。排泄割合（排泄率）は、尿中や糞中の合算値を用いて算出する。物質 i の排泄率を f_i とすると、 $f_i \sim f_m$ (m は代謝物の数で原体を含む) は各代謝物等の排泄率を示す ($\sum f_i \leq 1$)。また、外用剤については、入浴などによる下水道への流入を想定する。

排泄された代謝物等は下水処理場でさらに分解・代謝され、その割合が変化する。活性汚泥を用いる分解性試験 (OECD 301C) では、原則的に単一の原体または代謝物を用いて試験する。そこで、物質 j を試験して物質 i が生成した割合 (変換率) を $r_{j \rightarrow i}$ と書くとする。ここで、 $i=j$ の場合は物質 i が代謝されずに残った割合を示す。流入水の物質が m 個あり、結果的に n 個の物質が生成するものとする。物質 i の流入水での存在比を f_i とすると、

$$F_{pi} = \sum_{j=1}^m (f_j \times r_{j \rightarrow i})$$
 が物質 i の流出水

中の残存率となり、 $F_p = \sum_{i=1}^n F_{pi}$ である。

なお、 F_{pi} を物質 i の総合的な残存率とする。

Eq.3 における F_p はこのような意味を持つものと理解される。

(2)適用の範囲

医薬品においては、人体からの代謝物の割合 (f_i) は分かっているものと想定できる。従って、下水処理過程を加味した F_i を求めるための試験系について以下に論じる。

通常、生分解性試験は単一の物質を試料として用いて行う。従って人体からの代謝物等が 10 種であれば、10 回の生分解性試験が必要となる。これを簡略化する方法は、①原体及び活性体のみを試験する、②混合物で試験する (試料を合成する必要がある)、③生態毒性の高いと予測されるものを試験し、類似性の高い物質は代用するなどがある。生分解性試験の結果、人体からの代謝物等に下水処理による分解物が加わり、リスク評価に必要な生態影響試験の対象となる物質数が多くなることも予想される。しかし、リスク評価を行う上で必要なのは、放流水中の成分であること、自然界の生物群に人体より多様な分解能力があることを想定すると、「①原体及び活性体」を生分解性試験の試料とすれば十分であるとの考え方が導出される。

なお、生態試験の対象となる範囲を限定し、一定以上の残存率を示す物質にのみ適用することもできる。この残存率は、現行化審法においては 1%、EMEA は 10% を採用している。10% を採用すると、すべてが

10%未満の代謝物等であった場合は、製造の制限はなくなる。

通常、 $\sum F_{pi}=1$ であるが、信頼しうる完全分解（無機化）した割合は、残存率を適用することによって除くことができる。但し、試験における物質収支が適正でない場合は、案分する等の工夫が必要である。

Eq.1 の簡略化に際しては、“ワーストケース（最悪のケース）”を想定することを原

則とし、都合のよい部分のみを適用することは避けるべきである。

代謝等を考慮する PEC の推定法は複雑となり、通常法としてのスクリーニングにはなじまない。そのため本法は特に精緻化が必要な段階に用いるべきものと考えられる。各代謝物等の表流水の予測環境濃度 ($PEC_{i \text{表流水 LEVEL3}}$)は Eq.6 によって求めることができる。

$$PEC_{i \text{表流水 LEVEL3}} = \frac{DOSE \times F_{pen} \times F_{pi} \times 10^3}{W_{person} \times D} = DOSE \times F_{pi} \times 0.0033 [\mu \text{ g/L}] \text{--Eq.6}$$

項目	記号	単位等	備考
残存率	F_{pi}	—	医薬品が人体→下水処理→放流水と経由したときの放流水中の i 代謝物等の投与量に対する残存率。

各代謝物等の PEC($PEC_{i \text{表流水 LEVEL3}}$)を用いて生態影響評価を行う場合は、 $\sum (PEC_{i \text{表流水 LEVEL3}}/PNEC_i)$ の値によって総合的に判断することになる。この評価法は、①すべての代謝物等の生態毒性値（ $PNEC_i$ ）が求められていること、②PEC/PNEC は相加性を有すること、を仮定している。代謝物が他の医薬品から生成したり代謝物が医薬品として登録されている場合は、全体として代謝物濃度が高くなる可能性があるが、単独物質の管理において他物質からの生成を同時に考慮することは、事実上困難である。

引用文献

- 1)日本下水道協会，下水汚泥の処理及び処分状況（平成 16 年度汚泥発生時乾燥重量ベース）
http://www.jswa.jp/05_arekore/motto/05

[/riyou/data.html](http://riyou/data.html)(2008 年 1 月 9 日)

- 2)国土交通省 土地・水資源局水資源部，平成 19 年版日本の水資源，平成 19 年 8 月
<http://www.mlit.go.jp/tochimizushigen/mizsei/hakusyo/H19/gaiyou.pdf>, pp.44
- 3)畠山成久（編）化学物質の生態リスク評価と規制・農薬編，日本環境毒性学会(監修)，pp.293,アイピーシー，2006

E. 結論

結論として PEC の推定は以下のように行うものとする。

- ① $PEC_{\text{表流水 LEVEL1}}$ は、医薬品がすべて直接環境に排出されると仮定してとして、河川表流水における PEC を推定する。
 $PEC_{\text{表流水 LEVEL1}}$ は、次式で計算する。

$$PEC_{\text{表流水 LEVEL1}} = \frac{DOSE \times F_{pen} \times 10^3}{W_{person} \times D}$$

$$= DOSE \times 0.0033 \quad [\mu \text{ g/L}]$$

② 特定の領域の PEC 計算法の開発が急務である。

③ PEC 地下水は，当面

$$PEC_{\text{地下水}} = 0.25 \times PEC_{\text{表流水}} \quad \text{によつて推定する。}$$

④ 第 3 段階で代謝物等を考慮するものにあつては，次式で計算する。

$$PEC_{i \text{ 表流水 LEVEL3}} = \frac{DOSE \times F_{pen} \times F_{pi} \times 10^3}{W_{person} \times D}$$

$$= DOSE \times F_i \times 0.0033 \quad [\mu \text{ g/L}]$$

F. 健康危険情報：該当なし

G. 研究発表

論文発表

平田睦子、斉藤充生、三宅真二、長谷川隆二。医薬品の環境リスク評価に関する研究，環境中の排泄形態。国立医薬品食品研究所報告 124 号 2006 年 印刷中

Sai K, Saeki M, Saito Y, Ozawa S, Katori N, Jinno H, Hasegawa R, Kaniwa N, Sawada J, Komamura K, Ueno K, Kamakura K, Kitakaze M, Kitamura Y, Kamatani N, Minami H, Ohtsu A, Shirao K, Yoshida T, Saijo N *UGT1A1* haplotypes associated with reduced glucuronidation and increased serum bilirubin in irinotecan-administered Japanese patients with cancer. *Clin Pharmacol Ther*, (2004) 75(6), 501-515.

