

令和5年3月13日
有害性評価分科会

令和4年度 有害性評価分科会の検討結果に関する報告

目次

1. 背景・目的.....	1
2. 分科会の開催概要.....	1
3. 方法.....	2
3.1. 基本的な考え方.....	2
3.2. 文献査読の進め方.....	2
(1) 査読対象とすべき文献の母集団の設定（事務局）.....	2
(2) 水生生物への粒子影響を評価している文献のスクリーニング（事務局）.....	3
(3) タイトル、アブストラクト情報に基づく一覧表の整理（事務局）.....	3
(4) 個票の作成（事務局）.....	4
(5) 文献査読（委員）.....	5
(6) 文献査読結果の取りまとめ（事務局）と分科会での議論（委員）.....	5
4. スクリーニング及び査読の結果及び考察.....	6
4.1. スクリーニングの結果.....	6
4.2. 査読対象とした文献の全体的な傾向.....	6
4.3. 有害性データの精査の方法.....	7
(1) 文献査読に関する論点.....	7
(2) 次年度以降の文献査読の優先順位（案）.....	8
4.4. 文献査読の結果（パイロットスタディ）.....	9
5. 今年度の成果に係るまとめ.....	13
6. 今後の進め方.....	14
7. 別添.....	15
7.1. 委員名簿.....	15
7.2. 開催概要.....	15
7.3. 査読対象とした文献と査読担当者.....	16
7.4. MPsの有害性データの信頼性の評価・採用の可能性を考える際の観点（案）.....	19

1. 背景・目的

マイクロプラスチック（以下、「MPs」という。）そのもの（粒子）や、MPsに残留している添加剤、環境中からMPsに吸着してきた化学物質による生物・生態系影響に係る知見が限られているため、当該環境課題に対して定量的なリスク評価に基づく適切な判断を行えない状況にある。

そこで本年度は、比較的情報量が多い「MPsの水生生物への粒子影響」を評価するために必要な毒性データの要件や信頼性評価の方法等について検討を行うことを目的として、有害性評価分科会を設置した。

2. 分科会の開催概要

本年度の検討は10名の有識者により（7.1節参照）、魚類・甲殻類・藻類に対する文献の読み合わせも含めて計6回開催した（7.2節参照）。

3. 方法

3.1. 基本的な考え方

水生生物への粒子影響を検討するにあたり、有害性情報を効率的に収集するため、論文で報告されている有害性値（LOEC/NOEC、E(L)C₅₀等）が小さな文献から優先的に査読対象とすることとした。

化学物質の有害性評価において一般的には慢性影響/急性影響は分けて考えるが、MPsで捉えるべきエンドポイントを踏まえて設定する必要があることから、査読の段階では区別せずに扱うこととした。また、水生生物の生物類型は化学物質の生態評価手法¹を参考に魚類/甲殻類/藻類の3類型とし、ここに当てはまらないその他の生物類型は記録に残すことに留め、文献査読の対象からは一旦除外した。

今年度の文献査読の目的は、以下の3点とした。

- 1) 近年MPsの生態影響に関する学術論文数は右肩上がりが増えており、文献査読を効率的に行うために「文献査読の対象とする論文の採用基準」を整理すること
- 2) 文献査読の際に注目すべき論点（例：前処理の有無、採用されているエンドポイント等）を整理すること
- 3) 個別文献の査読を通して、現時点で採用可能な有害性データを整理すること

3.2. 文献査読の進め方

(1) 査読対象とすべき文献の母集団の設定（事務局）

査読対象とする学術文献を漏れなく抽出するため、複数の無料文献検索サービス（PubMed²、J-GLOBAL³）を使い、2000年以降に公開されたMPsに関する学術論文（有害性影響以外の文献も含む）を網羅的に検索した。検索の際に用いたキーワードは図表3.1の通りとし、全てOR条件で検索を行った。

図表 3.1 検索時のキーワード

マイクロプラスチック関連	ナノプラスチック関連	プラスチック破片関連
Microplastic	Nanoplastic	plastic particle
Microplastics	Nanoplastics	plastic particles
micro plastic	nano plastic	plastic debris
micro plastics	nano plastics	
micro-sized plastic	nano-sized plastic	
micro-sized plastics	nano-sized plastics	
micro sized plastic	nano sized plastic	
micro sized plastics	nano sized plastics	
plastic microparticle	plastic nanoparticle	
plastic microparticles	plastic nanoparticles	
plastic microsphere		
plastics microsphere		

¹ <https://www.env.go.jp/chemi/sesaku/seitai.html>

² <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

³ <https://jglobal.jst.go.jp/>

さらに、Besseling et al.(2019)⁴、Burns & Boxall (2018)⁵等で作成されている種の感受性分布 (SSD) に使用されている有害性データも確認することで、漏れ落ちを防ぐこととした。上記の作業により、MPs について言及している約 1 万報を母集団とした。

(2) 水生生物への粒子影響を評価している文献のスクリーニング (事務局)

(1) で示した母集団の中から、MPs の水生生物への影響を評価している文献のスクリーニングを行った。具体的には、文献のタイトルとアブストラクトから読み取れる範囲で判断を行い、図表 3.2 に示す 3 つの類型に整理すると共に、類型 (ア) を対象として、次の作業に進めた。

図表 3.2 文献のスクリーニング

類型	類型の定義
(ア) 水生生物に対する粒子影響を評価する試験	✓ MPs を水中濃度 (mg/L、個/L 等) でコントロールしている試験 (摂取量や排泄量のみを測定対象としたもの、in vitro 試験等は含めない)
(イ) 水生生物に対する化学物質影響を評価する試験	✓ MPs に吸着した化学物質やプラスチック添加剤の影響を見ている試験
(ウ) 底生生物に対する試験	✓ MPs を底質濃度 (mg/g、個/g 等) でコントロールしている試験

(3) タイトル、アブストラクト情報に基づく一覧表の整理 (事務局)

文献のタイトル、アブストラクトから、生物種、MPs の粒径・素材・形状、影響の出た濃度等の情報を可能な限り読み取り、整理した。また、影響が出た濃度に関して、個数濃度は重量濃度に別途換算して表示させた⁶。一部の文献については、個数濃度を重量濃度に換算するための情報を得るため、文献を個別に取り寄せて中身を確認した。

