

クラレにおける化学物質の有害性評価への取り組み

嶋村 三智也

(株)クラレ 構造物性研究所 研究専任職

当社では、構造物性研究所（倉敷）に所属する1つの研究チームが化学物質の有害性評価を目的とする生物学的試験（動物試験・細胞及び菌類培養試験）を担当している。『環境重視』という当社企業理念及び製造物責任（PL）・レスポンシブルケアー（RC）の観点に則り、研究開発途上の化学物質の『適正な取り扱い』や『事業化の可否』について判断すること、さらには『当社製品からの有害物質を排除する』ことを目的としている。

社内試験はあくまで非GLPのスクリーニング試験であり、事業化を決断した時点で実施する「法規制対応のためのGLP試験」は専門機関に委託している。また、効率・迅速性・動物犠牲の低減を重視し、「伝統的な毒性試験法」よりも『シャープなエンドポイントを有する簡易試験法』を社内評価系として好んで採用している。ごく少数で多種類の試験に取り組み、しかも最新の評価技術を取り入れる姿勢を怠らない、人的に活性化した評価チームであると自負している。以下に、当社内で稼働している評価系の概要とその意義について紹介する；

表1及び図1：当社内で稼働している化学物質有害性評価のための試験系

表1

評価項目	使用生物	手法
環境影響性	1 生分解性	活性汚泥 クローメリー法 (生物学的酸素消費量測定)
	2 生態毒性	ミジンコ 急性遊泳阻害性 最低14日間の繁殖性
	3 環境ホルモン性	遺伝子組換え酵母 受容体結合転写活性化法 ラット 幼弱ラット子宮増大法 マウス・ラット 胎児期(子宮内)暴露法
健康影響性	4 急性毒性	固定用量法(経口・経皮)
	4 中枢神経影響性 反復投与毒性	ラット 14, 28日間経口投与方法
	5 皮膚感作性	★マウス 局所リンパ節法 耳浮腫法 モルモット Maximization法 Adjuvant & Patch法
	6 変異原性	微生物 AMES法
	6 癌原性	培養動物細胞 形質転換法

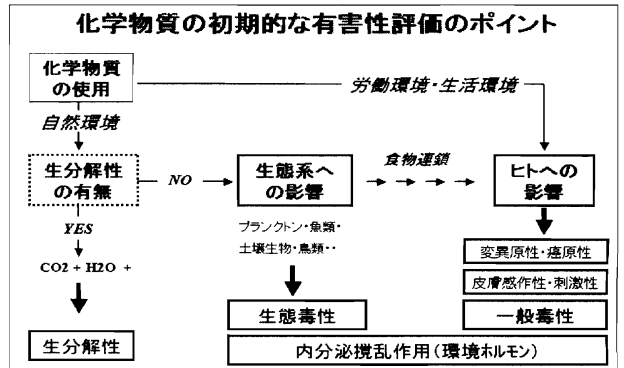


図1

1) 生分解性評価

自然環境中に漏出した化学物質の微生物による浄化の可能性を調査する目的で、OECD化学品テストガイドライン301Cに準じた活性汚泥(下水処理場由来微生物群)による生分解試験を実施している。必要に応じて、試験終了液中の残留被験物質あるいはその変化体の分析や同定も行う。化審法新規化学物質届出の際には、届出物質の生分解性の程度により、届出に必要な毒性試験の量や毒性試験対象物質が変わる(生分解性試験において変化体が残留する場合には変化体の毒性試験が要求される場合がある)ため、研究開発段階で予備的な評価を実施しておくことは有意義である。また、当試験結果は化学物質を含む排水の処理に関する有益な情報となる。