Hasegawa R, Koizumi M, Hirose A Principles of risk assessment for determining the safety of chemicals:

Recent assessment of residual solvents in drugs and di(2-ethylhexyl) phthalate.

Congenit Anom (Kyoto), (2004) 44(2), 51-59.

Koyano S, Kurose K, Saito Y, Ozawa S, Hasegawa R, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Nakajima T, Matsumoto K, Akasawa A, Saito H, Sawada J Functional characterization of four naturally occurring variants of human pregnane X receptor (PXR): one variant causes dramatic loss of both DNA binding activity and the transactivation of the *CYP3A4* promoter/enhancer region. *Drug Metab Dispos*, (2004) 32(1), 149-154.

Fukuda N, Ito Y, Yamaguchi M, Mitsumori K, Koizumi M, Hasegawa R, Kamata E, Ema M Unexpected nephrotoxicity induced by tetrabromobisphenol A in newborn rats. *Toxicol Lett*, (2004) 150(2), 145-155.

Umemura T, Kitamura Y, Kanki K, Maruyama S, Okazaki K, Imazawa T, Nishimura T, Hasegawa R, Nishikawa A, Hirose M Dose-related changes of oxidative stress and cell proliferation in kidneys of male and female F344 rats exposed to potassium bromate. *Cancer Sci*, (2004) 95(5), 393-398.

Umemura T, Kai S, Hasegawa R, Kanki K, Kitamura Y, Nishikawa A, Hirose M (2003) Prevention of dual promoting effects of pentachlorophenol, an

environmental pollutant, on diethylnitrosamine-induced hepato- and cholangio-carcinogenesis in mice by green tea infusion. *Carcinogenesis*, 24(6), 1105-1109.

Sai K, Kaniwa N, Itoda M, Saito Y, Hasegawa R, Komamura K, Ueno K, Kamakura S, Kitakaze M, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Kitamura Y, Kamatani N, Ozawa S, Sawada J (2003) Haplotype analysis of *ABCB1/MDR1* blocks in a Japanese population reveals genotype-dependent renal clearance of irinotecan.

Pharmacogenetics, 13(12), 741-754.

Connelly J, Osterberg RE, Tucker ML, Hasegawa R (2003) ICH Guideline Residual Solvents: Update. *Pharmeuropa*, 15(2), 365-372.

Koizumi M, Noda A, Ito Y, Furukawa M, Fujii M, Kamata E, Ema M, Hasegawa R (2003) Higher susceptibility of newborn rats to 3-methylphenol than young rats. *J Toxicol Sci*, 28, 59-70

H. 知的所有権の取得状況：該当なし

厚生労働科学研究補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
分担研究報告書

医薬品の生態影響・生態リスク評価について
及び医薬品の環境影響評価法に関する研究報告
第4章「生態無影響濃度の推定」のとりまとめ

分担研究者 若林明子 淑徳大学国際コミュニケーション学部・環境科学・教授
分担研究者 菅谷芳雄 (独)国立環境研究所・主任研究員
分担研究者 吉岡義正 大分大学教育福祉科学部・教授

研究要旨

本研究は、本研究の基礎となる化審法の一部を改正する法律案（平成15年4月）をはじめ、薬事法の概要、すでに国際協調の進んでいる獣医薬品 ICH (VICH) 関連資料、欧米における環境影響評価のガイドライン (CPMP 文書、並びに FDA 文書)、及び環境影響評価法に関する学識経験者による諸著作を収集し、これらを産・官・学における情報に明るい構成班員をもって、数次の検討班会議を行うことによって、咀嚼、分析し、もって、1. 医薬品の環境影響評価を行うべき対象の検討に関する指針作成に必要な基礎資料の作成、2. 環境影響評価を行う場合の試験方法、試験方法のバッテリーに関する考え方の指針作成に必要な基礎資料の作成を企図したものである。本分担研究では医薬品の生態影響について特に生態無影響濃度の推定に焦点をあてて「医薬品の環境影響評価のための指針に関する報告(案)」の関係部分についての調査と執筆を行った。

A. 研究目的

本研究では、医薬品における環境影響評価の手法の考え方を、既に医薬品分野の環境影響評価を系統的に実施している欧米の事例を参考に整理し、日本において、新医薬品を承認する際の審査基準として、化審法とも整合性のある医薬品の環境影響評価のための指針づくりに寄与する立場から医薬品の生態影響についての研究

特に生態無影響濃度の推定の部分に焦点をあてて研究を推進した。

B. 研究方法

本研究の基礎となる化審法の一部を改正する法律案(平成15年4月)をはじめ、薬事法の概要、すでに国際協調の進んでいる獣医薬品 ICH (VICH) 関連資料、欧米における環境影響評価のガイドライン

(CPMP 文書、並びに FDA 文書)、及び環境影響評価法に関する学識経験者による諸著作を収集し、国内の毒性、環境影響に関係する他の専門家の協力を得て、医薬品の環境影響評価法に関する提言として整理すべき課題について、規制の原則、対象となる物質、評価手法の検討、生態毒性 (PNEC) の推定、予測環境濃度 (PEC ; 暴露濃度)、および評価及び対応などの諸点について、整理し昨年度作成した素案の成文案完成に供した。

倫理面への配慮

本研究は、個別の症例や個別の試料を用いた研究ではなく、主に評価手法に係わる制度的な研究を行うものであるから、特に、倫理的に配慮すべき事項はないと考えられる。

C・D. 研究結果・考察

菅谷研究員と次のような文案を作成した。

第 4 章 生態無影響濃度の推定

4-1 対象とする生態系モデル

4-1-1 生態系の概念

生態系は生物群集と無機的環境からなる

一つの物質系であり、「生物の多様性に関する条約」において、「植物の群落と、動物及び微生物の群集、およびとこれらを取り巻く非生物的環境とが相互に作用して一の機能的な単位を成す動的な複合体をいう」と定義される。従って、生態系は同じ水環境であっても河川・湖沼・海で異なり、地域、季節、時間によって変化する存在であり、概念である。(生態系の概念の解説は補遺 1 を参照)

4-1-2 対象とする生態系モデル

生態系保全の観点からのリスク評価は、個体レベルのリスク評価 (個体の細胞・組織への影響及びその結果としての死) にとどまらず、個体群、群集、生態系といったより大きな階層における影響を評価することが求められる。評価に使用する生態毒性データは、生態系の構造や機能を切り取って再現可能な形にした試験によって得る。生態系をモデル化した試験モデルは、一般的に表 4-1-2 に示す特徴をもつ。

