

体内や環境中での代謝及び分解を考慮した PEC 表層水（予測環境濃度）及び PNEC 値を推定し、必要に応じて追加試験を実施する（段階 B）。

評価試験は、可能な限り、経済協力開発機構（OECD）又は国際標準化機構（ISO）が発行した試験プロトコルに従って実施する。なお、それらと同等以上の ERA ができる試験指針、アプローチ及び方法について、ERA 報告書の中でその使用の妥当性を示すことができれば使用できる。

試験は、GLP に従って実施する。

8.1 段階 A：最初の環境運命及び影響分析

環境影響試験、環境運命試験及び物理化学的試験を実施し、その結果を評価する。

対象とするヒト用新有効成分含有医薬品の使用方法から予測環境濃度（PEC 表層水）を、生物に曝露させその毒性影響を調べる試験（環境影響試験）の結果から環境中の生物に対する予測無影響濃度（PNEC）を算出する。PEC 表層水/PNEC < 1 の場合には、環境に対する影響が許容できる範囲であると評価される。PEC 表層水/PNEC ≥ 1 となった場合には、環境中での分布・挙動と関連する生物学的・物理化学的性質を調べる試験（環境運命試験）及び環境中における非生物学的分解性及び土壌に対する吸着性を調べる試験（物理化学的試験）から得られた結果を用いて PEC 表層水を再計算し、PNEC と比較する。再比較においても PEC 表層水/PNEC ≥ 1 となった場合には、B 段階に進む。なお、環境運命試験及び物理化学的試験は、PEC 表層水/PNEC < 1 の場合にも実施し、その結果を報告しなければならない。

物理化学的試験の 1 つである n-オクタノール／水分配係数（logKow）が 4.5 以上であるために生物蓄積性の可能性が疑われる場合には、有効成分等が環境に到達するか否かを評価する。承認申請資料に含まれている有効成分等の代謝・排泄データ及び環境運命試験の一種から得られた環境中分解性の結果から、医薬品の有効成分等が環境に到達しないと判断できる場合は、B 段階の評価は必要ない。しかし、環境に到達

する可能性が否定できない場合は、B 段階に進む。

全ての評価基準で問題がなければここで評価終了となる。1 項でも問題があれば、B 段階に進む。

8.2 物理－化学的特性及び運命に関する試験

STP における有効成分等の挙動を評価するため、易生分解性試験を行う。易生分解性でない と判断された有効成分等の挙動は、水/底質における好気性及び嫌気性分解試験で評価する。

易分解試験：表層水とともに無機培地中で 28 日間保温し、生物学的酸素消費量（BOD）や CO₂ 発生量、溶存有機炭素（DOC）除去率などにより、好气的条件下における化学物質の生分解性のされやすさを評価する試験である。OECD TG301 A は、被験物質濃度を 10～40mgDOC/L で DOC を測定し、70%以上分解されると算定できた場合を易分解性物質と評価する。OECD 301 B は、被験物質濃度を 10～20mgDOC/L で CO₂ 発生量を測定し、60%以上分解されると算定できた場合を易分解性物質と評価する。OECD 301 C は、被験物質濃度を 100mg/L で BOD を測定し、60%以上分解されると算定できた場合を易分解性物質と評価する。OECD 301 D は、被験物質濃度を 2～10mg/L で BOC を測定し、60%以上分解されると算定できた場合を易分解性物質と評価する。OECD 301 F は、被験物質濃度を 100mg/L で BOC を測定し、60%以上分解されると算定できた場合を易分解性物質と評価する。

水/底質系中での好気性及び嫌気性変換試験：水環境中に放出された化学物質は、物理化学的性質により、加水分解や光分解もしくは生物分解を受けて消失することや、水に溶解した状態、懸濁物質として、又は懸濁物質に吸着して存在する。もしくは、底質に、底質粒子に付着するか間隙水に溶存した状態で

存在する。嫌氣的条件下もしくは好氣的条件下で、100 日間にわたる水相と底質が共存する状況で、水/底質中における平衡化時間、底質中での平衡化時間、被験物質もしくはその返還物質の無機化速度、マスバランスを取った被験物質の変換した物質の同定と定量(10%以上の物質)、被験物質とその変換物質の半減時間を測定する。OECD TG308 がある。

K_{ow} により生物蓄積性が示唆される場合は、下記の考え方により特定のリスク評価を行う。下水汚泥に含まれる有機体炭素中の物質濃度と吸着平衡にある水相中の物質濃度の比で定義される吸着係数 (K_{oc}) で、下水汚泥中の吸着挙動を評価する。 K_{oc} 値が高い物質は STP 中に留まり、下水汚泥の陸上盛土により陸環境に移行すると想定される。

土壌吸脱着試験：化学物質の土壌などの粒子への吸着性を評価するために、水相と底質土壌粒子相の間で化学物質の吸脱着が平衡状態になった際の固相-水相間]分配係数(吸着係数： K_d)を算出し、その値を固相中の有機炭素含有率で補正して、有機吸着係数 (K_{oc}) を求める試験である。 K_{oc} は化学物質固有の数値であり、この数値が大きい物質は底質(土壌)に残留しやすい傾向を示す。吸脱着に影響をおよぼす土壌の性質は、有機炭素量、クレー含有量及び pH であることから、これらの性質が異なる複数種の土壌を選択することが必要である。バッチ平衡法である OECD TG106 と、HPLC 法である OECD TG122 がある。

$$K_d = CA_q \div C_s$$

CA_q：平衡状態の水相中化学物質濃度

C_s：平衡状態の固相中化学物質濃度

9. 生物試験結果からみた有効成分等の生態影響評価

環境中に放出された医薬品に含まれる有効成

分等が生態系に及ぼす影響について評価を行う際に、生物への毒性影響の視点から既存の化学物質管理に使用されている生態毒性試験手法が適用できるか否かについての検討を行うことを目的とした。また、実際の環境中で医薬品の生態影響を評価できるかについても検討を行なった。

魚類初期生活段階毒性試験：対象魚の受精卵(60尾/試験区)に対して、稚魚になるまでの間(例えば、ヒメダカの場合は40日間)被験物質に暴露し、孵化率、孵化日数、胚の発生異常、孵化後の生存率、全生存率、正常個体率、体重、体長等の項目から、水生生態系の高次次消費者である魚類の最大無影響濃度(NOEC)を求める。この試験は、慢性毒性試験に相当し、OECD TG210 がある。

ミジンコ類繁殖試験：水生生態系の第一次消費者であるミジンコ(10頭/試験区)に対して被験物質を21日間暴露し、親個体の死亡率から半数致死濃度(LC50)を、親1頭当たりの平均累積産出幼体数から半数繁殖阻害濃度(EC50)及び最大無影響濃度(NOEC)を求める。この試験は、慢性毒性試験に相当し、OECD TG211 がある。

藻類成長阻害試験：水生生態系の第一次生産者である藻類を用いる試験である。通常、緑藻の *Pseudokirchneriella subcapitata* を用いるが、抗菌物質には藍藻の *Synechococcus leopoliensis* を用いて試験を実施する。対象群と5濃度以上の試験群について、5,000細胞/mLが生育しているOECD培地に、試験区については3容器に、それぞれの被験物質もしくは溶媒(対照区)を添加混合し、22±2°C、光連続照射を65~75mE/m²/s、100rpmの条件下で、72時間振とう培養を行う。この間、24時間ごとに細胞数を計測し、72時間後の成長速度から、半数成長阻害濃度(EC50)及び最

大無影響濃度 (NOEC) を求める。OECD T201、化審法ガイドライン、農薬ガイドラインがある。

抗菌薬の影響試験には、緑藻類より感受性の高い指標生物である藍藻 (Cyanophyta) が推奨される。また、抗菌作用を有する物質は、微生物群に影響を与える可能性がある。最高濃度で曝露される可能性が最も高い微生物群は、活性汚泥中の微生物群である。抗菌薬の抗微生物影響を評価するために、活性汚泥呼吸阻害試験 (OECD 209) を実施する。

活性汚泥呼吸阻害試験：微生物源として都市下水処理場等の標準化された活性汚泥 200mL (4000mg/L) に、合成下水 16mL と被験物質を加え、滅菌水を適量加えて合計 500mL とし、500~1000mL/分のエアレーション下で 3 時間接触させた後、培養液中の溶存酸素濃度 (DC) を測定する。その結果から、化学物質の分解者である微生物の半数呼吸阻害率を求め、半数呼吸阻害濃度 (EC50) を算出する。対照区 2 区と被験物質濃度区 5 区で試験する。この試験は急性毒性試験に相当し、OECD TG209 がある。

