

化学物質などの生態影響試験(毒性試験)

日本では、2004年の化審法(化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律)の改正により、新たに製造・輸入される化学物質について自然環境中の動植物生態系への影響に着目した審査・規制を行う制度が導入され、水生生物を用いた生態影響試験(毒性試験)の実施が求められることになりました。化学物質の生態影響試験は、国際的に合意された試験方法であるOECD(経済協力開発機構)の化学品テストガイドラインに準拠して実施します。

試験は、化学物質の生態系に対する影響把握が目的であり、食物連鎖のなかでそれぞれ一次生産者、一次消費者及び高次消費者に位置づけられる藻類、甲殻類及び魚類の3生物種を用いるのが一般的です。日本では、ムレミカツキモ(藻類)、オオミジンコ(甲殻類)、メダカ(魚類)が用いられます(化審法に基づく生態影響試験については、i-NET Vol.8をご参照ください)。

生態影響試験において、より信頼性の高い結果を得るには、健全に飼育・培養された生物を用いて、十分な経験と知識に基づき試験を実施することが不可欠です。当研究所では、2000年から、試験生物の飼育施設(写真1)、化学物質の取扱い施設、ばく露試験装置を設置した試験室などの整備、適切な試験実施に必要な技術やノウハウの習得を進め、2003年に、環境省より化審法に基づく化学物質GLPの適合確認を受けました。以降、継続して3年ごとの適合確認を受け、GLP適合施設として信頼性が確保された試験結果を提供しています。



写真1 生態影響試験に用いる魚類(メダカなど)の飼育室

海生生物については、国際的に統一された生態影響試験のガイドラインはなく、化学物質の海域生態系に対する影響評価の必要性が指摘されていました。そのため2004年から、環境省によってマダイ(海産魚類)とクルマエビ(海産甲殻類)を試験生物として用いる毒性試験法の開発が進められました。当研究所は、この試験法の検証

を目的として実施されたリングテストに参画し、日本における海生生物の試験法開発に協力するとともに、海産生物での試験実施に必要な技術やノウハウの習得を進めました。

当研究所で実施している海生生物の毒性試験に、船舶のバラスト水処理装置の排水を対象(試料)とする試験があります。IMO(国際海事機構)において2004年にバラスト水管理条約が採択され、世界各国でバラスト水中の生物を処理(殺滅)するための装置開発が進められています。

一方で、処理後のバラスト水が排出先の生態系(主に海域)に有害な影響を及ぼす懸念もあり、事前に海生生物(藻類、甲殻類及び魚類など)を用いた毒性試験を実施してリスク評価を行うことが義務付けられました。国内には、海生生物を用いて毒性試験を実施できる施設が少なく、当研究所では、2005年以降、国内で開発された数多くの処理装置について、処理排水の毒性試験を実施しています(船舶バラスト処理水の毒性試験については、i-NET Vol.15をご参照ください)。

化学物質の内分泌かく乱作用に関する試験法開発

化学物質の生態影響として国際社会に大きな衝撃を与えたのが、1996年に米国の動物学者シーア・コルボーンらによって発刊された「奪われし未来」に端を発する内分泌かく乱化学物質(EDCs)問題です。日本では、1998年に研究者によって報告された河川に生息するコイでの生殖異常を発端に、建設省(当時)による全国規模のEDCsの実態調査が開始されましたが、これが当社のEDCs問題への取り組みの足掛かりとなりました。特に当研究所は、微量化学物質の分析や生物実験などの技術や経験を活かし、国内で実施された多くのEDCsに関する調査や研究に協力してきました。

また、1998年には、環境庁(当時)が「内分泌攪乱化学物質問題への環境庁の対応方針について-環境ホルモン戦略計画SPEED '98-」を策定し、メダカなどを用いる試験法の開発やそれに基づくSPEED '98に掲載された65物質の有害性評価が開始されました。当研究所は、重点研究テーマの一つにEDCsの魚類への影響評価法の開発を掲げ、2000年から、通常は女性ホルモンの働きによりメダカ雌魚に産生されるビテロジェニンというタンパク質が、EDCsによりメダカ雄魚に誘導されるかどうかを指標とした女性ホルモン作用の評価手法の研究に取り組み、その成果を積極的に学会や論文等で公表してきました。

EDCsの影響評価では、長期に渡るばく露試験の実施が不可欠なことから、流水式の試験装置を設置した試験室も整備しました(写真2)。これらの設備と技術を活かして、環境省の委託により、SPEED '98掲載物質についてメダカ・ピテロジェニン産生試験を実施するとともに、OECDでのテストガイドライン化のための国際的なリングテストにも参画するなど、EDCs問題の解決に向けて国際的にも協力してきました(試験結果は、環境省から公表されています)。