表 4-1-2 試験モデル

1. 自然生態系	<p>自然の一部を利用して試験する。生態影響評価に最適であるが、評価法が確立していないことや費用・労力がかかり、適切な対照を得ることが難しく、自然環境を汚染する。一般に試験条件をコントロールできない(下記、止水、流れの例を参照)。</p> <p>止水＝湖沼、池 (人工を含む)、隔離水界 流水＝河川、人工河川 (循環、かけ流し)、浮型水路</p>
----------	---

2. 生態系モデル	<p>通常、生産者・消費者・分解者を含む。食物連鎖による濃縮等、試験目的によって特徴ある条件設定をすることができる。湖の一部をポリエチレンシートで隔離して行う大がかりな試験（隔離水界，マクロ（メソ）コズム）もあれば、300mlのフラスコで限られた種を用いて行う場合（マイクロコズム）もある。</p> <p>評価にある程度専門的な知識が必要で、費用・労力はスケール等によって大きく異なる。結果から自然環境への影響を外挿・推定する。目的と評価法が用いるモデルに依存する。</p>
3. 生物系モデル	<p>原則的に一種の生物を用いる試験である。通常、試験生物の生涯期間・全生活史を考えた慢性試験と生活史の一部の期間の毒性をみる急性試験に分類される。</p> <p>生態系とは直接の関係がないため、自然生態系への外挿が困難である。このため、複数種を用いた試験システムの構築や総合的判断基準の作成が不可欠である。試験法は比較的簡便、安価で、試験結果の集約は容易である。段階的試験システムの初期段階に利用される。</p>

現状の知見においては、通常試験として群集レベル以上での影響データを得ること（個体群の多様性が減少するおそれ、ひいては生態系全体が破壊されるおそれの程度の把握）は困難である。このため、群集の構成要素である個体群への影響試験（個体群の減少のおそれがあるかどうか）を行い、その結果を基に「個体群の減少が群集レベルでの多様性、ひいては生態系へ影響を与える可能性がある」として生態系へのリスクを評価することが最も現実的である。従って、単一生物を用いる試験の組み合わせ方式とする。

4-2 対象生物種

試験生物としては、生態学的意味が明確で、価格が適切で、試験が通年可能であり、感受性が高く、サイズや試験条件の設定などの取り扱いが容易で、国内環境において生存の可能性がある生物種が望ましい。現実的には、試験生物及び試験法は、すでに国際的に合意されている試験法とそこに推奨されている生物種を用いることになる。

一般的な生態毒性評価においては、化学物質の流達経路を考慮して水環境に着目し、生産者として水生植物（藻類等）、一次消費者として甲殻類（ミジンコ等）、捕食者として魚類を用いている。また、環境分配予測の結果から底質中に分配される可能性の高い場合は、底生生物を用いる試験を適用するなど適切なモデルを選択する。

さらに、流入する医薬品によっては、下水処理の機能を担う活性汚泥に影響を与える、その処理能力に影響を与えることが考えられる。そのため、微生物群に影響を与える恐れのある医薬品については、微生物の代謝（呼吸阻害）に対する評価を導入する。

4-3 試験法

4-3-1 適用する一般試験法の選択

OECD 試験法（補遺 2 参照）は、世界各国で用いられ、我が国は、OECD 加盟国として試験ガイドラインの制定時から関与し、医薬品以外の物質の評価に利用している。OECD 試験法には、水系では生産者（藻類）、1次消費者（ミジンコ）、捕食者（魚）、底

生生物(ユスリカ), 陸系としては生産者(高等植物)、消費者(シママミズ, ヒメミミズ)、高次捕食者(鳥), 分解者(微生物)など環境と各栄養段階別に整備されている。一方、農薬などに限定して使用される昆虫(ミツバチ)がある。なお、齧歯類は、生態影響というより人に対する影響評価に使われる。鳥や齧歯類の場合、下位の食物連鎖の種に蓄積した化学物質を捕食者として取り込むことが主要な曝露経路と考えられ、餌生物の体内濃度との関係を明確にすることが課題である。

医薬品排出のシナリオにおいて陸上への排出、大気への排出は想定されていないことから、陸生生物等を用いる試験は採用しない。また、単一生物の試験モデルを用いることから、試験生物の生態的地位と感受性の種間差を考慮して、複数の試験を1セットとする基本セットを導入する。特異な環境運命が予測される医薬品については、追加試験を考慮するものとする。

4-3-2 段階的な評価に応じた一般試験法

生態毒性試験には急性毒性試験と慢性毒性試験がある。スクリーニング法として、急性毒性試験を行って問題があれば慢性毒性試験を行う2段階方式と、最初から慢性毒性試験を行う1段階方式がある。現在の化審法は原則2段階(急性毒性試験->慢性毒性

試験)であり、EMEA(2006)¹⁾のガイドラインは1段階(慢性毒性試験)を設定している。生態影響評価においては、環境生物の生死より成長・繁殖がより重要なエンドポイントであること、急性毒性試験から慢性毒性試験への外挿には困難が伴うこと、今後の生態影響評価が慢性毒性試験に移行する傾向にあることなど、国際的整合性をも考慮して、本案は1段階方式を採用するものとする。

慢性毒性試験の基本セットを OECD TG201(藻類)もしくは TG221(ウキクサ), TG210(魚類) および TG211(ミジンコ) とする。但し、TG201(藻類)の NOEC 値を、単独で慢性毒性と見なすかどうかについては両論がある。また、慢性毒性試験としては、高次捕食生物の代表として OECD TG206(鳥)を、底質毒性試験として TG218(ユスリカ)を採用する。また下水処理機能に対する試験としては OECD TG209(活性汚泥; 慢性毒性とみなさない)を採用する。これらの試験は GLP を遵守して実施されなければならない。OECD は引き続き試験法の開発に取り組んでいるので、新しい試験法が採択されたときには、その試験法を取り込めるよう柔軟なシステムを作成しておく必要がある。

表 4-3-2 採用する OECD 試験

No.	生物種	期間	影響の観察項目 (エンドポイント)
201	藻類	72h	NOEC; 増殖阻害
221	ウキクサ	7d	NOEC; 生長, 増殖
211	ミジンコ	21d	NOEC; 産仔 (繁殖)
210	魚類	種類による	NOEC; 死亡, 孵化, 体長と体重, 異常な行動・形態
218	ユスリカ	種類による	NOEC; 羽化, 死, 生長

206	鳥	親：8+(8-10)w 雛：14d	NOEC;死亡, 体重, 摂餌量, 病理的観察, 産卵数, 異常卵数, 卵殻厚, 若鳥の生存能力, 孵化率
209	活性汚泥	0.5-3h	EC50;呼吸阻害

