

医薬品の水生生物への影響

平野真悟・小原浩史・宗かよこ・中牟田啓子

福岡市保健環境研究所環境科学課

Effect of Pharmaceuticals on Aquatic Lives

Shingo HIRANO, Koji OHARA, Kayoko SO
and Keiko NAKAMUTA

Environmental Science Division, Fukuoka City Institute for Hygiene and the Environment

要約

水生生物に対する医薬品類の影響を調べるため、オオミジンコを用いた遊泳阻害試験を行った。水生生物に対する影響がほとんど知られていない「麻薬及び向精神薬取締法」に定められた向精神薬 27 物質について試験を行ったところ、複数の物質で遊泳阻害が見られ、6 物質について半数影響濃度(EC₅₀)を求めることができた。最も影響の大きいものはメダゼパムで EC₅₀ が 1.56mg/L、次に大きいものはジアゼパムで EC₅₀ が 5.96mg/L であった。さらに他の医薬品 58 物質についても試験を行ったところ、9 物質について行動異常が見られ、抗生物質の一種であるナリジクス酸については EC₅₀ が求められ、その値は 3.19mg/L であった。

Key Words : オオミジンコ *Daphnia magna*, 医薬品 pharmaceuticals, 遊泳阻害 immobilization, 半数影響濃度(EC₅₀) median effective concentration,

1 はじめに

近年、河川水や下水処理水など水環境中から PPCPs (Pharmaceuticals and Personal Care Products) が検出される報告^{1, 2)}がなされており、水環境中における医薬品の存在に国内外で関心が集まっている。医薬品類は、本来の目的において生理作用を持つため、水中の医薬品類が水域の生態系にも何らかの影響を及ぼすことが懸念されている³⁻⁶⁾。特に向精神薬は精神病等の治療に用いられ、極微量で中枢神経系に影響を与える化学物質である。精神病患者数は 10 年前に比べ倍増しており、その治療に使われる向精神薬等の使用量も増加している。そこで本研究では、水生生物への影響があまり知られていない向精神薬を含む 85 種の医薬品について、オオミジンコを用いた遊泳阻害試験を行ったのでその結果を報告する。

2 実験方法

2.1 試験生物

試験に使用したミジンコは OECD のテストガイドライン^{7, 8)}に準拠し、福岡県保健環境研究所から分譲頂いたオオミジンコ(*D. magna*)を用いた。また、ミジンコの餌としては同じく福岡県保健環境研究所から分譲頂いたクロレラを用い、本研究所で培養したものを給餌した。

2.2 飼育水及び希釈水

飼育水は表 1 に示す A~D の溶液を 25mL ずつ分取し、1L にメスアップしたものをを用いた。試験に用いた希釈水は飼育水を 30 分曝気したものをを使用した。

表1 飼育水

A : CaCl ₂ · 2H ₂ O	11.76
B : MgSO ₄ · 7 H ₂ O	4.93
C : NaHCO ₃	2.59
D : KCl	0.23

単位 : g/L

2.3 試験対象物質

遊泳阻害試験の対象物質は、「麻薬及び向精神薬取締法」に定められた第一種から第三種向精神薬の27物質およびその他の抗生物質や解熱鎮痛剤などの医薬品58物質について行った(表2, 3)。

2.4 試験条件

遊泳阻害試験はOECDテストガイドライン^{7,8)}に準拠して実施した。試験にはふ化後24時間以内の幼体を用いた。試験水20mLが入ったバイアル瓶4本に各5頭ずつ分取し、20に設定した暗所で静置し、24・48時間後に遊泳阻害を観察した。ミジンコが死亡した場合及び15秒以上動かない場合を遊泳阻害と判断した。医薬品の試験溶液中の濃度は、可能な限りすべてが遊泳阻害を受ける濃度と全く阻害をうけない濃度が各1濃度、一部が阻害を受ける濃度が2濃度含まれるように、5段階以上の濃度を設定した。また、試験の途中で試験水の交換等は行わなかった。向精神薬については25mg/Lまで検討を行ったが、7つの物質については入手した標準品が少量だったため5mg/Lまで検討を行った。その他の医薬品については5mg/Lまで検討を行った。また、対照区試験として希釈水に助剤であるメタノールを添加したものをを行い、助剤による影響がないことを確認した。

2.5 半数影響濃度(EC₅₀)の算出方法

生物試験結果から、日本環境毒性学会からダウンロードできるソフトEcotox-Staticsを使用し、プロビット法を用いて48時間後の半数影響濃度48h-EC₅₀を求めた。

また、国立環境研究所が開発した、化学構造からミジンコ遊泳阻害試験のEC₅₀を求めることができる生態毒性予測システムKATEをダウンロードし、向精神薬のEC₅₀を求めた。

3 結果及び考察

向精神薬の遊泳阻害試験結果を表2に示す。第一種向精神薬3物質については、すべての物質が設定した濃度範囲において明確な影響が見られなかった。第二種向精神薬3物質については、最大濃度においても20頭すべてが遊泳阻害を受ける物質はなかったが、ペンタゾシンについては5mg/Lで半数以上の遊泳阻害が見られるとともに、明らかな行動異常が見られた。

