

ては、下水処理水の割合が冬季から春季にかけて 40%から 50%に達すること、夏季には降雨等により表流水の割合が増加するため、下水処理の割合が 40%を下回ることが

わかった。

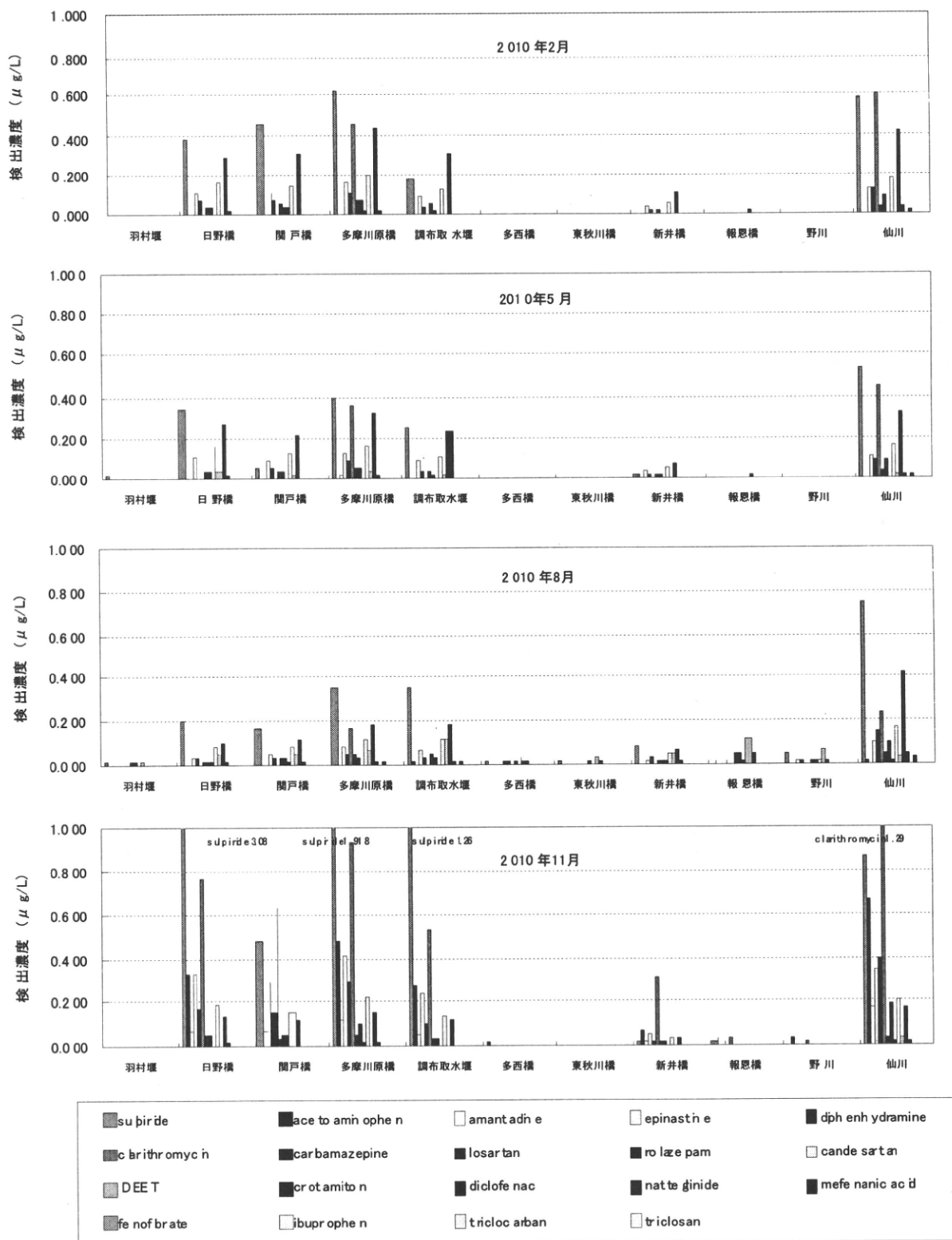


図6. 多摩川水系河川水中の医薬品の存在実態

表4. 多摩川水系河川水中の医薬品のMEC及びPEC

No	pharmaceuticals	Dose max (mg/day)	PEC ($\mu\text{g/L}$)			MECmax ($\mu\text{g/L}$)	MEC/PEC*100 (%)		
			DF:1	DF:2	DF:10		DF=1	DF=2	DF=10
1	sulpiride	600	30	15	3	3.075	10.2	20.5	102.5
2	acetoaminophen	1500	75	37.5	7.5	0.671	0.9	1.8	8.9
3	amantadine	300	15	7.5	1.5	0.179	1.2	2.4	11.9
4	epinastine	20	1	0.5	0.1	0.415	41.5	83.1	415.4
5	diphenhydramine	160	8	4	0.8	0.390	4.9	9.8	48.8
6	clarithromycin	800	40	20	4	1.291	3.2	6.5	32.3
7	carbamazepine	1200	60	30	6	0.078	0.1	0.3	1.3
8	losartan	100	5	2.5	0.5	0.191	3.8	7.6	38.1
9	rolazepam	3	0.15	0.075	0.015	0.019	12.4	24.9	124.4
10	candesartan	12	0.6	0.3	0.06	0.227	37.8	75.7	378.4
11	DEET	-	-	-	-	0.119	-	-	-
12	crotamiton	-	-	-	-	0.447	-	-	-
13	diclofenac	100	5	2.5	0.5	0.039	0.8	1.5	7.7
14	nateglinide	360	18	9	1.8	0.002	0.0	0.0	0.1
15	mefenamic acid	1500	75	37.5	7.5	0.032	0.0	0.1	0.4
16	fenofibrate	300	15	7.5	1.5	0.002	0.0	0.0	0.1
17	ibuprophen	600	30	15	3	0.004	0.0	0.0	0.1
18	triclocarban	-	-	-	-	0.003	-	-	-
19	triclosan	-	-	-	-	0.002	-	-	-

MEC:2010年2、5、8、11月採水

PEC:EMEA, Phase I

表5. 多摩川水系河川水中の医薬品のMEC/PECの変動

No	pharmaceuticals	MEC/PEC*100 (%)											
		多摩川原橋				調布取水堰上				仙川下流			
		2月	5月	8月	11月	2月	5月	8月	11月	2月	5月	8月	11月
1	sulpiride	21	13	12	64	6	8	12	42	20	18	25	29
2	acetoaminophen	0	0	0	6	0	0	0	4	0	0	0	9
3	amantadine	0	1	0	8	0	0	0	4	0	0	0	12
4	epinastine	171	118	72	415	102	79	62	235	139	111	102	349
5	diphenhydramine	14	12	7	37	6	3	4	13	17	12	18	49
6	clarithromycin	12	9	4	23	0	0	0	13	15	11	6	32
7	carbamazepine	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
8	losartan	16	11	7	21	5	3	6	8	18	19	18	38
9	rolazepam	124	3	3	83	46	1	18	38	1	2	58	83
10	candesartan	340	275	200	378	218	185	197	245	308	273	286	346
11	DEET	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	crotamiton	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	diclofenac	4	3	5	3	2	1	4	1	7	2	8	2
14	nateglinide	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	mefenamic acid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	fenofibrate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	ibuprophen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	triclocarban	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	triclosan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

PEC:EMEA, Phase I, Dilution factor = 10

そこで、日野橋、関戸橋および多摩川原橋における各採水月の DF を用いて算出した PEC と MEC を比較した場合には、MEC/PEC 比が 100%を超えることがなかった。これらのことから、採水地点の DF に合わせた値を用いれば、MEC が PEC を超えるようなことは生じない、すなわち、過小評価の可能性を回避できることが示唆された。

2004 年から 2005 年の調査でも、エピナスチン、カンデサルタンおよびロラゼパムは DF=10 の場合には、MEC/PEC 比が 100%を越え、DF=2 では 100%を未満となる結果が得られている。今年度の調査で、DF=10 の場合には、新たにスルピリドが PEC を超えて検出される地点があることがわかった。

