

# 有害性評価（生態影響） ～生態リスク評価の背景にある考え方～

令和4年11月24日(木)

国立研究開発法人 産業技術総合研究所

安全科学研究部門

加茂将史

# 本日の内容

- リスク評価の考え方
- 化審法による評価
- 生態影響評価の考え方の考え方
  - ここが問題だよ
  - 注意：個人的な考えを多分に含みます

# リスクの定義

**リスク = 影響の程度 × 起きる確率**

滅多に起きないが、起きれば被害甚大  
たいしたことではないが、しょっちゅう起きる  
これらは、リスク、としては同じ

# 便利な言葉、リスク

- 最近よく聞く言葉「感染の**リスク**があります」
  - このリスクはどういう意味だろう？
- 飛行機の**リスク**は高い？低い？
  - 両方とも正しい、ただし・・・
  - 低いという人は「飛行機事故は滅多に起きない」という意味で使っている
  - 高いという人は「ひとたび事故が起きれば、大勢が死ぬ」という意味で使っている
- 「この人はどういう意味で使っているんだろう」と考えることが重要

# なにゆえリスク評価？

- 意思決定に必要
- いくつかの選択がある
  - 何も考えずに、どれかを選択する
  - 何らかの評価をして、どれかを選択する
- 何も考えずにどれかを選択
  - なぜ我々はそんな選択をしたのか、わからない
- 何らかの評価をして、どれかを選択する
  - なぜその選択をして、そしてどこで間違っただのかが、後日検証できる

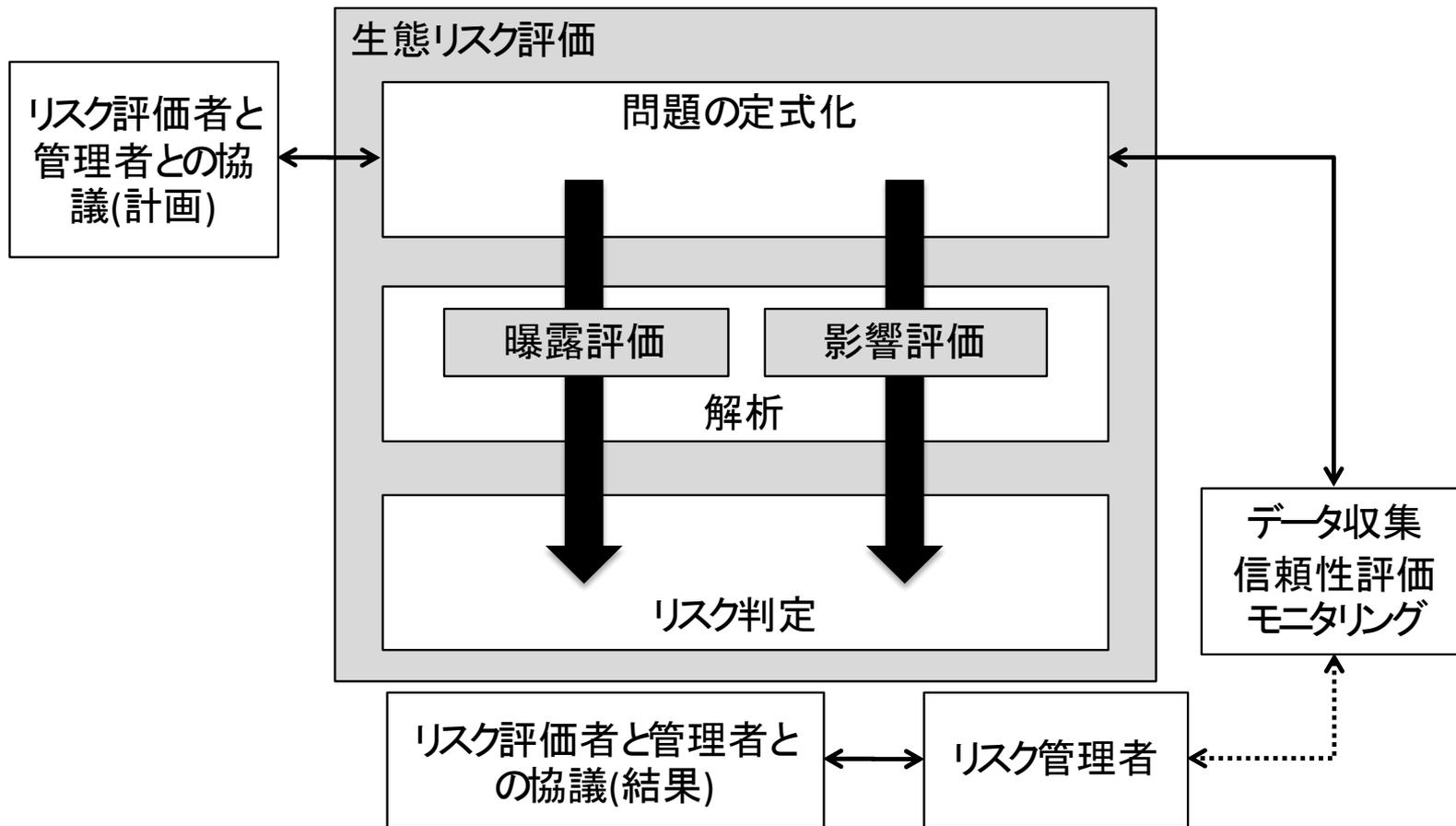
# リスク評価は「ある意味」簡単

- 例：今日傘を持って出かけるか
  - 会社に行く前に天気予報を見る
  - 降水「確率」と降水「量」をみて、傘を持っていくかどうか、意思決定を行う

# リスク評価の基本姿勢

- 問題の先送りが許されない
  - 意思決定に必要なだから
  - 潜在的なリスクを見逃すことになるから
- 評価の（頻繁な）やり直しが必要
  - 例えば、5年に一度の再評価
- 評価手続きの「透明性」が重要視される
  - （科学的には）曖昧な事象を扱うから
  - 評価者の考え方を知らしめることが重要

# 生態リスク評価の枠組み



US EPA (1998)

# 問題の定式化

- エンドポイント
  - 避けたい事象
- エンドポイントが定まれば
  - その事象が生じる確率を計算する
  - 極めて機械的に計算する
- そのエンドポイントは適切か
  - 常に問わなくてはならない

# 影響評価（有害性評価）

- 生物試験（バイオアッセイ）による
- 試験方法は（ほぼ）世界共通
- 経済協力開発機構（OECD）がTest Guidelineの取りまとめ
- OECD
  - 自由主義経済の発展のために協力を行う機構

# 化学物質の管理を行う理由

- 環境・生態系の保全
- 貿易上の非関税障壁の撤廃
  - 関税：輸入品にかける関税
  - 自由貿易の阻害要因
  - 非関税障壁：関税以外の貿易阻害要因
  - この観点からは、有害性情報は、誰がどこで試験しても同じになることが望ましい
  - 国際調和 (Global Harmonization)

# OECDの取り組み

- Test Guideline (OECD TG)
  - 試験はこうしなさい、というガイドライン
- Good Laboratory Practice (GLP)
  - 優良な試験施設であることを確認する制度
- Mutual Acceptance of Data (MAD)
  - データの相互受理制度
  - OECD TGに従いGLP施設でなされた試験であれば、どこの誰が出したものであっても受け入れる
  - 試験の重複を避ける制度