第三種向精神薬21物質については、6物質についてEC₅₀が求められた。その値は、影響が最も大きいものからメダゼパムが1.56mg/L、ジアゼパムが5.96mg/L、ミダゾラムが6.70mg/L、プラゼパムが7.83mg/L、クロチアゼパムが8.36mg/L、フルラゼパムが17.3mg/Lであった。また、クロチアゼパムについては、25mg/Lで8頭の遊泳阻害が見られ、ロラゼパムについては、25mg/Lで4頭の遊泳阻害が見られた。

求めた48h-EC₅₀とKATEでの計算値を比較すると、メダゼパムの様に、同程度のEC₅₀を示すものが多かったが、ジアゼパムの様に、計算値が3倍程度高いものや、フルラゼパムの様に10分の1程度になっているものもあった。また、第一種向精神薬のメチルフェニデート塩酸塩、第三種向精神薬のロフラゼパムエチルについては、水溶液中で濃度の低下が認められており、試験方法の検討が必要と思われる。

次に、その他の医薬品についての遊泳阻害試験結果を表3に示す。抗生物質の一種であるナリジクス酸についてのみ48h-EC₅₀が求められ、値は3.19mg/Lであった。この値は、鈴木らの報告⁶⁾とほぼ同じ値であった。更に、5mg/Lにおいて抗うつ薬であるアミトリプチン塩酸塩、

表2 向精神薬に関する遊泳阻害試験結果

分類	物質名	最大濃度 (mg/L)	最大濃度での遊泳阻害数 (頭)	48h - EC ₅₀ (mg/L)	KATE 算出値 (mg/L)	分類	物質名	最大濃度 (mg/L)	最大濃度での遊泳阻害数 (頭)	48h - EC ₅₀ (mg/L)	KATE 算出値 (mg/L)
1種	モダフィニル	5	0	N.E.	45	3種	ニトラゼパム	5	0	N.E.	22
	セコバルピタール	25	2	N.E.	-		バルピタール	25	2	N.E.	-
	メチルフェニデート塩酸塩	25	1	N.E.	91		トリアゾラム	25	0	N.E.	11
2種	フルニトラゼパム	25	2	N.E.	48	プラゼパム	12	20	7.83	12	
	(+)ペンタゾシン*	5	12	N.E.	-	フルラゼパム	25	20	17.3	1.6	
	ベントバルピタールナトリウム	25	1	N.E.	-	プロチゾラム	5	0	N.E.	12	
3種	アルプラゾラム	5	0	N.E.	11	プロマゼパム	25	1	N.E.	36	
	エスタゾラム	25	0	N.E.	15	マジンドール	5	0	N.E.	3.6	
	オキサゾラム	25	0	N.E.	59	ミダゾラム	12	20	6.70	4	
	クロチアゼパム	12	20	8.36	19	メダゼパム	2	20	1.56	1.4	
	クロチアゼパム	25	8	N.E.	22	ロフラゼパムエチル	5	0	N.E.	32	
	クロルジアゼボキシド	25	1	N.E.	4.3	ロラゼパム	25	4	N.E.	26	
	ジアゼパム	7.5	20	5.96	17	ロルメタゼパム	25	0	N.E.	27	
フェノバルピタールナトリウム	25	0	N.E.	-							

