

ニセネコゼミジンコを用いた医薬品の回復試験の提案

2016 年 3 月 自然環境循環学分野 47-146609 川久保 雄揮

指導教員 教授 鎌迫 典久

キーワード：ミジンコ，医薬品，繁殖試験，回復試験，

1. はじめに

医薬品は人類にとって必要不可欠な物質である一方、環境中に放出されると野生生物に悪影響を与える可能性が考えられる。欧米では 1980 年代から医薬品による水環境汚染が問題視され、河川水や湖水、地下水など水環境での医薬品の存在実態や挙動が明らかにされてきた。一方日本では、21 世紀に入るまで、医薬品の環境影響についてほとんど問題視されておらず、今日では水環境中における医薬品の分析法や存在実態に関する知見が増えているものの、環境中医薬品による水環境中に生息する水生生物への悪影響についての報告はほとんどない。そのため、水生生物を用いて医薬品の毒性試験を行う必要がある。

毒性試験の手法については、OECD や Environment Canada などのガイドラインで指定されており、日本国外においてはそれらの手法に則って水生生物を用いた医薬品の毒性試験例は少なくなく、様々な医薬品の毒性値が明らかになっている (D. B. Huggett et al., 2002)。しかし医薬品の環境影響に関しては未だ不明な点が多く残されている。

医薬品の水生生物に影響を及ぼす濃度での水環境中への放出が一時的な場合、その医薬品の毒性影響が可逆的であれば、結果的に環境への影響は小さいと考えられる。しかし水生生物に対する毒性の回復性に焦点を置いた研究例は少なく、試験法のガイドラインも存在しない。よって毒性試験に良く使用され、感受性の高い生物の 1 つであるニセネコゼミジンコを用いていわゆる回復試験を行うことで、医薬品の環境影響に関する新たな知見が得られると考えた。

本研究では、ニセネコゼミジンコを用いて医薬品の毒性試験を行い、データを取得した上で、回復試験により医薬品の毒性の回復性についての知見を得ることを目的とした。回復性の指標として、毒性試験で影響が認められた濃度における回復の程度、回復までの日数に着目した。

2. 試験方法

多摩川で検出された医薬品 10 種およびそれらの一部と作用機序が同じである医薬品 5 種、さらに毒性試験の標準物質について、ニセネコゼミジンコを用いて回復試験を行った。回復試験ではミジンコを一度被験物質に 6 日間ばく露した後、ばく露をやめた状態で 8 日間観察を継続し、産仔数を数えた。このうち前半のばく露期間を繁殖試験と位置付けて各物質の毒性値をこの期間の産仔数の合計から求めた。さらに無ばく露期間も含めた回復試験では、無ばく露期間の一日あたりの産仔数を繁殖試験における影響濃度区と対照区の間で比較し、影響の回復性を観察した。回復試験結果のモデル図を図 1 に示す。