⁴ Besseling, E., Redondo-Hasselerharm, P., Foekema, E.M., Koelmans, A.A., 2019. Quantifying ecological risks of aquatic micro- and nanoplastic. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 49, 32–80. <https://doi.org/10.1080/10643389.2018.1531688>

⁵ Burns, E.E., Boxall, A.B.A., 2018. Microplastics in the aquatic environment: Evidence for or against adverse impacts and major knowledge gaps. *Environmental Toxicology and Chemistry* 37, 2776–2796. <https://doi.org/10.1002/etc.4268>

⁶ 球状・フラグメント状の MPs については密度を 1 と仮定し、次の計算式で重量濃度に換算した。なお、ファイバー形状の試験については、重量濃度への換算方法については別途検討することとした。
重量 = $4/3 \times \pi \times (L/2)^3 \times 1$

(4) 個票の作成（事務局）

(3) で整理した文献に基づき、影響濃度（重量濃度）が小さい順に魚類 20 報、甲殻類 10 報、藻類 10 報を選定して個票を作成した。個票の整理項目を図表 3.3 に示す。

図表 3.3 個票の整理項目

文献 No.			
試験 No.			
文献情報	著者名		
	論文名		
	書誌		
MPs について	Test No		
	分子量		
	取得方法 (標準品購入、自身で作成、環境中から採取、製品から抽出)		
	前処理方法		
	粒径	下限	
		上限	
		標準偏差	
		算術平均値	
		中央値	
		単位	
		備考	
	素材		
	形状		球状/フラグメント/ファイバー
	備考		
	設定濃度	個数濃度	濃度区
		重量濃度	濃度区
	実測濃度	個数濃度	濃度区
重量濃度		濃度区	
ばく露期間		値	
		単位	
実験条件について	参考にしたテストガイドライン、GLP 準拠		
	水温(°C)	下限	
		上限	
		標準偏差	
	pH	下限	
		上限	
		標準偏差	
	1 濃度区あたりの繰り返し数		
	1 水槽あたりの個体数		
	換水方法		
試験中における粒子の分散・攪拌方法			
影響について	供試生物名称		
			分類
			日齢
	影響	エンドポイント	
		LOEC 等	
		不等号	
		値	
		単位	
		用量応答関係(あり/なし)	
備考(結果の統計的手法)			
特記事項			

(5) 文献査読（委員）

事務局が（4）の整理項目に整えた各文献の個票を委員に送付し、個票の記載内容の確認と、試験の信頼性の確認、MPs の有害性（粒子影響）を評価する際の留意点等について査読を行った。なお、効率的に査読を実施することを念頭に、1 文献に対する査読は 1 委員が行い、査読結果を分科会で他委員に対して紹介するという形をとった。

(6) 文献査読結果の取りまとめ（事務局）と分科会での議論（委員）

文献査読の結果は、分科会において各委員から担当分を紹介する形とした。また、事務局は査読結果を事前に集約し、コメントを踏まえて論点を設定することで、MPs の有害性（粒子影響）に関する試験データの査読のあり方についての議論を行った。

4. スクリーニング及び査読の結果及び考察

4.1. スクリーニングの結果

2000年以降に公開されたMPsに関する論文約1万報を母集団としてスクリーニングを実施した結果、水生生物を対象とした粒子影響に関する文献は531報抽出された。このうち、影響濃度の重量濃度への換算が可能であった487報を対象とした。内訳は魚類143報、甲殻類107報、藻類53報、その他生物種184報であった。

487報のうち、アブストラクトの中で比較的低い影響濃度が示されている文献を中心に、魚類20報、甲殻類10報、藻類10報の査読を行った。

査読対象とした文献一覧を別添(7.3節)に示す。

4.2. 査読対象とした文献の全体的な傾向

- ✓ 約半数の文献において、供試粒子は粒径が $1\mu\text{m}$ 以下のいわゆるナノプラスチック（以降「NPs」という）を用いており、水中での凝集状況等がMPsを用いた試験とは異なる可能性があるが、それを判断可能な検証が行われている文献は少なかった。
- ✓ 魚類については、「分子レベル、細胞レベル、組織レベルの変動」のみを観測している論文が多く、「生物個体レベルの影響」をエンドポイントとして観測している論文は20報中9報と限定的であった。他方、甲殻類や藻類については、「生物個体レベルの影響」をエンドポイントとして観測している文献も多く見られた。
- ✓ 試験中のMPsの水中濃度を実測している文献は全40報中4報のみであり、設定濃度の通りに生物がばく露されていることを確認できる文献は限定的であった。
- ✓ 試験中のMPsの水中での分散・懸濁状態を保つ方法として、約半数の論文でエアレーション・分散剤の使用・物理的攪拌等の記載が確認できたが、残り半数の論文では記載を確認できなかった。
- ✓ 試験に供されたMPsが試薬会社から購入された標準品の場合、水中に懸濁させるために分散剤等を使用したものが流通している。またプラスチック製品の機能を維持したり、新たな機能を付与したりするために、通常はプラスチック原料に添加剤が含有されている。今回は粒子影響に焦点を当てて検討を行うため、これら化学物質による影響はできる限り排除すべきと考えたが、粒子に対する前処理について記載がある文献は40報中8報のみであり、観測された影響がMPs粒子によるものなのか、化学物質によるものなのかを判断できない文献が多かった。発現したエンドポイントはそれら両方を含む影響と考えることができる。

4.3. 有害性データの精査の方法

(1) 文献査読に関する論点

文献の査読にあたり、MPs の有害性データの質の評価方法について議論した。具体的には、以下の観点について議論した。

- ✓ 近年指数関数的に文献が増えており、文献査読において作業をどのように効率的に進めるべきか。
- ✓ MPs による有害性を把握するための標準化された試験方法がない中で、どのように文献査読を進めていくべきか。

本分科会では上記の論点を念頭に置き、MPs に対して水生生物を用いた有害性試験を行い、その粒子影響を報告している文献の査読を通じて、有害性データの信頼性の評価・採用の可能性を考える際の観点が各委員から指摘されたため、これを整理することとした。当該内容を「MPs 特有の留意すべき事項（図表 4.1）」と「一般的な水生生物の有害性評価でも留意すべき事項（図表 7.4）」の 2 種類に分けた。なお、これらの観点は各委員からの指摘をベースにまとめたものであり、今後ブラッシュアップしていくべき位置付けにあるものである。MPs 特有の留意すべき事項については以下の通り。