# 化学物質を扱うわが国の法律

曝露 有害性		労働環境	消費者					環境経由					
								排出・ストック汚染 <sup>3)</sup>			廃棄		
人の健康に対する毒性	急性毒性	毒劇法 <sup>1)</sup>		農薬取締法	食品衛生法	薬事法	水道法	有害家庭用品規制法	建築基準法	毒劇法			
	慢性毒性	労働安全衛生法	農薬取締法							化管法 <sup>2)</sup>			農薬取締法
生活環境への影響													

環境省第一巻化審法見直し合同委員会(2008年1月31日開催)資料3「化審法を巡る国内動向」より。一部改変

# 有害性試験で報告されるデータ

- 急性毒性

- LC50 (半数致死濃度): ある特定期間内(48や96時間)に供試生物の50%を死亡させたと算定される濃度
- EC<sub>x</sub>(x%影響濃度)ある特定期間内に供試生物の生長、遊泳、繁殖等をx%減少させたと算定される濃度

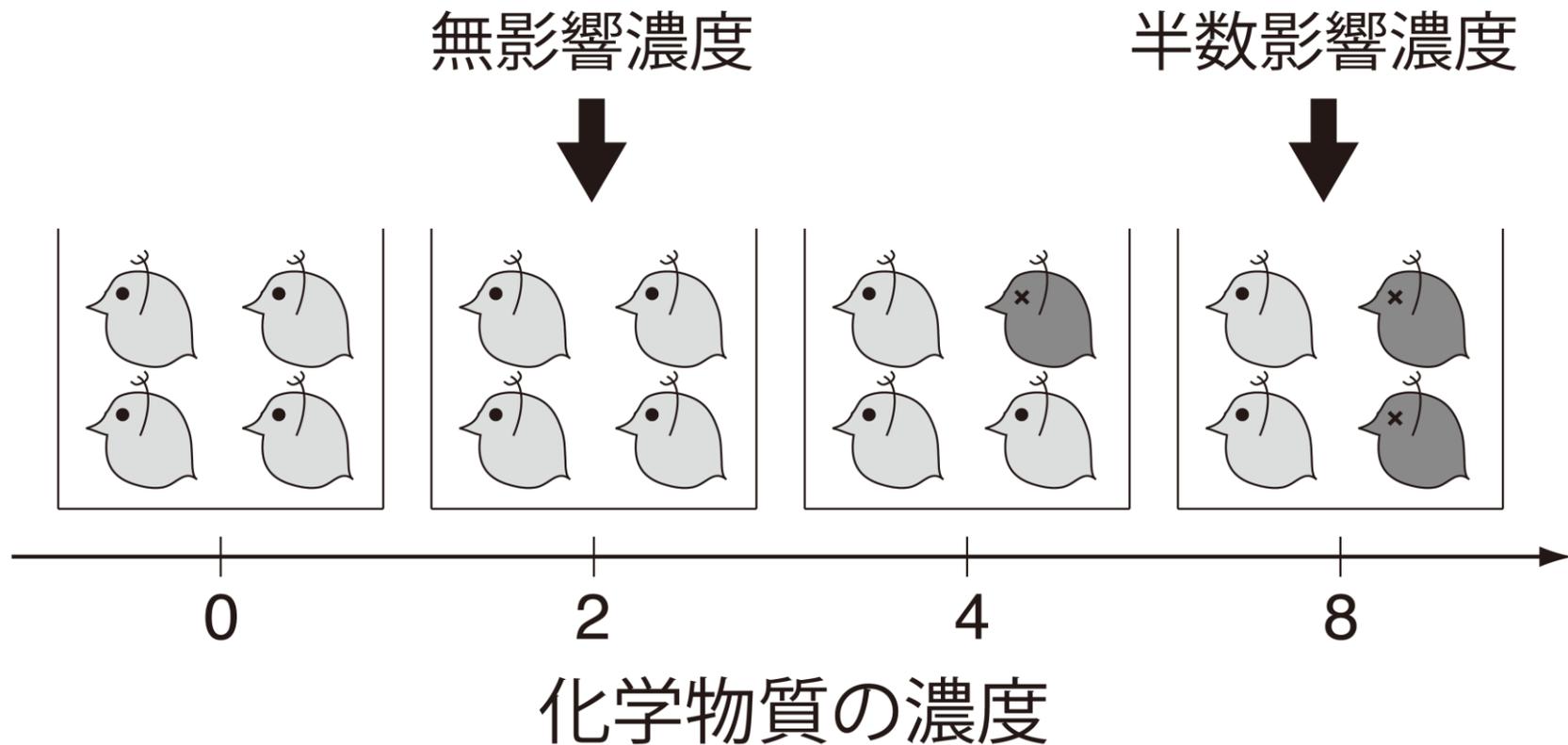
- 慢性毒性

- LOEC: Lowest Observed Effect Concentration (最低影響濃度)
- NOEC: No Observed Effect Concentration (無影響濃度)

# 有害性試験がなされる生物

- 魚類
  - (ヒトは魚を食べる)
  - メダカ、ファットヘッドミノーなど
- 甲殻類
  - (甲殻類は魚の餌)
  - オオミジンコ (*Daphnia magna*)など
- 藻類
  - (藻類は甲殻類の餌)
  - 緑藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*)

# 無影響濃度、半数影響濃度



注意: この例では無影響濃度で影響を受けている生物はいませんが、  
無影響濃度は、全く影響のでない濃度、という意味ではないです

# 藻類生長阻害試験

- 推奨種
  - *Pseudokirchneriella subcapitata*
  - *Desmodesmus subspicatu* 等で代用も可
- 曝露期間
  - 原則として72時間
- 試験濃度
  - 少なくとも5濃度区を等比級数的にとる
  - 0~75%の生長阻害を起こす範囲が含まれることが望ましい
- 試験の有効性
  - 対照区の生物量が曝露期間中に少なくとも16倍に増殖すること
  - 対照区の毎日の生長速度の変動係数が曝露期間を通じて35%を超えないこと
  - 対照区の繰り返し間の生長速度の変動係数が7%を超えないこと
- エンドポイント
  - EC50:生長に対する半数影響濃度
  - NOEC:生長に対する無影響濃度
  - (藻類集団の増殖)



# ミジンコ急性遊泳阻害試験

- 推奨種
  - *Daphnia magna*
  - *D. pulex*など、他のDaphnia属の種を用いてもよい
- 曝露期間
  - 原則として48時間
- 試験濃度
  - 少なくとも5濃度区を等比級数的にとる
  - 最高試験濃度区では100%の遊泳阻害(15秒間)が起こること、最低試験濃度区では影響が観察されないことが望ましい
- 試験の有効性
  - 対照区において、10%を超えて遊泳阻害されたり、水面に浮いたりしないこと
  - 溶存酸素濃度は、暴露終了時において3mg/L以上であること
- エンドポイント
  - EC50:遊泳に対する半数影響濃度
  - (個体の行動)