微生物増殖阻害試験：微生物源として、土壌や表層水中に偏在的に存在する従属栄養細菌である *Pseudomonas putida* を単一種の微生物として用いる。*Pseudomonas putida* を前培養した溶液 (A610=0.01) と、栄養培地に被験物質を加えた溶液を混ぜ、止水式で、22±2°C、照度 65~75 μE/m²/s の連続照射、100rpm で振とう培養し、16 時間後、生物量濃度と被験物質濃度を測定する。その結果から、化学物質の分解者である微生物の増殖阻害率を求め、半数増殖阻害濃度 (EC10、EC50) を算出する。対照区 2 区と複数の被験物質濃度区で試験する。ISO 10712 がある。

9. 1 医薬品の有効成分による生物への影響評価

承認済み医薬品の中から代表的な 5 品目 (ジクロフェナク、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) を選定し、藻類、甲殻類及び魚類を用いた環境影響評価急性毒性試験 (OECD TG201, 211, 212 相当) をリスク評価実施のシミュレーションとして行なった。また、実施に際し、具体的な標準作業手順書およびテクニカルシートを作成し、統一的な操作で環境影響評価急性促成試験が行える環境を整備した。

1) ジクロフェナク

ジクロフェナクの藻類に対する影響は、EC50 では設定濃度を超える外挿値で 327.41mg/L、NOEC は 25mg/L となり、甲殻類や魚類と比較すると 10 分の 1 から 100 分の 1 程度であった。一方、甲殻類に対しては NOEC で 2mg/L であり魚類に対してもほぼ同等であった。すなわち、動物に対して阻害影響が大きく、PNEC はアセスメント係数を 10 とすると、甲殻類の NOEC から 200 μg/L と算出された。一方、その影響は、MEC の例として 170ng/L (下水処理水中濃度：宝輪ら (2008) 水環境学会年会講演集) の報告があるが、これは PNEC のおよそ 1000 分の 1 程度であり、この例では MEC/PNEC < 0.1 となり、リスクは少ないと考えられる。

2) メフェナム酸

ミジンコでは影響がみられず、藻類及び魚類で影響がみられた。また、藻類と魚類への影響を比べると、EC50 で約 10 倍、NOEC で約 5 倍の濃度差があり、魚類の方が強く影響を受けていた。すなわち、魚類で最も影響が大きく、PNEC はアセスメント係数を 10 とすると、魚類の NOEC から 12.5 μg/L と算出された。MEC の例として 449±459 ng/L (下水処理水中濃度：谷島ら (2002) 環境化学討論会) の報告があるが、これは PNEC のおよそ 30 分の 1 程度であり、この例では MEC/PNEC < 0.1 となり、リスクは少ないと考えられる。

3) フェノフィブラート

全ての生物種で影響がみられず、藻類でわずかに生長阻害が確認されたのみであった。特に、溶解性が低かったためいずれの生物種の試験においても、目的の濃度となる試験水の調製は困難であった。すなわち、水中検出濃度が低く、仮に溶解度最大の濃度で存在していたとしても、その生物影響は限定的なものであることから、水を経由した曝露による生態影響に関してリスクは比較的小さいものと考えられる。

ただし、非溶解状態でも生物が餌等とともに吸収摂取することが考えられることから、沈殿している底質經由などの形で生態系へ影響を及ぼすなどの可能性を検討しておく必要がある。

4) カルバマゼピン

ミジンコでは影響がみられず、藻類および魚類で影響がみられた。また、藻類と魚類への影響を比べると、魚類の方がやや強く影響を受けていた。魚類で最も影響が大きく、PNECはアセスメント係数を10とすると、魚類のNOECから5mg/Lと算出された。その影響は、MECの例として241±244 ng/L（下水処理水中濃度：谷島ら（2002）環境化学討論会）の報告があるが、これはPNECのおよそ2万分の1以下であり、この例ではMEC/PNEC<0.1となる。いずれの生物種における影響も、10mg/L以上の高濃度での作用であり、通常では現実の環境中での濃度にはなり得ない値であるため、生態影響のリスクは比較的小さいものと考えられる。

5) フマギリン

藻類と甲殻類ではほぼ同等で、NOECが数十μg/Lであった。一方、魚類の胚発生に対しては、設定した10mg/Lまでの濃度範囲ではほとんど影響が確認されなかった。

フマギリンは血管新生阻害剤であるにもかかわらず、血管の無いミジンコや藻類に対して比較的強い毒性を持つことが示された。フマギリンによる血管新生阻害の作用機序に関する情報は少なく、この現象についての説明は現時点では困難である。しかし、フマギリンは血管新生

阻害による抗ガン剤として以外にも抗原虫作用を持ち、実際に医療や動物の飼育等に用いられていることから、同様の効果が微小生物の繁殖や増殖を阻害したことが考えられる。

6) 物質による毒性発現の特性

試験した5物質について、上述の結果から3種の生物に対する影響の強さをまとめると、ジクロフェナク；甲殻類≒魚類>>藻類、メフェナム酸；魚類>藻類>>甲殻類、フェノフィブラート；いずれの生物種にも明確な影響なし、カルバマゼピン；魚類≒藻類>甲殻類（いずれも影響弱い）、フマギリン；甲殻類≒藻類>>魚類であった。対象とする物質によって毒性発現の度合いが生物種間で異なっており、それぞれ有効成分等の生理機能への作用が様々であることがうかがわれた。

9. 2魚類試験における受精卵を用いた試験法の適用性検討

化学物質の上市には、化審法における生態影響試験の結果が必要であるが、化審法の登録で扱われる魚類への影響試験手法は、96時間の急性毒性試験である。急性毒性試験には比較的簡単な試験装置で短期間に試験の実施が可能であるという利点はあるが、生態系における世代交代まで含めた影響を反映させる試験とはなっていない。特に、医薬品はその性質上、生体内の様々な機能に作用することから、特定の生活段階のみを対象とした試験では影響を把握しきれないことも考えられる。

現在、医薬品の環境影響評価を行うための魚類の試験として、例えば欧州医薬品庁（EMA）ではTG210（魚類の初期生活段階毒性試験）が推奨されているが、この試験も試験期間が28日以上と長く、また流水式試験を行うことによる多量の薬品を排出することによる廃棄物処理および試薬コストを考慮すると改善の余地はある。また、多数の魚個体を薬品に長期間曝露することになるため、動物愛護の観点からの配慮も問われている。

そこで、最近OECDで検討中である魚類胚・仔

魚試験FET (Fish Embryo Test) を実施し、その適用性について検討を行った。この試験は、卵から胚・孵化・摂餌を開始するまでの成長という生活史の中の重要かつ複数の段階に対する影響を把握できることから、成長に長い時間が必要で世代交代を含めた慢性毒性試験の実施が困難である魚類への影響を検討する際に、慢性毒性に相当する指標を推定できる手法として有効と考えられる。

仔魚を用いた急性毒性試験は、通常の成魚を用いた試験とは異なり、孵化直後で卵黄からの栄養で生長する摂餌開始前の仔魚を使用するため、胚の段階と同様に確立した生命個体とはみなされず、動物愛護の視点に適している。また、体内器官も発育途上のため外的ストレスに対する抵抗力も弱く、敏感であることが期待できる。なお、試験期間は通常の急性毒性試験の96時間に対して、120時間(5日間)と長い試験期間となっている。受精卵から胚・仔魚期を用いた試験では、通常の試験より毒物に敏感であると考えられる仔魚期を用いた急性毒性試験比べても感度は高いことが示された。ただし、どちらの試験においても、ジクロフェナクと比べてメフェナム酸の方が高い毒性を示すという大枠の傾向についての評価には齟齬が生じなかった。このことから、従来急性毒性試験と同様の毒性発現の傾向を維持しつつ、より感度の高い試験として有効である可能性が示された。

また、死亡のみを観察指標とする急性毒性試験と比べてより多くの観察点を持つことから、データのまとめ方によって、死亡率だけでなく、孵化率、繁殖率、奇形発生率、孵化遅延など多様な生体反応からの影響を評価できる点も利点としてあげられる。

医薬品をはじめとする環境中の存在量がわずかで急性毒性の発現がみられないレベルの微量物質による生態影響については、急性毒性試験ではその影響を正しく評価することは困難であるため、受精卵からの試験は慢性毒性に相当する指標を短期間に推定できる手法として有効で

ある。

9. 3 慢性試験相当のデータの追加蓄積

さらに、環境中で存在が確認される医薬品2品目(クロタミトン及びエピナスチン塩酸塩)について、化審法及びOECDの試験法による藻類、甲殻類及び魚類に対する慢性毒性試験を実施した。さらに、実際に多摩川流域から検出された医薬品2種(フェニトイン、スルピリド)について、藻類・甲殻類・魚類を用いた生態毒性試験を実施し、データの追加蓄積を行った。また、水溶解度が低いため水生生物への影響が認められなかったが、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、底質経由の生態影響について検討した。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(OECD TG209)及びEMAフェーズIIBで推奨されている陸生植物生長試験(OECD TG208 準拠)について検討し、EMAで用いられている試験法の実施可能性について検討した。