図表 4.1 MPs の有害性データの信頼性の評価・採用の可能性を考える際の観点（案）
（MPs 特有の留意すべき事項）

有害性データの信頼性の評価・採用の可能性を考える際の観点	観点として注目した理由	備考※
ナノサイズのプラスチック粒子を使用	<ul style="list-style-type: none"> ✓ ナノサイズの粒子の場合、生物細胞への侵入や体表への影響（脱皮阻害）等もあると考えられ、マイクロサイズの粒子とは別物として考える必要があるため。 ✓ 生物が摂取している量（生物利用可能量）をばく露濃度とする必要があるが、ナノサイズの粒子とマイクロサイズの粒子では生物への取り込み量が異なる可能性があるため。 	
マイクロサイズのプラスチック粒子を使用	<ul style="list-style-type: none"> ✓ マイクロサイズの粒子を微細藻類が摂取する可能性は低く、MPs による影響は小さいと考えられるため。 	
表面処理した MPs を使用	<ul style="list-style-type: none"> ✓ NH₂ 基を付加する等の表面処理された MPs を使用している場合、付加なしの MPs と比べて毒性が異なる可能性があるため。 	①
MPs に対する前処理について記載なし	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 試験の結果示された有害性が添加剤による影響を受けている可能性があるため。 	①②③
自身で作成・調製した MPs を使用	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 作成した MPs に混ざっている小さな粒子を除去していなければ NPs を多量にばく露している可能性があるため。 ✓ すりつぶして作成している場合、MPs の形状がいびつであったり金属片が混入している可能性があるため。 	①②③

※生態影響に関する信頼性評価について整理している先行文献（2 報）及び過年度の検討において言及がある観点について、参考としてフラグを立てた。具体的には、Kokalj et al (2021)⁷で言及がある観点には

⁷ Kokalj, A.J., Hartmann, N.B., Drobne, D., Potthoff, A., Kühnel, D., 2021. Quality of nanoplastics and microplastics ecotoxicity studies: Refining quality criteria for nanomaterial studies. *Journal of Hazardous Materials* 415, 125751. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125751>

（ナノマテリアルの有害性評価の信頼性について検討している Fernández-Cruz et al. (2017) をベースにし、MPs を用いた水生生物の有害性試験に係る質や信頼性を確認するための基準の検討結果が報告）

①、de Ruijter et al (2020)⁸で言及がある観点には②、過年度業務で言及がある観点には③を付与した。

なお、図表 4.1 の観点到収まらない MPs 特有の留意すべき事項には以下のような点があり、文献の情報収集の際に留意すべき点として別途整理した。

- ✓ [MPs の素材の比重] 素材の比重によって分散状態（水中に浮かんでいるのか、沈んでいるのか）をある程度判断可能であり、情報収集の際に留意が必要。
- ✓ [MPs の精製方法] MPs の精製方法によって凝集しやすさが異なると考えられるため、情報収集の際に留意が必要。
- ✓ [エンドポイント] 生物個体レベルのエンドポイントには、魚類であれば体表面・えらへの付着による影響や遊泳速度の変化を始めとする行動影響、甲殻類であれば脱皮への影響、藻類であれば粒子の遮光による光合成阻害や物理的凝集等、固体粒子特有の影響もあると考えられるため、情報収集の際に留意が必要。

(2) 次年度以降の文献査読の優先順位（案）

次年度以降の文献査読を効率的に実施するため、図表 4.1、図表 7.4 の観点の中から査読の優先順位を下げても良いと考えられる有害性試験の種類について議論し、以下の通り整理した。

MPs 特有の留意すべき事項（図表 4.1）

- ✓ ナノサイズのプラスチック粒子を使用している試験

一般的な水生生物の有害性評価でも留意すべき事項（図表 7.4）

- ✓ 分子/細胞/組織レベルのエンドポイントのみを観察している試験
- ✓ コントロール群が設定されていない試験
- ✓ コントロール群で異常が生じている試験

なお、ナノサイズのプラスチック粒子を供試している試験は今後も文献査読の対象外とするのではなく、まずはマイクロサイズのプラスチックを優先的に検討すべきと考える。マイクロサイズとナノサイズは生物影響の観点から別物として考える必要があるため、ナノサイズのプラスチック粒子を使用している試験については優先順位を下げることを提案したい。

⁸ de Ruijter, V.N., Redondo-Hasselerharm, P.E., Gouin, T., Koelmans, A.A., 2020. Quality Criteria for Microplastic Effect Studies in the Context of Risk Assessment: A Critical Review. Environ. Sci. Technol. 54, 11692–11705. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c03057>

（MPs を用いた水生生物の有害性試験に係る質や信頼性を確認するための基準の検討結果が報告）

4.4. 文献査読の結果（パイロットスタディ）

個別文献の査読を通して、査読委員により採用可能として報告された知見を整理することができたため、パイロットスタディの位置付けで、この結果を一覧表として整理した。ただし、査読した委員が採用可能として報告した知見を示したものであり、分科会としての結論をまとめたものではない。

以下に、4.3 (2) に示す優先順位の考え方（4点）に沿って有害性データを抽出・整理した。整理結果を図表 4.2（重量濃度で試験されたデータ）、図表 4.3（個数濃度で試験されたデータ）にそれぞれ示す。なお、査読を担当した専門家判断により MPs のリスク評価として採用が困難と個別に判断された有害性データ⁹については下表には含めなかった。

最後に、採用可能として報告された知見をもとに作成した、有害性データのマッピングを図表 4.4 に示す。今後も当該優先順位に従い査読を行い、グラフのプロットを増やしていくことで、オーダーレベルでの有害性値が明らかになってくると考える。また、データを蓄積していくことにより、粒径、素材、形状等の様々な切り口での分析が可能になると考える。

⁹ 例えば、「論文で提案されているエンドポイント及び LOEC は推測に基づいており確実な証拠に欠け、結論を導く論理に飛躍がある」「論文が提案する試験方法で藻類の増殖をきちんと評価できているかについて疑義がある」「藻類試験開始後 3～7 日のデータで評価すべきだがその期間の情報が掲載されていない」「MPs 濃度と影響とが逆の関係を示しており別の影響を見ている可能性がある」等との査読コメントを受けた試験が該当。

