

機関番号：35413

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590122

研究課題名（和文） 医薬品による環境汚染の実態と太陽光等の環境因子による毒性・蓄積性変動の調査

研究課題名（英文） Study of environmental pollution by pharmaceuticals and effect of environmental factors on the toxicity.

研究代表者

杉原 数美（SUGIHARA KAZUMI）

広島国際大学・薬学部・准教授

研究者番号：20271067

研究成果の概要（和文）：本研究では、先ず近年環境汚染が懸念されはじめた医薬品の日本の河川における汚染実態を調査し、生活雑排水や簡易浄化槽処理水が流入する二級河川で一級河川より高濃度で検出されることを明らかとした。さらに、医薬品は環境中での動態が調査されておらず、環境中における代謝分解などの受けやすさ、代謝分解物の毒性変動などは不明である。本研究では、化学物質の分解代謝にかかわる環境因子として紫外線による医薬品分解とその生物毒性変動を調査し、毒性が発現する医薬品があることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：In this study, we detected pharmaceuticals in Kurose river, a rural river located in Higashihiroshima city, Hiroshima, Japan. We observed their concentrations were higher than those of reported. Photodegradation of pharmaceuticals caused by sun irradiation may be of major elimination process in natural. In this study, we carried out the ultraviolet (UV) irradiation experiments for nine pharmaceuticals. The toxicity of pharmaceuticals was changed by UV irradiation.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：環境衛生薬学

科研費の分科・細目：薬学・環境系薬学

キーワード：医薬品、環境汚染、太陽光、紫外線、生態毒性

1. 研究開始当初の背景

近年、ヒトが服用している医薬品が環境中から検出されはじめている。医薬品は微量でも強い生理活性を持つことより、環境中で生態系や飲水に混入した場合はヒトへの県境影響も懸念される。しかし、日本ではまだその実態が明らかとされていなかった。

また、医薬品は許認可時に環境動態、生態系への影響などが調べられていない。さらに、環境中では太陽光や微生物などで分解、変異

を受け、毒性のある物質に変換することも懸念される。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、環境汚染が懸念されはじめた医薬品に関して、先ず、日本でよくみられる生活雑排水などが流入している二級河川における汚染実態の調査をする。

(2) 微量でも生理活性が強い医薬品は環境中での動態が調べられていない。そのため、

環境中における代謝分解などの受けやすさ、代謝分解物の毒性変動などは不明である。本研究では、化学物質の分解代謝にかかわると考えられる環境因子として、太陽光、微生物、土壌成分などによる影響を検討し、環境中に流出した医薬品の環境因子による変動、環境動態、リスク評価を調査することを目的としている。

3. 研究の方法

(1) 黒瀬川における医薬品汚染の実態調査

2008年4月より2011年3月まで、広島県東広島市を流域とする黒瀬川における医薬品汚染を調査した。

採水は、月に1回、上流、中流、下流の3地点で行った。採水は東広島市が行っている河川環境調査と同時にを行い、河川汚染データと比較できるようにした。

河川水は、濾過後固相抽出し、LC/MS/MS (API2000)にて定量した。

(2) 紫外線による医薬品の分解

医薬品標品の水溶液に紫外線をランプを用いて照射した。波長はUVA, B, Cの別で照射した。経時的に照射後、医薬品およびその分解物を固相抽出し、HPLCにてそれらを定量した。また、分解物の同定は、TOF/MS (API Qstar Elite)を用いて行った。医薬品として、アセトアミノフェン(AA)、アセチルサリチル酸(AS)、カフェイン(CF)、カルバマゼピン(CM)、クロフィブリン酸(CA)、ジクロフェナク(DF)、フェニトイン(PH)、サリチルアミド(SA)、トルブタミド(TB)を選定した (Fig. 1)。

