

## マイクロコズムを活用した化学物質の生態系リスク影響評価手法の開発

千葉工業大学 正会員 ○村上 和仁  
東北工業大学 正会員 小浜 暁子

### 1. はじめに

化学物質の生態影響評価試験は、現在においては、藻類・甲殻類・魚類等を用いる単一生物種を用いて実施されてきている。しかし、この単一生物種試験では生態系を踏まえた試験法となっていないことが問題とされてきた。すなわち、自然界を模したモデル生態系試験は、安定性や高コスト性、再現性等の問題により汎用的な標準試験法は確立されていない。ここでは、生産者（藻類）・捕食者（微小動物）・分解者（細菌）からなる水圏モデル生態系であるマイクロコズム（小さな宇宙）に着目して、化学物質の生態リスク影響評価の研究開発を、生態系システム全体の変化に対してP/R（生産量/呼吸量）比を指標として、日本発の汎用的マイクロコズム試験法の国際ガイドライン化を目指して検討することとした。

本研究では、40年以上に亘り安定に継代されてきたマイクロコズム系を使用し、高い再現性を有する標準試験法を確立することで、低コストで汎用性のある生態影響評価法の公定法化を目途として推進することとするが、試験操作に係る基本的マニュアルは既に構築され（環境省環境研究総合推進費平成21～23年度）ていることを踏まえ、汎用化のための施設間テスト等を実施してOECD試験ガイドライン化に向けたリングテスト等を進め、OECD標準試験法の確立を図ることとする（図1）。

### 本研究開発の主たる目標

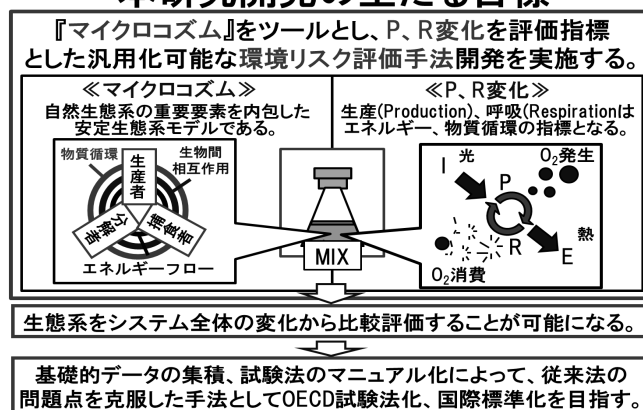


図1 マイクロコズムによる化学物質リスク評価

### 2. マイクロコズム試験による化学物質に対するスクリーニング試験

リストアップした198物質を作用機序の違いから、動物・植物に作用する物質、および微生物に作用する物質の3グループにスクリーニングし、福島大学／国際科学振興財団（界面活性剤関連）、千葉工業大学（植物・微生物関連）、横浜国立大学（動物関連）の3機関で分担して実験的検討を進めた。その結果、マイクロコズム試験は、上記の化学物質の分類によらず単一生物試験よりも感受性が高く、メソコズム試験と密接な相関性をもつことから、マイクロコズム試験のOECD試験への基礎的成果が得られた。

### 3. マイクロコズム試験による化学物質に対する生態影響評価試験

メソコズム試験法に替わる実用的な生態系影響評価手法として確立することを目指して、より広範な化学物質について検討を進めた。マイクロコズム試験で得られたm-NOEC（マイクロコズム無影響濃度）、陽イオン界面活性剤TMAC（1,000mg・L<sup>-1</sup>）、内分泌攪乱化学物質Nonylphenol（100mg・L<sup>-1</sup>）、殺菌剤Manzebe（300mg・L<sup>-1</sup>）、除草剤Alachlor（1,000mg・L<sup>-1</sup>）、Linuron（0.1mg・L<sup>-1</sup>）、Formesafen（30mg・L<sup>-1</sup>）、殺虫剤Chloropyrifos（250mg・L<sup>-1</sup>）等を文献調査等と整合させた結果、試験対象とした26物質のほとんどが野外試験（メソコズム）試験と同様の傾向が示され、密接な相関のあることが明らかとなった。

### 4. マイクロコズム試験とメソコズム試験の相関性の解析評価

マイクロコズム無毒性濃度と自然生態系無影響濃度の相関性をまとめると、図2の通りである。これはマイクロコズムでの無影響濃度と自然生態系での無影響濃度の平均値との関係で、実線は回帰直線を、上下の破線はその信頼範囲（標準偏差・バラツキ）を示している。これより、マイクロコズム試験による毒性評価の妥当性を検討すると、回帰直線の信頼範囲に26物質中23物質が当てはまることが示され、マイクロコズムと実験生態系・自然生態系の相関の高さが立証されることになる。信頼範囲の下限の破線は、生態系の感受性の違いを考慮して求めた不確定係数（アセスメント係数）200で自然生態系の無影響濃度の平均値を除した直線でもある。自然生態系における予測無影響濃度を予測するには下限の破線のみが必要であり、この相関図上でのプロット（●）が、この下限の破線より大きい値（破線より上）

キーワード マイクロコズム, 化学物質, 生態系リスク影響評価, 標準試験法, m-NOEC

連絡先 〒275-0016 習志野市津田沼2-17-1 千葉工業大学生命環境科学科 TEL. 047-478-0455 E-mail: kazuhito.murakami@p.chibakoudai.jp

にあれば、マイクロコズムで計測した無影響濃度をアセスメント係数 200 で除して得られた濃度（予測無影響濃度）は自然生態系（メソコズム実験）予測無影響濃度よりも低い値となり、全ての自然生態系を保護できることを意味する。今まで計測したほとんどの物質はこの領域（下限の破線よりも上）に収まっている。一方、上限の破線を超える物質は予測無影響濃度を予測可能であるものの、その値は自然生態系の無影響濃度より小さくなる。26 物質中 1 物質だけが上限の破線を超えていることは、物質によらずマイクロコズム試験により精度よく予測できることを示している。