図表 4.2 査読委員により採用可能として報告された知見（重量濃度で実施されたもの）※

文献 No.	試験 No.	文献情報	供試 MPs				実験方法				実験結果			備考	
		著者名	取得方法	前処理方法	粒径 (μm)	素材	形状	設定濃度 (μg/L)	ばく露期間	分散・攪拌方法	供試生物	エンドポイント	有害性指標		値 (μg/L)
甲殻類-1	1	Kim & Rhee (2021)	標準品	-	1	PS	球状	0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 50, 100, 500	14 日	-	Moina macrocopa	死亡(F1)	LOEC	0.1	
魚類-17	26	Wang et al (2021)	標準品	超音波処理	2	PS	球状	0, 2, 20, 200	150 日	-	Oryzias melastigma	胚・仔魚の成長	LOEC	≤ 2	
魚類-15	23	Yang et al (2020)	標準品	-	5	PS	球状	0, 10, 100, 1,000	7 日	-	Carassius auratus	成長抑制(体長)、ROS の増加	LOEC	10	
魚類-9	14	Wang et al (2019)	標準品	超音波処理	10	PS	球状	0, 2, 20, 200	60 日	-	Oryzias melastigma	雌の生殖腺重量の減少	LOEC	20	
魚類-19	28	Zhao et al (2020)	標準品	超音波処理	5	PS	球状	0, 20, 100	21 日	-	Zebrafish	体重減少	LOEC	20	試験条件に疑義があり条件付き採用
藻類-7	12	Kong et al (2021)	標準品	-	3	PS	球状	0, 400, 800, 1,600, 2,000	-	フラスコ振とう	Microcystis aeruginosa	増殖率の低下	LOEC	≤ 400	
	12 日								フラスコ振とう	Ochromonas gloeopara/Microcystis aeruginosa	捕食者の摂餌率の低下	LOEC	≤ 400		
藻類-9	20	Zhang et al (2017)	作製	-	1	PVC	球状	0, 1,000, 5,000, 10,000, 50,000	96 時間	フラスコ振とう	Skeletonema costatum	成長阻害	LOEC	≤ 1,000	
魚類-7	8	Lei et al (2018)	作製	超音波処理	70	PA, PE, PP, PVC それぞれ	フラグメント	0, 1, 10, 100, 1,000, 10,000	10 日	曝気	Danio rerio	腸への影響	LOEC	1,000	
魚類-6	7	Chen et al (2020)	標準品	-	5	PS	球状	0, 1, 10, 100, 250, 500, 1,000, 2,000, 10,000, 20,000	7 日	ガラス棒で攪拌	Zebrafish	筋肉量の減少	LOEC	10,000	

※3種の生物種に対する有害性データを影響濃度の昇順で表示

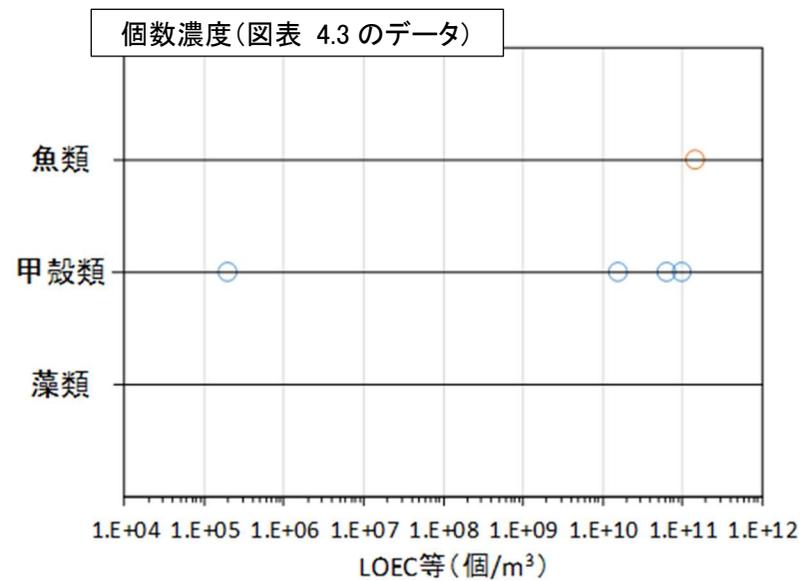
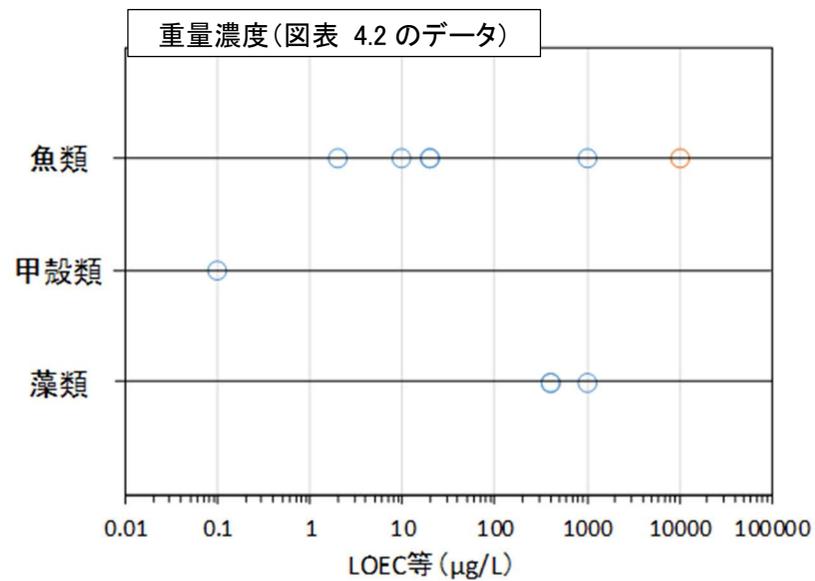
図表 4.3 査読委員により採用可能として報告された知見（個数濃度で実施されたもの）※