1) 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。

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。

今回対象とした有効成分等においては、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有効成分等類についても、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。

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を実施した結果、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

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、活性汚泥呼吸阻害を調べた結果、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有効成分等の影響は認められないことが示された。

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、フマガリン、クロタミトン、エピナスチンの7種について陸生植物生長試験を実施した結果、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。

9. 4 検出された有効成分に関する評価

1) 藻類生長阻害試験結果

統計解析は「エコトックス」を用いて行った。

フェニトインの藻類生長への阻害作用は、最大無作用濃度 (NOEC) が1.63mg/L (設定濃度)、50%生長阻害濃度 (EC50) は水溶解度以上 (42 mg/L) と計算された。

スルピリドの藻類生長への阻害作用は、最大無作用濃度 (NOEC) が50mg/L、50%生長阻害濃度 (NOEC) が50mg/L、50%生長阻害濃度 (EC50) は、設定濃度 (100mg/L) 以上と計算された。

2) ニセネコゼミジンコ繁殖試験

総産仔数は試験終了時まで試験個体が試験期間中に産んだ生存仔虫の総数とした。統計解析は「エコトックス」を用いた。

フェニトインについては、最高濃度の26.2 mg/L及び13.1mg/Lにおいて、すべての試験個体が抱卵の度に脱卵したため、産仔数はほぼ0であった。1濃度下の7.0mg/Lにおいても3個体で脱卵が起り、対照区と比べて有意に産仔数が減少した。したがってNOECは3.2mg/L、EC50は7.2mg/L (95%信頼区間: 6.1-8.5mg/L) であった。

スルピリドについては、対照区に対し、曝露区において産仔数が有意に増加したが、濃度依存的な傾向はなかったため、曝露による影響ではないと考えられる。本試験におけるNOECは設定濃度の100mg/L、EC50は設定濃度以上であった。

3) ゼブラフィッシュ胚・仔魚期短期毒性試験

統計解析は「GraohPad Prism」を用いた。孵化率は、5日目の孵化率について対照区と比較し、NOEC及びEC50については、生存指標 (孵化率×孵化後生存率) から算出した。

フェニトインに関するゼブラフィッシュの孵化率、孵化後生存率、生存率及び生存指標に及ぼす影響は、最高濃度 (18mg/L) で確認されなかった。NOEC及びEC50はそれぞれ18mg/L (設定濃度)、>18mg/L (設定濃度) であった。

スルピリドに関するゼブラフィッシュ胚・仔魚期に対して及ぼす影響について調べた結果、胚すなわち、孵化への影響は確認されなかった。また、孵化後の生存についても影響が見られなかった。NOECは100mg/L (設定濃度)、EC50は>100 mg/L (設定濃度) と計算された。

4) まとめ

フェニトインについてはNOECとして1.63 mg/L (藻類の生長阻害)、スルピリドについてはPNECとして50 mg/L (藻類の生長阻害)

が求められた。昨年度までに得られた下水処理場の最大流入下水濃度は、フェニトインが $0.83 \cdot \text{g/L}$ 、スルピリドが $1.96 \cdot \text{g/L}$ であった。これらの数値を用いて計算すると、フェニトインの MEC/PNEC は 5×10^{-4} 、スルピリドの MEC/PNEC は 4×10^{-5} となり、環境に対する影響が許容できる数値であると考えられた。

9. 5 混合試験液を用いた影響評価

環境中では複数の有効成分等が同時に存在するため、複合影響を考える必要がある。多摩川流域水から検出された有効成分等について、多摩川流域の 6 か所の下水処理場排水から検出された有効成分等の中から $0.1 \mu\text{g/L}$ 以上の濃度で検出された 14 種類(そのうち短期慢性毒性データが揃っているのは 7 種類) をそれらの検出濃度に応じて混合し、藻類、甲殻類および魚類を用いた短期慢性毒性試験を実施し、複合影響の有無を調べた。

1) 藻類への影響

統計解析は「エコトックス」を用いて行った。

環境中濃度の 10000 倍濃度で混合した試験液を用いて藻類生長阻害試験を実施したが、藻類の生長に対する影響は確認されなかった。

2) 甲殻類への影響

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。

混合試験液の 10000 倍、すなわち、環境中濃度の 10000 倍でミジンコの産仔に対する影響が確認された。なお、今回の試験では死亡個体は確認されなかった。

3) 魚類への影響

ゼブラフィッシュを用いて行った。統計解析は「GraohPad Prism」を用いた。

有効成分等混合液の 10000 倍でゼブラフィッシュの孵化後生残率、生存率、生存指標が低下し、対照区に対し有意な差が認められた。孵化率については 1000 倍で統計学的な差が認められたが、80 個中 3 個の卵の孵化が

1 日遅れたことが原因であり、最高濃度では差が認められなかったことから、孵化への影響は無いと考えられた。

4) 個別の有効成分等から予測される混合試験液の影響

今回の試験では実環境中濃度の 10000 倍の混合試験液において、藻類に対する影響は見られなかったが、魚類及び甲殻類において影響が見られた。この結果と、個別の有効成分等の生物影響から予測される混合試験液の影響の比較を行う。

まず、個別の有効成分等の生物影響が混合試験液において相加的に影響していると仮定する。次に生物影響の見られた 10000 倍試験液における各有効成分等の濃度を NOEC で除した毒性単位 TU を算出する。TU が 1 を超えた場合、生物影響があると見なせる。

よって各有効成分等の TU の合計値が 1 を超えた場合、混合試験液は生物影響があると予測される。

今回検討した有効成分等 14 種中 7 種のうち、メフェナム酸の藻類に対する TU が 1 を超えているため、生物影響があると予測される。甲殻類及び魚類に対しては、7 物質すべての TU が 1 以下であったため、個別物質による寄与はないと見なせる。

一方、TU の合計値はすべての生物種に対して 1 を超えており、生物影響のあった甲殻類及び魚類の試験結果との整合性が見られた。すなわち、各有効成分等による相加あるいは相乗的な影響がみられたのは、他の有効成分等による影響であると考えられた。反対に TU の総和が 1 を超えていたにもかかわらず、藻類に対しては生物影響が見られなかった。原因として、各有効成分等の複合影響によりメフェナム酸等による影響が相殺されたこと、あるいは藻類培地中において各有効成分等が十分に溶存していなかったことが考えられた。

10. 評価係数を用いた PNEC の計算

実施した試験から得られた無影響濃度 (NOEC)

に評価係数 (AF) を適用することにより、予測無影響濃度 (PNEC) を算定する。AF は、限られた数の種についての試験結果から実環境への外挿における不確実性の程度を表すものであり、毒性試験及び抗微生物影響試験からの PNEC の計算には、初期値として AF10 を適用する。この AF は以下を考慮している。

- ・感受性の差の種間変動
- ・種内変動
- ・実験室データから野外での影響への外挿

PNEC_水 は、魚類、ミジンコ類及び藻類を用いる毒性試験で得られた各種生物種での NOEC のうち、最も値の小さなものとする。

ただし、PNEC_{微生物} は、藍藻を用いた藻類成長阻害試験や活性汚泥呼吸阻害試験等の微生物に対する影響試験の NOEC 結果を用いる。PNEC_{地下水} は、ミジンコ類を用いた試験の NOEC 結果に基づいて行う。

1 1. 地下水の評価

地層ろ過経路で地下水に進入する可能性があるため、平均 $K_{oc} > 10000$ L/kg の物質、易生分解性の物質あるいは $DT_{90} < 3$ 日の有効成分等を除き、地下水についても ERA を実施する。単純な推定は $PEC_{表層水} / PEC_{地下水} = 0.25 \times PEC_{表層水}$ の換算式で行い、PNEC_水 と比較する。

1 1. 1 有効成分等の地下水汚染の可能性に関する検討

複数の有効成分等をモデルとして、有効成分等による地下水汚染の可能性を検討した。

1) 有効成分等の土壌吸着性

OECD テストガイドライン TG106 に準じて土壌吸着平衡定数を調べた。本研究では、黒ボク土と沖積土を用いた。黒ボク土は沖積土に比べ、最大容水量、陽イオン交換容量 (CEC)、土壌有機炭素量 (OC) とともに高かった。

TG106 では土壌 : 水溶液の比率を 1:1、1:5 及び 1:25 で行うとされている。黒ボク土と沖積土を用いて試験した結果、1:1 の場合には、

遠心分離後の上清の量が少なく、濁っていた。そこで、フィルターによるろ過を試みたが、トリクロカルバンはフィルターに吸着され、正確な分析が難しかった。1:5 及び 1:25 の場合には、分析に十分な上清が得られ、Kd がほとんど同じであったことから、風乾細土 1g に対して有効成分等の水溶液 25mL (1:25) で試験することとした。