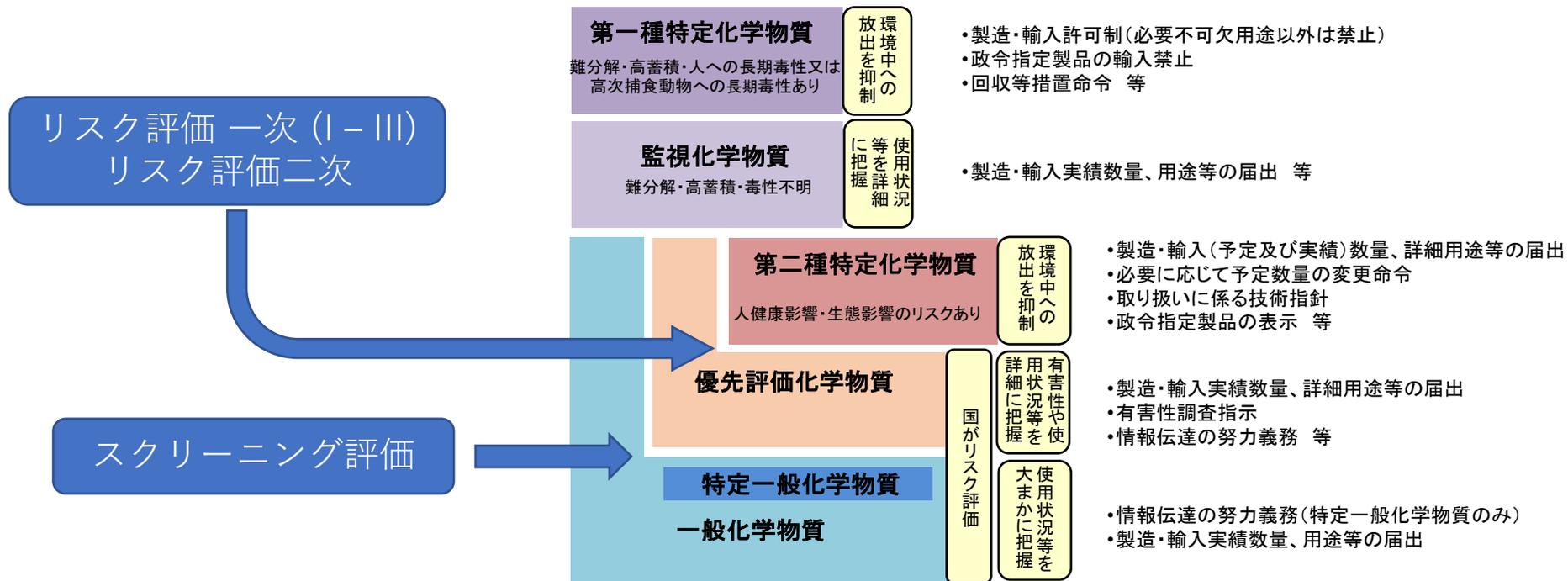


# 魚類急性毒性試験

- 推奨種
  - メダカ (*Oryzias latipes*, *O. sakaizumii*??)
  - コイ、ニジマス、ファットヘッドミノー、ブルーギルなどでもよい
- 曝露期間
  - 原則として96時間
- 試験濃度
  - 少なくとも5濃度区を等比級数的にとる
  - 最高試験濃度区ではすべての魚に致死影響が起こること、最低試験濃度区では影響が観察されないことが望ましい
- 試験の有効性
  - 対照区の死亡率が曝露終了時に10%を超えないこと
  - 溶存酸素濃度が曝露期間中少なくとも飽和酸素濃度の60%を維持していること
  - 被験物質の濃度が曝露期間中十分維持されていることが明らかであること
- エンドポイント
  - LC50:半数致死濃度
  - (個体の死亡)

# 化審法の体系

化審法は、化学物質の有する性状のうち、「分解性」、「蓄積性」、「人への長期毒性」又は「動植物への毒性」といった性状や、環境中での残留状況に着目し、上市前の事前審査及び上市後の継続的な管理により、人の健康を損なうおそれ又は動植物の生息・生育に支障を及ぼすおそれがある化学物質による環境汚染を防止することを目的としている。



# 有害性情報の収集

- 慢性影響濃度(NOEC)や急性影響濃度(LC50, ECx)を収集する
  - 試験の信頼性評価が重要
- 有害性値から予測無影響濃度 (PNEC)を導出
- PNECと曝露情報からリスク判定
  - リスク評価ベースとなっている

# 有害性情報の集め方

- 有害性試験する
- データベースを利用する
  - AIST-MeRAM 産総研一汎用生態リスク評価管理ツール (<https://meram.aist-riss.jp/>)
  - US EPA ECOTOX Knowledgebase (<https://cfpub.epa.gov/ecotox/>)



# ECOTOX検索例

- 重要そうな情報抜粋

CAS Number	Chemical Name	Conc 1 (Standardized)	Conc 1 Units (Standardized)	Effect	Endpoint	Observed Duration (Days)	Observed Duration Units (Days)	Reference Number
1314621	Vanadium oxide (V2O5)	1.9	Al mg/L	Mortality	LC50	4	Day(s)	3783
1314621	Vanadium oxide (V2O5)	1.16	Al mg/L	Mortality	LC50	8	Day(s)	3783
1314621	Vanadium oxide (V2O5)	0.24	Al mg/L	Growth	NOEC	28	Day(s)	3783
1314621	Vanadium oxide (V2O5)	0.48	Al mg/L	Mortality	NOEC	28	Day(s)	3783

- CAS Number: CAS番号
- Chemical Name: 物質名。酸化バナジウム
- Conc 1 (Standardized): エンドポイントでの濃度
- Conc 1 Units (Standardized): 単位。mg/L
- Effect: 観測した影響、Mortality (死亡)、Growth (成長)
- Endpoint: エンドポイント (多くの場合、LC50: 急性、NOEC: 慢性。例外あり)
- Observed Duration (Days): 曝露期間
- Observed Duration Units (Days): 曝露期間の単位。Day(s)なので「日」
- Reference Number: この値が報告されている文献番号 (US EPAがつけた番号)。文献を取り寄せ、試験方法の確認。**有害性値の信頼性評価が必要**

# PNEC導出にまつわる不確実係数

採用する毒性値		種間外挿のUF	急性から慢性へのUF (ACR)	室内試験から野外へのUF	不確実計数積UFs
3つの栄養段階の慢性毒性試験結果がある場合の最小のNOEC		-	-	10	10
2つの栄養段階の慢性毒性試験結果がある場合の小さいほうのNOEC		5	-	10	50
1つの栄養段階の慢性毒性試験結果がある場合のNOEC		10	-	10	100
3つの栄養段階の急性毒性L(E)C50がある場合の最小のL(E)C50		-	ACR	10	$10 \times \text{ACR}$
慢性毒性試験結果が欠けている栄養段階の急性毒性値が揃わない場合の小さいほうのL(E)C50		10	ACR	10	$100 \times \text{ACR}$
ACR	藻類		20		
	ミジンコ	アミン類	100		
		アミン類以外	10		
	魚類		100		

# PNEC導出

- (仮に)ファットヘッドミノーの急性毒性のみ
  - 必要なUFs (不確実計数積) : 10,000
    - 種間外挿の10
    - 室内から野外の外挿10
    - 急性慢性比 (ACR) 100
- 96時間 (4日)LC50: 1.9mg/Lなので
  - PNEC
    - =1.9 (mg/L) / 10,000
    - = 0.00019 (mg/L)
    - =0.19 (μg/L)

