

水環境における化学物質の影響評価

— 魚類由来細胞を用いた毒性試験 —

基盤研究部 森 真朗

1 はじめに

化学物質による環境の汚染の未然防止に人々の関心が高まってきている。化学物質は現在、商業目的で生産されているものだけでも世界で約10万種類に上り、我が国で流通しているものも4万8千種類以上あるといわれている。しかも、我が国だけでも毎年数百種類の化学物質が新たに製造・使用されている。これら莫大な数の化学物質の一部は、水環境中にも入り込み、我々「ヒト」のみでなく、種々の水生生物にいろいろな影響を及ぼしている。我々の生活には化学物質は不可欠のものとなっているが、その使用には我々「ヒト」のみならず水生生物に対しても何らかのリスクが伴うということを認識し、叡智を集めて使用方法の検討を行う必要がある。

2 生物を用いた手法による化学物質の毒性評価

近年、水環境中の化学物質のリスク管理は、物理化学的手法とともに、生物を用いた手法（バイオアッセイ）の導入が重要視されてきている。物理化学的分析が個々の化学物質の水環境中における濃度の把握等に用いられるのに対し、バイオアッセイは化学物質の影響を「生物材料」を用いて、「生物応答」により評価しようというものである。したがって、バイ

表1 バイオアッセイに用いる生物材料及び毒性指標

生物材料	毒性指標
生物個体	
げっ歯動物（ラット、マウスなど）	生存率、臓器障害、奇形発ガン、遺伝子障害
水生生物 魚類、甲殻類、藻類など	生存率、成長、増殖、奇形
単一細胞	
バクテリア（大腸菌、サルモネラ菌など）	突然変異
酵母	遺伝子障害、染色体異常
培養細胞	生存率、細胞機能障害 染色体障害、小核試験など

表2 生態影響評価に関するテストガイドライン（OECD）

No.	試験項目
201	藻類生長阻害試験
202	ミジンコ類急性遊泳阻害試験
203	魚類急性毒性試験
204	魚類延長毒性試験
205	鳥類摂餌毒性試験
206	鳥類繁殖毒性試験
207	ミミズ急性毒性試験
208	陸生植物生長試験
209	活性汚泥呼吸阻害試験
210	魚類初期生活段階毒性試験
211	ミジンコ類繁殖毒性試験

オアッセイの場合、物差になるのは物質質量ではなく、「生物作用量」ということになる。「生物作用量」を物差にすれば、様々の化学物質が種々の割合で混ざり合った複雑な汚濁物質の影響も評価することができる。これは物理化学的手法にはないバイオアッセイの特徴である。化学物質による水環境汚染の未然防止には、物理化学的分析とバイオアッセイを上手に組み合わせる必要がある。

バイオアッセイに用いられる生物材料及びそれらに対する毒性指標は表1に示すとおりである。

化学物質の生態系（水環境の場合は水生生態系）に対するリスクを調べるには、生態影響評価を行わなくてはならない。生態影響評価には、生態系に対して影響を及ぼさないと予想される「予想無影響濃度」の算出が不可欠である。そのためには生態系を構成する各種生物種に対して毒性試験を実施する必要がある。OECD（経済協力開発機構）では、毒性試験結果を国際的に共通のものとするために、テストガイドラインを公表している（表2）。これは、水生生態系において、生産者である藻類、一次消費者としての甲殻類、二次消費者としての魚類を試験生物として選び、定められた方法で試験を行うというものである。

3 代替法としての魚類由来培養細胞を用いた毒性試験

表1に示したように、バイオアッセイにはラット、マウス、魚類などといった生物個体から細菌、酵母などの単一細胞まで、様々なレベルの生物材料が用いられる。培養細胞もそうした生物材料の一種である。生物個体を用いて毒性試験を行うには、通常、多額の費用と多大な労力がかかり、動物保護の観点からの問題提起も行われている。さらに、生態系に対する影響を評価しなければなら

用語解説

PRT R法（特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律）
化学物質による環境汚染の未然防止のため、有害性が判明している化学物質について、人体等への悪影響の判明の程度に係わらず、事業者による化学物質管理を強化するための枠組み（PRT R制度）の整備を図るための法律。「第一種指定化学物質」の定義として、「人の健康を損なうおそれ又は動植物の生息若しくは生育に支障を及ぼすおそれがあるもの」と記述されている。