平衡に達するまでの振とう時間について、一般的には 24 時間で十分とされている。対象の有効成分等を用いて、4、8 及び 24 時間と平衡時間を変えて調べたところ、黒ボク土及び沖積土ともに、いずれの有効成分等も 24 時間で最も高い Kd が得られた。

容器に土壌を入れない状態で、有効成分等の水溶液をガラス容器に入れ、濃度変動を調べた。24 時間振とう後の水溶液中有効成分等濃度はほとんど変化なく、いずれの有効成分等もガラス容器への吸着や水中での加水分解等による化学的な分解は認められなかった。

各有効成分等の土壌吸着平衡定数 (Koc) は、黒ボク土では 298 から 10761 cm³/g、沖積土では 16055 cm³/g であった。Triclocarban の Koc は他の有効成分等に比べると 1 桁高い結果であった。また、各有効成分等の Koc は、沖積土の方が黒ボク土よりも大きい傾向にあった。Levofloxacin については、今回の測定条件では測定できたのは 10mg/L の水溶液のみであり、確な Koc を求めることはできなかったが、黒ボク土が約 90000 cm³/g、沖積土が約 170000 cm³/g と推察された。

土壌試料約 1g を用いて、有効成分等の水溶液を 25mL、濃度範囲を 0.1mg/L~10mg/L とし、Freundlich の吸着等温線を測定した結果、検討した濃度範囲において相関係数 0.9 と良好な結果であった。

2) 有効成分等の容器内分解試験

OECD テストガイドライン TG307 に準じて、有効成分等の容器内分解性を調べた。まず、土壌中からの有効成分等の添加回収率を調べ

たところ、clarithromycin 95%、diclofenac 84%、ibuprofen 85%、mefenamic acid 95%、triclocarban 102%と、ほぼ良好な回収率が得られることがわかった。

土壌中からの有効成分等の添加回収率を調べたところ、clarithromycin 95%、diclofenac 84%、ibuprofen 85%、mefenamic acid 95%、triclocarban 102%と、ほぼ良好な回収率が得られることがわかった。

clarithromycin と triclocarban は、試験期間中ほとんど減少が認められず、土壌中での残留性が高いことが示唆された。

diclofenac と mefenamic acid は、土壌中半減期が2日以内であり、土壌中で容易に分解されると考えられる。Ibuprofen については、土壌中半減期が十数日であり、土壌中での残留性は比較的lowであった。Levofloxacin について、土壌からの抽出がほとんどできず、半減期を求めることができなかった。

3) 有効成分等の地下水汚染性

農薬の地下水汚染を予測するためのシ

ミュレーションモデルを使用して、有効成分等の地下水汚染の可能性を評価した。

clarithromycin について、GUS Score は黒ボク土及び沖積土ともに1.7であり、地下水汚染の可能性はないと判定された。Jury の判定基準でも黒ボク土及び沖積土ともに Koc は Jury の式より求めた値よりも大きく、地下水汚染の可能性はないと判定された。Cohen の判定基準では、土壌中半減期は14日より大きかったが、Koc は黒ボク土及び沖積土ともに $500\text{cm}^3/\text{g}$ よりも大きく、地下水汚染の可能性はないと判定された。

diclofenac について、GUS Score は黒ボク土及び沖積土ともに0よりも小さく、地下水汚染の可能性はないと判定された。Jury の判定基準でも黒ボク土及び沖積土ともに Koc は Jury の式より求めた値よりも大きく、地下水汚染の可能性はないと判定された。Cohen の

判定基準では、土壌中半減期は0.6日と14日より小さく、Koc は黒ボク土及び沖積土ともに $500\text{cm}^3/\text{g}$ よりも大きかったことから、地下水汚染の可能性はないと判定された。

ibuprofen について、GUS Score は黒ボク土1.3及び沖積土1.0であり、地下水汚染の可能性はないと判定された。Jury の判定基準でも黒ボク土及び沖積土ともに Koc は Jury の式より求めた値よりも大きく、地下水汚染の可能性はないと判定された。Cohen の判定基準では、土壌中半減期は14日より小さく、Koc は黒ボク土及び沖積土ともに $500\text{cm}^3/\text{g}$ よりも大きかったことから、地下水汚染の可能性はないと判定された。

mefenamic acid について、GUS Score は黒ボク土-0.1、沖積土0.3であり、地下水汚染の可能性はないと判定された。Jury の判定基準でも黒ボク土及び沖積土ともに Koc は Jury の式より求めた値よりも大きく、地下水汚染の可能性はないと判定された。Cohen の判定基準では、Koc は黒ボク土 $298\text{cm}^3/\text{g}$ であり、 $500\text{cm}^3/\text{g}$ よりも小さく、沖積土では $1451\text{cm}^3/\text{g}$ で、 $500\text{cm}^3/\text{g}$ よりも大きかった。しかし、土壌中半減期は黒ボク土及び沖積土ともに14日より小さく、地下水汚染の可能性はないと判定された。

triclocarban について、GUS Score は黒ボク土及び沖積土ともに0よりも小さく、地下水汚染の可能性はないと判定された。Jury 判定基準でも黒ボク土及び沖積土ともに Koc は Jury の式より求めた値より大きく、地下水汚染の可能性はないと判定された。Cohen の判定基準では、土壌中半減期は14日より大きかったが、Koc は黒ボク土及び沖積土ともに $500\text{cm}^3/\text{g}$ よりも大きく、地下水汚染の可能性はないと判定された。

levofloxacin について、Koc が $90000\text{cm}^3/\text{g}$ と非常に大きな値であり、Gustafson や Cohen の判定基準では Koc が $10000\text{cm}^3/\text{g}$ のものは $T_{1/2}$ にかかわらず、地下水汚染性ないと判定

される。

以上の結果から、今回対象とした6有効成分等は、3種類の地下水汚染の予測モデルによる評価では、地下水汚染の可能性はないと判定された。

1.2. 段階Aの運命及び影響解析の評価

藻類、ミジンコ類及び魚類に対する長期毒性データ、活性汚泥呼吸阻害試験及び吸着率(K_{oc})に関する結果により評価する。PEC 表層水_{表層水}は、製品の販売予測情報により精緻化する。

- 1) PEC 表層水_{表層水}とPNEC_水の比が1未満の場合は、その後の追加試験は必要ない。有効成分等が水環境に対してリスクを起す可能性は低いと結論できる。したがって、評価をこの段階で終了することができる。
- 2) PEC 表層水_{表層水}とPNEC_水の比が1を超える場合は、段階Bで水環境における追加評価を実施する。
- 3) PEC 表層水_{地下水}とPNEC_{地下水}の比が1を超える場合は、段階Bで水環境における追加評価を実施する。
- 4) PEC 表層水_{表層水}とPNEC_{微生物}の比が0.1を超える場合は、段階Bで有効成分等の有効成分等の運命及び微生物に対する影響に関する追加評価が必要である。
- 5) n-オクタノール/水分分配係数から有効成分等が水環境から生物に移行し、生体内に蓄積する可能性が示される場合($K_{ow} > 1000$)は、段階Bで生物濃縮係数を考慮する。
- 6) 物質が易生分解性でなく、水/底質試験(OECD 308)の結果から底質への著しい移行が実証される場合は、段階Bで底生生物に対する影響を評価する。水/底質試験の実施時において、14日以降のいずれかの時点で有効成分等が10%以上底質に存在する場合は、水/底質試験成立の基準を満たす。

1.3. 段階B：拡大環境運命及び影響解析

A段階でPEC 表層水/PNEC ≥ 1 との評価が出た有効成分等の場合には、A段階の環境影響試験において毒性が強く観察された生物と同じ種

類の生物を用いた環境影響試験を実施し、その結果を用いてPNECを再計算する。B段階の環境影響試験は、A段階より長期の曝露による慢性毒性試験、繁殖影響試験あるいはA段階より多くの種を用いた試験を行う。

$\log K_{ow} \geq 4.5$ に分類されたヒト用新有効成分含有医薬品の有効成分等の場合には、B段階において魚類生物濃縮試験を実施し、生物濃縮係数(BCF)を算出する。

段階Bでは、精緻化されたPEC 表層水及びPNECを用い、精緻化されたリスク評価を行う。環境内の分解に関する情報を用いたリスク評価の精緻化は、必要に応じて実施する。

1.4. 環境運命分析及びPEC 表層水_{表層水}の精緻化

地域の表層水濃度を次のように精緻化できる。

$$\text{PEC 表層水}_{\text{表層水}}(\text{II}) = \{ (\text{最大用量}) \times (\text{市場浸透係数}) \times (\text{付加市場浸透係数}) \} \\ \times (\text{排出率}) \div \{ (\text{排出量}) \times (\text{処理能力}) \} \\ \times (\text{吸着係数}) \times (\text{希釈係数}) \}$$