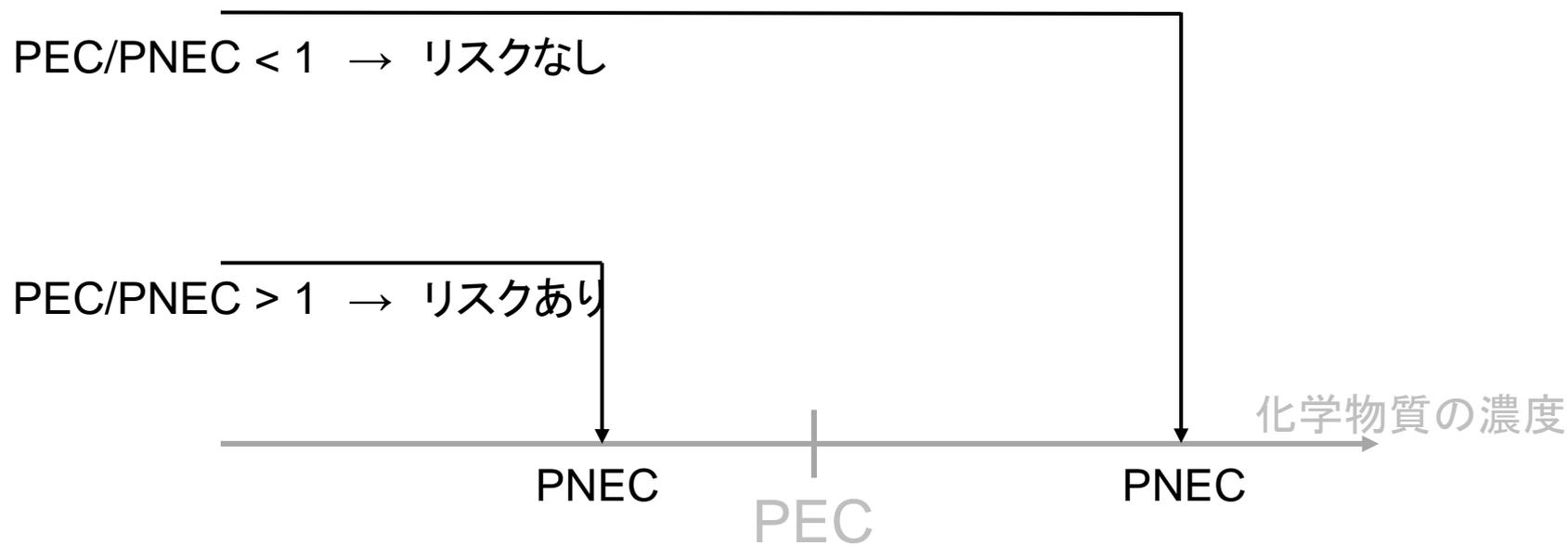
# PNEC導出

- (仮に)ファットヘッドミノーの慢性毒性のみ
  - 必要なUFs (不確実計数積) : 100
    - 種間外挿の10
    - 室内から野外の外挿10
- 28日NOEC: 0.24mg/Lなので
  - PNEC
    - =0.24 (mg/L) / 100
    - =0.0024 (mg/L)
    - =2.4 (μg/L)

# リスクは曝露と影響の重ね合わせ

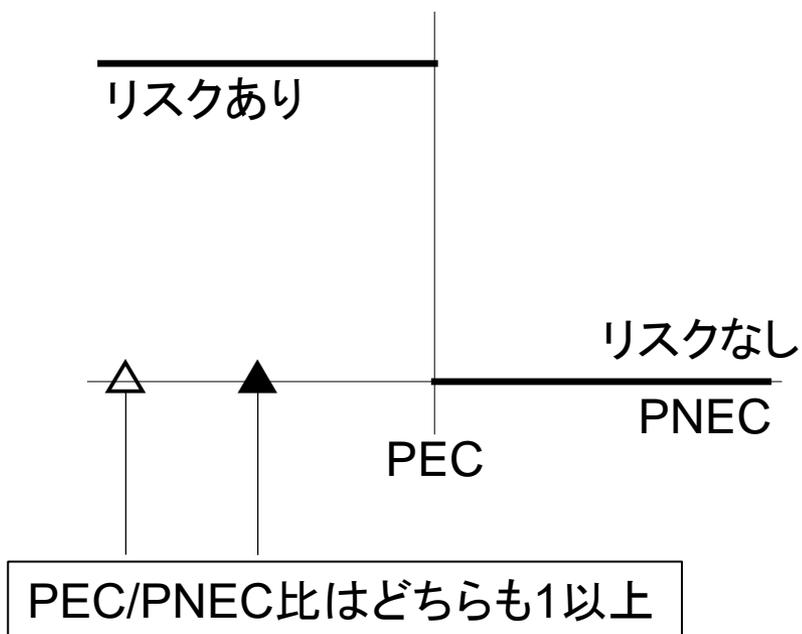
- PNECの導出は「影響評価」
- 予測環境中濃度 (Predicted Environmental Concentration: PEC)
  - 曝露評価が必要
- 最も簡単なリスク評価はPEC/PNEC比
  - ヒト健康のHazard Quotient (HQ)のようなもの

# PEC/PNEC比

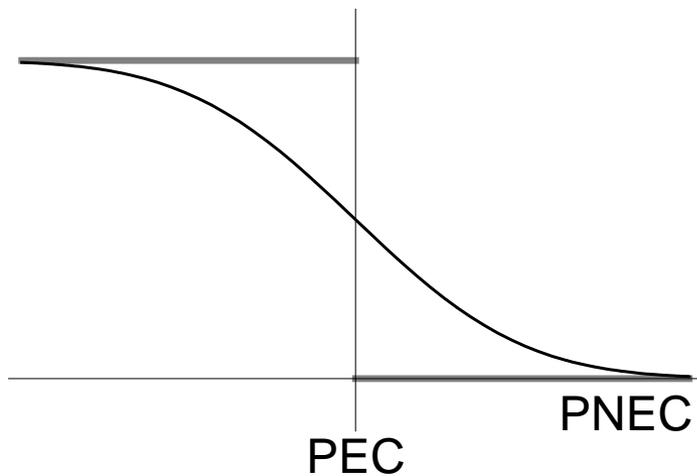


# Yes or No タイプの評価

- $PEC/PNEC < 1$  なら
  - とにかくリスクあり
  - リスクの、ありなし、しか議論できない
- $PEC/PNEC$  比がより小さいほど、リスクは大きいはず

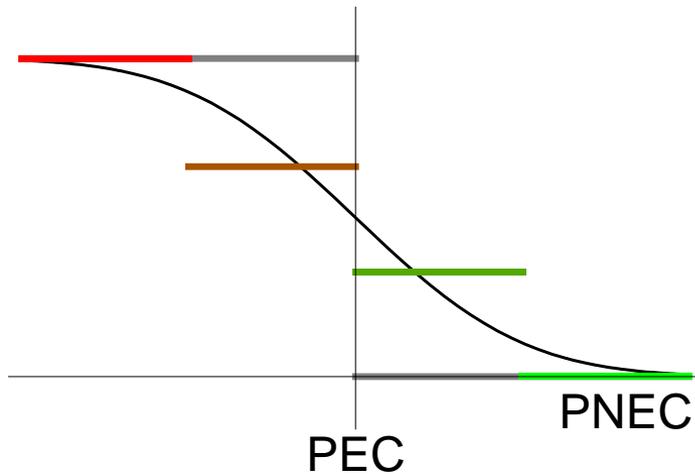


# 影響の程度が議論したい



- PNECの大きさにより、連続的に変わる曲線を当てはめる
- PNECの大きさと影響の程度が、量的に議論できる
- PNECが違うと、影響の程度も違う
- 影響の程度を、大、中、小、ぐらいにできないか

