

藻類生長阻害試験を用いたヒト用及び動物用医薬品の生態毒性評価

京都大学大学院工学研究科 学生会員 ○福永 彩
 正会員 山下 尚之
 正会員 田中 宏明

1. 研究背景と目的

近年の分析機器の発達に伴い、ヒトや動物用の医薬品が水環境中に存在することが明らかになり、新たな環境汚染物質として注目を集めている。ヒトや動物に投与された医薬品は、体外に排泄された後に下水処理場を介して水域に排出されている。また畜産や水産にも大量の医薬品が使用されており、この場合はより環境中に排出されやすい。医薬品はその目的から生物に対し作用を与えるように作られており、水環境中に放出された後に水生生物に何らかの影響を与えている可能性がある。また使用される時期が限られている農薬などとは異なり、医薬品は継続的に使用されているため慢性影響も懸念される。しかし、現在は医薬品の生態影響について審査・規制を行う法律が整備されていないため、この問題について何ら対策が講じられていない。適切な対策を講じ不安を解消するために、どのような医薬品がどれくらいの濃度で水生生物に影響を与えるかという情報を集める必要があるが、医薬品の生態系への影響に関する研究はまだ少なくその情報は不足している。また、生態毒性試験は同一物質の試験であってもその試験方法や被験生物の種類や株、試験技術によって値に差がみられるため¹⁾、医薬品の毒性比較を行いその特徴を掴むためには、同一試験者が同一条件で試験を行った毒性データを用いる必要がある。しかし、1物質の毒性データを算出するには多くの労力と時間が必要であり、多種類の医薬品の試験を行うことは難しい。そこで本研究では、山下ら²⁾の方法を参考にし、通常三角フラスコを用いて行われる藻類生長阻害試験を、96穴マイクロプレートを用いて行い試験の簡便化を図った。そして、多数の医薬品の毒性データを算

表1 対象医薬品

番号	種類	医薬品名	番号	種類	医薬品名	番号	種類	医薬品名	
1	抗菌剤	クラリスロマイシン	19	抗菌剤	トリメプリム	37	解熱鎮痛剤	シクロフェナクナトリウム	
2		エリスロマイシン	20		レボフロキサシ	38		ケトプロフェン	
3		アジスロマイシン	21		エンロフロキサシ	39		メフェナム酸	
4		タイロシ	22		シフロフロキサシ	40		アンチピリン	
5		テトラサイクリン塩酸塩	23		フルフロキサシ	41		エテンザミド	
6		オキシテトラサイクリン塩酸塩	24		ベンジルペニシリンカリウム	42		フェプロフェン	
7		クロルテトラサイクリン塩酸塩	25		アモキシシリン	43		イブプロフェン	
8		ドキシサイクリン塩酸塩	26		無水アンピシリン	44		クロタドン	
9		リンコマイシン塩酸塩	27		セフトオフル	45		アセアミノフェン	
10		チアフェニコール	28		セファゾリンナトリウム	46		ジヒラミド	
11		スルファメトキサゾール	29		バンコマイシン塩酸塩	47		不整脈剤	トプロロール
12		スルファモノキシン	30		トリクロザン	48		フロラノール塩酸塩	フロラノール塩酸塩
13		スルファジメトキシン	31		カルバドックス	49		気管支拡張剤	テオフィリン
14		スルファジミン	32		2-キノキサリンカルボン酸	50		クレンブテロール	クレンブテロール
15		スルファクロルピリダジン	33		チカルバジン	51		抗てんかん剤	カルバマセピン
16		スルファチアゾール	34		イブプロフェン	52		鎮痛剤	酒石酸イブプロフェン
17		スルファメチゾール	35		インドメタシン	53		高脂血症剤	クロフィリン酸
18		スルファミラジン	36		ナフロキセン	54		アルキル化剤	シクロオキサミド
				55	防虫剤	N,N-ジエチル-m-トルアミド			

出し、水生生物に対し水環境中の医薬品がどれくらいの濃度でどのような影響を与えるかを明らかにすることを試みた。対象とする医薬品には、日本での使用量が大きく³⁻⁶⁾、生物試験に必要な純度の高い標準物質が手に入るものを中心に55物質を選定した。それらの医薬品を表1に示す。

2. 藻類生長阻害試験

1) 試験方法

被験生物種として *Pseudokirchneriella subcapitata*(Korshikov)F.Hindak(NIES-35)を用いた。1つの医薬品に1枚の96ウェルマイクロプレート(IWAKI社製・浮遊細胞用)を使用し、藻類細胞液、AAP培地(US-EPA標準)、医薬品標準物質を用いて、藻類細胞濃度 1.0×10^4 cells/mLの医薬品濃度希釈列(2倍希釈10濃度区、6連/濃度区)を作成した。培地は各ウェルに等量ずつ添加した。各医薬品の試験濃度範囲は事前に予備実験を行って決定した。これらのマイクロプレートを培養庫の中で24°C、120rpm、4000lux連続光で振とう培養し、0h後から96h