計算には、最悪ケースの推定値を用いる。

1.5. 追加すべき影響解析

1.5.1 水/底質への影響

水/底質試験(OECD 308)の結果により、底質への有効成分等の顕著な移行が認められる場合は、底生生物(Hyalella sp, Lumbriculus spあるいはChironomus sp)に対する影響を調査し、PEC 表層水_{底質}と比較する。

1.5.2 微生物に対する特異的影響

段階Aで、微生物に対するリスクが確認される場合は、段階Bで微生物に対する有効成分等の運命及び影響の追加評価を行う。

欧州化学物質影響評価システム(EUSES、<http://ecb.jrc.it/>)に示されているSimpleTreatモデル等で、暴気槽における曝露濃度(PEC 表層水_{暴気槽})を用いて、微生物に対するリスク指数を精緻化する。PEC 表層水_{暴気槽} : PNEC_{微生物}の比が1を超える場合は、段階Bで抗

微生物影響の追加解析を行う。

1 5. 3段階Bの運命及び影響分析の評価

段階Bの最後に、排泄経路に関する情報、排泄された化合物に関する定性的及び定量的な情報、場合により追加の長期毒性データ、微生物の阻害に関する追加データ及び生分解性に関する追加情報を含む精緻化された情報を得て評価を実施する。

1 6. その他

1 6. 1 環境リスク評価報告書について

報告書は、有効成分等の特性、その環境曝露の可能性、環境運命及び影響ならびに必要な応じたリスク緩和を記載するものであって、適切な試験に裏付けられた信頼できる科学的根拠に基づく結論によらなければならない。

その他の関係資料（例えば、関連する物質の特定の生物学的影響に焦点を当てた試験）が利用可能な場合は、それらも提出する。

評価報告書には、①リスク評価を裏付けるデータの提示と評価、②患者による使用又は未使用の製品の廃棄等により生じた廃棄物の処分による環境への有効成分等の放出に関して申請者が取るべき予防・安全対策案、③医療機関等における患者への投与及び廃棄物の処分に関して、環境に対するあらゆるリスクを軽減する目的で、医療機関等において取られるべき予防・安全対策について申請者が提供できる情報の概要、④評価文書作成責任者の署名、が記載されていること、を載るをする。

1 6. 2 米国の段階的リスクアセスメント方式

米国では、3段階で環境影響評価を実施し、別途、当該医薬品の物理化学的特性、排出される場所、分解メカニズムについての報告が求められている。

Tier1:適切な生物を用いた急性水性毒性試験

藻類、ミジンコ、魚類などから一種類の生物を選択し、評価を実施する。

EC50 または LC50 に対する環境中最大濃度 (MEEC) の比が 1000 以下の場合で毒性が見ら

れない場合は終了し、1000 以上の場合は Tier2 へすすむ。結果が満足する場合は、残りの二種の生物に対する試験を実施し、全ての結果が満足すれば、Tier1 で評価を終了する。

Tier2: 水性及び/または陸生生物を用いた一連の急性毒性試験

藻類、ミジンコ、魚類による一連の生物種の急性毒性試験。汚泥や土壌などに対して吸着性が高い有効成分等については、「植物」、「土壌中微生物」、及び「ミミズ」を用いた試験を実施する。

EC50 または LC50 に対する環境中最大濃度 (MEEC) の比が 100 以下の場合で毒性が見られない場合は終了し、100 以上の場合は Tier3 へすすむ。

Tier3: 水性及び/または陸生生物を用いた慢性毒性試験

EC50 または LC50 に対する環境中最大濃度 (MEEC) の比が 10 以下の場合で毒性が見られない場合は終了し、10 以上の場合は使用範囲などを協議する。

米国 FDA Tier1 は、EMEA のガイドラインに準拠した水生生物試験の実施で可能である。米国 FDA Tier2 及び Tier3 は、EMEA のガイドライン Phase II Tier B に準拠した試験の実施で、一部を除きほぼ支障がない。ただし、「水への溶解度試験 (OECD105)」、「解離定数」、「蒸気圧、ヘンリー定数」などの物理化学的特性試験を追加することにより対応が可能である。

D. 結論

ヒト用の医薬品の成分として用いられる化学物質は、医薬品が本来の目的により使用された後や、未使用の医薬品として廃棄されることにともない、環境中に排出された際には、医薬品成分としてもつ生理作用に加えて、化学物質と

しての化学的、物理的、生物学的な性状に由来して、生態系に影響をおよぼす可能性がある。新規に承認されるヒト用新有効成分含有医薬品の上市にともない、ヒト用新有効成分含有医薬品の有効成分原体又はプロドラッグの活性代謝物が有する化学物質としての化学的、物理的、生物学的な性状に由来する直接及び間接的に生じる環境に対する負荷を推定し、影響を評価して、人の健康と生態系へのリスク軽減を図ることを目的とする環境影響評価ガイドラインの作成に関する諸外国の情報収集と整理を行った。検討に際しては、その環境影響を評価する手法の考え方を、すで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適用の範囲、対象範囲、一般原則、曝露の推定、リスク評価、管理と廃棄および講じるべき予防・安全対策、科学的助言、環境リスク評価報告書、推奨される評価法の段階的手順等について、資料を収集し、本邦において新医薬品を承認する際の審査の基準として、現在、国内で施行されている規制とも整合性のある、医薬品の環境影響評価法とすることを念頭に進めた。

医薬品は使用段階においてヒトに投与されることを前提として製造・使用されるものであるから、ヒト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、環境を通じた曝露が実際の投与量を上回る可能性は極めて低いと考えられるため、基本的に、環境を介した健康影響リスクを考慮する必要はないと考える。

ここで示す環境影響評価ガイドラインの内容は、現在、販売・使用されている医薬品と承認申請新薬は分けて考え、承認申請新薬について適用することを想定し、販売・使用されている医薬品に対する適用は今後の検討課題とした。また、有効成分等に起因する環境リスクとは、医薬品の使用及び廃棄から生じる環境へのリスクに関係する事項を全て含んでいる。

環境リスク評価を実施した結果、リスクの排除ができない場合を含め、いかなる場合も、ERAの結果が薬事法第14条の承認の可否の判断に

おいて、承認申請の却下基準とはしない。申請新薬として使用がさけられない医薬品については、環境リスク評価を実施した結果、リスクの排除ができない場合においても、予防・安全のために、環境への影響を最小限に抑えるように、実施可能な対策を取ることが求められ、明確な管理のもとで使用することをもって承認の判断をする。承認申請の却下基準とはしない理由は、医薬品の使用目的が疾患に対する予防と治療であることが前提であるによる。医薬品が環境におよぼす影響が懸念される場合であっても、医薬品の開発を制限するべきではなく、医薬品の環境リスクの可能性をあらかじめ把握しておくことが重要であるとの考えに基づいている。

環境リスク評価(ERA)の結果は、ヒト用医薬品の販売承認を受ける際に、販売承認のための申請書に添付することが求められるべきである。したがって、環境リスク評価書を欠く販売承認申請の場合には、販売承認申請の中で、環境リスク評価書を欠くことの正当な理由を示さなければならない。

また、複数社で共同開発している場合には、代表企業が排出総数を勘案したERAを提出する。ただし、それぞれの販売予測数量が異なる場合には、予防・安全対策を勘案して、両社で統一した対策を取ることとする。

効能追加承認申請の場合にも同様に提出する。既に承認され、市場に上市されている医薬品もしくは医薬品の成分が、新たな適応症により使用量の増加に伴い、環境曝露が当初の販売もしくは使用推定量を大きく上回ると想定される場合は、ERAを再度行う必要がある。しかし、販売承認時の更新については、ERAは必要としない。

リスク評価は、以下のような段階的な評価手法を用いることとした。最初の段階(第I相)は、ヒト用の医薬品の成分として用いられている物質による環境に対する曝露を、科学的な情報に基づき環境予想濃度(PEC 表層水)表層水値を求め、その値が一定値以上になる場合に、次の

段階の評価を実施する。次の段階（第 II 相）では、環境における運命及び影響に関する情報を収集して評価を実施する。必要な場合は、藻類、甲殻類及び魚類を用いた慢性毒性を評価できる試験法により予測無影響濃度（PNEC）を求め、PNEC に対する PEC 表層水_{表層水} 値の比を求める。PNEC に対する PEC 表層水_{表層水} 値の比の値が 0.1 を超える場合は、PEC 表層水_{表層水} 値及び PNEC 値を精緻化するため、追加試験を実施する。また、第 I 相の評価に必要な設定数値の蓋然性について検討を行い、市場浸透率（0.01）、一日当たりの住民一人当たりの排水量(200L)、希釈率(10)などの PEC 表層水_{表層水} を算出するための数値を提示し、設定根拠を示した。