# 階段状にする



- ある範囲のPNECは同じと見なす
  - 同じ色は同じ影響
- 化審法の優先評価マトリクスができる

# 優先評価マトリクス

		有害性クラス				
		強 ←————→ 弱				
		1	2	3	4	外
曝露クラス 大 ↑ ↓ 小	1	高	高	高	高	外
	2	高	高	高	中	外
	3	高	高	中	中	外
	4	高	中	中	低	外
	5	中	中	低	低	外
	外	外	外	外	外	外

- 高：リスクが十分に低いと判断できない
  - 優先評価化学物質
  - リスク評価（一次）へと進む
- 低、外：リスクは十分に引くと判断できる
  - 一般化学物質
- 中：専門家判断

# 有害性クラス

1.  $PNEC \leq 0.001 \text{ mg/L}$  ( $1\mu\text{g/L}$ )
2.  $0.001 < PNEC \leq 0.01 \text{ mg/L}$
3.  $0.01 < PNEC \leq 0.1 \text{ mg/L}$
4.  $0.1 < PNEC \leq 1 \text{ mg/L}$

# 曝露クラス

- 全国総排出量（推計値）

1. 10,000ト超

2. 10,000ト以下                      1,000ト超

3. 1,000ト以下                      100ト超

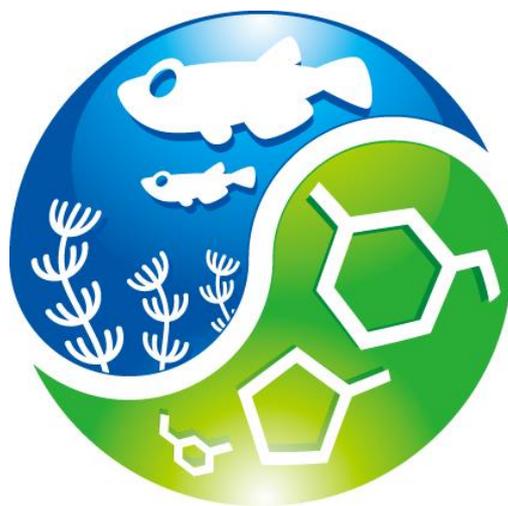
4. 100ト以下                      10ト超

5. 10ト以下                      1ト超

外 1ト以下

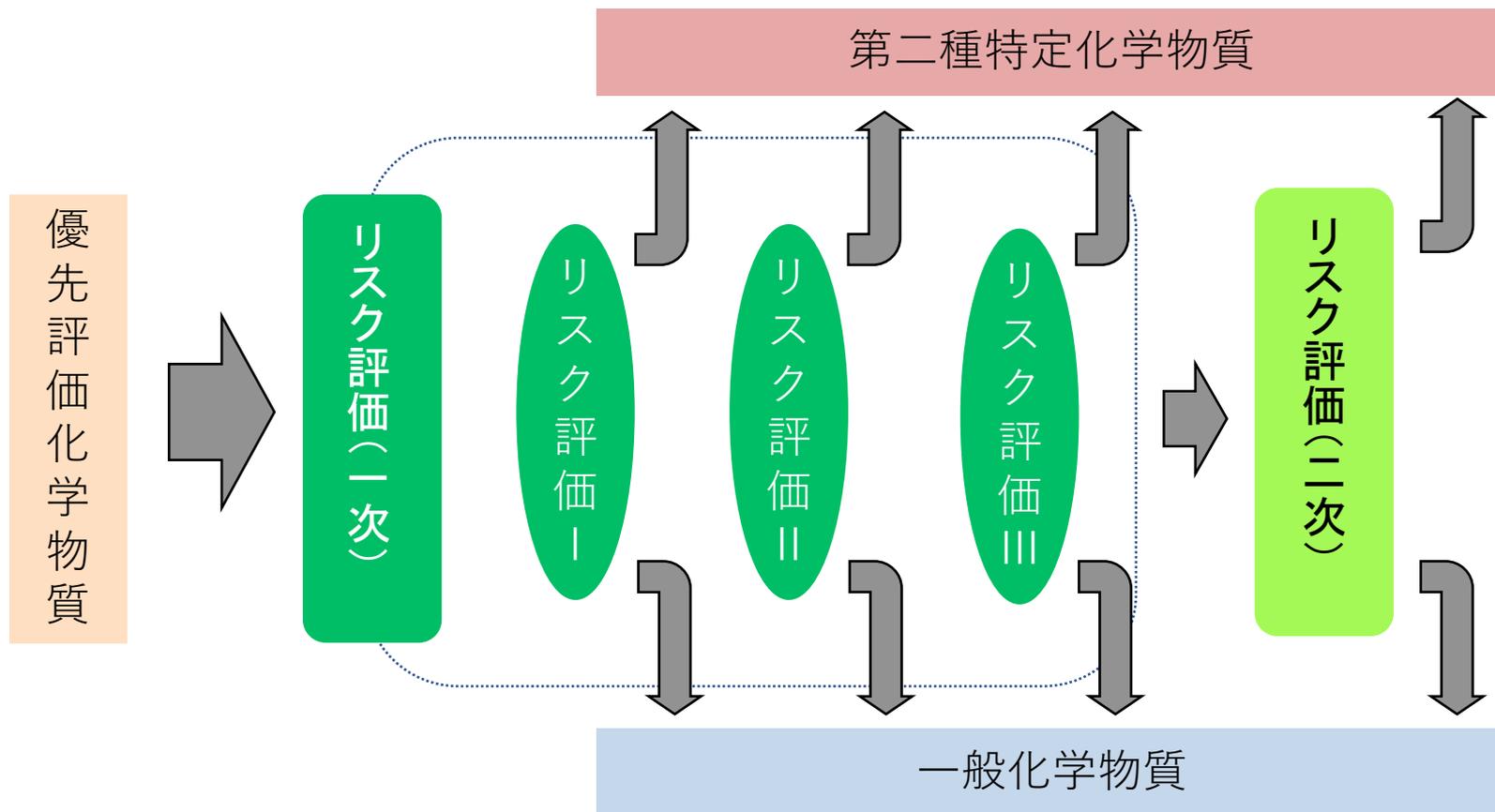
# AIST-MeRAMもご活用ください

- <https://meram.aist-riss.jp/>
- 化審法ルールで評価してくれます



# AIST-MeRAM

# 優先指定後の流れ



参考 : [https://www.meti.go.jp/policy/chemical\\_management/kasinhou/information/ra\\_index.html](https://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/information/ra_index.html)

# リスク評価（一次）Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ

	有害性情報	曝露評価
リスク評価Ⅰ	<ul style="list-style-type: none"> <li>有害性情報の提出の求め</li> <li>有害性情報の報告</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>製造数量等の届出</li> <li>推定排出量</li> </ul>
リスク評価Ⅱ	<ul style="list-style-type: none"> <li>有害性情報の提出の求め</li> <li>有害性情報の報告</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>モニタリングデータの収集</li> <li>P R T R 情報の収集</li> <li>推定排出量の精査</li> </ul>
リスク評価Ⅲ	<ul style="list-style-type: none"> <li>有害性情報の提出の求め</li> <li>有害性情報の報告</li> <li>取扱い状況の報告の求め</li> <li>自主的な取扱い状況の報告</li> <li>追加モニタリング</li> </ul> <p>等から、排出地点・排出量・モニタリングデータなどを精緻化して再評価</p>	