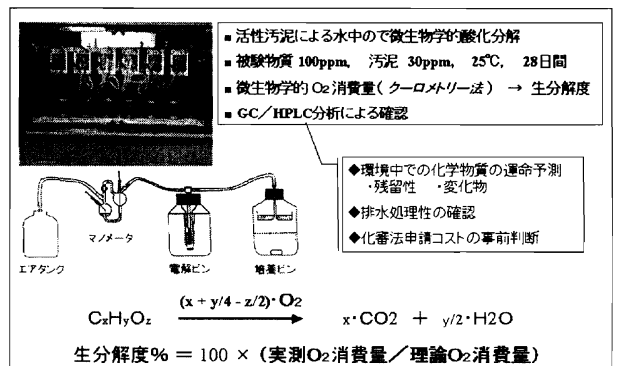


図2：生分解性試験法の概要

2) 生態毒性評価

化学物質が水環境中に放出された場合の生態系に対する影響を推察する目的で、オオミジンコの誕生直後の幼生に対する 48hr 暴露試験を実施している (OECD ガイドライン 202 参照)。従来はミジンコの長期飼育に苦心したが、最近では Daphtoxkit (ベルギー Creasel 社) を利用し、試験毎に卵からミジンコを孵化させて使用することで飼育労力を解消している。

必要に応じて、より高次の評価としてミジンコの最低 14 日間暴露繁殖試験も実施している。本試験では孵化直後のミジンコが成長し繁殖 (単性生殖) する期間中に被験物質の暴露を続け、繁殖能力への影響性を評価する。

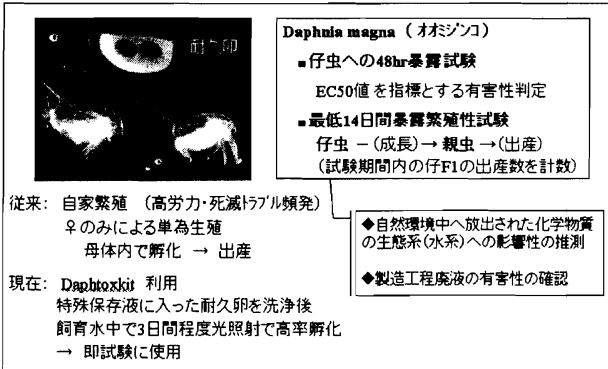


図 3: ミジンコ毒性試験の概要

3) 環境ホルモン (内分泌攪乱) 性評価

国内で環境ホルモン問題が騒がれたより以前から環境ホルモン問題に着目し、井口泰泉教授 [前: 横浜市立大学, 現: 岡崎国立共同研究機構統合バイオサイエンスセンター] の指導を仰ぎ、遺伝子組換え酵母を用いる受容体結合転写活性化試験 [エストロゲン・アンドロゲン]、幼弱ラット子宮増大アッセイ [エストロゲン]、及びマウス・ラットの妊娠期暴露 (胎児に対する子宮内暴露) による男性生殖器障害性評価 [抗アンドロゲン] を社内で立ち上げた。これらの評価系は特に医療用途の材料の安全性評価やその原料化学物質のスクリーニングにおいて活躍している。