今年度の調査対象に追加したクラリスロマイシンについて、MEC/PEC 比が 100%を越えることなかったが、検出最高濃度 $1.29 \mu\text{g/L}$ は鈴木らが報告した藻類成長阻害試験より求めた PNEC $0.052 \mu\text{g/L}$ の 25 倍であった。その他、DEET およびクロタミトンの検出濃度は数百 ng/L 、トリクロカルバンおよびトリクロサンの検出濃度は最高でも数 ng/L であった。

1. 3. 兵庫県内の都市河川水における医薬品の存在実態 (2010 年調査)

河川流域の情報が入手可能な兵庫県内の河川水についても調査することとした。

1. 3. 1 K 川水系

兵庫県内の K 川における各医薬品の検出濃度を図 7 に示す。採水地点 K1 における医薬品の検出数は他の地点に比べて多く、検出濃度は他の地点と比較して高濃度であった。採水地点 K3、K14 および K15 においても、複数の医薬品が比較的低濃度で検出された。

医薬品の MEC_{max} と PEC を比較した結果を表 6 に示す。エピナスチンおよびカンデサルタンの MEC/PEC 比は初期値 DF=10 では

100%を越え、PEC よりも MEC の方が高い結果になった。医薬品が比較的高濃度に検出された K1、K3 および K14 における MEC/PEC 比の変動を表 7 に示す。K1 ではいずれの採水月でも MEC/PEC 比は 100%を越えていた。K1 地点の水試料は下水処理場の処理水そのものであり、表流水等による希釈を受けていなかった。そこで、DF=1 による PEC と比較したところ、MEC が PEC を超えることはなかった。

今年度に新たに対象としたクラリスロマイシンについて、MEC/PEC 比が 100%を越えることはなかったが、検出最高濃度 $1.760 \mu\text{g/L}$ は鈴木らが報告した藻類成長阻害試験より求めた PNEC $0.052 \mu\text{g/L}$ の 34 倍であった。

1. 3. 2 M 川水系

兵庫県内の M 川における各医薬品の検出濃度を図 8 に示す。採水地点 M7 における医薬品の濃度は他の地点と比較し、高濃度であった。M0、M4 および M13 においても、複数の医薬品が低濃度で検出された。

医薬品の検出最高濃度 (MEC_{max}) と PEC を比較した結果を表 8 に示す。スルピリド、エピナスチン、ロラゼパムおよびカンデサルタンの MEC/PEC 比は初期値 DF=10 では 100%を越え、PEC よりも MEC の方が高い結果になった。医薬品が比較的高濃度に検出された M0、M7 および M13 における MEC/PEC 比の変動を表 9 に示す。11 月には MEC/PEC 比が高い傾向にあった。M0 地点の水試料は下水処理場の処理水そのものであり、表流水等による希釈を受けていなかった。そこで、DF=1 による PEC と比較したところ、MEC が PEC を超えることはなかった。

M7 地点では処理水の希釈は十数倍であったが、DF=10 で MEC が PEC よりも高い結果になった。M7 よりも下流に位置する M4 地点では希釈倍率は M7 地点と同程度であ

るにも係わらず、MEC が PEC を超えることはなかったことから、M7 地点では処理水の希釈に偏りがあったものと推定される。今年度新たに対象としたクラリスロマイシンについて、MEC/PEC 比が 100%を越える

ことはなかったが、検出最高濃度 $0.560 \mu\text{g/L}$ は鈴木らが報告した藻類成長阻害試験より求めた PNEC $0.052 \mu\text{g/L}$ の 10 倍であった。