4-3-3 特異な作用を持つ医薬品の試験 (ホルモン、抗生物質)

1) 内分泌攪乱作用

ホルモンや類似作用物質による内分泌攪乱作用は、前述の試験法によっては評価できないため、別の試験法を準備する必要がある。内分泌攪乱作用に関する試験法は、現在 OECD で開発されている(魚類を用いたスクリーニングアッセイ試験→甲殻類を用いたフルライフサイクル試験)。しかし、現状においてこれらの試験法は正規なものとして採用されていないため、内分泌攪乱作用の評価については今後の進展を待つこととする。

2) 下水処理施設に対する影響

抗生物質/殺菌剤等については、その利用目的から下水処理場の機能に影響を与えるおそれがある。下水流入水中における当該医薬品の濃度が、その有効濃度レベル以上と推定される場合は、OECD 209 活性汚泥呼吸阻害試験を義務付ける必要がある。下水流入水の濃度は、Eq.4 を D=1 とすることによって推定できる。

4-4 (Q)SAR の適用

構造活性相関(SAR; structure activity relationships)とは、化学物質の生理活性の発現とその物理化学的性質あるいは構造との関係を求め、定式化することである。SAR を定量的に扱う場合を定量構造活性相関(QSAR; quantitative SAR)という。

4-4-1. (Q)SAR の現状

行政的な(Q)SAR の利用は、USA で繁用

されている。USA では、新規化学物質の申請時に生態毒性のデータが義務づけられていないため、(Q)SAR を用いて生態毒性を予測し、必要があれば試験を要求する手続きがとられるためである。

EPA(Environmental Protection Agency USA)は、ECOSAR(Ecological Structure Activity Relationships)と呼ばれる QSAR システムを開発・公開し、自由な使用を認めている。

EU は Netherlands が開発した USES を発展させ、EUSES(European Union System for the Evaluation of Substances)を開発した。これらのシステムは、化学物質の初期段階的な評価システムで、曝露を含む評価が可能である。しかし、(Q)SAR による生態毒性の推定は組み込まれなかった。OECD は、化学物質の性質から4つのカテゴリーに分類した相関式を発表している。これらの(Q)SAR は、一般化学物質を対象としたもので、医薬品に特化してはいない。

医薬品開発において、医薬品の開発コストを下げるため、また新規構造の発見や毒性の回避に(Q)SAR 解析は必須とあってよい。コンピュータの発達は(Q)SAR を促進し、2次元あるいは3次元構造パラメータ、量子化学パラメータの導入、レセプター(タンパク質)との3次元構造解析、ニューラルネットワークによる推定、データマイニングなど多くの技術が開発されつつあり、各メーカーは独自のデータベースを構築し

ている。しかし、これらのシステムは医薬品開発（生理活性、人毒性）を中心に発達したもので、生態毒性は考慮されていない。(Q)SAR の解析では、多くのデータがあることが前提条件であり、医薬品の生態毒性が測定されていない現状では、医薬品用(Q)SARはないといってよい。

欧米では(Q)SAR に対する関心と期待が大きく、OECD は 2004 年に(Q)SAR の生態毒性への適用に当たって、その評価法についてのガイダンスを公表した。(Q)SAR を行政的に用いるには、補遺 3 の情報を備えることを必要であるとしている。また、EU は(Q)SAR 工具箱(Tool Box)のアイデアを実行に移している²⁾。

4-4-2. (Q)SAR の利用と精度

(Q)SAR は、化学物質の①優先順位の選定補助、②試験計画の立案、③毒性メカニ

ズムの解明のように試験の補助的に使用され、また化学物質の④分類化や⑤クラス分けやラベリングへのデータ不足への対応、⑥リスク評価におけるデータ不足への対応に試験の代わりとして用いることができる。

USA において審査時に(Q)SAR が用いられているが、最終判断はエキスパートによっており、自動的な判定とはなっていない。どのような評価システムであろうと、実験値は予測値に優先される。

US.EPA と EC との共同作業で ECOSAR の有効性を評価している³⁾。その結果は表 4-4-3-1 のようにまとめられる。ECOSAR は魚類、ミジンコの毒性を良好に推定できるが、急性毒性の推定結果に比べ慢性毒性の推定結果が劣る傾向がある。慢性毒性や藻類の実測データ数が少ないことが、その理由と考えられる。

表 4-4-3-1 (Q) SAR の予測精度

魚類	n	%	ミジンコ	n	%
		130		100.0	
一致*	107	82.3	一致*	90	70.9
不一致	23	17.7	不一致	37	29.1
Over estimation	14	10.8	Over estimation	20	15.7
Under estimation	9	6.9	Under estimation	17	13.4

*:一致とは、±1(対数値)以内であることを示す。

4-4-3 (Q)SAR の取り扱い

医薬品に適用してその有効性が確認されている(Q)SARはない。(Q)SAR は医薬品管理における将来の有効的手段になりうるが、現時点においては(Q)SAR 推定値を用いた PNEC 推定を採用しない。

4-5 無影響レベルの推定(PNEC)

試験結果から PNEC を求めるには、試験の質と数に応じたいくつかの方法がある。

その方法は外挿係数によるものと統計的取り扱いによるものに分かれる。

4-5-1. 不確実性係数(UF)による外挿法

不確実性係数(UF; Uncertainty Factor)と呼ばれる外挿係数を試験結果に適用して PNEC を算出する方法がある。UF は次のモデルを想定する。

$$UF_i = \prod_{i=1}^n (UF_i)$$

ここで、 UF_i は、累積の不確実係数を示し、 UF_i は試験のレベルや種類に依存する不確実係数で n 段階あることを示す。一般的には、慢性毒性結果→野外影響($i=1$)、急性毒性結果→慢性毒性結果($i=2$)、単一生物種→複数生物種($i=3$)、生物種内における感受性差（魚類の中でニジマスとヒメダカの感受性が異なること； $i=4$)の 4 段階を想定する。この内、 UF_4 [生物種内における感受性差($i=4$)]は、試験法の代表種を定めたときに、多くの同類の生物種から適切な感受性を持った生物を試験生物として選択しているとの認識に立ち、既に考慮されていると想定する。 UF_3 [単一生物種→複数生物種($i=3$)]は、生態系の各機能を代表するものとして選ばれた複数の試験法をセットとしたことから、必要な生態系機能を代表すると考えて考慮しない。試験結果が急性毒性のみである場合は、 UF_2 を考慮する必要があるが、このときに生物種による急性/慢性毒性比 (A/C 比) を考慮するかしないかで UF_2 値は異なる。A/C 比についての詳細は補遺 4 に示す。一方、 UF_1 [慢性毒性結果→生態影響($i=1$)]の値は、根拠がはっきりしないが、一般的には 10 の値が用いられている。