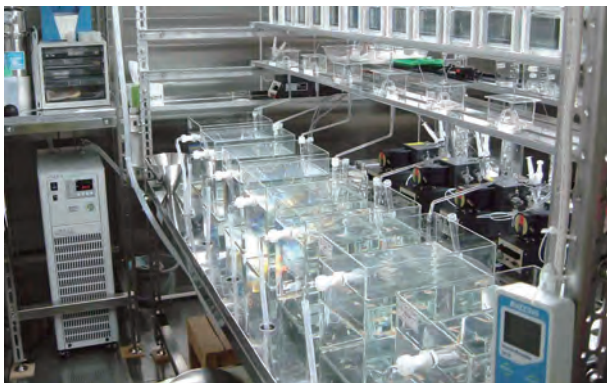


写真2 流水式試験装置によるメダカのばく露試験

2007年には、両生類(カエル)を用いる試験の技術を有する東和环境科学株式会社が当社グループに加わり、当研究所でもカエルを用いる試験法開発や研究に取り組むことになりました。環境省では2010年に、これまでの成果を踏まえて今後のEDCs問題への対応として「EXTEND2010」を公表し、国際的な協力の下でEDCsの新たな作用・影響評価手法の確立と評価を進めています。当研究所は、魚類(メダカ)と両生類(アフリカツメガエルやニシツメガエル)の両生物種によるEDCs試験(写真3)が実施できる国内唯一の民間試験機関として、環境省が進める日英・日米二国間協力事業などにも参画し、現在もEDCsの新たな試験法や影響評価法の開発に取り組んでいます(両生類を用いるEDCsの試験については、i-NET Vol.17をご参照ください)。



<ニシツメガエル>

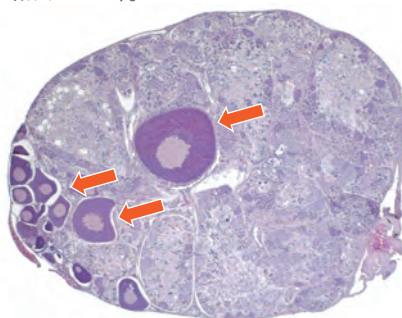


写真3 女性ホルモン物質でばく露した雄のニシツメガエルの精巣内に形成された卵細胞(矢印)

試験管内試験による化学物質の影響評価法の開発

EDCsなど化学物質による新たな生体影響にかかわる問題では、特異的な作用メカニズムの解明や効率的な評価試験の実施が必要になります。そのため、当研究所では、細胞レベルや分子レベルでの生体反応を利用して、化学物質の作用や影響を生化学的あるいは分子生物学的に検出する新たな試験系の開発にも積極的に取り組んできました。

化学物質の環境中の実態調査では、従来から実施されている機器分析に加えて、媒体中の微量物質(女性ホルモン様物質やダイオキシン類など)を抗原抗体反応(生化学的反応)に基づいて測定するELISA法(酵素免疫測定法)について、測定値の精確さや種々の環境試料(媒体)への適用性などの検討を行いました。これらの研究で蓄積した技術・知見を踏まえて、ダイオキシン類やDDTなどの微量化学物質を対象にしたELISAキットの製品開発やそれらを用いた簡易分析法の技術検討事業にも取り組んできました。また、前述のEDCsの生物試験では、女性ホルモン様作用の検出に、試料にばく露した雄体内のピテロジェニンを用います。そのため試験生物であるメダカとアフリカツメガエルについて、ピテロジェニンを測定するELISAキットを製品化しました(写真4)。これらはOECDのリングテストでも採用され、国内外で広くEDCsの影響評価のための試験などに利用されています。

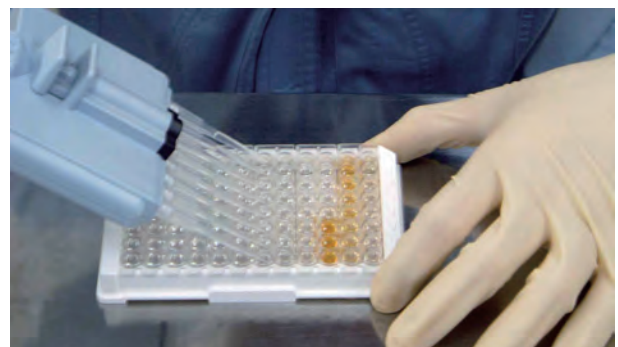


写真4 ELISAキットによるメダカ・ピテロジェニンの測定

現在は、魚類や両生類のホルモン受容体遺伝子を利用するレポーター遺伝子アッセイなど、遺伝子発現を介した化学物質の作用やメカニズムの解明、生物に対する影響評価に用いる新たな試験法開発にも取り組んでいます。これらの試験法はin vitro試験と呼ばれる生物を用いない試験法であり、動物愛護の観点から、国際的にもその有用性が認識されています。このように当研究所では、国内外の動向にも注視しつつさまざまな試験・評価法の研究開発を進めています。