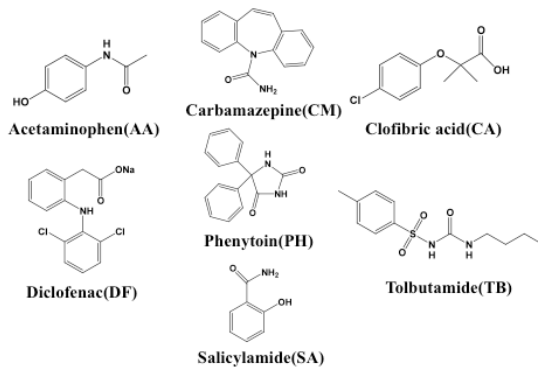


Fig. 1. 調査医薬品の構造

(3) 医薬品の生態毒性変動

医薬品およびその紫外線による分解物の生態系への変動を調べるため、河川環境の毒性試験として使用されている海洋微生物を用いた Microtox 試験を行った。

4. 研究成果

(1) 黒瀬川における医薬品汚染の実態調査

広島県東広島市は下水道普及率が人口あたり34%と低く、東広島市を流域とする二級河川 黒瀬川は生活雑排水や簡易浄化槽処理水が流入している。そのため、化学的酸素要求量(COD)などの測定値が環境基準を越えていることが多い。このような河川では汚染が激しいと考えられるので、医薬品による汚染を調査した結果、一級河川の10-100倍程度の汚染が検出された (Fig. 2)

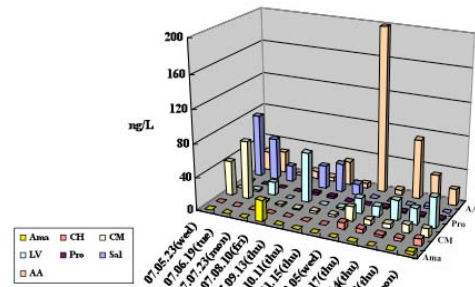


Fig. 2. 黒瀬川 医薬品測定

(2) 紫外線による医薬品の分解

a. Phenytoin の紫外線分解

Phenytoin (PH) の水溶液に紫外線を照射後、抽出して HPLC にて分解物の生成を調べた。PH は主に UV-C 照射により分解を受け、UV-B および UV-A ではほとんど分解されなかった。UV-C による PH の分解は早く約 4 時間でほとんど消失していた。PH の消失に伴い、P-PH-1 および P-PH-2 の生成が認められた (Fig. 3)。254 nm の検出波長での内部標準比から P-PH-2 の生成量はもとの PH の 7 倍ほどあり、吸光係数が高い物質が生成していることが予測された (Fig. 4)。

b. Acetaminophen の紫外線分解

Acetaminophen (AA) に UV-A, UV-B あるいは UV-C を照射後、抽出して HPLC にて分解物の生成を調べた。その結果、UV-A および UV-B ではほとんど分解は認められなかったが、UV-C 照射により、AA よりも極性の低い分解物 (P-AA) が 1 個検出された。UV-C 照射時間を変化させ、AA の減少と P-AA の生成量を経時的に観察したところ、AA の減少と P-AA の増加が観察された。コントロールであるアルミ箔で遮光した試料では、AA の減少も P-AA の生成も認められなかった。