参考 : [https://www.meti.go.jp/policy/chemical\\_management/kasinhou/information/ra\\_index.html](https://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/information/ra_index.html)

# ここまでのまとめ

- 有害性試験の信頼性
  - OECDテストガイドライン
  - このデータは信頼できるという保証（GLP）
  - MAD等の国際協調
  
- 誰が行っても同じ結果となる評価の枠組み

# 生態影響評価の考え方の考え方

- ここから先は、個人の意見、を含みます
- 意見は人によって違います
  
- 内容
  - NOECは「影響がない濃度」ではない
  - 個体影響と、個体群影響
  - 統計手法を用いた有害性評価

# NOECの問題

- リスク評価はNOECに依存します
  - でも、NOECってどういう意味？
  - 多くの人が、「影響のない濃度」と思う

# 統計の話

- NOECは「影響がない濃度」ではない
  - No observed effect concentration (NOEC)
  - 日本語訳は、無影響濃度
    - 訳が悪いと思います・・・
- 対象区（曝露なしの状態）と比べて影響が「有意」に上昇していない濃度の内、最大のもの
  - 影響はあるかも知れないけどその証拠は十分でない

# 有意差とは

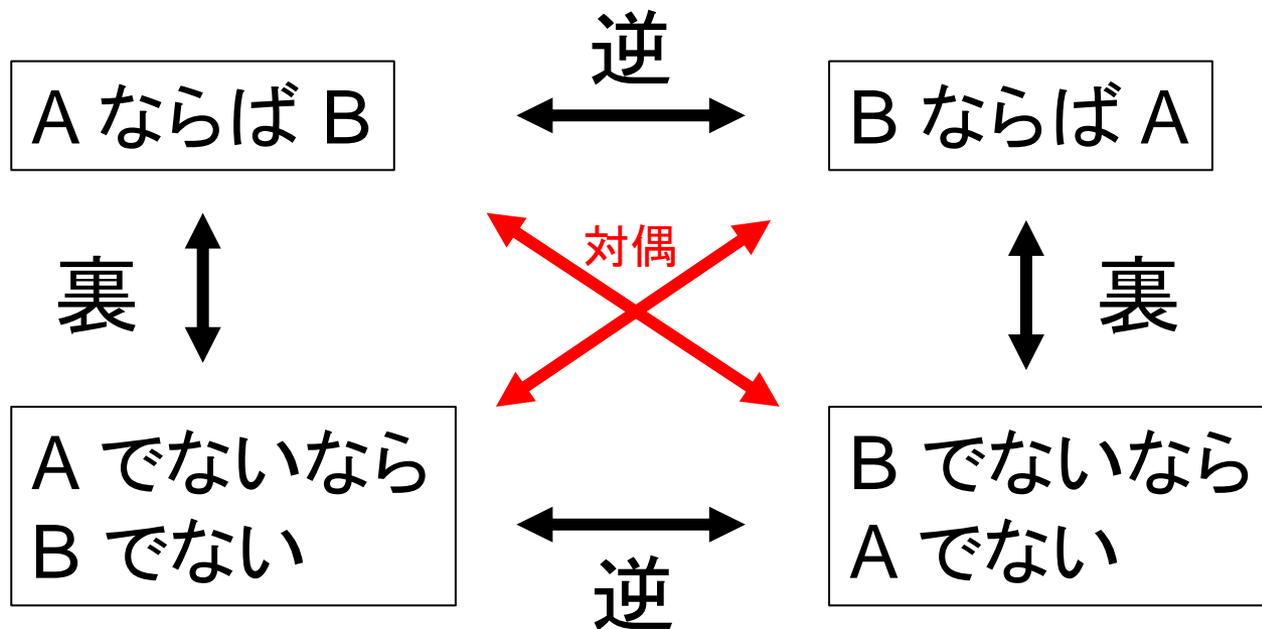
- 差があるかどうかを知りたければ、差はない、との立場に立つ
  - 差はない：帰無仮説
- 二つの集団で差がないとしても、観測値はばらつくので、差がでる
- その差が20回に1回（以下）の偶然でしか起きないものであれば、帰無仮説「差がない」が否定されて、差はある、と考える

# 帰無仮説が否定できないとき

- 帰無仮説：曝露区と対象区で死亡数に差はない
- 帰無仮説が否定できない最大の曝露区が「NOEC」
- 差はないが否定できない  
→ 影響はない
- と考える人が多いのですが、これは間違いです

# 逆、裏、対偶

AならばBは真:このとき、やはり真なのは次のどれでしょう



例：猫ならば (A)ヒゲがある (B)

- 猫ならば、ヒゲがある (命題)
- (裏) 猫でないなら、ヒゲはない
- (逆) ヒゲがあるなら、猫である
- (対偶) ヒゲがないなら、猫でない

# A:帰無仮説棄却、 B:差がある

- (命題) 帰無仮説「差はない」が棄却できるなら、差がある
- (逆) 差があるなら、帰無仮説は棄却できる
- (裏) 帰無仮説が棄却できないなら、差はない
  - NOECはこれ
- (対偶) 差がないなら、帰無仮説は棄却できない

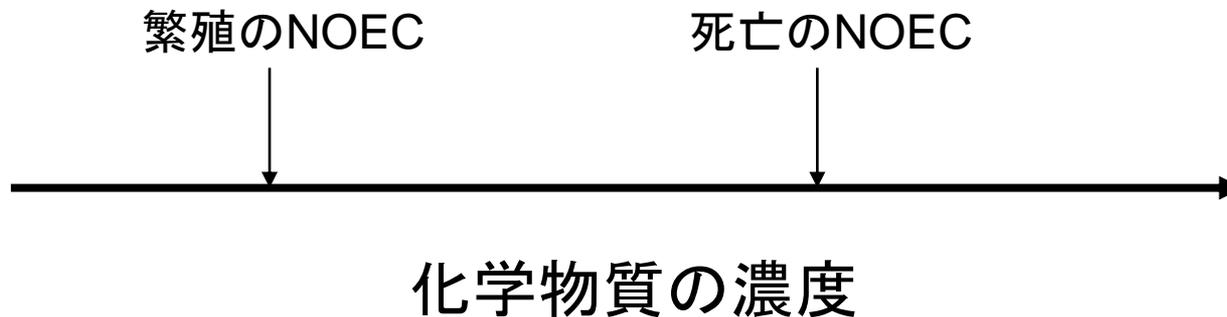
# 統計の意味を正しく

- 統計的有意性に縛られることは有害
  - Scientists rise up against statistical significance
  - <https://www.nature.com/articles/d41586-019-00857-9>
- そもそもNOEC嫌いな人は嫌いです
  - Jager (2011) Bad habits die hard: The NOEC's persistence reflects poorly on ecotoxicology. *Environmental Toxicology and Chemistry* 31: 228-229