PRT R： Pollutant release transfer register（環境汚染物質排出・移動登録制度）
生態系（エコシステム）

生物群集と環境が総合された系（システム）を指す。森林や湖沼をとらえ、森林生態系、湖沼生態系などという。生態系の構成要素には、生産者（植物）、消費者（動物）、分解者（微生物）、大気、水、土壌、光がある。これらの多様な要素が複雑につながり全体として一つの系が保たれる。

近年の公害や自然破壊の中で、生態系や閉鎖系の考え方が重要視されるようになっている。

ない莫大な化学物質の数を考えると、簡便、迅速、安価な代替試験法の開発は必須である。そこで、我々は魚類を用いた毒性試験が必要か否かをスクリーニングする手法として、魚類由来培養細胞を用いた試験方法を開発中である。

まず、いくつかの代表的な魚類由来細胞について、ニュートラルレッド法という手法を用いて、化学物質に対する感受性を比較した。その結果、化学物質の魚類由来細胞に対する毒性順は細胞が異なっても変わらないことが明らかになった。さらに、構造のなるべく異なる11種類の化学物質について試験を行った。結果は表3に示すとおりで、11種類の化学物質のうち、キングサーモン由来のCHSE-214細胞に対して最も毒性の強かったのは塩化ベンゼトニウムであり、最も弱かったのはエタノールであった。11種類の化学物質のうち9種類について、細胞を用いた毒性試験と魚体を用いた毒性試験との相関を調べた。結果は図1に示すとおりで、両者の間には高い相関関係が認められた。

今後は、さらに簡便・迅速に多くの化学物質の細胞毒性を評価するため、新しいタイプの魚類由来細胞の利用に取り組んでいく予定である。

表3 化学物質のCHSE-細胞に対する毒性 (mM)

化学物質	分子量	NR ₅₀
エタノール	46.07	738
アニリン	93.13	33.7
フェノール	94.11	11.8
直鎖ドデシルベンゼン		
スルホン酸ナトリウム	348.48	0.084
塩化ベンゼトニウム	448.09	0.013
トデシル硫酸ナトリウム	288.38	0.064
フェニトロチオン	277.24	0.572
ダイアジノン	304.35	1.12
チオベンカルブ	257.78	0.174
キャプタン	300.59	0.026
酢酸	60.05	7.4

用語解説

環境リスク

人の活動による環境への負荷が、大気、水質などの環境中の経路を通じて、環境保全上の支障を生じさせる可能性（おそれ）をいう。環境リスクの要因としては、化学物質、自然環境の改変行為、温室効果ガスの排出等、環境保全上の支障の原因となるおそれのあるすべてが対象となり得る。

バイオアッセイ

生物検定ともいう。生物の生死や発育・成長に対する化学物質の作用量を測定するため、生物の反応を標識として利用する試験方法。環境中の様々な物質による毒性を総合化して評価できること、急性及び慢性毒性影響のスクリーニングに利用できる特徴がある。

魚毒性

水中の化学物質が魚介類に障害を与える程度を知る指標。新規化学物質については化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）により、農薬については農薬取締法により魚毒性試験法が定められている。

半数致死濃度 (LC₅₀)

水生生物に対する急性毒性の程度を示す指標。水生生物を有害物質又は排水の希釈溶液中で一定時間飼育し、その間に供試水生生物の50%がへい死する濃度を言う。一般に24、48あるいは96時間LC₅₀が求められる。従来日本では、一般的に48時間LC₅₀×0.1によって、その有害物質の許容濃度を推定することが便宜的に行われている。

NR₅₀

ニュートラルレッド試験において、化学物質処理しない細胞群のニュートラルレッド色素の取り込み量に対する、化学物質処理した細胞群の色素取込み量の比が50%になる化学物質の濃度。この値が小さいほど化学物質の細胞に対する毒性は強い。

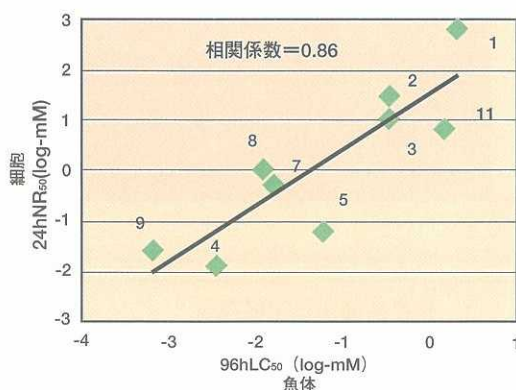


図1 魚体と細胞を用いた毒性試験の相関関係