医薬品の環境影響評価ガイドラインの第 I 相で設定した項目の想定値より求めた PEC 表層水_{表層水} 値と都市河川の主な負荷源である下水処理場における MEC とを比較し、第 I 相で評価判定を実施するために用いる各項目の想定値の妥当性を評価した。流入下水中から検出された、38 種のヒト用の医薬品の成分として用いられる化学物質の MEC の値は PEC 表層水_{表層水} の値を上回ることなく、安全性を考慮した上で、設定した想定値は妥当であることが明らかになった。しかし、抗アレルギー薬・エピナスチン、高血圧症治療薬・カンデサルタン及び精神科用薬・スルピリド、ロラゼパム等、限られた数種のヒト用の医薬品の成分として用いられる化学物質については、希釈係数 10 では、MEC の値が算出した PEC 表層水_{表層水} の値よりも高くなる地点が存在することも明らかになった。日本の都市河川では、水循環において下水処理水の比率が高いため、一日投与量が多く、かつ、代謝されずに排泄される割合の高いエピナスチン、カンデサルタン及びロラゼパム等の医薬品（投与量 20mg/日以下）の成分として用いられる化学物質や、下水処理場で除去性の悪い医薬品の成分として用いられる化学物質については、PEC 表層水_{表層水} が MEC を下回る過小評価の可能性があると示唆された。

下水処理場における医薬品負荷量の変動は小

さいことが明らかとなった。しかし、季節的に流行する疾病の治療薬の市場浸透率の設定に際しては、季節変動を考慮する必要があることも示唆された。また、流域人口が異なる下水処理場間の濃度変動は少ないことが明らかとなり、汎用性の高い医薬品の市場浸透率の地域格差は小さいことが示唆された。

下水処理場の二次発酵コンポスト中に検出事例のある非ステロイド系抗炎症薬の ibuprofen、diclofenac、mefenamic acid、人用抗生物質 clarithromycin、抗菌剤 triclocarban 等の医薬品類の農耕地等における地下水汚染の可能性について評価した。既に欧米で活用されている農薬による地下水汚染のシミュレーションモデル（GUS score、jury's criteria、Cohen's criteria）を用い、土壌吸着平衡定数（Koc）と土壌を用いた容器内分解試験による半減期（ $T_{1/2}$ ）の値を実験的に求め、地下水汚染の可能性を判定した。その結果、今回対象とした医薬品類は、いずれも地下水汚染の可能性は無いと判定された。さらに、既に欧米で活用されている農薬による地下水汚染のシミュレーションモデル（GUS score、jury's criteria、Cohen's criteria）が地下水への影響評価のシミュレーションモデルとして適用できることが示された。

多摩川流域から検出された医薬品 2 種（フェニトイン及びスルピリド）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。

有効成分等を対象とした生物試験法について、急性・慢性毒性試験法はおおむね OECD のテストガイドラインにある既存の試験法に準じて行うことができることが示された。

上記試験法に基づいて水生生物影響（藻類、甲殻類、魚類）についての短期慢性毒性試験データの蓄積を行うと共に、活性汚泥呼吸阻害試験、及び陸生植物生長試験についての試験を行い、水生生物試験以外でも有効成分等も一般化学物質と同等の手法が適用できることを確認し

た。

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。活性汚泥呼吸阻害試験、及び陸生植物生長試験についても検討を行った。その結果、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考えられた。また、魚類試験については受精卵を用いた試験を適用することで、動物愛護の試験に配慮しつつ、より感度良く医薬品の生態影響を把握することができる可能性が示された。

環境中に存在が確認された医薬品5種について、化審法及びOECDの試験法による生態毒性試験を行い、藻類、甲殻類および魚類に対する慢性毒性試験を実施し、影響について把握した。

フェニトインに対する短期慢性毒性試験の結果、藻類及び甲殻類で影響が認められたが、魚類では、本試験の最高濃度（水溶解度の限度：18-27mg/L）において影響が認められなかった。スルピリドに対する試験では、最高濃度（100mg/L）で藻類の生長阻害が確認されたが、甲殻類及び魚類については、本試験の指標に対して影響が認められなかった。

フェニトインについては NOEC として 1.63 mg/L（藻類の生長阻害）、スルピリドについては PNEC として 50 mg/L（藻類の生長阻害）が求められた。昨年度までに得られた下水処理場の最大流入下水濃度は、フェニトインが 0.83 μ g/L、スルピリドが 1.96 μ g/L であった。これらの数値を用いて計算すると、フェニトインの MEC/PNEC は 5×10^{-4} 、スルピリドの MEC/PNEC は 4×10^{-5} となり、環境に対する影響が許容できる数値であると考えられた。

多摩川流域の実環境中から検出された医薬品14種をそれぞれ実環境中濃度の1倍から10000倍で混合した試験液について短期慢性毒性試験を実施した結果、藻類では影響が見られなかったが、甲殻類と魚類においては、実環境中濃度の10000倍の濃度において影響が認められた。

10000倍濃度において、混合した14種中7種の医薬品の個別濃度は、藻類に対するメフェナム酸を除いて NOEC 以下であった。7種の医薬品の個別影響から相加作用を仮定して10000倍混合試験液の生物影響を予測したところ、すべての生物種において影響が予測された。したがって、甲殻類及び魚類に対しては、個別医薬品による相加あるいは相乗的な生物影響があったと考えられ、一方、藻類に対しては、相殺的な影響により生物影響が見られなかったと考えられた。

E. 健康危機情報

なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 鈴木俊也、矢口久美子、栗田雅行、西村哲治、小縣昭夫（2009）河川水中の医薬品の分析法、東京都健康安全研究センター年報、60、253-258.
- 2) 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（2010）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研究年報、61、333-339.
- 3) 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（2011）水環境中の抗インフルエンザウイルス剤の分析法、東京都健康安全研究センター年報、62、233-236.

2. 学会発表

- 1) 鈴木俊也、小杉有希、矢口久美子、栗田雅行、中江大、小縣昭夫（2009）河川水中の抗インフルエンザウイルス剤の分析、全国衛生化学技術協議会年会.
- 2) 三野美都里、吉村奈緒子、大久保博充、田中靖子、今村美雪、小安純子、大堀祐司、齋藤穂高、新野竜大、鏑迫典久（2010）*Ceriodaphnia dubia* および *Daphnia magna* を用いた繁殖試験による環境中医薬品等の

- 生態影響評価、第44回日本水環境学会年会.
- 3) 西村哲治 (2010) わが国の医薬品環境リスク評価の考え方、第 37 回日本トキシコロジー学会学術年会.
- 4) 堀田沙耶花、中田晴彦、久保田領志、西村哲治 (2010) ヒト・動物用医薬品の分析法検討とその発生源に関する現況調査、第 19 回環境化学討論会.
- 5) 鈴木俊也、小杉有希、栗田雅行、西村哲治、小縣昭夫 (2010) 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
- 6) 西村哲治 (2010) わが国における水環境中の医薬品類の実態、第 4 3 回日本薬剤師会学術大会.
- 7) 川元達彦、三橋隆夫、鈴木俊也、西村哲治、山村博平 (2010) 超高速液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計 (LC/MS/MS) を用いた水中オセルタミビルの高感度迅速分析法の確立、第 47 回全国衛生化学技術協議会年会 .
- 8) Nishimura T. (2010) Occurrence of Pharmaceuticals in River Water and Load to Aqueous Environment by Sewage Treatment Water in Japan. International Pharmaceutical Federation World Congress .
- 9) 西村哲治 (2010) 水道水に影響を与える未規制化学物質およびその対策、相模川・酒匂川水質協議会 創立 4 0 周年記念講演会.
- 1 0) 久保田領志、田原麻衣子、清水久美子、杉本直樹、西村哲治 (2010) 浄水工程を想定した生活関連化学物質の処理性評価、第 47 回全国衛生化学技術協議会年会 .
- 1 1) Suzuki, T., Kosugi, Y., Hosaka, M., Yaguchi, K., Ogata, A., Nakae, D., Nishimura, T. (2010) Evaluated of measured and predicted environmental concentrations of selected human pharmaceuticals in urban river in Tokyo. SETAC North America 31st Annual Meeting
- 1 2) 岡知宏、阿部良子、萩野仁子、小田重人、鑪迫典久、鈴木俊也、西村哲治 (2011) 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.
- 1 3) 鈴木俊也、小杉有希、保坂三継、矢口久美子、小縣昭夫、中江大、西村哲治 (2011) 水中のヒト医薬品の光分解、第 45 回日本水環境学会年会.
- 1 4) 堀田沙耶花、中田晴彦、久保田領志、西村哲治 (2011) 排水処理場における抗菌薬の濃度変化と環境負荷量の推定—一家畜由来抗菌薬との比較—、第 45 回日本水環境学会年会.
- 1 5) 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 (2011) 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 1 3 1 年会.
- 1 6) Nishimura, T., Obama, T., Kubota, R., Kobayashi, N., Sugimoto, N., Kosugi, Y., Suzuki, T. (2011) Attempt to health risk assessment of pharmaceuticals in drinking water. 2011 AAPS Annual Meeting and Exposition .
- 1 7) 西村哲治、小濱とも子、鈴木俊也、鑪迫典久、久保田領志、小林憲弘、田原麻衣子、清水久美子、杉本直樹 (2011) : 医薬品の環境影響評価手法に関する検討フォーラム 2011 衛生薬学・環境トキシコロジー.
- 1 8) Nishimura, T., Hirose, A., Kawamoto, T., Yano, M., Kosugi, Y., Suzuki, T. (2011) Environmental risk assessment of selected human pharmaceuticals in urban rivers in Japan. SETAC North America 32nd Annual Meeting.
- 1 9) Suzuki, T., Kosugi, Y., Nishimura, T. (2011) Comparison of Measured and Predicted Environmental Concentrations of Selected Human Pharmaceuticals in Urban River in Tokyo, 4th IWA ASPIRE.