文献 No.	試験 No.	文献情報	供試 MPs				実験方法				実験結果			備考 ¹⁰ ($\mu\text{g/L}$)への換算	
		著者名	取得方法	前処理方法	粒径 (μm)	素材	形状	設定濃度 (個/mL)	ばく露期間	分散・攪拌方法	供試生物	エンドポイント	有害性指標		値 (個/mL)
甲殻類-7	36	Rodríguez-Torres et al (2020)	標準品	-	20.7(13.9-30.3)	PE	球状	0, 0.2, 20	6 日	-	Calanus finmarchicus / C. glacialis / C. hyperboreus	卵生産率、卵サイズ	LOEC	≤ 0.2	
甲殻類-3	6	Jaikumar et al (2018)	標準品	-	1-5	-	球状	0, 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7	96 時間	定期的にピペッティング	Daphnia magna	死亡	48h-LC50	$10^{4.2}$ -10^{32}	2×10^2 -1×10^{30}
	8		作製	遠心分離	1-10	PE	フラグメント						48h-LC50	$10^{4.8}$ -10^{10}	5×10^3 -9×10^8
甲殻類-9	42	Bosker et al (2019)	標準品	-	4.1(1-5)	PS	球状	$0, 10^2, 10^3, 10^4, 10^5$	21 日	定期的にピペッティング、曝気	Daphnia magna	総個体数、総バイオマス	LOEC	10^5	4×10^3
魚類-6	7	Chen et al (2020)	標準品	-	5	PS	球状	0, 14.5, 145, 1,450, 3,625, 7,250, 14,500, 29,000, 145,000	7 日	ガラス棒で攪拌	Zebrafish	筋肉量の減少	LOEC	$10^{5.16}$	

※3 種の生物種に対する有害性データを影響濃度の昇順で表示

¹⁰ 球状かつ密度を 1 と仮定し、次の計算式で重量濃度に換算した。

$$\text{重量} = 4/3 \times \pi \times (L/2)^3 \times 1$$



図表 4.4 図表 4.2、図表 4.3 に示した有害性データのマッピング (試案)
 ※橙色の○は重量濃度、個数濃度共に論文中に記載があった文献「魚類・6」のもの。

5. 今年度の成果に係るまとめ

- ✓ 低濃度で影響が見られた文献の中から、魚類 20 報、甲殻類 10 報、藻類 10 報を選定して文献査読を行った。具体的には、事務局が個票を作成し、各委員が有害性試験としての妥当性等について確認した上で分科会にてその結果を報告した。各委員は 1 人あたり魚類 2 報、甲殻類 1 報、藻類 1 報を担当した。
- ✓ 近年 MPs の生態影響に関する学術論文数は右肩上がりが増えてきているため、今後の文献査読を効率的に行うために「文献査読の対象とする論文の採用基準」について検討を行ったが、採用の妥当性の確認は具体的に個別文献の中身を確認する必要があるため、採用基準の整理は行わなかった。
- ✓ 分科会での議論に基づき、「MPs の有害性データの信頼性の評価・採用の可能性を考える際の観点」を取りまとめた（図表 4.1、図表 7.4 参照）。
- ✓ 次年度以降の文献査読を効率的に実施するため、図表 4.1、図表 7.4 の観点の中から査読の優先順位を下げても良いと考えられる有害性試験の種類について議論し、以下の通り整理した。

MPs 特有の留意すべき事項

- ・ナノサイズのプラスチック粒子を使用している試験¹¹

一般的な水生生物の有害性評価でも留意すべき事項

- ・分子/細胞/組織レベルのエンドポイントのみを観察している試験
- ・コントロール群が設定されていない試験
- ・コントロール群で異常が生じている試験

- ✓ 上記の優先順位の考え方を踏まえ、本年度の文献査読の結果を再整理した結果、現時点で採用可能と思われる有害性データをパイロットスタディの位置付けで整理した（図表 4.2、図表 4.3 参照）。（査読した委員が採用可能として報告した知見を示したものであり、分科会としての結論をまとめたものではない）

¹¹ ナノサイズのプラスチック粒子を供試している試験は今後も文献査読の対象外とするのではなく、本分科会の目的は MPs のリスク評価に向けて有害性評価を行うことであり、まずはマイクロサイズのプラスチックを優先的に対象にするべきとの観点から、ナノサイズのプラスチック粒子を供試している試験については優先順位を下げることにした。

6. 今後の進め方

- ✓ MPs の生態影響の文献査読にあたっては、効率的にスピード感を持って検討を進める必要があるため、影響濃度の小さな文献を優先的に査読対象とし、今年度検討を行った優先順位の考え方に基づいて知見を積み上げていく。また、有害性が報告されなかった文献についても着目し、知見等を整理する。
- ✓ 魚類、甲殻類、藻類に限らず、生物濾過をする底生生物等も査読対象として広げ、種の特性も考慮し、感受性が高い生物が存在し得るのかについても引き続き確認する。
- ✓ 本年度は分子/細胞/組織レベルのエンドポイントのみを観察している試験の優先順位を下げるという形で取りまとめを行ったが、「何を以って個体レベルのエンドポイントと判断するか」等の詳細な議論は行わなかった。次年度は当該課題について議論を深めていく。
- ✓ 次年度以降、ナノサイズのプラスチック粒子を使用している文献査読の優先順位を下げることを提案する。有害性の観点では、数 μm の粒子は細胞へ侵入するとの報告もあり、マイクロサイズとナノサイズの粒子は別物として考える必要があると言える。ばく露の観点では、現時点（2023年3月現在）において、環境中で実測可能な粒径は10 μm 以上とされているものの、今後の分析手法の高度化に伴って実測下限値は下がっていくと考えられる。以上の背景より、有害性の文献査読における対象粒径は「1 μm 以上（マイクロオーダー）」を提案する。また、評価を行う際は、対象とする生物種、影響メカニズム、エンドポイント等を考慮し、粒径レンジを1~10 μm 、10~100 μm といった一定の区分に分けて検討を行うことを提案する。
- ✓ MPs に残留している添加剤の影響評価は、製造・使用段階からプラスチック製品の廃棄段階にわたる、化学物質のライフサイクル全体での包括的な評価が必要となるため、非常に幅広い観点からの取扱いが必要となる。そのため、すべてを取り扱うのは困難なため、本分科会では、MPs に残留している添加剤による生物影響にスコープを絞り検討を行うことを提案する。考え方については、以下に整理した。
 - 現在公表されている MPs の有害性試験の多くは、前処理されたかどうかは定かではない MPs や自身で作成・調製した MPs を主に使用しており、MPs に残留している添加剤（市販の標準品に添加されている分散剤や殺菌剤等ではなく、プラスチック製品の機能を維持したり、新たな機能を付与したりするために、プラスチック原料に添加される化学物質のことを指す）の影響を排除することができていないと考えられる。そのため、これらの結果から得られた試験結果は粒子影響と添加剤影響の両方を見ている可能性が高いが、厳密に切り分けて評価することは現時点では困難である。したがって、文献査読の段階で、MPs の前処理の有無や MPs の入手方法については重点的に確認するものの、粒子影響と添加剤影響をあえて区別することはせず、発現したエンドポイントはそれら両方を含む影響と認識し、査読を行っていく。