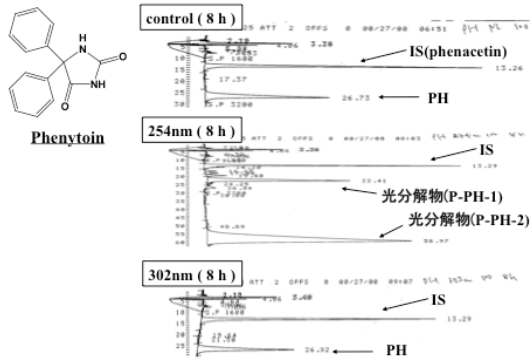


Fig. 3. Phenytoin 紫外線照射後のHPLC chromatogram

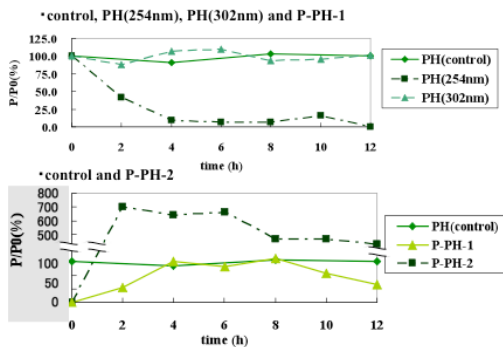


Fig. 4. 紫外線照射によるphenytoinとその分解物の経時変化

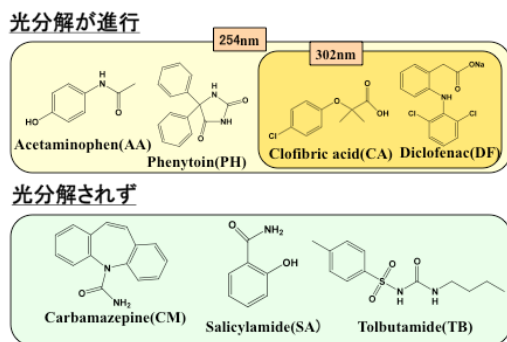


Fig. 5. 医薬品の紫外線による分解性

Table 1. 紫外線照射による医薬品のMicrotox®毒性変動

[EC₅₀ of pharmaceuticals in Microtox® mortality test]

Sample	EC ₅₀ [mg L ⁻¹]	UV irradiated EC ₅₀ [mg L ⁻¹]	
		254nm	302nm
acetaminophen	>1000	366.9	-
clofibric acid	33.97	18.39	29.35
diclofenac	10.40	44.29	86.87
phenytoin	>1000	13.12	-
carbamazepine	286.32	-	-
salicylamide	22.55	-	-
tolbutamide	3.67	-	-

c. その他の医薬品の紫外線分解

Acetaminophen, phenytoin を始めとして、Fig. 1 に示した医薬品に関して紫外線による分解を調べた。その結果、どの紫外線でもほとんど分解されない医薬品 (carbamazepine, salicylamide および tolbutamide) と、UV-C のみで分解されるもの (acetaminophen, phenytoin)、さらに UV-B, C で分解されるもの (clofibric acid, diclofenac) とその構造により、分解性が異なっていることが明らかとなった (Fig. 5)

(3) Microtox 試験による微生物毒性評価

水環境生態系への毒性試験としてよく用いられる Microtox 試験で、各医薬品の紫外線照射前後の毒性を調べたところ、照射前には全く毒性がみられなかった acetaminophen, phenytoin で、UV-C 照射後の毒性発現が認められた。また、diclofenac では UV-B, C 照射により毒性の軽減がみられた (Table 1)。

(4) Phenytoin の紫外線分解生成物の同定

Phenytoin の紫外線照射後、microtox 試験で著しい毒性の発現が認められたので、生成物の同定を TOF/MS/MS で行った。その結果、P-PH-2 が benzophenone であると同定された。標品 benzophenone と同様の MS フラグメントが認められ、また標品も microtox 試験で同様の毒性を示した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)、全て査読有り

[雑誌論文] (計 14 件)

- ①. Tayama, Yoshitaka; Sugihara, Kazumi; Sanoh, Seigo; Miyake, Katsushi; Morita, Shushi; Kitamura, Shigeyuki; Ohta, Shigeru; Effect of tea beverages on aldehyde oxidase activity, *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* (2011), 26(1), 94-101.
- ②. Nurrochmad, Arief; Ishii, Yuji; Nakanoh, Hitomi; Inoue, Tae; Horie, Toru; Sugihara, Kazumi; Ohta, Shigeru; Taketomi, Akinobu; Maehara, Yoshihiko; Yamada, Hideyuki; Activation of morphine glucuronidation by fatty acyl-CoAs and its plasticity: a comparative study in humans and rodents including chimeric mice carrying human liver, *Drug Metabolism*