### 5. マイクロコズム試験とメソコズム試験の相関性の解析評価を踏まえた評価の限界のあり方

図 2 の上下の破線で囲まれた信頼範囲から外れた 2 物質は土壌への吸着が大きい特性を有し、相関が低く過大評価となった Paraquart（除草剤）、過小評価となった Chloropyrifos（殺虫剤）については、土壌吸着、連続（間欠）投与など、野外実験（メソコズム）における実験条件の違いに起因する可能性があり、今後、さらに精査していく必要がある。例えば、Chloropyrifos では、野外散布実験（メソコズム実験）において、間欠投与系で、①土壌を含む単一投与（土壌への吸着と加水分解のため水中濃度が急激に減少するが、土壌からの脱離で、土壌・水界面濃度が継続的に高く保たれる）、②土壌を含まない単一投与（マイクロコズムの水中濃度は一次で減少する）、の順に毒性が低い結果となっている。また、Paraquart については土壌吸着しやすい性質であることが示されており、アセスメント係数を乗じた Paraquart の値は自然生態系を守れるが、マイクロコズム実験と野外実験との相関関係からは外れていることを意味している。

これらを踏まえ、マイクロコズムに於いて化学物質の環境リスク評価はほとんど評価可能としても、評価の限界を示して OECD 国際標準化を図る必要がある。

### 6. マイクロコズム試験法の今後の課題・展望

マイクロコズム試験がメソコズム試験法に替わる実用的な生態系影響評価手法として確立され、現行法（単一生物種での評価）に比して、現実的な推定無影響濃度が得られる方向にある。化学物質の生態影響評価において、当面は、WET（Whole Effluent Toxicity）試験に代表されるような現行の藻類、甲殻類、魚類の試験法と並行して食物連鎖やエネルギーフローを有する生態系モデルを用いることで、化学物質の分解性、残留性、それに伴う生態系機能の回復、崩壊等に関する知見を集積することが可能となる。WET 試験は個々の化学物質を個別に毒性評価するのではなく、複数の化学物質を含有する検水を対象とすることで、複合影響も含めた毒性を評価する試験法であるが、食物連鎖上の異なるニッチに位置する生物種をアッセイに用いているものの、単一生物種試験であり、生態系の基本要素である物質循環・エネルギーフロー・生物間相互作用の存在する条件下での試験法となっていないところに問題があると指摘されている。複数生物種共存系であるマイクロコズムは、エコシステムレベルで化学物質のリスクを評価するものであり、同法により得られる安全係数は、これまでのメソコズム試験とマイクロコズム試験の相関関係に関する研究成果からも、従来法との違いが得られ、更なるデータの蓄積で、現実性のある値として自然生態系に対する予測無影響濃度を算出することが可能であり、化審法等の規制対応においても化学業界にとってメリットの大きいものである。

OECD をはじめ、化学物質管理に生態系を模した評価導入の必要性が指摘されており、法および体制の整備が進められつつあるが、メソコズムおよびマイクロコズムを用いた生態系影響評価手法の国際標準化を世界に先駆けて推進していくことで、イニシアティブを取ることが可能となるのは確実と言える。

付記：本研究は新 LRI（課題番号：2012PT4-02、研究代表：稲森悠平）として実施されたものである。本研究を遂行するにあたり、(公財)国際科学振興財団 稲森悠平先生、賀数邦彦氏、稲森隆平氏、神蔵雄生氏、横浜国立大学 柴田賢一先生、雨宮 隆先生、相模女子大学 杉浦 桂先生より多大なるご助言・ご協力を賜った。ここに記して感謝の意を表する。

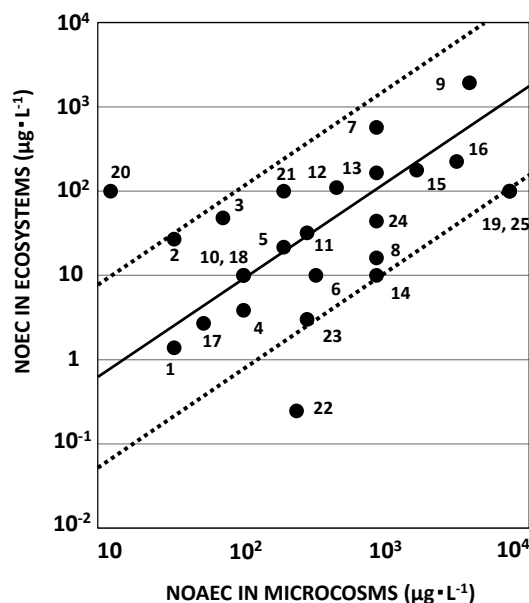


図 2 マイクロコズム無毒性濃度と自然生態系無影響濃度の関係

● : NOECs の幾何平均; — : 回帰直線; ... : 信頼範囲; 1: Cd2+; 2: atrazine; 3: PCP; 4: Cu2+; 5: Zn2+; 6: ammonia; 7: LAS; 8: 3,4-DCA; 9: phenol; 10: Nonylphenol; 11: Manzebe; 12: 2,3,4,6-Tetrachlorophenol; 13: TMAC; 14: Alachlor; 15: AE; 16: SDS; 17: DCMU; 18: Linuron; 19: Carbendazim; 20: Paraquart; 21: 4-chlorophenol; 22: Chloropyrifos; 23: Methoxychlor; 24: Dibutyl phthalate; 25: 2,4-Dichlorophenol