# 最小のNOECで良い？

- 毒性試験ではいくつかの影響を調べる
  - 繁殖量
  - 死亡量
  - どちらか小さい方のNOECを見ればよい

繁殖への影響が避けられれば、死亡の影響も避けられる



# 生物の個体数（集団の数）

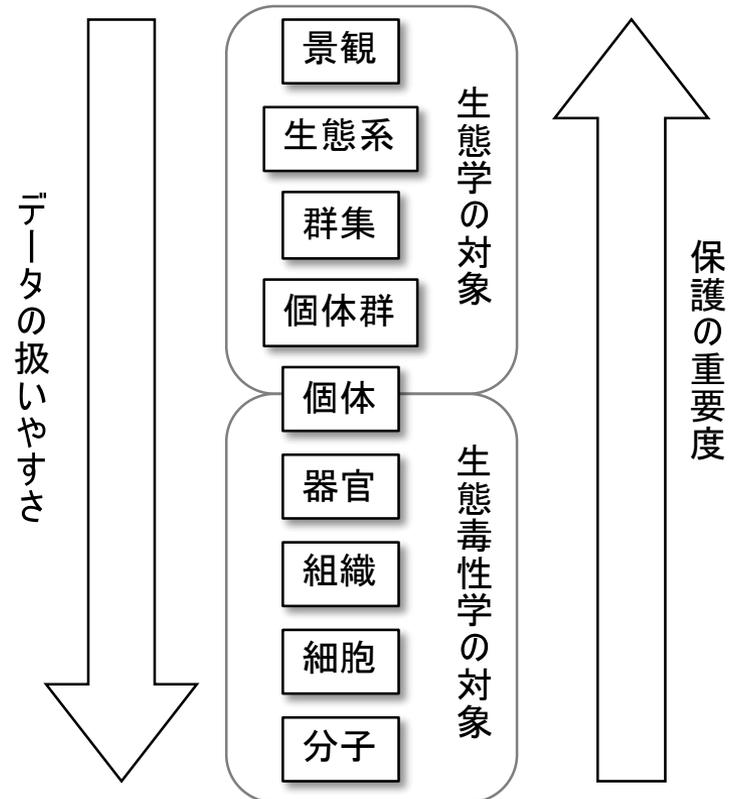
- 個体数の増え方

今いる個体数 × 1個体が産む個体の数

- 個体数と子の数の掛け算で効く
  - それぞれがほんの少し減るだけで、個体数はすごく減るかも知れない
- 両方の影響を考えないと
  - 個体群レベルの評価

# 生態学的エンドポイント

エンドポイントと生命の階層

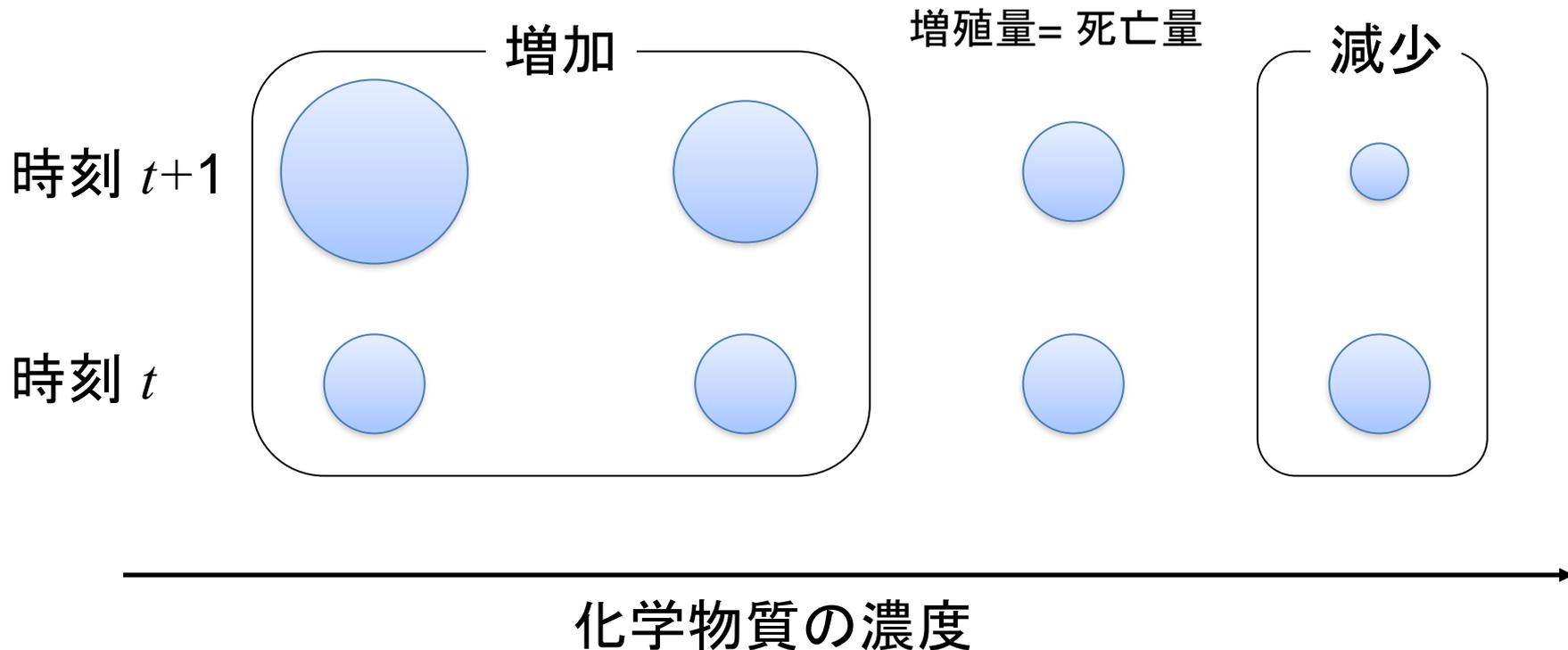


Pastrok 2002. を一部改変

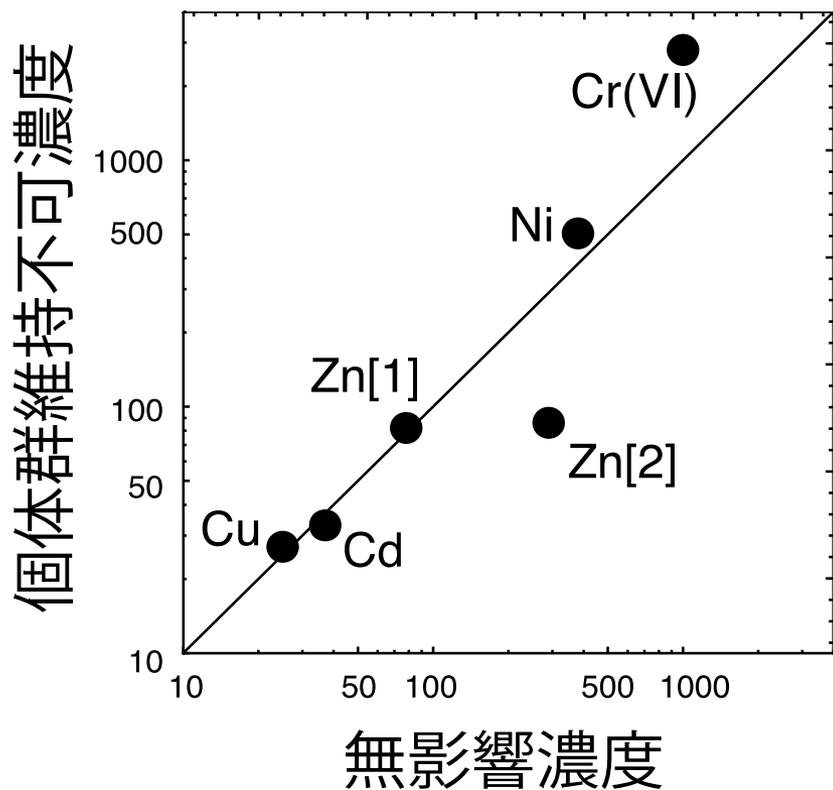
# 個体群評価の概要

増殖量 > 死亡量

増殖量 < 死亡量



# 個体レベル vs 個体群レベル



## 金属の例

- 多くの場合、個体群の維持が不可になる濃度よりも、NOECの方が高い
  - NOECがより安全側であることが多い
- ただし、例外あり
  - Cd, Zn[2]
  - NOEC以下でも生物の絶滅が起こりうる(理論的には)

# 近年かなり普及

- 例えば欧州
  - 第七次フレームワークプログラム (FP7) で CREAM プロジェクト、が採択されている
  - 学会等でも、発表数は増えている (個人的感想)
- 我が国では
  - 研究者がほとんどいない . . .