- and *Pharmacokinetics* (2010), 25(3), 262-273.
- ③. Kojima, Hiroyuki; Takeuchi, Shinji; Uramaru, Naoto; Sugihara, Kazumi; Yoshida, Takahiko; Kitamura, Shigeyuki; Nuclear hormone receptor activity of polybrominated diphenyl ethers and their hydroxylated and methoxylated metabolites in transactivation assays using Chinese hamster ovary cells, *Environmental Health Perspectives* (2009), 117(8), 1210-1218.
- ④. Tayama, Yoshitaka; Miyake, Katsushi; Kanazawa, Eri; Kaneko, Tetuo; Sugihara, Kazumi; Toyomi, Atsushi; Morita, Shushi; Kobayashi, Masao; Ohta, Shigeru; Current situation of drug information in the kindergarten and nursery teacher: a pilot study, *Yakugaku Zasshi* (2009), 129(5), 617-622. Language: Japanese,
- ⑤. Inoue, Tae; Sugihara, Kazumi; Ohshita, Hiroki; Horie, Toru; Kitamura, Shigeyuki; Ohta, Shigeru; Prediction of human disposition toward S-3H-warfarin using chimeric mice with humanized liver, *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* (2009), 24(2), 153-160.
- ⑥. Sugihara, Kazumi; Study on the pharmaceuticals in hospital sewage and their toxicities in the aquatic environment, *Yakugaku Kenkyu no Shinpo*, (2009), Volume Date 2008, 25, 99-105.
- ⑦. Kawasaki, A.; Hayashi, T.; Nakachi, K.; Trosko, J. E.; Sugihara, K.; Kotake, Y.; Ohta, S.; Modulation of connexin 43 in rotenone-induced model of Parkinson's disease, *Neuroscience* (2009), 160(1), 61-68.
- ⑧. Kashiwagi, Keiko; Furuno, Nobuaki; Kitamura, Shigeyuki; Ohta, Shigeru; Sugihara, Kazumi; Utsumi, Kozo; Hanada, Hideki; Taniguchi, Kikuyo; Suzuki, Ken-ichi; Kashiwagi, Akihiko; Disruption of thyroid hormone function by environmental pollutants, *Journal of Health Science* (2009), 55(2), 147-160.
- ⑨. Inoue, Tae; Nitta, Kayoko; Sugihara, Kazumi; Horie, Toru; Kitamura, Shigeyuki; Ohta, Shigeru; CYP2C9-catalyzed metabolism of S-warfarin to 7-hydroxywarfarin in vivo and in vitro in chimeric mice with humanized liver, *Drug Metabolism and Disposition* (2008), 36(12), 2429-2433.
- ⑩. Kitamura, Shigeyuki; Shinohara, Seiji; Iwase, Eri; Sugihara, Kazumi; Uramaru, Naoto; Shigematsu, Hidenari; Fujimoto, Nariaki; Ohta, Shigeru; Affinity for thyroid hormone and estrogen receptors of hydroxylated polybrominated diphenyl ethers, *Journal of Health Science* (2008), 54(5), 607-614.
- ⑪. Kitamura, Shigeyuki; Sugihara, Kazumi; Sanoh, Seigo; Fujimoto, Nariaki; Ohta, Shigeru; Metabolic activation of proestrogens in the environment by cytochrome P450 system, *Journal of Health Science* (2008), 54(4), 343-355.
- ⑫. Kitamura, Shigeyuki; Nitta, Kayoko; Tayama, Yoshitaka; Tanoue, Chiaki; Sugihara, Kazumi; Inoue, Tae; Horie, Toru; Ohta, Shigeru; Aldehyde oxidase-catalyzed metabolism of N1-methylnicotinamide in vivo and in vitro in chimeric mice with humanized liver, *Drug Metabolism and Disposition* (2008), 36(7), 1202-1205.
- ⑬. Kashiwagi, Akihiko; Utsumi, Kozo; Kashiwagi, Keiko; Ohta, Shigeru; Sugihara, Kazumi; Hanada, Hideki; Kitamura, Shigeyuki; Effects of endocrine disrupting chemicals on amphibian metamorphosis and mitochondrial membrane permeability transition, *Journal of Health Science* (2008), 54(3), 273-280.
- ⑭. Sugihara, Kazumi; Okayama, Takashige; Kitamura, Shigeyuki; Yamashita, Keisuke; Yasuda, Mineo; Miyairi, Shinichi; Minobe, Yasushi; Ohta, Shigeru; Comparative study of aryl hydrocarbon receptor ligand activities of six chemicals in vitro and in vivo, *Archives of Toxicology* (2008), 82(1), 5-11.