一例として OECD が提案している UF は、食物連鎖のキーになる 3 生物（藻類、ミジンコ、魚類）を用いた急性毒性試験結果がそろっている場合に $UF_1=10, UF_2=10$ を用い、 $UF_t=100$ である。同じく 3 生物についての慢性毒性試験結果がそろっている場合には $UF_t=UF_1=10$ を用いるよう勧めている。

医薬品のスクリーニングに 3 生物種をセットした慢性毒性試験を用いることから UF_1 のみを考慮し、その値を暫定的に 10 とする。

4-5-2. 統計的な取り扱いによる外挿法

複数生物種を用いた試験データ数が少ないときは、安全を考慮して試験結果の中の最小値を用いることが多い。しかし、多くのデータが利用できるときは、統計理論を活用して 5 パーセントाइルに相当する値を採用することができる。その詳細は補遺 5 に記すが、医薬品については多くの慢性データを入手できることが期待できないので、統計的な取り扱いによる外挿法は採用しない。

4-5-3. 既存データの利用

文献等から既存データを入手し、該当医薬品の評価に利用することが考えられる。この場合、実施された試験の信頼性が GLP 試験と同じレベルであるかどうか、試験法や試験対象種がガイドラインと一致するかどうかの確認は困難である。行政レベルの判断基準は明確であることが要求されるため、原則 GLP 機関によるデータを用いることとし、既存データを加えて評価することはしない。しかし、申請者が既存データを添付した場合、その有効性の審査を行い、採用・不採用を決定する路を残すこととする。また、規制当局が特殊な試験を要求する場合の根拠として利用することを認めるものとする。

4-6 複数医薬品の取り扱い

4-6-1. 同一作用機序医薬品の取り扱い

医薬品においては、人体に対する生理作用の作用機序が判明している。医薬品の中には同種同効薬が多くあり、それらによる複合的環境影響が想定され、個々の医薬品のみの環境影響評価だけでは安全性を確保できない危惧が残る。そのため、環境中への医薬品排出量をその作用機序毎にまとめ

て集計し、個々の薬物の活性と排出量とを掛け合わせ、その総和としての影響を考える案がある。その詳細については補遺 6 に述べるが、本案においては研究課題として提示するのみに留める。

4-6-2. 複合影響の取り扱い

水環境は、通常複数の物質によって汚染されている。複数の物質が共存する場合、相互作用によって毒性が減少する場合や相加的あるいは相乗的に増大する場合が想定される。複合影響は生態影響評価を精密化する上で重要な要素であるが、その一般的なルールは得られていないため、複合影響の取り扱いは将来の課題となる。

引用文献

- 1) OECD, 2007, report on the regulatory uses and applications in OECD member countries of (quantitative) structure-activity relationship [(Q)SAR] models in the assessment of new and existing chemicals., ENV/JM/MONO(2006)25
- 2) OECD (2006), Overview of the QSAR Application Toolbox,
<http://www.oecd.org/dataoecd/33/41/37850114.pdf>(2007.4.28)
- 3) OCDE/GD(94)28, Environment monograph no. 88, US EPA/EC joint project on the evaluation of (quantitative) structure activity relationships

E. 結論

1) 予測無影響濃度(PNEC)の推定には以下の方法を用いる。

- ① 単一生物の試験モデルを用いる。複数の試験を 1 セットとした基本セットを導入することとし、特異な環境

運命が予測される医薬品については追加試験を考慮するものとする。

- ② 当面、水系のみを対象とする。
- ③ 基本セットを慢性毒性試験とし、水生植物の TG201 (藻類)もしくは TG221 (ウキクサ), TG210 (魚類) および TG211 (ミジンコ) とする。但し, TG201 (藻類) の NOEC 値は, 単独では完全な慢性毒性と見なさない。
- ④ 特異的状況におけるリスク評価のための追加試験として, 高次捕食生物の代表として TG206 (鳥) を, 底質毒性試験として TG218 (ユスリカ) を採用する
- ⑤ 基本セットおよび底質毒性試験の内最も毒性が高い値 (最も低い NOEC 値) を不確実係数(UF=10)で除して PNEC を算出する。追加試験 (鳥) からの PNEC 算出法は今後の検討課題とする。
- 2) その他, PNEC に関連する評価事項について,
- ⑥ 現時点においては, (Q)SAR を用いた PNEC 推定は導入しない。
- ⑦ 同一作用機序医薬品の影響を統合して評価すべきかは, 今後の検討課題である。
- ⑧ 複合影響の取り扱いは将来の課題とする。

F. 健康危険情報：該当なし

G. 研究発表

論文発表

若林明子. 輸送化学品の安全性評価. 化

学工学 第 70 卷 第 11 号 2006 年

135-146

若林明子. 化学物質の水環境への有害性の評価について. 水環境学会誌, 27(1): 2-7, 2004.

若林明子. 我が国における生態系保全に向けた新たな動き. 水環境学会誌, 26(4): 183-187, 2003.

若林明子. 東京都内の河川水で生じたオオミジンコ遊泳阻害と農薬汚染. 環境化学, 13(2): 183-187, 2003.

若林明子, 共著, 「生態影響試験ハンドブック」pp. 249-255, 朝倉書店, 平成 15 年 6 月.

若林明子, 共著, 「環境リスクマネジメントハンドブック」pp. 283-297, 朝倉書店, 平成 15 年 6 月

若林明子, 「化学物質と生態毒性(改訂版)」丸善, 平成 15 年 3 月

高橋美加、松本真理子、川原和三、菅野誠一郎、菅谷芳雄、広瀬明彦、鎌田栄一、江馬眞. OECD 化学物質対策の動向 (第 8 報) 第 16 回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議 化学生物総合管理学会誌 2003 ; 2(1) : 147-162

松本真理子、川原和三、菅谷芳雄、江馬眞. OECD 高生産量化学物質点検プログラム 第 21 回初期評価会会議概要、化学生物総合管理学会誌 2006 ; 2(1) :

高橋美加、松本真理子、川原和三、菅野誠一郎、菅谷芳雄、広瀬明彦、鎌田栄一、江馬眞. OECD 化学物質対策の動向 (9 報) 第 17 回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議 化学生物総合管理学会誌 2006 ; 2(1) : 163-175

菅谷 (編著) (2004) : 平成15年度底生生物等生態影響試験法検討調査報告書、国立環境研究所

菅谷 (編著) (2003) : 平成14年度底生生物試験法の検討調査報告書、国立環境研究所

菅谷・畠山・小神野 (2003) : ユスリカを用いた生物試験法、日本環境毒性学会 (編) 生態影響試験ハンドブック、pp112-129、朝倉書店、349pp.