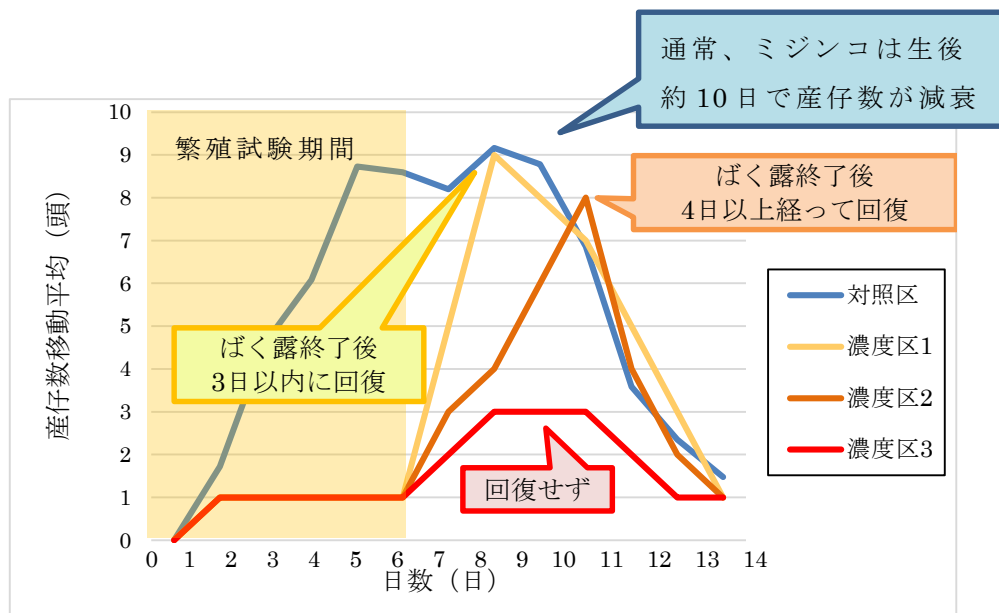


図 1 回復試験結果のモデル図

3. 結果と考察

繁殖試験の結果から算出した毒性値(NOEC, EC50)は実際の河川中で検出された濃度と比べて 100~10000 倍高く、これらの医薬品が環境に影響を与えている可能性は低いと考えられる。

多摩川で検出された医薬品 10 種のうち繁殖試験で影響のあった 8 種の回復試験では、ほぼすべての回復した医薬品について繁殖試験で影響を受けたミジンコはばく露終了後に回復した。その一方で、医薬品ごとに回復の程度、回復までの日数が異なった。また、4 種の標準物質で行った回復試験においてもほぼすべての物質で回復が見られ、かつ回復までの日数が異なっていた。このことから、影響からの回復性は医薬品特有のものではないことが分かった。

先述の医薬品 8 種のうち作用機序の分かっているもの（抗ヒスタミン薬、高脂血症薬、NSAID（非ステロイド系解熱鎮痛薬）、抗てんかん薬）について同様に回復試験を行った結果、回復の程度や回復までの日数の差異は作用機序の違いに起因する可能性が高いことが示唆された。例えば、サリチルアミドを除く殆どの NSAID はシクロオキシゲナーゼの競合阻害という可逆的な作用を示す一方でサリチルアミドの作用は不可逆的であり、回復試験においても NSAID の中ではサリチルアミドのみ回復が見られなかった。

回復の有無や回復までの日数を、繁殖試験から得られる繁殖阻害率や致死率などと比較した。その結果、これらの間には相関がなく、繁殖試験結果から回復試験結果を予測することは不可能であるということが分かった。

4. 引用文献

Huggett DB, Brooks BW, Peterson B, Foran CM, Schlenk D. 2002. Toxicity of Select Beta Adrenergic Receptor-Blocking Pharmaceuticals (B-Blockers) on Aquatic Organisms. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 43: 229-235

Proposal of recovery test for the pharmaceuticals using *Ceriodaphnia dubia*

Mar.2016 Material Cycling in the Environment 47-146609 Yuki Kawakubo

Supervisor Professor, Norihisa Tatarazako

Keyword: Daphnia, Pharmaceutical, Toxicity test Recovery test

I Introduction

Although pharmaceuticals are necessary for human beings, they may have potential to do harm to wild organisms when they are released to the environment. In Europe and America, aqueous environmental pollution by pharmaceuticals has been regarded as a problem from 1980's, and it has been revealed how pharmaceuticals exist and behave in aqueous environment: river water, a lake and groundwater and so on. On the other hand, in Japan, environment influence of pharmaceuticals has been hardly regarded as a problem until the 21st century starts, and there are almost no reports about bad influence to the aquatic organisms which live in aqueous environment by pharmaceuticals, though more information about analysis and occurrence of pharmaceuticals in the aqueous environment is available today. Therefore, pharmaceuticals need to be tested for the toxicity of them to aquatic organisms.

The guideline for the toxicity test is designated by OECD and Environment Canada and so on, and not few toxicity tests of pharmaceuticals using aquatic organisms are organized in the world (D. B. Huggett et al., 2002). Nevertheless, there are many points left unclear about environment influence of pharmaceuticals.

If toxic influence of pharmaceuticals is reversible, it is considered that the influence to the environment is small consequently when release to whole aqueous environment by the density which has an influence on aquatic organisms of medical supplies is temporary. However, there are few study examples which focused on recovery of toxicity so that there is no guideline of the method. Therefore we conducted so-called recovery test using *Ceriodaphnia dubia*, a kind of daphnid, which is one of the aquatic organisms often used for toxicity test in order to obtain new information about environment influence of pharmaceuticals.