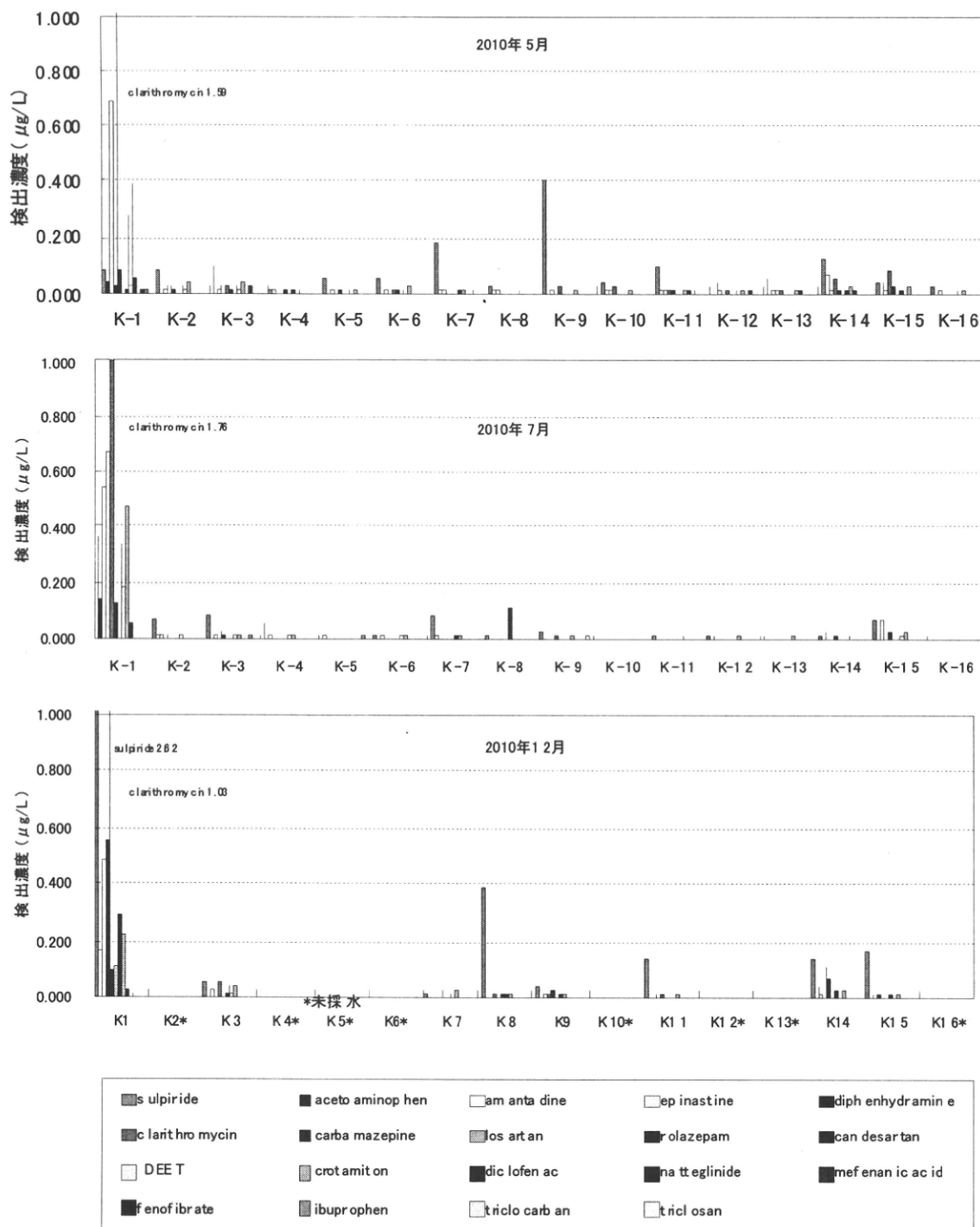


図7. K川水系河川水中の医薬品の存在実態

表6. K川水系河川水中の医薬品のMEC及びPEC

No	pharmaceuticals	Dose max (mg/day)	PEC (μg/L)			MECmax (μg/L)	MEC/PEC*100 (%)		
			DF:1	DF:2	DF:10		DF=1	DF=2	DF=10
1	sulpiride	600	30	15	3	2.621	8.7	17.5	87.4
2	acetoaminophen	1500	75	37.5	7.5	0.148	0.2	0.4	2.0
3	amantadine	300	15	7.5	1.5	0.545	3.6	7.3	36.3
4	epinastine	20	1	0.5	0.1	0.683	68.3	136.7	683.3
5	diphenhydramine	160	8	4	0.8	0.826	10.3	20.6	103.2
6	clarithromycin	800	40	20	4	1.760	4.4	8.8	44.0
7	carbamazepine	1200	60	30	6	0.131	0.2	0.4	2.2
8	losartan	100	5	2.5	0.5	0.104	2.1	4.2	20.9
9	rolazepam	3	0.15	0.075	0.015	0.008	5.3	10.6	53.1
10	candesartan	12	0.6	0.3	0.06	0.333	55.5	111.0	554.9
11	DEET	-	-	-	-	0.178	-	-	-
12	crotamiton	-	-	-	-	0.476	-	-	-
13	diclofenac	100	5	2.5	0.5	0.062	1.2	2.5	12.4
14	nateglinide	360	18	9	1.8	0.000	0.0	0.0	0.0
15	mefenamic acid	1500	75	37.5	7.5	0.030	0.0	0.1	0.4
16	fenofibrate	300	15	7.5	1.5	0.004	0.0	0.0	0.2
17	ibuprophen	600	30	15	3	0.016	0.1	0.1	0.5
18	triclocarban	-	-	-	-	0.009	-	-	-
19	triclosan	-	-	-	-	0.000	-	-	-

MEC:2010年5、7、12月採水

PEC:EMA, Phase I

表7. K川水系河川水中の医薬品のMEC及びPEC

No	pharmaceuticals	MEC/PEC*100 (%)								
		K1			K3			K14		
		5月	7月	12月	5月	7月	12月	5月	7月	12月
1	sulpiride	2.7	12.3	87.4	3.2	2.9	1.8	4.4	0.4	4.7
2	acetoaminophen	0.6	2.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
3	amantadine	19.6	36.3	11.0	1.0	1.1	1.7	4.9	1.9	2.5
4	epinastine	683.3	663.0	485.2	31.2	14.2	20.5	11.1	2.2	12.4
5	diphenhydramine	3.8	103.2	69.6	0.0	0.9	0.0	0.0	0.0	0.0
6	clarithromycin	39.7	44.0	25.6	0.6	0.8	1.2	1.4	0.2	2.6
7	carbamazepine	1.5	2.2	1.6	0.2	0.1	0.5	0.3	0.2	1.1
8	losartan	0.0	4.1	20.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
9	rolazepam	51.4	0.0	49.1	0.0	0.0	18.6	0.0	0.0	0.0
10	candesartan	469.7	554.9	479.5	31.9	18.7	56.5	20.6	0.0	37.9
11	DEET	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	crotamiton	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	diclofenac	11.5	12.4	5.8	0.0	0.0	0.4	0.6	0.5	0.0
14	nateglinide	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
15	mefenamic acid	0.1	0.0	0.1	0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
16	fenofibrate	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
17	ibuprophen	0.2	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0	0.0
18	triclocarban	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	triclosan	-	-	-	-	-	-	-	-	-

PEC:EMA, Phase I, Dilution facotor = 10

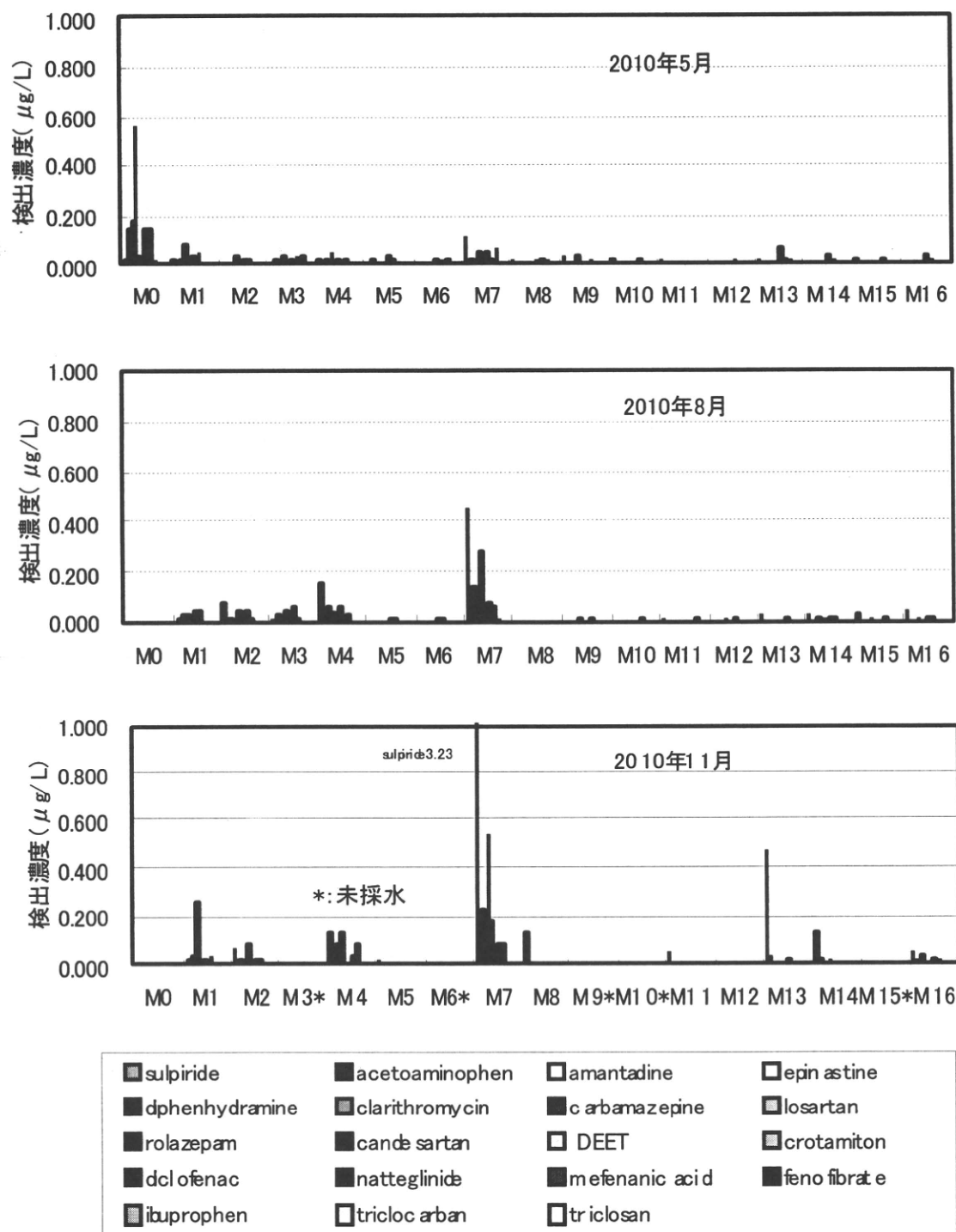


図8. M川水系河川水中の医薬品の存在実態

表8. M川水系河川水中の医薬品のMEC及びPEC

No	pharmaceuticals	Dose max (mg/day)	PEC ($\mu\text{g/L}$)			MECmax ($\mu\text{g/L}$)	MEC/PEC*100 (%)		
			DF:1	DF:2	DF:10		DF=1	DF=2	DF=10
1	sulpiride	600	30	15	3	3.232	10.8	21.5	107.7
2	acetoaminophen	1500	75	37.5	7.5	0.027	0.0	0.1	0.4
3	amantadine	300	15	7.5	1.5	0.101	0.7	1.3	6.7
4	epinastine	20	1	0.5	0.1	0.235	23.5	47.0	234.8
5	diphenhydramine	160	8	4	0.8	0.175	2.2	4.4	21.9
6	clarithromycin	800	40	20	4	0.560	1.4	2.8	14.0
7	carbamazepine	1200	60	30	6	0.272	0.5	0.9	4.5
8	losartan	100	5	2.5	0.5	0.007	0.1	0.3	1.3
9	rolazepam	3	0.15	0.075	0.015	0.020	13.5	26.9	134.6
10	candesartan	12	0.6	0.3	0.06	0.139	23.1	46.2	230.8
11	DEET	-	-	-	-	0.036	-	-	-
12	crotamiton	-	-	-	-	0.142	-	-	-
13	diclofenac	100	5	2.5	0.5	0.012	0.2	0.5	2.4
14	nateglinide	360	18	9	1.8	0.000	0.0	0.0	0.0
15	mefenamic acid	1500	75	37.5	7.5	0.069	0.1	0.2	0.9
16	fenofibrate	300	15	7.5	1.5	0.003	0.0	0.0	0.2
17	ibuprophen	600	30	15	3	0.000	0.0	0.0	0.0
18	triclocarban	-	-	-	-	0.000	-	-	-
19	triclosan	-	-	-	-	0.011	-	-	-