7. 別添

7.1. 委員名簿

委員名簿は図表 7.1 の通り。

図表 7.1 委員名簿

氏名 (敬称略、五十音順)	所属
岩崎 雄一	国立研究開発法人産業技術総合研究所 エネルギー・環境領域 安全科学研究部門 主任研究員
宇野 誠一	鹿児島大学 水産学部附属海洋資源環境教育研究センター 水圏環境保全学分野 環境保全学研究室 教授
大久保 信幸	国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所 環境保全部 グループ長
大嶋 雄治 (座長)	九州大学大学院 農学研究院 水産生物環境学研究室 教授
金 禧珍	長崎大学 総合生産科学域(水産学系) 准教授
鐘迫 典久	愛媛大学大学院 農学研究科 生物環境学専攻 教授
仲山 慶	愛媛大学 沿岸環境科学研究センター 化学汚染・毒性解析部門 講師
羽野 健志	国立研究開発法人水産研究・教育機構 水産技術研究所 環境保全部 化学物質グループ 主任研究員
渡部 春奈	国立研究開発法人国立環境研究所 環境リスク・健康領域 生態毒性研究室 主任研究員
山本 裕史 (副座長)	国立研究開発法人国立環境研究所 環境リスク・健康領域 副領域長

7.2. 開催概要

分科会の開催日時と議題は図表 7.2 の通り。

図表 7.2 分科会の開催日時と議題

回数	開催日時	議題
第 1 回	令和 4 年 9 月 2 日 (ばく露等評価分科会と 合同開催)	(1)分科会の設置について (2)昨年度の概要と体制案について (3)今年度の方針とリスク評価検討委員会でのご意見 (4)今年度の検討手順について (5)今後のスケジュールについて
第 2 回	令和 4 年 10 月 15 日	(各委員による文献の読み合わせ)
第 3 回	令和 4 年 11 月 21 日	(1)第 3 回有害性評価分科会での検討内容と本日の進め方について (2)査読いただいた 20 報の文献の概要について (3)MPs の粒子毒性試験における論点について (4)今後のスケジュール
第 4 回	令和 4 年 12 月 26 日	(各委員による文献の読み合わせ)
第 5 回	令和 4 年 2 月 28 日	(1)これまでの検討内容と本日の進め方について (2)査読いただいた 20 報の文献の概要について (3)藻類、甲殻類における論点と今後の進め方について (4)今後のスケジュール
第 6 回	令和 5 年 2 月 28 日 (ばく露等評価分科会と 合同開催)	(1)今年度のばく露等評価分科会の検討結果に関する報告 (2)今年度の有害性評価分科会の検討結果に関する報告 (3)総合討論 (4)今後のスケジュール

7.3. 査読対象とした文献と査読担当者

査読対象とした文献と査読担当者一覧は図表 7.3 の通り。

図表 7.3 査読対象とした文献と査読担当者一覧

生物種	文献 No	文献情報
魚類	魚類-1	Gu, H., Wang, S., Wang, X., Yu, X., Hu, M., Huang, W., Wang, Y., 2020. Nanoplastics impair the intestinal health of the juvenile large yellow croaker <i>Larimichthys crocea</i> . <i>Journal of Hazardous Materials</i> 397, 122773. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122773
	魚類-2	Guimarães, A.T.B., Estrela, F.N., Pereira, P.S., de Andrade Vieira, J.E., de Lima Rodrigues, A.S., Silva, F.G., Malafaia, G., 2021. Toxicity of polystyrene nanoplastics in <i>Ctenopharyngodon idella</i> juveniles: A genotoxic, mutagenic and cytotoxic perspective. <i>Science of The Total Environment</i> 752, 141937. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141937
	魚類-3	Guimarães, A.T.B., Estrela, F.N., Rodrigues, A.S. de L., Chagas, T.Q., Pereira, P.S., Silva, F.G., Malafaia, G., 2021. Nanopolystyrene particles at environmentally relevant concentrations causes behavioral and biochemical changes in juvenile grass carp (<i>Ctenopharyngodon idella</i>). <i>Journal of Hazardous Materials</i> 403, 123864. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123864
	魚類-4	Balasz, J.C., Brandts, I., Barría, C., Martins, M.A., Tvarijonavičiute, A., Tort, L., Oliveira, M., Teles, M., 2021. Short-term exposure to polymethylmethacrylate nanoplastics alters muscle antioxidant response, development and growth in <i>Sparus aurata</i> . <i>Marine Pollution Bulletin</i> 172, 112918. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112918
	魚類-5	Teng, M., Zhao, X., Wang, Chengju, Wang, Chen, White, J.C., Zhao, W., Zhou, L., Duan, M., Wu, F., 2022. Polystyrene Nanoplastics Toxicity to Zebrafish: Dysregulation of the Brain-Intestine-Microbiota Axis. <i>ACS Nano</i> 16, 8190-8204. https://doi.org/10.1021/acsnano.2c01872
	魚類-6	Chen, Q., Lackmann, C., Wang, W., Seiler, T.-B., Hollert, H., Shi, H., 2020. Microplastics Lead to Hyperactive Swimming Behaviour in Adult Zebrafish. <i>Aquatic Toxicology</i> 224, 105521. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105521
	魚類-7	Lei, L., Wu, S., Lu, S., Liu, M., Song, Y., Fu, Z., Shi, H., Raley-Susman, K.M., He, D., 2018. Microplastic particles cause intestinal damage and other adverse effects in zebrafish <i>Danio rerio</i> and nematode <i>Caenorhabditis elegans</i> . <i>Science of The Total Environment</i> 619-620, 1-8. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.103
	魚類-8	Brandts, I., Barría, C., Martins, M.A., Franco-Martínez, L., Barreto, A., Tvarijonavičiute, A., Tort, L., Oliveira, M., Teles, M., 2021. Waterborne exposure of gilthead seabream (<i>Sparus aurata</i>) to polymethylmethacrylate nanoplastics causes effects at cellular and molecular levels. <i>Journal of Hazardous Materials</i> 403, 123590. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123590
	魚類-9	Wang, J., Li, Y., Lu, L., Zheng, M., Zhang, X., Tian, H., Wang, W., Ru, S., 2019. Polystyrene microplastics cause tissue damages, sex-specific reproductive disruption and transgenerational effects in marine medaka (<i>Oryzias melastigma</i>). <i>Environmental Pollution</i> 254, 113024. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113024
	魚類-10	Rangasamy, B., Malafaia, G., Maheswaran, R., 2022. Evaluation of antioxidant response and Na ⁺ -K ⁺ -ATPase activity in zebrafish exposed to polyethylene microplastics: Shedding light on a physiological adaptation. <i>Journal of Hazardous Materials</i> 426, 127789. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127789