キーワード： 医薬品、藻類生長阻害試験、マイクロプレート、生態毒性

連絡先： 京都大学大学院工学研究科附属流域圏総合環境質研究センター

〒520-0811 滋賀県大津市由美浜 1-2 TEL 077-524-6328 FAX 077-524-9869

後まで 24h 毎にマイクロプレートリーダー(BIO-RAD 社製 Model 550)を用いて波長 450nm で吸光度を測定した。吸光度は、検量線を用いて細胞濃度に換算した。これらの結果から EC50(0-96hr 面積法), NOEC, LOEC を算出した。EC50 は用量反応曲線の 50%阻害を起こす 2つの濃度区を直線で結び、50%阻害における濃度を算出した。NOEC,LOEC の検定には Dunnet 型多重比較検定を用いた。

2)結果及び考察

試験を行った医薬品 55 物質について、EC50 で 10^5 倍以上、NOEC と LOEC では 10^4 倍以上もの差がみられ、大きくばらついた。EC50 mg/L と医薬品の分類との関係を図 1 に示す。図中の医薬品番号は表 1 に対応する。EC50 は $1/EC50$ で表し、毒性が強いほど値が大きくなるように表現した。

各医薬品の EC50 の値は、抗菌剤、解熱鎮痛剤などの分類によらず大きくばらついた。しかし、図 1 からは抗菌剤の毒性がその他の医薬品の毒性に比べ顕著に強い傾向がみられた。抗菌剤以外の医薬品は比較的弱い毒性になったが、一部の医薬品は強い

という結果が得られた。抗菌剤とその他の医薬品は作用部位や機序に大きな違いがあり、この点が毒性の違いに関係している可能性がある。また、医薬品番号 24～29 の医薬品は細菌の細胞壁の合成を阻害する抗菌剤であるが、これらは他の抗菌剤と比べ極めて毒性が低かった。このように、同じ作用機序を持つ抗菌剤の毒性は同程度であった。以上のことから、医薬品の藻類に対する毒性を医薬品の作用機序によってある程度整理できることが分かった。

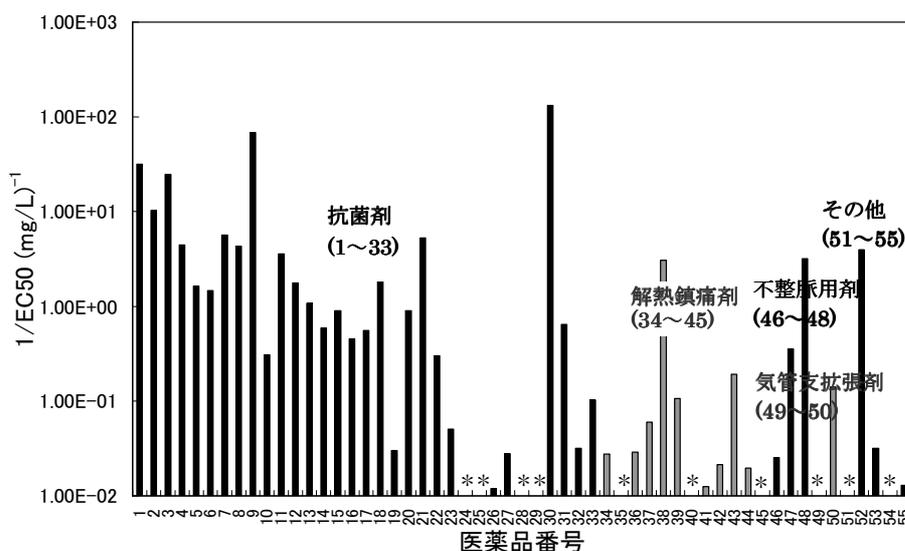


図 1 EC50 と医薬品の分類との関係 *は、EC50 > 100 mg/L を表す。

3. まとめ

本研究では、ヒト用や動物用の医薬品が水生生物に対してどのような毒性影響を与えるかを明らかにすることを目的とし、マイクロプレートを用いて 55 個の医薬品について藻類生長阻害試験を行った。その結果、医薬品によって毒性は様々であったが、特に抗菌剤の毒性が強かった。今後更に毒性の特徴をつかむため、対象物質を増やし検討を行う予定である。

謝辞

本研究にご協力いただいた（独）土木研究所水環境研究グループ水質チームの皆様に感謝いたします。

参考文献

- 1) 福永 彩：京都大学工学部地球工学科特別研究,pp.8-12,2006.
- 2) 山下ら：水環境学会誌, Vol.28, No.8, pp.493-499, 2005.
- 3) 医薬品・医療衛生用品-価格表 2005(平成 17 年度), 薬事日報社, 643p., 2005.
- 4) 医薬品ランキング-2005 年版, エルゼビア・ジャパン, 97p.2005.
- 5) 薬事工業生産動態統計年報, 厚生労働省医政局編集, pp.348-359, 2004.
- 6) 動物用医薬品, 医薬部外品及び医療用具生産(輸入)販売高年報-平成 15 年 日本動物用医薬品協会, 2003.