MEC: 2010年5、8、11月採水

PEC: EMEA, Phase I

表9. M川水系河川水中の医薬品のMEC及びPEC

No	pharmaceuticals	MEC/PEC*100 (%)						
		M0	M7			M13		
		5月	5月	8月	11月	5月	8月	11月
1	sulpiride	0	4	15	108	1	1	16
2	acetoaminophen	0	0	0	0	0	0	0
3	amantadine	2	0	3	7	0	0	2
4	epinastine	142	17	148	235	0	0	6
5	diphenhydramine	22	0	4	6	0	0	1
6	clarithromycin	14	0	2	13	0	0	0
7	carbamazepine	1	1	5	3	0	0	0
8	losartan	0	0	0	1	0	0	0
9	rolazepam	0	135	0	68	0	0	0
10	candesartan	231	84	139	122	125	0	26
11	DEET	-	-	-	-	-	-	-
12	crotamiton	-	-	-	-	-	-	-
13	diclofenac	2	0	2	1	1	0	0
14	nateglinide	0	0	0	0	0	0	0
15	mefenamic acid	0	1	0	0	0	0	0
16	fenofibrate	0	0	0	0	0	0	0
17	ibuprophen	0	0	0	0	0	0	0
18	triclocarban	-	-	-	-	-	-	-
19	triclosan	-	-	-	-	-	-	-

PEC: EMEA, Phase I, Dilution facotor = 10

D. 結論

下水処理水が流入する都市河川水を対象に医薬品の MEC を調査し、EMEA のガイドライン第 I 相から求めた PEC と比較した。EMEA のガイドラインの第 I 相の初期値 DF=10 では、スルピリド、エピナスチン、ロラゼパムおよびカンデサルタンの MEC/PEC 比は 100%を越えることが明らかとなった。しかし、実際の河川水の状況に応じた DF を設定することにより MEC/PEC 比は 100%未満になることが示唆された。

エピナスチンやカンデサルタンはヒトが服用したほとんどが未変化体の形で体外に排泄され、下水処理場においてもほとんど除去されない。これら医薬品と用量が同程度で、ヒト ADME や環境中挙動が類似している医薬品は EMEA のガイドライン第 I 相の PEC 算出に際し、DF=10 では過小評価する可能性があることが示唆された。

E. 健康危機情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

1) 鈴木俊也、小杉有希、矢口久美子、保坂三継、小縣昭夫、西村哲治、中江 大、多摩川流域の下水処理場における医薬品の存在実態、東京都健康安全研究センター年報、61、901-906、2010

2. 学会発表

1) 鈴木俊也、小杉有希、栗田雅行、西村哲治、小縣昭夫：東京都内河川水中の医薬品の予測環境濃度、第 19 回環境化学討論会。

2) Suzuki, T., Kosugi, Y., Yaguchi, K., Hosaka, M., Ogata, A., Nishimura, T., Nakae, D.: Evaluation of Measured and Predicted Environmental Concentrations of Selected Human Pharmaceuticals in Urban River in Tokyo, SETEAC North

America, 31th Annual Meeting (Portland)

3) 鈴木俊也、小杉有希、保坂三継、矢口久美子、小縣昭夫、西村哲治、中江大：東京都内河川水中の医薬品の環境中濃度の予測、日本薬学会第 131 年会

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案特許
なし
3. その他
なし

H. 参考文献

- 1) 土木技術研究所重点プロジェクト研究「生活における環境リスクを軽減するための技術」鈴木 穰ら、平成 19 年度報告書

【参考資料】

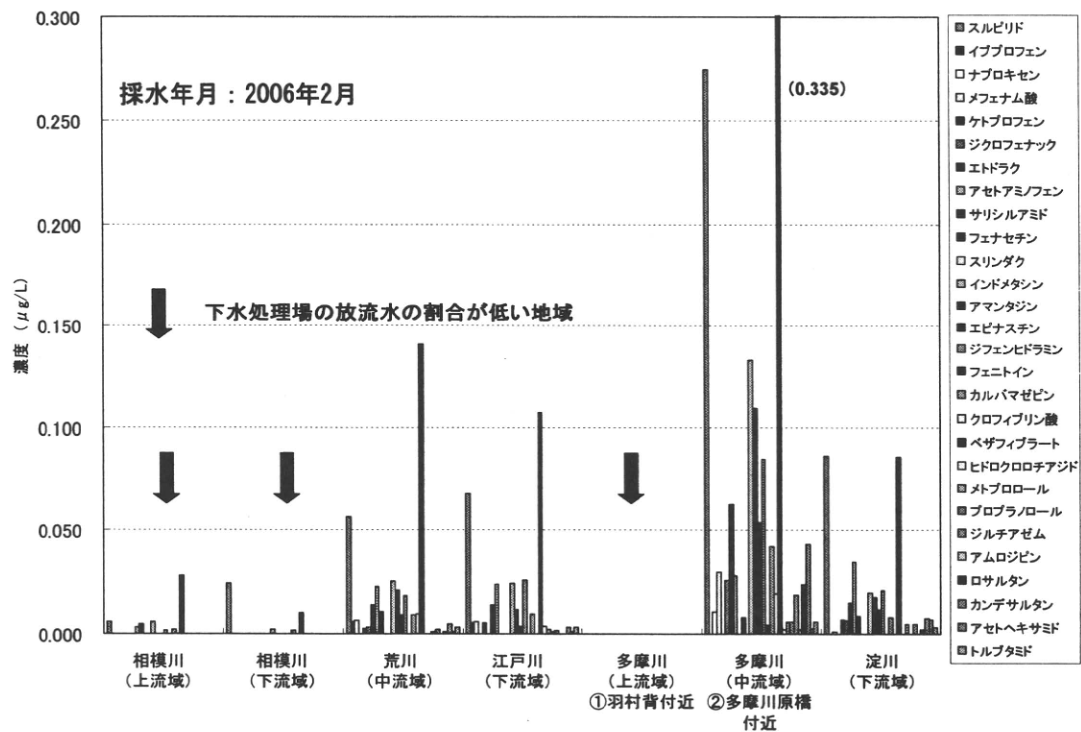


図9. 大都市域の河川水中の医薬品の検出濃度

表10. 多摩川水系における採水地点の河川水量及び下水処理場の処理水放流量

採水場所		河川流量 (m ³ /sec)			
No	名称	2010/2/23	2010/5/18	2010/8/19	2010/11/30
Site1	羽村堰	2.09	1.00	1.17	1.75
Site2	平井川(多西橋)	0.25	0.33	1.40	0.23
Site3	秋川(東秋川橋)	1.05	1.88	10.97	1.81
STP_A	STP多摩川上流	2.05	2.05	1.80	2.10
STP_B	STP八王子	0.93	1.20	1.10	1.30
STP_G	STP立川	0.73	0.73	0.73	0.73
Site4	日野橋	8.40	11.20	16.04	11.55
Site5	浅川(新井橋)	1.10	3.54	5.67	1.98
STP_C	STP北多摩2号	0.61	0.60	0.50	0.60
STP_D	STP浅川	0.81	0.90	0.80	0.90
Site6	関戸橋	14.00	17.06	19.25	16.56
Site7	大栗川(報恩橋)	1.07	1.01	0.66	0.83
STP_E	STP北多摩1号	2.18	2.30	2.20	2.20
STP_F	STP南多摩	1.20	1.30	1.20	1.30
Site8	多摩川原	19.25	18.97	22.50	17.88
Site9	野川下流	0.33	0.00	0.12	0.39
Site10	仙川下流	0.74	0.77	0.31	1.00
Site11	田園調布堰上	20.55	21.00	22.05	21.88