生物種	文献 No	文献情報
魚類	魚類-11	Mak, C.W., Ching-Fong Yeung, K., Chan, K.M., 2019. Acute toxic effects of polyethylene microplastic on adult zebrafish. <i>Ecotoxicology and Environmental Safety</i> 182, 109442. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109442
	魚類-12	Qiang, L., Cheng, J., 2021. Exposure to polystyrene microplastics impairs gonads of zebrafish (<i>Danio rerio</i>). <i>Chemosphere</i> 263, 128161. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128161
	魚類-13	Umamaheswari, S., Priyadarshinee, S., Kadirvelu, K., Ramesh, M., 2021. Polystyrene microplastics induce apoptosis via ROS-mediated p53 signaling pathway in zebrafish. <i>Chemico-Biological Interactions</i> 345, 109550. https://doi.org/10.1016/j.cbi.2021.109550
	魚類-14	Umamaheswari, S., Priyadarshinee, S., Bhattacharjee, M., Kadirvelu, K., Ramesh, M., 2021. Exposure to polystyrene microplastics induced gene modulated biological responses in zebrafish (<i>Danio rerio</i>). <i>Chemosphere</i> 281, 128592. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128592
	魚類-15	Yang, H., Xiong, H., Mi, K., Xue, W., Wei, W., Zhang, Y., 2020. Toxicity comparison of nano-sized and micron-sized microplastics to Goldfish <i>Carassius auratus</i> Larvae. <i>Journal of Hazardous Materials</i> 388, 122058. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122058
	魚類-16	Huang, J.-N., Wen, B., Xu, L., Ma, H.-C., Li, X.-X., Gao, J.-Z., Chen, Z.-Z., 2022a. Micro/nano-plastics cause neurobehavioral toxicity in discus fish (<i>Symphysodon aequifasciatus</i>): Insight from brain-gut-microbiota axis. <i>Journal of Hazardous Materials</i> 421, 126830. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126830
	魚類-17	Wang, J., Zheng, M., Lu, L., Li, X., Zhang, Z., Ru, S., 2021. Adaptation of life-history traits and trade-offs in marine medaka (<i>Oryzias melastigma</i>) after whole life-cycle exposure to polystyrene microplastics. <i>Journal of Hazardous Materials</i> 414, 125537. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125537
	魚類-18	Huang, J.-N., Zhang, Y., Xu, L., He, K.-X., Wen, B., Yang, P.-W., Ding, J.-Y., Li, J.-Z., Ma, H.-C., Gao, J.-Z., Chen, Z.-Z., 2022b. Microplastics: A tissue-specific threat to microbial community and biomarkers of discus fish (<i>Symphysodon aequifasciatus</i>). <i>Journal of Hazardous Materials</i> 424, 127751. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127751
	魚類-19	Zhao, Y., Bao, Z., Wan, Z., Fu, Z., Jin, Y., 2020. Polystyrene microplastic exposure disturbs hepatic glycolipid metabolism at the physiological, biochemical, and transcriptomic levels in adult zebrafish. <i>Science of The Total Environment</i> 710, 136279. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136279
	魚類-20	Brandts, I., Teles, M., Tvarijonavičiute, A., Pereira, M.L., Martins, M.A., Tort, L., Oliveira, M., 2018. Effects of polymethylmethacrylate nanoplastics on <i>Dicentrarchus labrax</i> . <i>Genomics</i> 110, 435-441. https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2018.10.006
甲殼類	甲殼類-1	Kim, J., Rhee, J.-S., 2021. Biochemical and physiological responses of the water flea <i>Moina macrocopa</i> to microplastics: a multigenerational study. <i>Mol. Cell. Toxicol.</i> 17, 523-532. https://doi.org/10.1007/s13273-021-00162-5
	甲殼類-2	De Felice, B., Sugni, M., Casati, L., Parolini, M., 2022. Molecular, biochemical and behavioral responses of <i>Daphnia magna</i> under long-term exposure to polystyrene nanoplastics. <i>Environment International</i> 164, 107264. https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107264
	甲殼類-3	Jaikumar, G., Baas, J., Brun, N.R., Vijver, M.G., Bosker, T., 2018. Acute sensitivity of three Cladoceran species to different types of microplastics in combination with thermal stress. <i>Environmental Pollution</i> 239, 733-740. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.04.069
	甲殼類-4	Koski, M., Søndergaard, J., Christensen, A.M., Nielsen, T.G., 2021. Effect of environmentally relevant concentrations of potentially toxic microplastic on coastal copepods. <i>Aquatic Toxicology</i> 230, 105713. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105713
	甲殼類-5	Ekvall, M.T., Gimskog, I., Hua, J., Kelpsiene, E., Lundqvist, M., Cedervall, T., 2022. Size fractionation of high-density polyethylene breakdown nanoplastics reveals different toxic response in <i>Daphnia magna</i> . <i>Sci Rep</i> 12, 3109. https://doi.org/10.1038/s41598-022-06991-1