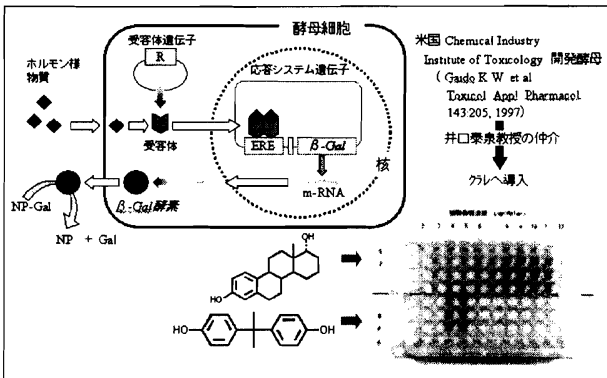


図 4: 酵母法によるエストロゲン活性評価の概要

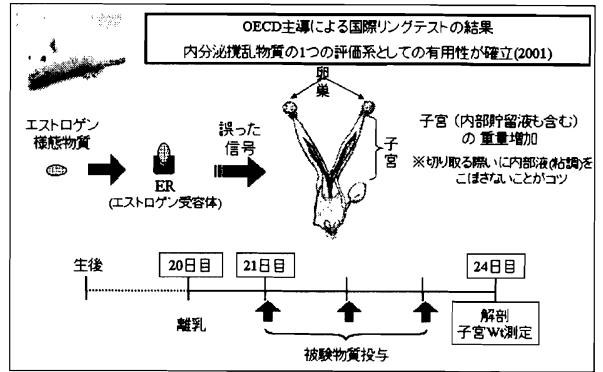


図 5: ラット子宮増大法によるエストロゲン活性評価の概要

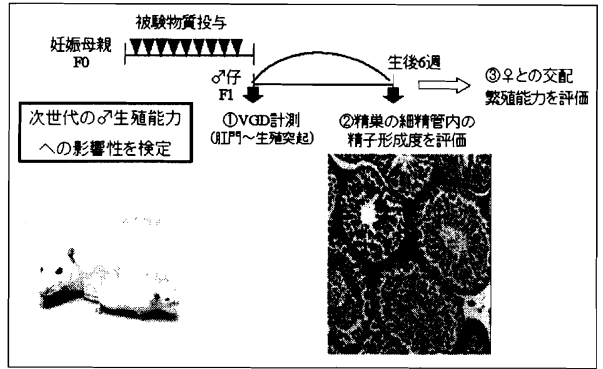


図 6: マウス/ラット子宮内暴露法による抗アンドロゲン性評価の概要

4) 一般毒性評価 (単回投与・反復投与)

古来より毒性試験といえば、急性毒性 LD₅₀ (単回投与により試験動物の 50% が死亡する用量値) が有名であったが、LD₅₀ を算出するためには多大な動物犠牲を伴い、且つ得られる情報の価値も然程高くないため、今や国際的なガイドラインとして一般化学物質においてはその様な試験を行わないことになっている。被験物質が毒物・劇物に該当するかどうかを判断する目的で、社内にて固定用量 (経口投与の場合: 50, 300, 2000mg/kg-体重) による単回投与試験を行うことはある。

化学物質の継続的な暴露によりどのような健康被害が起こるのかを推測する目的で、14 日間 (もしくは 28 日間) 反復経口投与試験を研究開発ステージ後期の新規化学物質を対象として実施している。最短 14 日間の投与による試験は、被験物質の暴露による健康被害の可能性の程度と質 (毒性の標的臓器) を推定する目的において有意義である。社内試験は、法規制への対応を目的とする GLP 試験 (専門試験機関へ委託する 28 日間もしくは 90 日間反復投与試験) の予備試験 (用量設定試験) としても機能する。

血液毒性や臓器毒性以外に、最近では中枢神経

毒性が重要視される世情となっている。中枢神経毒性の詳細な評価は綿密なスコアリング法によって行われるが、少人数多機能の評価チームにおいてその様な技能を身に付ける余裕はなく、赤外線センサーによる試験動物の自発運動量をモニターする方式で中枢神経系への影響について予備的な知見を社内で取得できる様にしている。