# 生態影響評価の難しさ

- ヒト健康影響は、ヒトという1生物種の影響がわかればいい
- 生物種は多い
  - どの生物を守るべきか、が議論になる
- 最も感受性が高い生物がわかれば楽なんだろうが・・・

# 最小のNOECで評価

- 一番弱い生物でPNECを決める
- 一番弱いと言っても「調べた範囲で一番弱い」
  - もっと弱い生物は必ずいる
  - 世界中の生物調べたんかあ、と言いたくなるのは私だけでしょうか

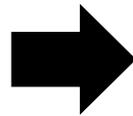
# 種感受性分布

- Species Sensitivity Distribution (SSD)
- 様々な生物種のNOECから、その物質への平均的な感受性を推定
- 化審法の「最も感受性の高い（化学物質に弱い）」生物の保護

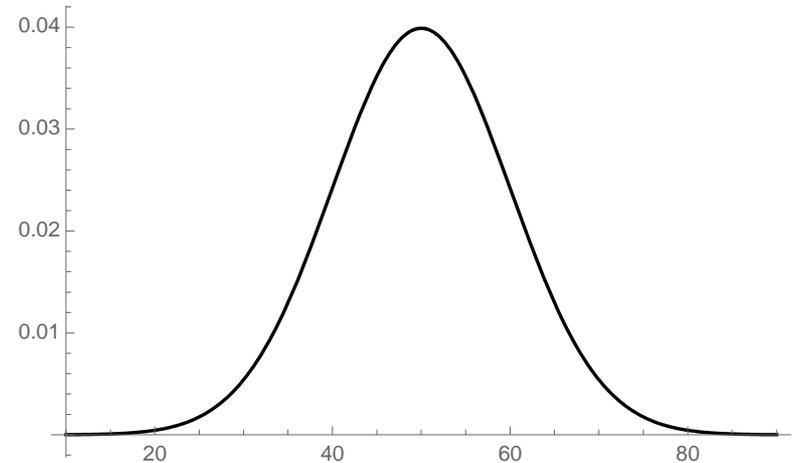
# 考え方：単なる標本調査

- 偏差値を求めるのと同じ

ヒト	得点
Aさん	80
Bさん	90
Cさん	30
・	
Nさん	40

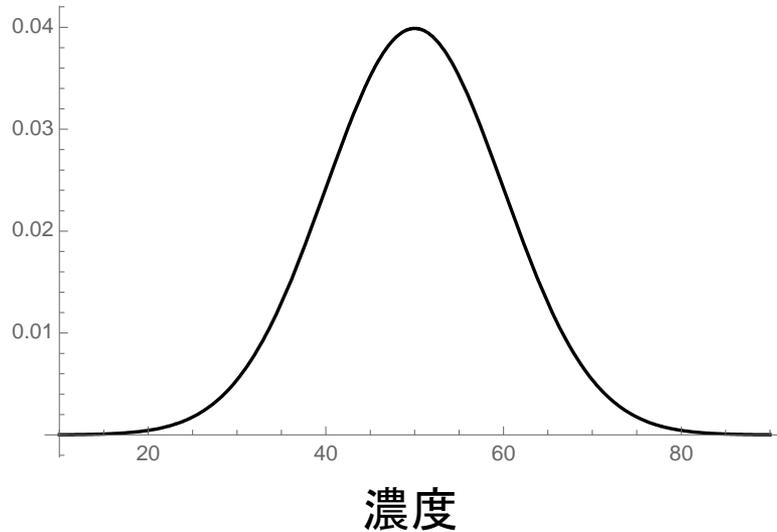


平均点  
点のばらつき

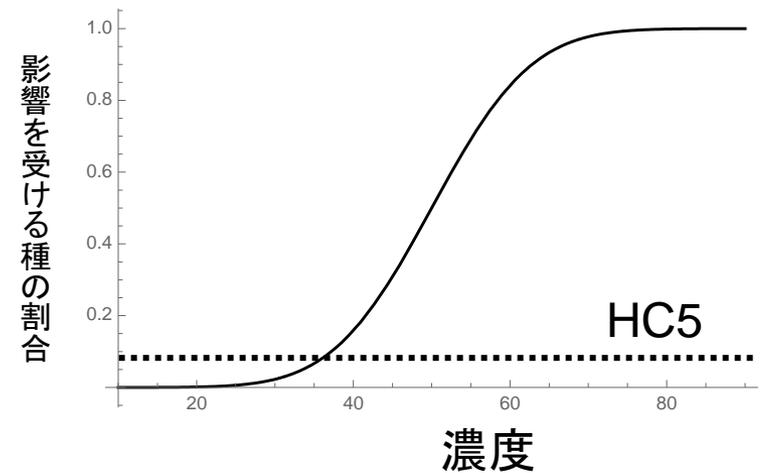


正規分布に当てはめ

# 種の感受性分布



累積分布で書くことが多い



95%の生物の保護が可能な濃度(HC5)を管理目標とすることが多い

# SSDに対する批判

- データの数は常に貧困。推定した分布は信頼できない
- 調べている種に偏りがある（例：甲殻類が多すぎる）。自然界の種構成を反映していない
- 管理目標が95%保護濃度（HC5）では、保護されない種が5%存在する

# 今の評価方法への批判

- データの数は常に貧困。推定した分布は信頼できない
  - 正しい答えにたどり着かないという意味では、既存の方法も同じ
- 調べている種に偏りがある（例：甲殻類が多すぎる）。自然界の種構成を反映していない
  - 調査不十分という意味では同じ
- 管理目標が95%保護濃度（HC5）では、保護されない種が5%存在する
  - 既存の方法でも5%が守れていないことはある
  - 何%守れているのかわからないことは問題

# SSDによる評価がより頑健である

- 理由

- 数百年に渡る統計学の研究成果が活用できる
- データを出そうというインセンティブが働く
  - たくさんデータがあるほど不確実係数を減らせますという仕掛けが必要だが

# 本日のまとめ

- 前半

- 既存の有害性評価のルールについて紹介しました
  - 化審法の体系
  - PNECの導出方法（データ数と不確実係数）
  - 優先評価マトリックス

- 後半

- 統計と新たな評価方法について紹介しました
  - 個体群レベルの評価
  - 種の感受性分布(SSD)を用いた評価

# まとめと私見

- 生態リスク評価は未熟なんです
  - 既存の方法は、手続きとしては堅牢
  - しかし、本当に生態系の保全につながっているかという点、懐疑的
  - 新しい方法ではいくつかの問題を解決できるだろう
  - それでもやはり、完全に解決されるわけではない
- 未熟だから評価しないは許されない
  - 様々な方法を上手に使い分ける方法を考える