菅谷・昆野 (2003) : 貝類を用いた毒性試験法、同上、pp175-182.

畠山・菅谷・高木・石川・尾里・若松 : 17 β -estradiol (E2) によるメダカの性転換とそれに伴う繁殖影響、環境毒性学会誌、4(2), 99-111.

H. 知的所有権の取得状況 : 該当なし

厚生労働科学研究補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
分担研究報告書

環境行政における医薬品等の生態リスク管理・環境中放出薬物の薬理作用
及び医薬品の環境影響評価法に関する研究報告
第5章「医薬品による環境影響のリスク管理」のとりまとめ

分担研究者 中杉修身 上智大学・環境工学・教授
分担研究者 大野泰雄 国立医薬品食品衛生研究所・副所長

研究要旨

本研究は、本研究の基礎となる化審法の一部を改正する法律案（平成15年4月）をはじめ、薬事法の概要、すでに国際協調の進んでいる獣医薬品 ICH (VICH) 関連資料、欧米における環境影響評価のガイドライン (CPMP 文書、並びに FDA 文書)、及び環境影響評価法に関する学識経験者による諸著作を収集し、これらを産・官・学における情報に明るい構成班員をもって、数次の検討班会議を行うことによって、咀嚼、分析し、もって、1. 医薬品の環境影響評価を行うべき対象の検討に関する指針作成に必要な基礎資料の作成、2. 環境影響評価を行う場合の試験方法、試験方法のバッテリーに関する考え方の指針作成に必要な基礎資料の作成を企図したものである。本分担研究では環境行政における医薬品等の生態影響について特にリスク管理の部分で管理手法の導入方法や申請段階での要件の整理更に判別法等を中心に調査と執筆を行った。

A. 研究目的

本研究では、医薬品における環境影響評価の手法の考え方を、既に医薬品分野の環境影響評価を系統的に実施している欧米の事例を参考に整理し、日本において、新医薬品を承認する際の審査基準として、化審法とも整合性のある医薬品の環境影響評価のための指針づくりに寄与する立場から環境行政における医薬品等の生態リスク管理についての研究を推進した。

B. 研究方法

本研究の基礎となる化審法の一部を改正する法律案(平成15年4月)をはじめ、薬事法の概要、すでに国際協調の進んでいる獣医薬品 ICH (VICH) 関連資料、欧米における環境影響評価のガイドライン (CPMP 文書、並びに FDA 文書)、及び環境影響評価法に関する学識経験者による諸著作を収集し、国内の毒性、環境影響に関係する他の専門家の協力を得て、医薬品の環境影響評価法に関する提言とし

て整理すべき課題について、規制の原則、対象となる物質、評価手法の検討、生態毒性（PNEC）の推定、予測環境濃度（PEC；暴露濃度）、および評価及び対応などの諸点について、整理し昨年度作成した素案の成文案完成に供した。

倫理面への配慮

本研究は、個別の症例や個別の試料を用いた研究ではなく、主に評価手法に係わる制度的な研究を行うものであるから、特に、倫理的に配慮すべき事項はないと考えられる。

C・D. 研究結果・考察

次のような案文をもって大野研究員とともに成案とした。

第5章 医薬品による環境影響のリスク管理

5-1. リスク管理の基本

化学物質等の生態系に対するリスク管理は、発生の抑制、利用の制限、排出の制限、回復措置、情報の伝達や公開等を通してリスクの低減を図ることにある。発生の抑制は曝露の低減に直接的につながり、もっとも効果が期待される。ダイオキシン類のような非意図的生成物や副産物の削減に発生の抑制対策がとられて、大きな成果を上げてきた。利用する化学物質についてリスク評価を行い、リスクに応じてその製造や使用を禁止したり制限する方策は、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律、農薬取締法、特定物質の規制等によるオゾン層の保護に関する法律として現実に適用されている。排出の制限に関しては、大気汚染防止法、水質汚濁防止法がその排出濃度や排出量を制限し、廃棄物処理法はその処

分方法を規制している。化学物質排出把握・管理促進法は、情報の公開と自主改善を促すことを目的としている。また、農用地土壌汚染対策法は汚染土壌の回復を規定している。これらの細目を補遺8に記した。

医薬品の環境影響に係わるリスク管理はこうした総合施策の一環として位置づけられる。

5-2. 医薬品の環境影響のリスク管理方法

5-2-1 医薬品の環境影響への視点

医薬品は使用段階で人に投与されるものであり、人の健康リスクは医薬品としての審査時に十分評価されており、また環境汚染を通じた曝露が投与量を上回る可能性は極めて低いと考えられるため、環境を通じた健康影響リスクを考慮する必要はないと考えられる。

医薬品は動物実験の結果に基づいて人の健康リスクを評価するが、この際に実験動物種と人の種差を考慮している。すなわち、人は実験動物に比べて医薬品に対する感受性が高いかもしれないと考えられている。環境生物の多様性を考えると、環境生物が人よりも感受性が高いケースが存在すると考えられる。そのため、人の健康リスクを対象とした現行の医薬品の審査法では、環境生物に対するリスク評価が十分であるとは言えない。医薬品がもたらす生態リスクに関わる評価について、企業において知見の集積の必要がある。

医薬品のリスク管理の基本を「利用の制限」におくことは、他の化学物質のリスク管理手法からも理解される。医薬品には代謝物という特有の事情があるので、代謝物をも考慮する必要がある。

5-3. 環境影響から見た医薬品の審査手順

5-3-1. 評価のための組織

現在の医薬品の承認審査は、企業による開発が臨床試験段階に到達した時に行われる医薬品医療機器総合機構（以下機構と略す）への①治験届け、企業が機構に治験に関する意見を求める②治験相談、新薬承認申請に関する資料がまとまった段階で行われる③新薬承認申請、引き続いて機構で行われる④審査専門員と調査専門員による審査、外部の関連分野の専門家の意見を求める⑤審査専門協議、⑥薬事・食品衛生審議会での審査、⑦市販後の安全性調査、および必要に応じて行われる⑦市販後試験、そして⑧再審査が制度的に定められている（補遺 9 参照）。

このように医薬品については、薬事・食品衛生審議会の下で機構による審査の手続きが整備されている。生態リスクについて新たな審査体制を構築することは合理的ではなく、人の健康リスクに加えて生態リスク評価に必要なデータの提出を求め、あわせて審査を行うのが適当と考えられる。