STPの流量は「数字で見る東京の下水道—平成22年度の下水処理の状況(速報値)」東京都下水道局による。

(ただし、STP立川は除く)

厚生労働科学研究費補助金
(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)
医薬品の環境影響評価ガイドラインに関する研究
平成 22 年度分担研究報告書

研究課題：医薬品の環境影響評価における生物影響試験法の開発と確立

研究分担者 鎌迫 典久 独立行政法人 国立環境研究所

研究要旨：

環境中に放出された医薬品が生態系に及ぼす影響について評価を行う際に必要となる情報を得るために、生物への毒性影響の視点から評価手法について検討を行った。昨年度に引き続き、環境中で存在が確認された医薬品 2 品目を選択し、化審法及び OECD の試験法による、藻類、甲殻類および魚類に対する慢性毒性試験を実施した。また、昨年度検討した医薬品の中から、底質に移行することが懸念されたフェノフィブラートについては、ユスリカを用いた底質毒性試験を実施し、底質経由での曝露による生態影響の可能性について検討した。さらに、EMA のフェーズ IIA で推奨されている活性汚泥呼吸阻害試験、及び EMA フェーズ IIB で推奨されている、陸生植物生長試験についても検討を行った。

今年度対象とした医薬品の生態影響試験においては、水を経由した曝露による生物影響（藻類、甲殻類、魚類）について確認することができた。環境水中に存在する可能性が高い他の医薬品類についても、本研究において用いられた方法により、影響評価が可能であると思われる。また、活性汚泥呼吸阻害試験、及び陸生植物生長試験については、物質選定を含め、試験の有効性についてさらに検討する必要がある。

A. 研究目的

環境中に放出された医薬品が生態系に及ぼす影響について評価を行う際に必要となる情報を得るために、生物への毒性影響の視点から評価手法について検討を行う。

今年度は、昨年度に引き続き、多摩川流域から検出された医薬品を中心に、昨年度にシミュレートした、藻類・甲殻類・魚類を用いた生態毒性試験を実施し、医薬品の

環境影響評価における慢性試験相当のデータの追加蓄積を行った。また、昨年度検討した医薬品の中から、影響が認められず、また、特に水溶解度が低く、底質に移行することが懸念された物質（フェノフィブラート）については、ユスリカを用いた底質毒性試験（OECD TG218）を実施し、底質経由での曝露による生態影響の可能性について検討した。さらに、EMA のフェーズ

IIA で推奨されている活性汚泥呼吸阻害試験、及び EMEA フェーズ IIB で推奨されている、陸生植物生長試験についても検討を行った。

B. 研究方法

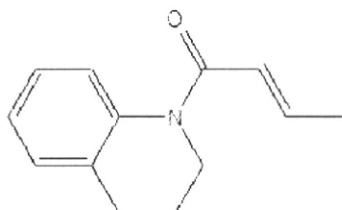
1. 慢性試験相当のデータの追加蓄積

1. 1 対象物質の選定

検討対象とする医薬品は、代表的な都市河川である多摩川において実施された水中

クロタミトン

Crotamiton



C₁₃H₁₇NO

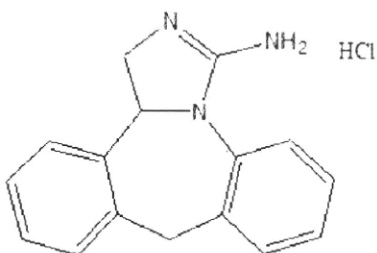
CAS number 483-63-6

鎮痛, 鎮痒, 収れん, 消炎剤

疥癬治療薬 (疥癬虫駆除剤)

エピナスチン塩酸塩

Epinastine Hydrochloride



C₁₆H₁₆ClN₃

CAS number 108929-04-0

抗アレルギー薬 (ヒスタミン H1 拮抗剤)

の医薬品に関する調査において検出報告のある物質を参考に選定を行った。検討対象とした医薬品 2 種を下記に示す。なお、昨年度の実施した物質である、「ジクロフェナクナトリウム」、「メフェナム酸」、「フェノフィブラート」、「カルバマゼピン」については、今回の対象から除外した。

1. 2 試験溶液の調製

選定した医薬品を生物試験に供する際には、藻類試験では OECD にて推奨されている標準培地、甲殻類と魚類試験では飼育水（調温清浄濾過水）に直接溶解して使用した。底質毒性試験においては、対象となる医薬品をアセトンで溶解して使用した。活性汚泥呼吸阻害試験、及び陸生植物生長試験については、対象となる医薬品を粉末のまま混合し、試験に使用した。

1. 3 生物毒性試験法

(a) 藻類

試験に用いた生物種は緑藻類（ムレミカヅキモ：*Pseudokirchneriella subcapitata*）とし、試験の作業は OECD テストガイドライン TG201 および化審法の藻類試験法に準じて行った。試験の概要は、藻類の標準培地（OECD 培地）中で藻類を培養し、培地中に対象医薬品を添加した場合と添加しない場合との間で、増殖した細胞数にどのような変化が生じるか観察を行う。その細胞数の変化から増殖速度を計算し、曝露した医薬品濃度との関係から藻類生長への影響を評価する手法である。試験条件の概要について表 2 に示す。

(b) 甲殻類

試験には、ニセネコゼミジンコ（*Ceriodaphnia dubia*）を用いた。試験

手法としては、カナダ環境省によるミジンコ亜急性毒性試験 “Test of Reproduction and Survival Using the Cladoceran *Ceriodaphnia dubia*” に準じた。この試験では、単為生殖で増殖するミジンコの特性をいかし、一定期間（7～8日）にメスが産む仔虫の数が、被験物質の存在下で変化（減少）することを影響の指標とした。試験条件の概要について表2に示す。

(c) 魚類

試験には、ゼブラフィッシュ（*Danio rerio*）を用いた。受精卵から摂餌を開始するまでの9日間を対象として、被験物質の存在下において孵化および胚の生存がどのように変化するかを指標として評価を行うものであり、OECDのテストガイドラインである「魚類の胚・仔魚期における短期毒性試験 (Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-fry Stages [TG212])」を参考とした手法を用いた。評価対象とする指標としては、受精卵から仔魚が孵化できるかどうかをみる「孵化率」、また孵化した後の仔魚が生き残れるかどうかをみる「孵化後生残率」、および孵化と生残の双方をクリアして最終的に1個体の魚として繁殖に成功したかどうかをみる「繁殖率」を扱うこととして評価した。試験条件の概要について表1に示す。

2. ユスリカを用いた底質毒性試験

試験には、セスジユスリカ（*Chironomus yoshimatsui*）を用いた。試験手法としては、OECDのテストガイドラインである、「底質添加によるユスリカ底質毒性試験 “Sediment-Water

Chironomid Toxicity Test Using Spiked Sediment (TG218)” に準じた。1齢幼虫を試験に用い、対照区の最後の羽化から5日以上、或いは28日間を試験期間とし、「感受性に対する雌雄差」、「羽化率」及び「羽化速度」を指標として評価した。なお、今回の試験では、設定濃度において評価した。試験条件の概要について表2に示す。

3. 活性汚泥呼吸阻害試験

昨年度の対象物質のうち、河川から検出された医薬品（ジクロフェナクナトリウム、メフェナム酸、フェノフィブラート、カルバマゼピン）について、EMEAフェーズIIAで推奨されている、活性汚泥呼吸阻害試験（OECD TG209）を実施した。なお、本試験法は、最近、試験法が変更になり、条件検討が必要であることから、本年度は旧試験法ガイドラインに準じて実施した。本試験では、100 mg/Lを上限として限度試験を行い、対照区及び試験区において、活性汚泥を用い3時間接触後の酸素消費量を測定した。阻害率については、酸素消費量から呼吸率を算出した。試験条件の概要について表3に示す。