- 2 0) Oka, T., Abe, R., Ogino, S., Saito, K., Watanabe, H., Suzuki, T., Nishimura, T., Tatarazako, N. (2011) Effects of pharmaceuticals in environment on aquatic organisms. SETAC North America 32nd Annual Meeting November.
- 2 1) 小濱とも子、久保田領志、小林憲弘、杉本直樹、西村哲治 (2011) 環境中に存在する医薬品の環境影響評価について、第48回全国衛生化学技術協議会年会.

G. 知的財産権の出願・登録状況
(予定も含む。)

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

研究成果及び検討結果として得られた資料

No	医薬品名	M.W.	LC/MS (ESI) ^a					GC/MS (EI) ^b			定量方法	LOQ ^c (ng/L)	添加回収率 ^d		
			peak ^e	tR (min)	mode (+, -)	corn volt. (V)	monito r ion	peak ^e	tR (min)	monitor ion			Ave. ± S.D. (%)	CV (%)	
1	サリチル酸	138	△	14.1	-	30	137	○	13.6	267	209	2	2	78 ± 3	4
2	アスピリン	180	△	15.5	-	30	137	○	14.1	195	210	2	2	83 ± 2	3
3	イブプロフェン	206	△	31.5	-	20	205	○	15.2	160	263	2	2	83 ± 2	3
4	メピリゾール	234	○	18.5	+	40	235	○	18.4	124	234	2	10	76 ± 3	4
5	アンチピリン	188	○	10.8	+	30	189	○	18.4	188	96	2	8	85 ± 12	14
6	インドプロピルアンチピリン	230	○	23.8	+	30	231	○	19.4	215	230	2	2	87 ± 2	2
7	フェンプロフェン	242	○	28.8	-	20	241	○	19.6	270	314	2	2	85 ± 2	3
8	フルフェナム酸	281	○	33.3	-	30	280	○	19.6	263	353	2	1	83 ± 3	3
9	フルルピプロフェン	244	○	30.2	-	20	199	○	20.1	180	316	2	1	117 ± 6	5
10	ナブメトン	228	△	30.0	+	30	171	○	21.1	171	228	2	2	107 ± 7	7
11	ナプロキセン	230	△	27.0	-	20	229	○	21.1	185	302	2	1	100 ± 2	2
12	ジフルニサル	250	○	30.3	-	40	249	○	21.4	379	247	2	2	84 ± 3	4
13	メフェナム酸	241	○	33.2	+	20	242	○	22.5	223	313	2	2	95 ± 5	5
14	ケトプロフェン	254	○	26.8	+	30	255	○	22.6	282	311	2	2	98 ± 2	2
15	ジクロフェナク	295	○	30.5	+	20	296	○	24.1	214	242	2	1	96 ± 6	6
16	エトドラク	287	△	30.0	+	20	172	○	24.5	228	359	2	1	89 ± 3	3
17	トルメチン	257	○	25.3	+	30	258	○	25.2	212	329	2	3	91 ± 6	6
18	フェンプロフェン	254	○	27.9	+	30	237	○	26.4	181	152	2	3	85 ± 7	9
19	スルピリン	333	○	3.1	+	20	218	×	***	***	***	1	1	<4	-
20	アセトアミノフェン	151	○	3.9	+	30	152	△	15.2(16.5)	206(181)	295(223)	1	2	50 ± 5	10
21	サリチルアミド	137	○	8.9	+	30	138	△	15.1(16.2)	194(266)	176(250)	1	5	110 ± 16	15
22	チアラミド	357	○	10.0	+	30	356	×	***	***	***	1	1	103 ± 6	6
23	フェナセチン	179	○	18.2	+	30	180	△	15.0(16.2)	236(108)	251(179)	1	1	89 ± 9	10
24	テノキシカム	337	○	18.2	+	20	338	×	***	***	***	1	2	91 ± 3	3
25	ピロキシカム	331	○	23.1	+	20	332	×	***	***	***	1	1	76 ± 7	9
26	スリンダク	356	○	25.2	+	40	398	×	***	***	***	1	5	91 ± 9	10
27	インドメタシン	358	○	30.9	+	30	358	○	32.3	139	312	1	10	69 ± 10	14
28	アセメタジン	416	○	31.7	+	20	416	×	***	***	***	1	5	73 ± 3	4
29	クロフィブラート	242	×	***	***	***	***	○	14.2	128	169	2	2	65 ± 10	15
30	クロフィブリン酸	214	○	26.1	-	30	213	○	14.4	143	128	2	2	88 ± 3	4
31	ベザフィブラート	361	○	27.5	+	30	362	○	32.1	120	278	1	3	110 ± 20	18
32	フェノフィブラート	360	○	38.1	+	30	361	○	27.3	121	273	2	2	108 ± 8	7
33	エピナスチン	249	○	17.0	+	50	250	×	***	***	***	1	2	146 ± 5	3
34	エバスチン	470	○	28.8	+	50	470	×	***	***	***	1	3	64 ± 9	14
35	オキサトミド	427	○	22.7	+	30	427	×	***	***	***	1	1	48 ± 5	11
36	アゼラスチン	382	○	21.8	+	30	382	×	***	***	***	1	3	90 ± 5	6
37	ケトチフェン	309	○	17.7	+	40	310	○	28.4	309	96	1	1	82 ± 6	7
38	トラニラスト	327	○	27.5	+	50	191	×	***	***	***	1	4	78 ± 9	12
39	ジフェンヒドラミン	255	○	19.3	+	50	167	○	18.3	58	165	2	2	129 ± 15	12
40	ジフェニルピラリン	281	○	20.6	+	30	282	○	21.3	99	167	1	2	99 ± 4	4
41	クレマスチン	344	○	24.4	+	30	344	○	26.1	84	128	2	2	100 ± 5	5
42	クロルフェニラミン	275	○	14.8	+	30	275	○	20.1	203	167	1	5	84 ± 12	14
43	プロメタジン	284	○	20.5	+	30	285	○	24.2	72	180	2	2	80 ± 5	6
44	シプロヘプタジン	287	○	21.6	+	30	288	○	25.2	287	215	2	1	114 ± 7	6
45	テルフェナジン	472	○	26.0	+	50	472	×	***	***	***	1	1	58 ± 13	22
46	フェニトイン	252	○	22.7	+	30	294	△	23.2(23.6)	176(180)	281(209)	1	2	81 ± 11	13
47	カルバマゼピン	236	○	22.9	+	30	237	○	23.4	193	165	2	2	105 ± 2	2
48	バルプロ酸	144	×	***	***	***	***	○	8.4	201	174	2	2	96 ± 5	5
49	アマンタジン	151	○	5.8	+	30	152	△	9.4(11.5)	94(135)	151(177)	1	2	79 ± 5	6
50	トリヘキシフェニジル	301	○	21.2	+	30	302	○	23.3	98	218	1	2	135 ± 11	8
51	エナラプリル	376	○	18.0	+	30	377	×	***	***	***	1	2	112 ± 7	6
52	アラセプリル	407	○	22.5	+	30	407	×	***	***	***	1	2	109 ± 7	6
53	リシノプリル	405	○	4.1	+	30	406	×	***	***	***	1	4	202 ± 9	4
54	ペリンドプリル	368	○	18.6	+	30	369	×	***	***	***	1	2	144 ± 7	5
55	ニフェジピン	346	○	26.3	+	30	315	○	27.5	284	329	1	3	150 ± 13	9
56	ベラパミル	454	○	21.3	+	30	455	×	***	***	***	1	2	93 ± 18	19

表 LC/MSおよびGC/MSにおける医薬品の分析条件および添加回収率 (つづき)