医薬品の環境影響の評価・チェック体制は、有効かつ合理的であるように考慮して

行われるべきである。また、環境政策上の必要時に、監督官庁が医薬品の生産量（販売量）に係わる情報を取得し、有効な対策に資するような考慮も有用であろう。

5-3-2. 申請時に必要な情報

申請時には、医薬品の審査で必要とされていた従来の項目に加え、生態リスク評価に必要な曝露可能性や環境生物に対する毒性などの情報を新たに追加する。具体的には、物理・化学的特性、曝露の可能性、分解性、濃縮性、基本セットの生態毒性や高次捕食生物に対する毒性に関するデータ、代謝物の毒性などの情報を必要とする。なお、特例事項に該当するとして評価免除を申請する場合は、その理由を付さねばならないものとする。

5-3-3. 評価のプロセス

これまでに述べてきた評価手法を考慮して、評価のプロセスを評価フローとして別紙に記載し、その要約を表 5-3-3 に示す。

表 5-3-3 提案するリスク評価のプロセス

Step	評価内容
1a	生薬、診断薬、生体高分子およびビタミン・電解質・アミノ酸等で、評価の対象外の医薬品か？
1b	例外規定（生産量 0.2 トン/年以下の医薬品。特定場所のみで使用される診断用医薬品、輸出専用医薬品、閉鎖的環境のみで使用する医薬品で基準を満足するもの。）により、試験等を免除されるか？
2	生分解性が高く（分解度 60%以上）、濃縮性、生態毒性試験等を免除できるか？
3	生物濃縮係数(BCF)が 5,000 未満か？ BCF ≥ 5,000 は高濃縮性に指定する。
4a, b	PEC が基準(0.01 μg/L)以下か？

5a	PEC/PNEC 比が 1 未満か。
5b, c	特定の環境での PEC が高い可能性があり，これに関連する PEC/PNEC 比が 1 未満か。
6	PEC/PNEC の精密化が可能か
7	人類や公共の利益に必要不可欠であり，特別な考慮を必要とするか？

評価フローの主たる要点は、①試験データを不要とする理由に正当性があるか、②易分解性であるか、③高濃縮性であるか、④環境影響リスクが危惧されるか、⑤特定の環境でのリスクが懸念され、追加試験を必要とする性質を備えているか、である。各判定基準には、明確なものと今後の検討が必要なものがあるが、少なくとも初期評価に関しては明確な判定基準を示した。

本案においては、分解・蓄積性と環境影響リスクを直列的に配している。易分解性の医薬品であっても常時使用するとすると、分解速度によっては環境に残留するおそれがあり、分解・蓄積性と環境影響リスクは並列化すべきとの意見もある。並列化の場合には、分解・蓄積性に関する評価基準を明確に定める必要がある。評価基準を高蓄積性の医薬品の検出に限定するのであれば、本案中の基準($BCF \geq 5,000$)をそのまま適用可能である。一方、比較的高い蓄積性(例えば、 $5,000 > BCF \geq 1,000$)を示す医薬品に対しても何らかの対策を必要とする意見もある。

Step8 は、Step7 以下で生態リスク有りと評価されても、人類や公共の利益に必要不可欠であることから、特別の配慮によって生産・使用の制限を緩和する措置である。Step8 においては、リスク・便益の観点から、個々の医薬品の実情に応じて評価するものであり、ケースバイケースの対応となる。生産・使用の制限の緩和に当たって、条件

を付すなどの自由裁量の余地を多くするよう取りはからうべきである。

5-3-4. その他の事項

(1)柔軟な評価システム

生態リスクの評価は申請時の基準に基づいて行われるが、生態影響評価法は今後の改変が見込まれる。現時点では評価法が定まっていないホルモン作用のようなケースに対応するため、新しい評価法が組み込まれた際には、既に許可された医薬品に対しても速やかに対応可能であるような評価システムを構築しておくべきである。

(2)追加情報

審査後に生態リスクに関連する新たな情報が入手された場合は、届け出る仕組みを評価システム内に設けるべきである。生態毒性は、多様な生物種の中で限定された種を試験対象生物として指定し、その実験結果に基づいてリスク評価を行う。しかし、環境生物の感受性は種によって異なるため、生態系保全の目的に照らして新たな情報は政策上も重要となる。

(3)既存医薬品

医薬品の環境影響評価に係わる規制が実施される場合、実施以前に生産中である医薬品と実施以降の医薬品を区別して、前者を既存医薬品、後者を新規医薬品と区分することとする。新規医薬品については、定められた方法で評価することになる。一方、既存医薬品については、これまでに重大な生態影響が認められた例がほとんどないこ

とから、生産量（使用量）について一定の制限を設けた上で、生産の継続を認めることが可能と考えられる。

しかし、既存医薬品をそのまま長期にわたり例外扱いすることは、新規医薬品との格差を増大し、不公正な取り扱いをすることになる。また、自主的な申請のみでは対応できないことを REACH は示している。従って、生態リスク管理のないままの使用は長期にわたることがないようにすべきであり、既存医薬品の取り扱いは、一定期間の観察の後、適切な評価システムに組み込まれることが望まれる。

(4)排出規制

環境への医薬品の排出抑制においては、化学物質に一般的に用いられている手法を用いて、実効ある対応をとることが望まれる。その他、廃棄医薬品についても環境中に流出しない手段を講じるべきである。排出規制の細目は補遺 10 を参照のこと。