4. 陸生植物生長試験

ジクロフェナクナトリウム、メフェナム酸、フェノフィブラート、カルバマゼピン、フマギリン、クロタミトン、エピナスチン塩酸塩について、EMEAフェーズIIBで推奨されている、陸生植物生長試験を実施した。陸生植物生長試験については、OECDテストガイドラインTG208が推奨されているが、今年度は、

試験の実施に向けた検討を行うため、多物質を一度にスクリーニングできる、“PHYTOTOKIT RAPID AND USER-FRIENDLY MICROBIOTEST WITH HIGHER PLANTS Kit number : PH014” (MicroBioTests Inc.) を用いて試験を実施した。昨年度及び今年度の藻類生長阻害試験で行った医薬品結果データをもとに、対象となる医薬品の曝露濃度を設定した。供試植物には、キットに付属している①the dicotyl garden cress (*Lepidium sativum* (LES010409))、②the dicotyl mustard (*Sinapis alba*(SIA161007))、③the monocotyl sorgho (*Sorghum saccharat* (SOS1010080)) の3種類の種子を用いた。試験条件を下記に記す。

＜試験条件＞

温度：22・24℃；光強度：45・60Lux；明暗周期：連続照射；試験期間：5日間；設定濃度：任意（藻類生長阻害試験の結果等から濃度を設定）；試験区：対照区及び1濃度区；試験方法：被験物質を設定濃度となるように土壤に添加し混合。超純水を少量ずつ適量加えtest plate上に均す。均した土壤上にFilter paperを載せ、1濃度区あたり5種子以上播種する。；試験の有効性：対照の幼苗に毒性症状等が認められないこと。試験期間中の対照区の発芽率が70%以上、また幼苗の生存率が90%以上であること。試験期間中、試験条件（環境条件）が同一であること。；観察：試験開始3～5日間の幼苗の芽部及び根部の高さについて記録する。

C. 研究結果

1. 生物試験

1. 1 藻類生長阻害試験結果

藻類生長阻害試験の結果を示す。図中の星印*, **はDunnett testによる多重比較の結果、それぞれ $p<0.05$, $p<0.01$ の水準で対照区と比較して有意な差が見られたことを示す。また、エラーバーは±標準偏差を示す。

1) クロタミトン

藻類の成長速度と曝露濃度との関係を図1に示す。クロタミトンの藻類生長への阻害作用は、50%生長阻害濃度 (EC50) では、67.6 mg/L、また最大無作用濃度 (NOEC) は5.2 mg/Lと計算された。

2) エピナスチン塩酸塩

藻類の成長速度と曝露濃度との関係を図2に示す。

エピナスチン塩酸塩の藻類生長への阻害作用は、50%生長阻害濃度 (EC50) では、3.9 mg/L、また最大無作用濃度 (NOEC) は2.26 mg/Lと計算された。

1. 2 ニセネコゼミジンコ繁殖試験

ニセネコゼミジンコ繁殖試験の結果を示す。棒グラフは各実験区における平均総産仔数を表し、エラーバーは標準誤差を意味する。総産仔数は試験終了時まで生存した試験個体が試験期間中に産んだ生存仔虫の総数とした。図中の星印*, **はDunnett testによる多重比較の結果、それぞれ $p<0.05$, $p<0.01$ の水準で対照区と比較して有意な差が見られたことを示す。1) クロタミトン

ミジンコの産仔数と曝露濃度との関係を図3に示す。

本試験では、12.3 mg/Lにおいて、対照

区と比べて産仔数が減少し、その差は統計学的に有意なものであった。また、24.4 mg/L 以上では、産仔数が 0 になった。本試験における EC50、NOEC はそれぞれ 8.10 mg/L、6.22 mg/L であった。

2) エピナスチン塩酸塩

ミジンコの産仔数と曝露濃度との関係を図 4 に示す。

本試験では、5.15 mg/L において、対照区と比べて産仔数が減少し、その差は統計学的に有意なものであった。最高濃度 10 mg/L では、全試験個体が試験終了時までに死亡した。本試験における EC50、NOEC はそれぞれ 5.57 mg/L (外挿値)、2.75 mg/L であった。

1. 3 ゼブラフィッシュ胚・仔魚期短期毒性試験

ゼブラフィッシュを用いた試験の結果を示す。グラフは各曝露濃度区における孵化率、孵化後の生残率、繁殖率の平均を表し、エラーバーは標準偏差を示す。グラフ中の星印*, **は Dunnett test による多重比較の結果、それぞれ危険率が $p < 0.05$, $p < 0.01$ の水準で対照区と比較して有意な差が見られたことを示す。なお、曝露濃度は実測値にて表記した。

1) クロタミトン

ゼブラフィッシュの孵化率、孵化後生残率及び繁殖率と曝露濃度との関係を図 5 に示す。孵化率については、対照区が 90% 以上に到達した 4 日目で比較した。

クロタミトンがゼブラフィッシュ胚に対して及ぼす影響については、対照区と比較して、最高濃度の 101.4 mg/L 以上で孵化率の低下（或いは遅延）が認められた（NOEC 50.9 mg/L）。また、孵化後の

生残数についても、50.9 mg/L 以上の濃度において減少が認められた（NOEC 25.1 mg/L）。最終的な繁殖への影響については、本試験において、50.9 mg/L 以上で濃度依存的な繁殖率の低下が確認された。EC50 及び NOEC については、それぞれ 73.5 mg/L 及び 25.1 mg/L と計算された。なお、最高濃度(101.4 mg/L)では、全ての試験個体が試験期間中に死滅した。

2) エピナスチン塩酸塩

ゼブラフィッシュの孵化率、孵化後生残率及び繁殖率と曝露濃度との関係を図 6 に示す。孵化率については、対照区が 90% 以上に到達した 4 日目で比較した。

エピナスチン塩酸塩がゼブラフィッシュ胚に対して及ぼす影響について、本試験では、胚すなわち、孵化への影響は確認されなかった。一方、孵化後の生残数については、最高濃度（98.3 mg/L）で減少が認められた（NOEC 48.2 mg/L）。最終的な繁殖への影響については、EC50 では 99.4 mg/L、NOEC では 48.2 mg/L と計算された。

2. ユスリカを用いた底質毒性試験

昨年度検討した医薬品の中から、藻類・甲殻類・魚類において影響が認められず、また、特に水溶解度が低く、底質に移行することが懸念される「フェノフィブラート」について、ユスリカを用いた底質毒性試験（OECD TG218）を実施し、底質経由での曝露による生態影響の可能性について検討した。

設定濃度 1000 mg/L から 40 mg/L まで（公比 2.2）のフェノフィブラートによる曝露試験を実施した。今回の試験においては、24 日間の曝露期間中、曝露開始 12

日目から 18 日目までに全ての試験区で羽化が完了した。対照区と比較して、統計学的にユスリカの羽化率について差は認められなかった(図 7)。同様に、羽化速度についても、対照区と比較して、フェノフィブラート曝露による影響は認められなかった(図 8)。

3. 活性汚泥呼吸阻害試験

対象となる医薬品(ジクロフェナクナトリウム、メフェナム酸、フェノフィブラート、カルバマゼピン)及び基準物質(3・5 ジクロロフェノール)における活性汚泥呼吸阻害試験の結果を表 4 に示す。

本試験では、基準物質である 3・5 ジクロロフェノールの EC 値は 5.1 mg/L であり、試験成立条件を満たしていた。対象とした医薬品については、対照区と比べて、最高濃度(100 mg/L)における 3 時間接触後の呼吸阻害率に差がなく、EC50 値を算出できなかった。

4. 陸生植物生長試験

陸生植物生長試験の結果を表 5 に示す。各対象物質における、試験開始 5 日目の幼苗の芽部及び根部の高さについて記録した。各データについては、平均値±標準偏差で示した。統計解析については、Levene あるいは Bartlett test により、データの等分散性を検定後、等分散なら ANOVA 及び Dunnett test による多重比較、不等分散なら Kruskal-Wallis test 及び多重比較の検定を行った。**及び*は、対照区と比較して有意差(** $p<0.01$ 及び * $p<0.05$) が認められたことを示す。