-: 算出不可

N.E.: 設定した濃度範囲において明確な影響が見られなかった

*: 最大濃度において行動異常が見られた物質

表3 その他の医薬品に関する遊泳阻害試験結果

分類	物質名	最大濃度 (mg/L)	最大濃度での 遊泳阻害数 (頭)	48h-EC ₅₀ (mg/L)
解熱鎮痛剤	アンチピリン	5	0	N.E.
	アセトアミノフェン	5	3	N.E.
	イソプロピルアンチピリン	5	3	N.E.
抗てんかん薬	ブリムドン	5	0	N.E.
	カルバマゼピン	5	0	N.E.
	フェニトイン	5	0	N.E.
中枢神経刺激薬	カフェイン	5	0	N.E.
抗うつ薬	アミトリプチリン塩酸塩*	5	15	N.E.
	イミプラミン塩酸塩	5	7	N.E.
抗精神病薬	ハロペリドール	5	9	N.E.
血圧降下剤	プロプラノロール*	5	7	N.E.
	ジルチアゼム*	5	3	N.E.
	メトプロロール*	5	2	N.E.
血液循環改善薬	イフェンプロジル	5	0	N.E.
気管支拡張剤	テオフィリン	5	2	N.E.
微小循環改善薬	ベントキシフィリン	5	0	N.E.
鎮咳薬	デキストロメトルファン	5	11	N.E.
消化性潰瘍治療薬	ビレンゼピン	5	0	N.E.
消化器機能異常治療薬	メトクロプラミド*	5	1	N.E.
抗不整脈薬	アテノロール	5	0	N.E.
	ソタロール	5	4	N.E.
	ベラパミル*	5	0	N.E.
鎮うん薬	ジフェニドール*	5	2	N.E.
化学療法薬(サルファ薬)	スルファジミジン	5	0	N.E.
	スルファピリジン	5	0	N.E.
	スルファメトキサゾール	5	0	N.E.
	スルファメラジン	5	0	N.E.
化学療法薬(合成抗菌剤)	レボフロキサシン	5	0	N.E.
	オフロキサシン	5	1	N.E.
抗生物質	アジスロマイシン	5	0	N.E.
	エリスロマイシン	5	0	N.E.
	オキシテトラサイクリン	5	2	N.E.
	クロルテトラサイクリン	5	2	N.E.
	ジョサマイシン*	5	3	N.E.
	タイロシン	5	0	N.E.
	テトラサイクリン	5	0	N.E.
	ペニシリン	5	0	N.E.
	リンコマイシン*	5	2	N.E.
	クラリスロマイシン	5	0	N.E.
	トリメトプリム	5	1	N.E.
	ナリジクス酸	5	20	3.19
	グリセオフルピン	5	0	N.E.
	抗がん剤	シクロフォスファミド	5	2
抗ヒスタミン薬	クロルフェニラミン	5	0	N.E.
鎮痛, 鎮痒剤	クロタミトン	5	1	N.E.
忌避剤	ジエチルトルアミド	5	0	N.E.
脂質降下薬	クロフィブリック酸	5	0	N.E.
	ベザフィブラート	5	0	N.E.
	フェノフィブラート	5	13	N.E.
X線造影剤	イオバミドール	5	1	N.E.
	イオプロミド	5	0	N.E.
非ステロイド性抗炎症薬	イブプロフェン	5	0	N.E.
	インドメタシン	5	0	N.E.
	ジクロフェナクナトリウム	5	3	N.E.
	ナプロキセン	5	0	N.E.
	フェノプロフェン	5	1	N.E.
	メフェナム酸	5	7	N.E.
	ケトプロフェン	5	5	N.E.

N.E. : 設定した濃度範囲において明確な影響が見られなかった

* : 最大濃度において行動異常が見られた物質

血圧降下剤であるプロプラノロール，ジルチアゼパム，メトプロロール，鎮うん薬であるジフェニドール，消化器機能異常治療薬であるメトクロプラミド，抗不整脈薬であるベラパミル，抗生物質であるジョサマイシン，リンコマイシンで行動異常が見られた．一方，アミトリプチン塩酸塩，ケトプロフェン，ハロペリドールについて鈴木らは低い濃度で半数が影響を受けると報告している⁶⁾が，本試験では遊泳阻害や行動異常は見られているものの，強い影響は見られなかったため，今後，医薬品の水中での安定性などを含め検討を行う予定である．

4 まとめ

本試験は，水生生物への影響があまり知られていない向精神薬 27 物質に加え，その他の医薬品 58 物質について遊泳阻害試験を行った．向精神薬 6 物質で 48h-EC₅₀ が求められ，その値は最も影響の強いものでメダゼパムが 1.56mg/L，次に強いものでジアゼパムが 5.96mg/L であった．また，その他の医薬品については抗生物質であるナリジクス酸についてのみ 48h-EC₅₀ が求められ，その値は 3.19mg/L であった．今後は，藻類についても生物試験を行う予定であり，本試験で得られた試験結果を，環境中濃度を測定した際の生態リスク評価に役立てたい．

文献

- 1) 山本敦子，益永茂樹：水環境中の医薬品の検出事例および分析方法，水環境学会誌，Vol.29 No.4, 186-190, 2006
- 2) 高田秀重：新興汚染物質としての医薬品・化粧品，用水と廃水，Vol.50 No.7, 35-36, 2008
- 3) 山本裕史，関澤純，鎌迫典久，平井慈恵，石橋弘志，有菌幸司：医薬品類とパーソナルケア製品(PPCPs)の水棲生物への影響，用水と廃水，Vol.50 No.7, 72-80, 2008
- 4) 西村哲治，久保田領志：水道水中の医薬品類の影響評価，日本リスク研究学会第 21 回年次大会講演論文集，Vol.21 No.29-30, 2008
- 5) 吉岡義正：抗生物質のミジンコ急性毒性スクリーニングテスト，環境毒性学会誌，8(1), 37-41, 2005
- 6) 鈴木穰，小森行也，北村清明，北村友一，原田新，八十島誠：生理活性物質の水環境中での挙動と生態系影響の評価方法に関する研究，平成 18 年度下水道関係調査研究年次報告書集，139-145, 2007
- 7) OECD Guideline For Testing of Chemicals 202, Daphnia sp., Acute Immobilization Test and Reproduction Test, 1984
- 8) OECD Guideline For Testing of Chemicals Revised Proposal For Updating Guideline 202, 2000