E. 結論

本分担研究では環境行政における医薬品等の生態影響について特にリスク管理の部分で管理手法の導入方法や申請段階での要件の整理更に判別法等を中心に調査と執筆を行った。

F. 健康危険情報：該当なし

G. 研究発表

論文発表

中杉修身：日本化学会編：環境科学 人間と地球の調和をめざして、東京化学同人、2004

中杉修身ら：化学物質環境リスクに関する調査・研究、国立環境研究所特別研究報告 SR-61-2003、2003

中杉修身：化学物質環境リスクとその管理、安全工学、42, 1, 27～35, 2003

中杉修身：中西準子ら編：環境リスクマネジメントハンドブック、朝倉書店、2003

中杉修身：土壌汚染への対応と対策技術の動向、化学工学、67, 6, 311～317, 2003

中杉修身：PRTR データの活用と検証、かんきょう、28, 5, 10～11, 2003

中杉修身：地下水・土壌汚染のリスクマネジメント、地質と調査、4, 21～25, 2002

中杉修身：化学物質リスク管理の潮流、廃棄物学会誌、12, 6, 329～337, 2002

中杉修身：土壌環境保全に向けた調査・モニタリング手法の開発、用水と排水、45, 1, 12～18, 2002

H. 知的所有権の取得状況：該当なし

厚生労働科学研究補助金
 (医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
 分担研究報告書

補遺：医薬品の環境影響評価法に関する研究報告補遺

補遺1 生態系概念

典型的な湖沼を例に生態系について述べる(図4-1)¹⁾。湖沼に棲むさまざまな生物は生態系を形成するための役割を演じている。湖沼には、通常、流入河川や大気を通じて有機物質や窒素・リンといった栄養塩が供給される。生産者である植物プランクトンは光合成により二酸化炭素と無機系栄養塩を栄養源として増殖する。植物プランクトン(藻類等)はミジンコ類などの小型動物プランクトンの、動物プランクトンは小型魚類などの捕食者の餌となる。大型魚(昆虫類の一部・サギなどの鳥類を含む)はこれら小型魚類を餌とする一方、猛禽類(ワシタカ類)の餌となる。このような関係を食物連鎖といい、化学物質の移動や濃縮とも密接な関係がある。また、これらの生物の死骸や排泄物等は分解者である微生物が無機物に分解し、一部は水に溶解、また、一部は湖底に沈殿し再び栄養塩として戻される。このように、自然界生態系の中では生物間、あるいは生物と非生物的環境が相互に関連しあっている。生態系とはこのような生物群集と無機的環境からなる一つの物質系であり、「生物の多様性に関する条約」において、「植物、動物及び微生物の群集とこれらを取り巻く非生物的環境とが相互に作用して一つの機能的な単位を成す動的な複合体をいう」と定義されている。従って、生態系は同じ水環境であっても河川・湖沼・海で異なり、地域、季節、時間によって変化する存在であり、概念である。

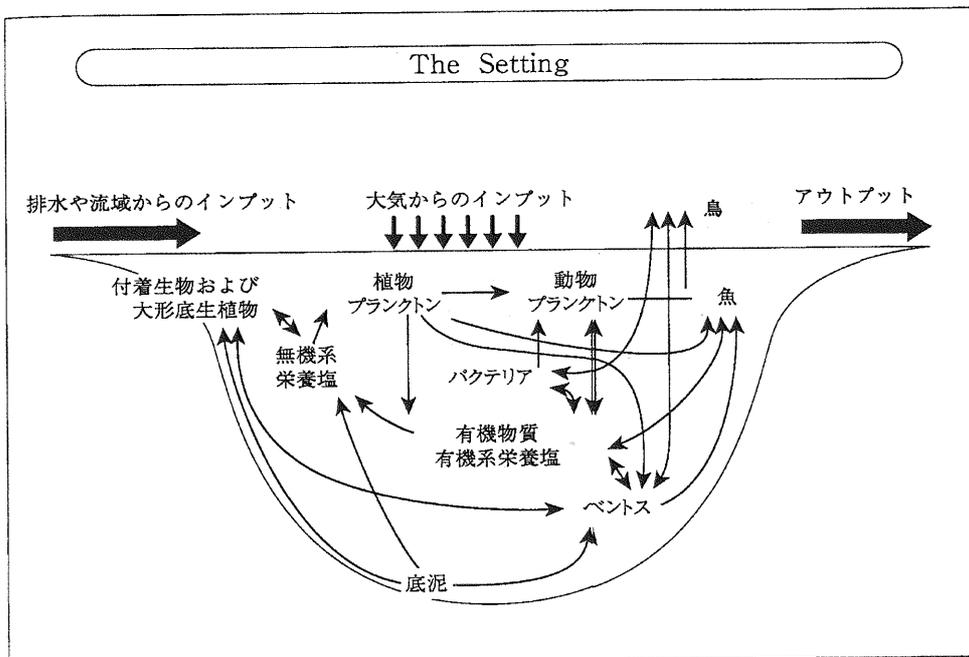


図4-2 湖沼生態系概念図

補遺 2 OECD の生態影響試験法のリスト

No.	生物種	期間 (急性, 慢性)	毒性; 影響の観察項目 (エンドポイント)
201	藻類	72h (急, 慢)	EC50; 増殖阻害 a) : MPD
202	ミジンコ	48h (急)	EC50; 遊泳阻害 : MPD
203	魚類	96h (急)	LC50; 死亡 : MPD
204	魚類	14-21d (急)	NOEC; 死亡, 行動, 体長, 体重等
205	鳥	5+3d (急)	LC50, NOEC; 死亡; 症状, 挙動, 体重, 摂餌量
206	鳥	親 : 8+(8-10)w (慢) , 雛 : 14d	NOEC; 死亡, 体重, 摂餌量, 病理的観察, 産卵数, 異常卵数, 卵殻厚, 若鳥に対する影響生存能力, 孵化率
207	ミミズ	48(72)h (濾紙) , 14d (土壌) (急)	LC50; 死亡
208	陸生植物	発芽より 14-21d (急)	LC50; 発芽, EC50; 成長
209	活性汚泥	0.5-3h (急)	EC50; 呼吸阻害
210	魚類	ふ化後 30-60 d (慢)	NOEC; 死亡, 孵化, 体長と体重, 異常な行動・形態
211	ミジンコ	21d (慢)	NOEC; 産仔 (繁殖)
212	魚類	卵より幼生 (急)	NOEC; 孵化, 生長
213	ミツバチ	48h(-96h) (急)	LD50; 死 (経口) ,
214	ミツバチ	48h(-96h) (急)	LD50; 死 (接触毒性)
215	魚類	28d (幼魚)	ECx, NOEC; 生長速度
216	微生物	28d(-100d)	ECx; N 変換
217	微生物	28d(-100d)	ECx; C 変換
218	ユスリカ	20-65d (慢)	ECx, NOEC; 羽化, 死, 生長 (底質添加法)
219			ECx, NOEC; 羽化, 死, 生長 (上層水添加法)
220	ヒメミミズ類	6W-65d (慢)	ECx, NOEC ; 増殖
221	水生植物	7d (ウキクサ)	ECx, NOEC; 生長, 増殖
222	ミミズ	4W+4W (土壌) (慢)	ECx, NOEC ; 増殖
223 ^{b)}	鳥	急性経口毒性 (新規)	
224	嫌気性微生物	3d	EC50 (嫌気性消化処理微生物のガス産生抑制)
227	陸上植物	21-28d (急)	ECx, ERx, NOEC; 生長
c)	鳥	親 : (2-14W)+13-14W, 雛 : 14d (慢)	NOEC; 飲料水に薬注 : 死亡, 体重, 摂餌量, 病理的観察, 産卵数, 異常卵数, 卵殻厚, 若鳥の生存能力, 孵化率
c)	魚	F I 150d & F II 42d (慢)	ECx, NOEC ; 死亡, 生長, 増殖, 孵化

註 : 試験法の内, OECD が慢性毒性試験と明確に位置づけているのは, 201, 210, 211 試験である。急性・慢性の区分は著者による。a) 1つの試験で急性と慢期の2つの毒性値が得られる。b) ドラフト, c) 提案のみ,