[学会発表] (計 18 件)

- ①. 尾川雄一, 杉原数美, 佐能正剛, 北村繁幸, 久保光志, 太田茂
生活排水流入河川水および下水処理場流入・流出水中の医薬品探索, 日本薬学会第128年会 2008年3月26日 横浜市
- ②. 杉原数美, 尾川雄一, 佐能正剛, 北村繁

- 幸, 久保光志, 太田茂
医薬品による環境汚染防止に向けての
廃棄方法実態調査, 日本薬学会第 128
年会 2008年3月26日 横浜市
- ③. 尾川雄一, 杉原数美, 佐能正剛, 北村繁
幸, 久保光志, 太田茂, 生活排水汚染水
域の医薬品探索および環境動態の検討,
フォーラム 2008: 衛生薬学・環境トキ
シコロジー 2008年10月17、18日 熊
本
- ④. 尾川雄一, 杉原数美, 佐能正剛, 北村繁
幸, 久保光志, 太田茂, 水環境中医薬品
類の紫外線による分解と毒性変動, 日
本薬学会第129年会 2009年3月26-28
日 京都
- ⑤. Sugihara K^{1,3}, Kitamura S^{1,2}, Shinohara
S¹, Iwase E¹, Uramaru N^{1,2}, Shigematsu
H², Fujimoto N¹ and Ohta S¹,
HYDROXYLATED POLYBROMINATED DIPHENYL
ETHERS INTERACT WITH THYROID HORMONE
AND ESTROGEN RECEPTORS, DIOXIN2009
2009年8月23-28日 北京市、中華人
民共和国
- ⑥. 尾川雄一, 杉原数美, 佐能正剛, 北村繁
幸, 久保光志, 太田茂, 水環境中医薬品
類の紫外線による分解と非意図的生成
物の分析, フォーラム衛生薬学・環境ト
キシコロジー 2009年11月5、6日 宜
野湾市
- ⑦. 杉原数美, 尾川雄一, 佐光華佳, 佐能正
剛, 清水良, 北村繁幸, 太田茂, 生活排
水流入河川流域の医薬品汚染ポテン
シャルマップ-モデル河川 黒瀬川での調
査-, フォーラム衛生薬学・環境トキシ
コロジー 2009年11月5、6日 宜野
湾市
- ⑧. 尾川雄一, 杉原数美, 川畑公平, 佐光華
佳, 佐能正剛, 北村繁幸, 太田茂, 生
活排水流入モデル河川における医薬品
環境負荷予測, 日本薬学会 第130年
会 2010年3月28-30日 岡山市
- ⑨. 杉原数美, 尾川雄一, 佐能正剛, 北村繁
幸, 太田茂, 広島県内保険薬局を対象
とした医薬品廃棄に関するパイロット
調査, 日本薬学会 第130年会 2010
年3月28-30日 岡山市
- ⑩. 杉原数美, 川畑公平, Mon Jyoun, 尾川
雄一, 佐能正剛, 北村繁幸, 太田茂, 大
韓民国釜山市 温泉川の医薬品汚染調査,
日本薬学会第131年会 2011年3月
29-31日 静岡市
- ⑪. 川畑公平, 杉原数美, 尾川雄一, 佐能正
剛, 北村繁幸, 太田茂, 紫外線照射に
よる水環境中医薬品類の分解および水
生生物への毒性変動調査, 日本薬学会
第131年会 2011年3月29-31日
静岡市
- ⑫. 杉原数美, 尾川雄一, 川畑公平, 佐能正
剛, 北村繁幸, 西嶋 渉, 太田茂, ポ
テンシャルマップを用いた生活排水流
入河川の医薬品汚染濃度予測, 第45回
日本水環境学会年会 2011年3月18-20
日 札幌市
- ⑬. 秋吉 里絵, 古道 律子, 宗重 美恵子,
尾川 雄一, 川畑 公平, 佐能 正剛, 太
田茂, 杉原 数美, 生活排水流入河川の
生活関連物質汚染と流域住民への環境
保全意識調査, 第49回日本薬学会・日本
薬剤師会・日本病院薬剤師会 中国四国
支部学術大会, 2010年11月6日・7日
米子市
- ⑭. 杉原 数美, 尾川 雄一, 佐光 華佳, M.
Yuwano, A.H. Syahrani, 佐能 正剛, 北
村 繁幸, 太田茂, インドネシア・スラ
バヤ市スラバヤ川の医薬品汚染調査～
アイルランガ大学との共同調査～,
フォーラム2010衛生環境トキシコロジ
ー 2010年9月9日・10日 東京
- ⑮. 秋吉 里絵, 古道 律子, 宗重 美恵子,
杉原 数美, 尾川 雄一, 川畑 公平, 佐
能 正剛, 北村 繁幸, 太田茂, 下水道
未整備地域河川での医薬品汚染ポテン
シャルマップを用いた汚染予測と流域
住民の環境保全意識調査, フォーラム
2010衛生環境トキシコロジー 2010年
9月9日・10日 東京
- ⑯. 松原 加奈, 佐能 正剛, 岩瀬 恵理, 藤
本 成明, 浦丸 直人, 杉原 数美, 加藤
善久, 北村 繁幸, 太田茂, 環境化学物
質による甲状腺ホルモン応答の高感度
評価, フォーラム2010衛生環境トキシ
コロジー 2010年9月9日・10日 東京
- ⑰. 尾川 雄一, 杉原 数美, 川畑 公平,
佐光 華佳, 佐能 正剛, 北村 繁幸,
太田茂, 水環境中医薬品の紫外線によ
る分解物生成と水棲生物毒性変動, 日
本トキシコロジー学会 2010年6月16
日-18日 宜野湾市