今回の試験において、対照区と比較して、フマギリン 10 mg/kg、メフェナム酸 100 mg/kg、クロタミトン 100 mg/kg に

ついては、3 種類の植物全てにおいて、芽部及び根部の生長に差は認められなかった。フェノフィブラートに関しては、1000 mg/kg の濃度で *Sinapis alba* の根の生長が阻害されている傾向が認められるが、統計学的に差はなく、他の種子では影響がなかった。

ジクロフェナクナトリウム及びカルバマゼピンに関しては、程度の違いはあるものの、全体的に生長阻害が認められた。一方、エピナスチン塩酸塩に関して、対照区と比較して伸長する傾向が認められた。

D. 結論

1. 慢性試験相当のデータの追加蓄積

昨年度に引き続き、多摩川流域から検出された医薬品 2 種(エピナスチン、クロタミトン)を対象として、ムレミカヅキモ生長阻害試験、ニセネコゼミジンコ繁殖試験、及びゼブラフィッシュ胚・仔魚期短期毒性試験を実施した。

クロタミトンに対する毒性試験の結果、藻類、甲殻類では影響がほぼ同程度であり、NOEC で 5・6 mg/L であった。魚類については、孵化率よりも、孵化後生残数、及び繁殖率において強い影響が見られたが、藻類の 1/5 倍程度であった(表 6)。

一方、エピナスチン塩酸塩に対する毒性試験では、藻類>甲殻類>魚類の順に影響が強く示され、特に藻類については、NOEC が設定濃度の範囲を下回る結果となり、かなり強力に影響を受けることが示唆された。魚類については、化後生残数、及び繁殖率においてのみ影響が認められたが、軽微であった(表 6)。

今回対象とした医薬品においては、水溶解度が高く、試験水の調製も容易であったが、水を経由した曝露による生物影響（藻類、甲殻類、魚類）について確認することができた。環境水中に存在する可能性が高い他の医薬品類についても、本研究において用いられた方法により、影響評価が可能であると思われる。

今後も、医薬品類の生態影響評価手法の確立に向け、継続してデータの蓄積を行う必要がある。

2. ユスリカを用いた底質毒性試験

水生生物による影響が認められず、また、水溶解度が低く、底質に移行することが懸念されるフェノフィブラートについて、ユスリカを用いた底質毒性試験（OECD TG218）を実施した。底質経由での曝露による生態影響の可能性について検討した。今回の試験では、1000 mg/L の濃度においても、ユスリカの羽化に対する影響は観察されなかった。

このことから、フェノフィブラートは、水経由及び底質経由の両曝露試験において、影響が認められず、生態影響に対するリスクは低いことが示唆された。

3. 活性汚泥呼吸阻害試験

EMA フェーズ IIA で推奨されている活性汚泥呼吸阻害試験の実施に向けた検討を行うため、昨年度、水生生物毒性試験に使用した医薬品である、ジクロフェナクナトリウム、メフェナム酸、フェノフィブラート、カルバマゼピンについて調べた。本試験では、全ての物質が 100 mg/L の濃度で対照区の呼吸阻害率と同程度であり、EC50 値も算出できなかった。このことから、活性汚泥中の微生物に対

する上記医薬品の影響は認められないことが示された。今後、水生生物を用いた試験で使用された他の医薬品についても試験を行う必要がある。

4. 陸生植物生長試験

EMA フェーズ IIB で推奨されている、陸生植物生長試験を実施した。今回の試験では、試験の実施に向けた検討を行うため、多検体を同時に試験することができ、観察間が短く、また、種子の入手が容易な市販のキットを用いて試験を実施した。ジクロフェナクナトリウム、メフェナム酸、フェノフィブラート、カルバマゼピン、フマギリン、クロタミトン、エピナスチンの 7 種について調べたところ、濃度の違いや種子等で結果は異なるが、ジクロフェナクナトリウム、及びカルバマゼピンについては生長阻害が確認され、エピナスチンは伸長する傾向が認められた。今回の試験では、TG208 の予備試験として、スクリーニングを行った。今後、影響の見られた物質対しては、TG208 による試験を行い、結果等を比較することが必要である。

E. 今後の課題

これまで生態影響試験を実施した医薬品（対象 7 種程度）の個別毒性値と、多摩川流域の環境中予測濃度から求められるリスクが全体リスクを説明できているのかについて、模擬的な考察を行う。具体的には、下水処理場排水について藻類、甲殻類、魚類の慢性毒性試験を実施し、全毒性値を得る。同時に排水を分析し、そこに含まれる医薬品の濃度から推定される毒性値の総和（単純相加と仮定）を求める。仮に慢性毒性値がまだ得られていない医薬品が検出された場合には、適

宜試験を追加するか、急性毒性値あるいは文献値などからの推定値を用いる。上記 2 つの値を比較することによって、下水処理場排水中における医薬品の模擬的な環境影響寄与率を求める。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 岡知宏, 阿部良子, 萩野仁子, 小田