No	医薬品名	LC/MS (ESI) ^a					GC/MS (EI) ^b			定量方法	LOQ ^c (ng/L)	添加回収率 ^d			
		M.W.	peak ^e	tR (min)	mode (+, -)	corn volt. (V)	monito r ion	peak ^e	tR (min)			monitor ion	Ave. ± S.D. (%)	CV (%)	
57	ジルチアゼム	414	○	19.6	+	30	415	○	32.3	121	150	1	2	123 ± 9	7
58	ニカルジピン	479	○	21.0	+	30	480	×	****	****	****	1	2	82 ± 17	21
59	アムロジピン	409	○	20.9	+	30	409	×	****	****	****	1	2	104 ± 14	13
60	ベニジピン	505	○	22.0	+	30	506	×	****	****	****	1	1	69 ± 11	16
61	ニルバジピン	385	○	30.7	-	50	384	×	****	****	****	1	2	175 ± 20	11
62	ロサルタン	461	○	24.2	+	30	423	×	****	****	****	1	4	62 ± 9	15
63	カンデサルタン	611	○	25.0	+	30	441	×	****	****	****	1	3	70 ± 13	19
64	ヒドラルラジシ	160	○	3.9	+	30	201	○	17.6	185	200	1	4	< 4	-
65	ヒドロクロロチアジド	298	○	5.0	-	30	296	×	****	****	****	1	4	101 ± 10	10
66	プラソシン	383	○	16.2	+	30	384	×	****	****	****	1	1	77 ± 9	12
67	ドキシサシシ	452	○	19.6	+	30	452	×	****	****	****	1	2	61 ± 9	15
68	プロプラノロール	259	○	17.6	+	30	260	○	22.3	72	215	1	1	121 ± 11	9
69	メトプロロール	267	○	9.9	+	30	268	△	15.4(21.1)	147(72)	73(215)	1	2	152 ± 9	6
70	アルプレノロール	249	○	17.6	+	30	250	○	17.6	72	205	1	1	135 ± 8	6
71	ヒントロール	248	○	4.4	+	30	249	△	23.3(24.5)	133(205)	72(73)	1	2	8 ± 2	25
72	アテノロール	266	○	2.5	+	30	267	○	25.4	72	204	1	3	37 ± 16	43
73	カルベジロール	406	○	20.7	+	30	407	×	****	****	****	1	2	46 ± 10	22
74	ベタキソロール	307	○	18.3	+	30	308	○	24.4	72	263	1	3	141 ± 8	6
75	メチルドーパ	211	○	2.4	+	30	212	×	****	****	****	1	5	< 6	-
76	レセルピン	609	○	22.8	+	30	610	×	****	****	****	1	2	71 ± 14	20
77	レシナンタシ	635	○	23.6	+	30	636	×	****	****	****	1	3	67 ± 14	21
78	ピオグリタゾン	356	○	17.3	+	50	357	×	****	****	****	1	2	110 ± 6	5
79	クロルプロバミド	277	○	23.1	+	30	277	○	17.1	248	75	1	4	114 ± 10	9
80	アセトヘキサミド	324	○	24.8	+	30	325	○	19.5	256	75	1	2	120 ± 7	6
81	トルブタミド	270	○	24.9	+	30	271	○	17.0	228	149	1	2	124 ± 9	7
82	トラザミド	311	○	25.2	+	30	312	○	17.0	228	149	1	2	185 ± 10	5
83	グリクラジド	323	○	27.0	+	30	324	○	17.0	228	149	1	2	188 ± 10	5
84	グリベンクラミド	494	○	30.6	+	30	494	×	****	****	****	1	3	143 ± 23	16
85	ナテグリニド	317	○	30.9	+	30	318	○	28.0	120	205	1	1	163 ± 8	5
86	スルピリド	341	○	3.1	+	50	342	△	36.1	98	398	1	2	110 ± 18	17
87	オランザピン	312	○	3.3	+	50	313	○	30.3	242	213	1	3	68 ± 6	9
88	リスベリドン	410	○	16.6	+	50	411	×	****	****	****	1	3	73 ± 4	5
89	ゾルピデム	382	○	16.6	+	50	308	○	31.3	235	307	1	3	117 ± 5	4
90	ケチアピン	383	○	18.5	+	30	384	×	****	****	****	1	3	87 ± 3	4
91	メダゼパム	271	○	19.4	+	50	271	○	24.0	207	242	1	3	92 ± 3	4
92	ミダゾラム	326	○	19.3	+	50	326	○	28.5	310	326	1	5	87 ± 3	4
93	ハロベリドール	376	○	20.6	+	50	376	△	33.2	224	237	1	2	83 ± 4	4
94	パロキセチン	329	○	21.5	+	50	330	△	28.3	192	329	1	4	96 ± 4	4
95	フルボキサミン	318	○	22.1	+	30	319	○	21.1	212	106	1	4	103 ± 4	4
96	ニトラゼパム	281	○	23.7	+	50	282	○	27.5	352	306	1	3	109 ± 1	1
97	トフィンソパム	382	○	23.5	+	50	383	△	34.3	382	326	1	1	100 ± 3	3
98	ロラゼパム	321	○	24.9	+	30	321	○	27.2	429	347	1	3	96 ± 4	4
99	トリアゾラム	343	○	25.6	+	50	343	△	34.4	313	342	1	2	103 ± 6	5
100	フルニトラゼパム	313	○	26.1	+	50	314	○	29.1	285	312	1	4	112 ± 3	3
101	プロチゾラム	394	○	26.2	+	50	395	△	35.1	394	245	1	3	87 ± 2	2
102	エチゾラム	343	○	26.2	+	50	343	△	34.4	342	313	1	3	116 ± 4	4
103	クロチアゼパム	319	○	26.2	+	50	319	○	27.5	289	318	1	2	97 ± 5	5
104	ジアゼパム	285	○	27.6	+	50	285	○	26.5	256	283	1	3	100 ± 2	2
105	ロフラゼパ酸エチル	361	○	29.5	+	50	361	○	27.4	359	432	1	2	110 ± 4	3

a 注入量: 10μL

b BSTFA処理したもの, 注入量: 2μL

c 定量下限値, S/N=10

d 水試料: 多摩川(多摩川原橋付近) 河川水 500mL, 添加濃度: 0.1μg/L (n=5)

e ○: 単一ピークかつ高感度、△: 複数ピークかつ(または)低感度、×: ピーク無し

表 水生生物毒性試験法概要

	藻類生長阻害試験	ミジンコ繁殖阻害試験	ゼブラフィッシュ胚・仔魚期短期毒性試験
供試生物	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	<i>Danio rerio</i>
試験タイプ	止水式	半止水式	半止水式
試験期間	72 時間	対照区における個体の 60% 以上が 3 回産仔するまでの期間 (最長 8 日)	9 日間
水温 (°C)	23±2°C	25±1°C	26±1°C
光質	白色蛍光	白色蛍光	白色蛍光
光強度	86±8.6 μE/m ² /s (400±40 ft-c 或いは 4306lux)。通常用いているレベル	10-20μE/m ² /s(50-100ft-c) 通常用いているレベル	通常用いているレベル
明暗周期	連続照射	16 時間明 : 8 時間暗	16 時間明 : 8 時間暗
試験容器の大きさ	500mL	50mL	80 mL
試験容量	100mL	15mL	50 mL
試験溶液の換水頻度	無し	隔日	隔日
供試生物の齢	4-7 日	24 時間齢未満の幼体で、全ての個体が 8 時間以内に産まれていること	受精後 4 時間以内の受精卵
供試生物数/試験容器	5000 cells/mL	1 個体	20 個体
連数/濃度区	3 連/濃度区 6 連/対照区	10 連	4 連
供試生物数/濃度区	-	10 個体	80 個体
餌料源	-	クロレラ, ムレミカヅキモ, YCT	-
給餌法	-	一頭当たり YCT 50 μL と懸濁したクロレラ 30 μL および ムレミカヅキモ 20 μL を毎日給餌	-
振盪速度	連続振盪, 100cpm	なし	なし
曝気	曝気しない	曝気しない	曝気しない
希釈水および対照区	OECD 培地	活性炭濾過上水	活性炭濾過上水
試験濃度区	4~6 濃度区 + 対照区		
希釈系列	最高濃度のストック溶液を希釈水により公比 2 (適宜) で希釈		
エンドポイント	生長 (細胞数, 増殖速度)	生残と産仔数	孵化率、孵化後生存率、生存率、生存指標

表 急性毒性試験と受精卵を用いた試験の適用性比較

	急性毒性試験 (TG203)	初期生活段階 毒性試験 (TG210)	胚仔魚期短期 毒性試験 (TG212)
試験時間	○ 最も短い	× 最も長い	△ 中間程度
生物数	○ 最も少ない	× 最も多い	△ 中間程度
試験方式	△ 止水式：濃度維持 が課題	△ 流水式：使用薬量が 多い	○ 半止水式：使用薬量も 比較的少なくすむ
観測測定	△ 観察点は死亡のみ	○ 多くの観察点を持つ	○ 多くの観察点を持つ
結果算出	× 死亡率のLC50のみ	○ 孵化率等のLOEC およびNOEC, EC50	○ 孵化率等のLOEC およびNOEC, EC50