- ⑱. 杉原数美, 黒瀬川の水質汚染調査報告,
平成 22 年度 東広島市公衆衛生協議会
総会 2010 年 4 月 22 日 東広島市

[図書] (計 4 件)

- ①. Kitamura,S., Sugihara,K., Fujimoto,N., Yamazaki,T., Organophosphates as Endocrine Disruptor, in *Anticholinesterase pesticides.* 14 2010, Wiley and Sons Ltd,
- ②. Kitamura, Shigeyuki; Sugihara, Kazumi; Nakamura, Kazuo; Yaichiro Kotake; Kashiwagi, Akihiko; Fujimoto, Nariaki, Endocrine Disruption in Toxic Responses. In Ballantyne Bryan (ed), *the 3rd Edition of General and Applied Toxicology,*, Wiley and Sons Ltd 2009
- ③. Sugihara, Kazumi. SCREENING OF AhR-BINDING, ESTROGENIC AND ANTIANDROGENIC ACTIVITIES OF BENZOPHENONE DERIVATIVES USED AS UV STABILIZERS AND SUNSCREENS., *POPs in Asia*, pp193-19, 2008
- ④. Kitamura Shigeyuki, Sugihara, Kazumi et al., THYROID HORMONAL AND ESTROGENIC ACTIVITIES OF HYDROXYLATED PCB AND BROMINATED FLAME RETARDANT IN CELL CULTURE, *JME, POPs in Asia*, pp193-195, 2008

6. 研究組織

(1) 研究代表者

杉原 数美 (SUGIHARA KAZUMI)
広島国際大学・薬学部・准教授
研究者番号：20271067

(2) 研究分担者

太田 茂 (OHTA SHIGERU)
広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：60160503

北村 繁幸 (KITAMURA SHIGEYUKI)
日本薬科大学・薬学部・教授
研究者番号：40136057

(3) 連携研究者

西嶋 渉 (NISHIJIMA WATARU)
広島大学・環境安全センター・教授
研究者番号：20243602