We aimed at the convalescent degree in the density by which influence was admitted by toxicity test and the days until a recovery as an index of recovery properties.

II Method

Recovery tests using *Ceriodaphnia dubia* were conducted for 10 pharmaceuticals detected at the Tama River 5 pharmaceuticals whose mechanism of action are same as ones mentioned above, and also a standard substance of toxicity test. On each recovery test, observation was continued for 8 days in clear water after exposing daphnids to a substance for 6 days, the number of neonates was counted. In the disclosure period each substance toxicity value was collected by a total of the number of neonates in this period. In a whole recovery test, the numbers of neonates per a day were compared between the influential density ward and

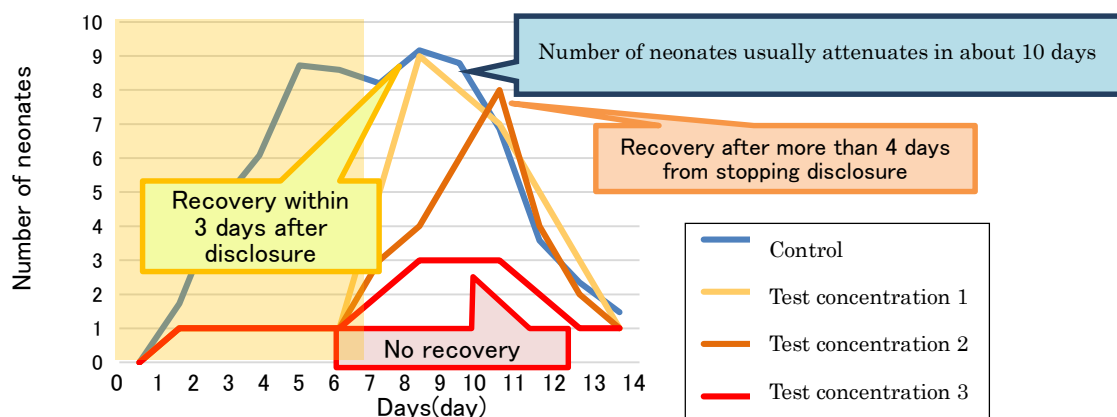


Fig.1 A model figure of the result the recovery test

control in the reproduction study and influential recovery properties was observed. A model figure of the result the recovery test is indicated on fig. 1.

III Result and Discussion

The toxic values calculated from the result of the reproduction tests (NOEC, EC50) were 100~10000 times as high as the density detected at the river. Thus, it is scarcely considered that these pharmaceuticals are having an influence on the environment.

In the 8 kinds of convalescent test which an influence was observed in the reproduction tests, the daphnids affected in the reproduction tests of almost all the pharmaceuticals recovered after the disclosure. On the other hand, it was different in the degree of recovery and the number of days until a recovery among every pharmaceuticals. Also, in the convalescent test performed by 4 kinds of standard substance, the recovery was judged by all substances mostly and the number of days until a recovery was different. This showed that the recovery properties from influence isn't peculiar to pharmaceuticals.

After that, additional tests was performed about some pharmaceuticals each of whose mechanism of action is arteriosclerosis medicine, antihistamine, NSAID (non-steroidal system alleviating fever anodyne medicine) and anticonvulsant, which involve some of 8 pharmaceuticals aforementioned. The result suggested that the difference in the degree of recovery and the number of days until a recovery are caused by the difference in the mechanism of action of the pharmaceuticals. For example most NSAID except for salicylamide shows a reversible action as competition obstruction of Cyclooxygenase, but the action of salicylamide is irreversible. The recovery test conducted also showed that a recovery couldn't be observed only in the recovery test of salicylamide among NSAIDs.

The presence of recovery and the number of days until the recovery were checked with the propagation blocking rate and the fatal rate obtained from reproduction test. The result showed that there was no correlation among them and that it's impossible to predict the result of the recovery test form a reproduction test result.

Reference

Huggett DB, Brooks BW, Peterson B, Foran CM, Schlenk D. 2002. Toxicity of Select Beta Adrenergic Receptor-Blocking Pharmaceuticals (B-Blockers) on Aquatic Organisms. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 43: 229–235