重人, 鎌迫典久, 鈴木俊也, 西村哲治 : 多摩川から検出された医薬品による水生生物への慢性影響に関する研究, 第 45 回日本水環境学会年会

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案特許

なし

3. その他

なし

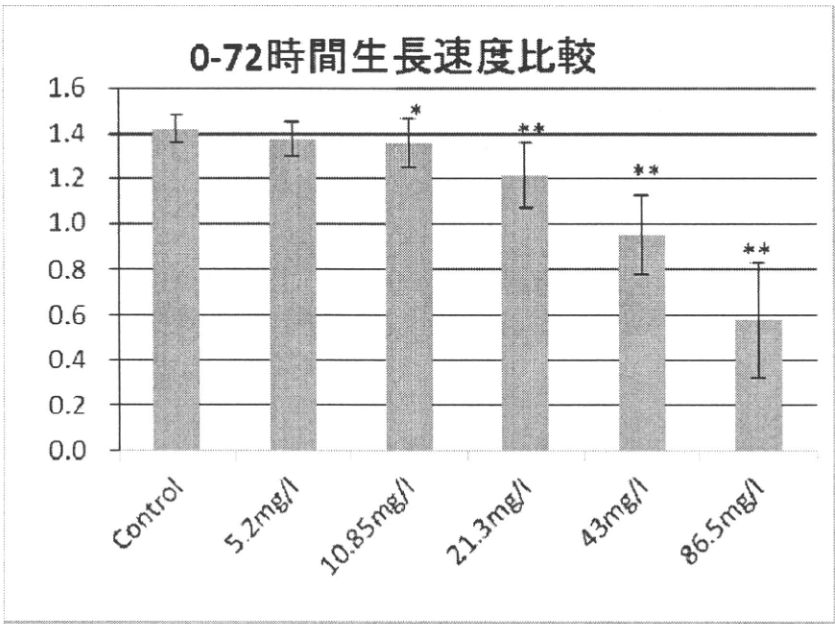


図 1 クロタミトン濃度と藻類増殖速度の関係

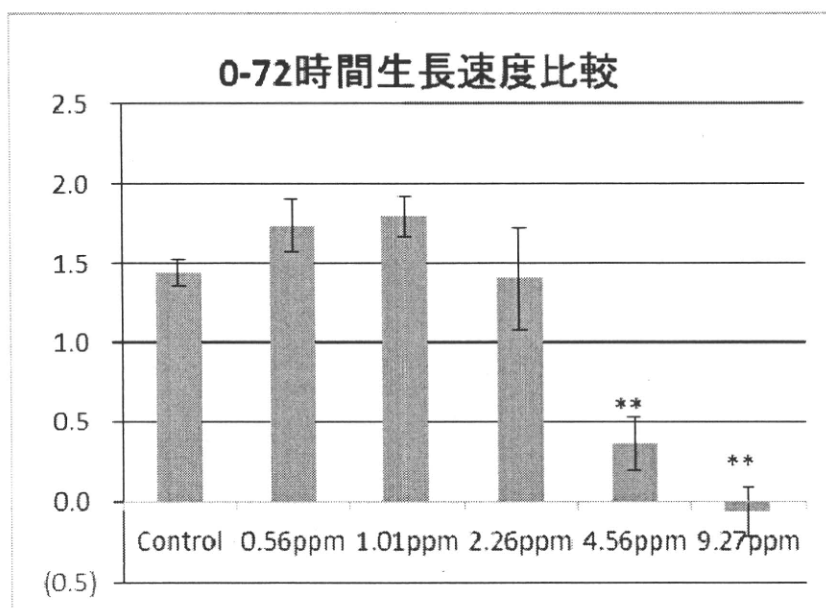


図2 エピナスチン塩酸塩濃度と藻類増殖速度の関係

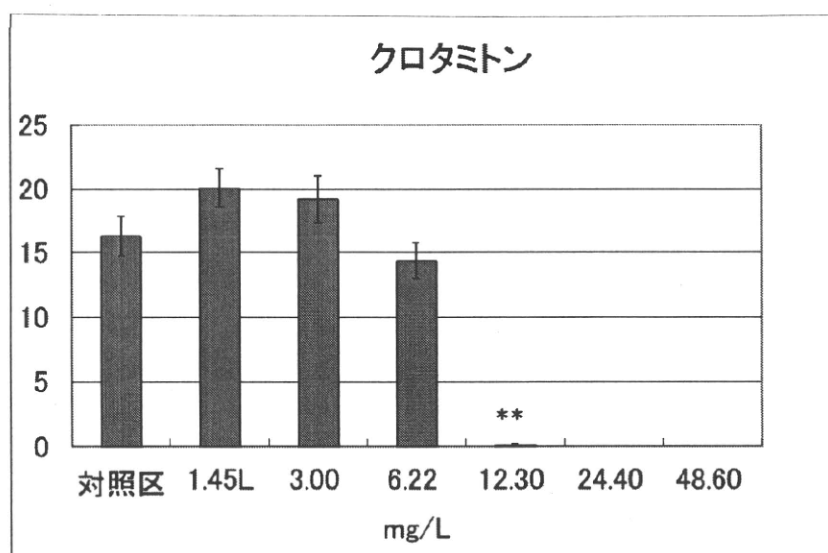


図3 クロタミトン濃度とミジンコ産仔数の関係

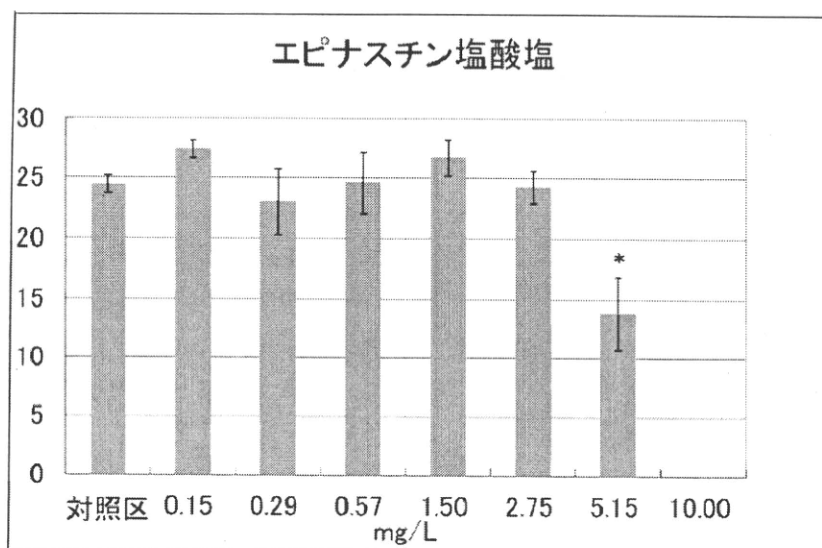
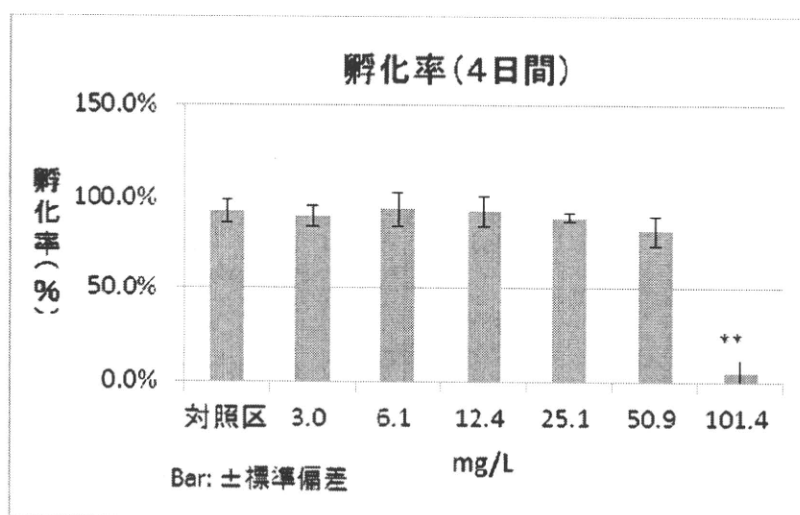


図4 エピナスチン濃度とミジンコ産仔数の関係



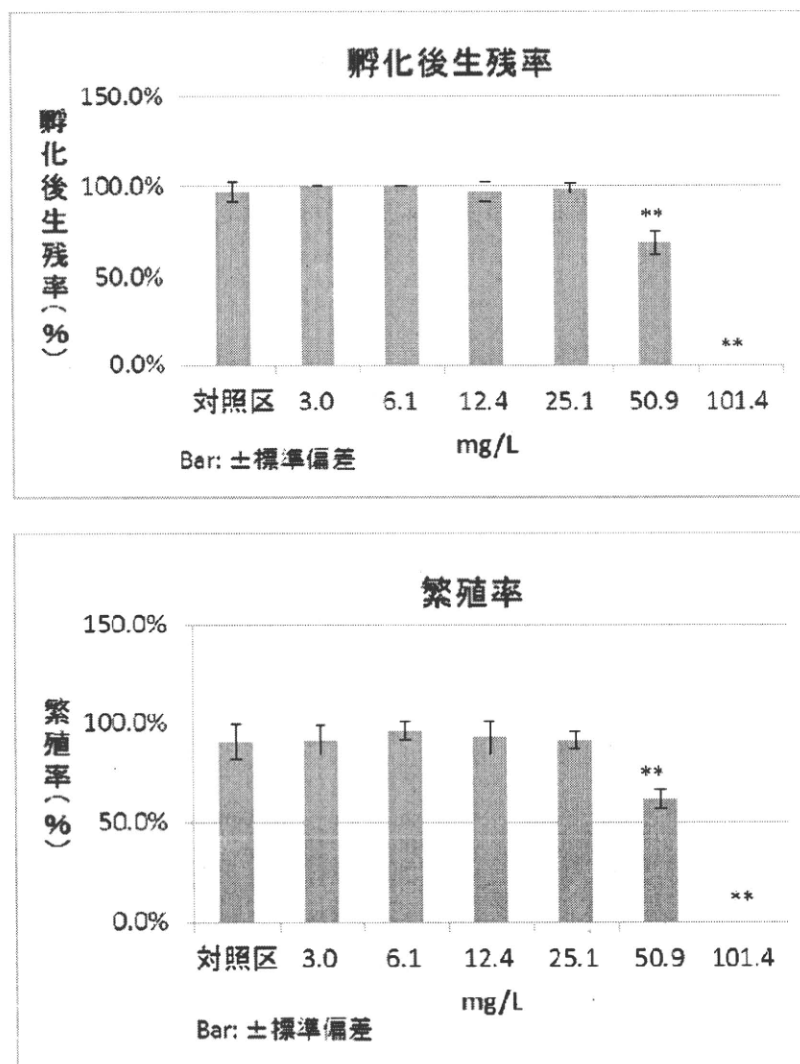


図 5 ゼブラフィッシュの孵化率，孵化後生残率
及び繁殖率と曝露濃度との関係