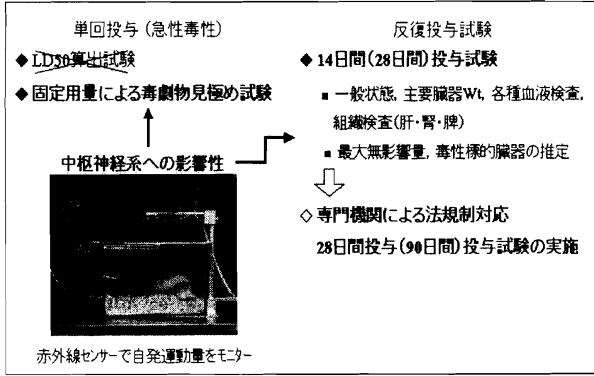


図7：ラット一般毒性（+中枢神経毒性）評価の概要

5) 皮膚感作性評価

最も一般的なモルモットを用いる評価法は多数の化学物質を定量的にスクリーニングする目的には適していない。そこで簡易法であるマウスを用いる評価法（局所リンパ節法）に着目した。本試験は感作性物質による免疫系細胞の活性化反応をエンドポイントとする客観的かつ定量的な評価系である。マウスの系は感度が若干低いという欠点が指摘されていたが、ビタミンA強化飼料で飼育することで感度が改善することが報告されている [Sailstad DM et al. Toxicology 96:157(1995)]。我々はこの高感度化マウスと標準マウスを組み合

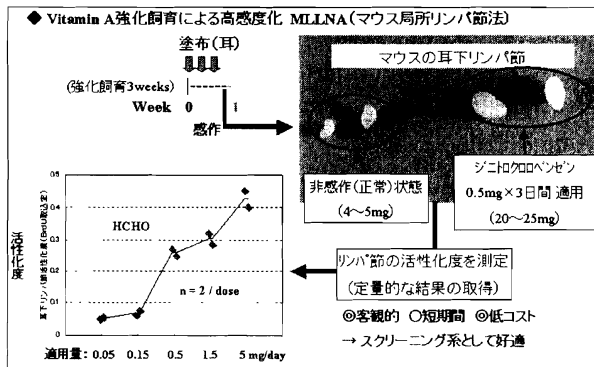


図8：マウス局所リンパ節法による皮膚感作性評価の概要

わせて使用することで、迅速かつ合理的な評価を達成しており、当社製品・開発品から有害物質を排除するという観点で数々の成果を上げている。本マウスの系にて感作性と同時に急性的な皮膚刺激性についても概ねの評価が可能である。必要な場合には小規模なモルモットの試験も社内で行うことが出来る。

6) 変異原性・癌原性評価

化学物質の発癌性を類推するための一次試験としては、微生物を用いる復帰突然変異（AMES）試験が最も有名であり、労働安全衛生法等でも新規化学物質について同試験の実施が義務付けられている。しかし、AMES試験の確度は決して高くはなく、発癌性物質の30%程度はAMES試験では検知されない。そこで当社においては、(財)化学物質評価研究機構からの技術指導を受け、哺乳類動物由来培養細胞を用いる形質転換試験を社内でも実施できるようにした。本試験は化学物質の暴露により細胞が実際に癌化する現象を培養皿の中で観察するものである。AMES試験では「陰性」の結果となった化学物質でも培養細胞形質転換試験で「発癌性陽性」となった事例を幾つか経験しており、評価系としての価値を実感している。

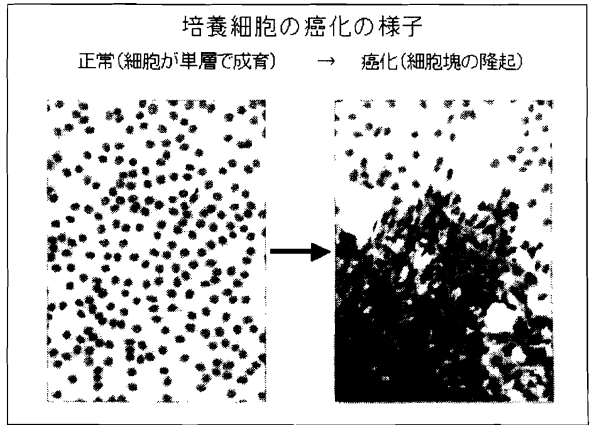


図9：化学物質によるマウス由来培養細胞のシャーレ内発癌の様子

最後に

化学企業においては、販売する（使用する）化学製品の環境影響性・健康影響性を的確に評価し、その様なリスクを回避することが重大な義務である。化学物質の有害性問題については、①的確な文献調査、②社内での効率的なスクリーニング、及び③専門の試験機関へ委託するGLP試験を巧みに組み合わせて対処して行く所存である。