生物種	文献 No	文献情報
藻類	甲殼類-6	Yu, S.-P., Chan, B.K.K., 2020. Intergenerational microplastics impact the intertidal barnacle <i>Amphibalanus amphitrite</i> during the planktonic larval and benthic adult stages. <i>Environmental Pollution</i> 267, 115560. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115560
	甲殼類-7	Rodríguez-Torres, R., Almeda, R., Kristiansen, M., Rist, S., Winding, M.S., Nielsen, T.G., 2020. Ingestion and impact of microplastics on arctic <i>Calanus</i> copepods. <i>Aquatic Toxicology</i> 228, 105631. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105631
	甲殼類-8	Liu, Z., Cai, M., Wu, D., Yu, P., Jiao, Y., Jiang, Q., Zhao, Y., 2020. Effects of nanoplastics at predicted environmental concentration on <i>Daphnia pulex</i> after exposure through multiple generations. <i>Environmental Pollution</i> 256, 113506. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113506
	甲殼類-9	Bosker, T., Olthof, G., Vijver, M.G., Baas, J., Barmantlo, S.H., 2019. Significant decline of <i>Daphnia magna</i> population biomass due to microplastic exposure. <i>Environmental Pollution</i> 250, 669–675. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.067
	甲殼類-10	Besseling, E., Wang, B., Lürling, M., Koelmans, A.A., 2014. Nanoplastic Affects Growth of <i>S. obliquus</i> and Reproduction of <i>D. magna</i> . <i>Environ. Sci. Technol.</i> 48, 12336–12343. https://doi.org/10.1021/es503001d
	藻類-1	Wang, Z., Fu, D., Gao, L., Qi, H., Su, Y., Peng, L., 2021. Aged microplastics decrease the bioavailability of coexisting heavy metals to microalga <i>Chlorella vulgaris</i> . <i>Ecotoxicology and Environmental Safety</i> 217, 112199. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112199
	藻類-2	Nugnes, R., Lavorgna, M., Orlo, E., Russo, C., Isidori, M., 2022. Toxic impact of polystyrene microplastic particles in freshwater organisms. <i>Chemosphere</i> 299, 134373. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134373
	藻類-3	Gambardella, C., Morgana, S., Bramini, M., Rotini, A., Manfra, L., Migliore, L., Piazza, V., Garaventa, F., Faimali, M., 2018. Ecotoxicological effects of polystyrene microbeads in a battery of marine organisms belonging to different trophic levels. <i>Marine Environmental Research</i> 141, 313–321. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.09.023
	藻類-4	Marangoni, L.F.B., Beraud, E., Ferrier-Pagès, C., 2022. Polystyrene nanoplastics impair the photosynthetic capacities of Symbiodiniaceae and promote coral bleaching. <i>Science of The Total Environment</i> 815, 152136. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152136
	藻類-5	Wang, S., Liu, M., Wang, Jinman, Huang, J., Wang, Jun, 2020. Polystyrene nanoplastics cause growth inhibition, morphological damage and physiological disturbance in the marine microalga <i>Platymonas helgolandica</i> . <i>Marine Pollution Bulletin</i> 158, 111403. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111403
藻類-6	González-Fernández, C., Le Grand, F., Bideau, A., Huvet, A., Paul-Pont, I., Soudant, P., 2020. Nanoplastics exposure modulate lipid and pigment compositions in diatoms. <i>Environmental Pollution</i> 262, 114274. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114274	
藻類-7	Kong, Q., Li, Y., Xu, X., Cheng, J., Sun, Y., Zhang, L., Huang, Y., Yang, Z., 2021. Microplastics interfere with mixotrophic <i>Ochromonas</i> eliminating toxic <i>Microcystis</i> . <i>Chemosphere</i> 265, 129030. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129030	
藻類-8	Xiao, Y., Jiang, X., Liao, Y., Zhao, W., Zhao, P., Li, M., 2020. Adverse physiological and molecular level effects of polystyrene microplastics on freshwater microalgae. <i>Chemosphere</i> 255, 126914. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126914	
藻類-9	Zhang, C., Chen, X., Wang, J., Tan, L., 2017. Toxic effects of microplastic on marine microalgae <i>Skeletonema costatum</i> : Interactions between microplastic and algae. <i>Environmental Pollution</i> 220, 1282–1288. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.11.005	
藻類-10	Zhao, T., Tan, L., Zhu, X., Huang, W., Wang, J., 2020. Size-dependent oxidative stress effect of nano/micro-scaled polystyrene on <i>Karenia mikimotoi</i> . <i>Marine Pollution Bulletin</i> 154, 111074. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111074	

7.4. MPsの有害性データの信頼性の評価・採用の可能性を考える際の観点（案）

本分科会での文献査読を通じて、有害性データの信頼性の評価・採用の可能性を考える際の観点が各委員から指摘され、事務局が整理した。当該内容を「MPs特有の留意すべき事項（図表 4.1）」と「一般的な水生生物の有害性評価でも留意すべき事項（図表 7.4）」の2種類に分けた。なお、これらの観点は各委員からの指摘をベースにまとめたものであり、今後ブラッシュアップしていくべき位置付けにあるものである。一般的な水生生物の有害性評価でも留意すべき事項は以下のとおり。

図表 7.4 MPsの有害性データの信頼性の評価・採用の可能性を考える際の観点（案）
（一般的な水生生物の有害性評価でも留意すべき事項）

有害性データの信頼性の評価・採用の可能性を考える際の観点		観点として注目した理由	備考*
コントロール群	コントロール群の設定なし	✓ コントロール群が設定されていなければ試験が成立しているかどうかを判断できない。	①②③
	コントロール群で異常が生じている	✓ コントロール群で影響が出ている場合（例：死亡率 10%超、受精成功率低下）や活動が活発になっている場合（例：生殖腺指数（GSI）が 3%）には、試験そのものが成立していない可能性が高い。	①③
ばく露濃度	実測濃度の記載なし	✓ 設定濃度と実際のばく露濃度との間に乖離が発生している可能性はあるが、それが本当に生じているのか、どの程度の乖離なのかについて確認できないため。	①②③
	分散・懸濁状態を保つ方策について記載なし	✓ 特に藻類については粒子の分散への配慮が必要だが、その程度を確認できない。	①②③
	公比が大きすぎる	✓ 公比が 10 以上の場合、そこから算出された N(L)OEC 等は過剰に小さく見積もられている可能性がある。	
	設定濃度の数が少ない	✓ 試験の設定濃度の数が少ない場合、影響があると判断されたとしても不等号付きの LOEC となり、最終的には参考値としての採用となる。	②③
	ばく露濃度が高すぎる	✓ ばく露濃度が高すぎると MPs が凝集して正しい影響を評価できていない可能性がある。	
	生物に応じた適切な換水方法を取られていない	✓ 止水式で毎日換水しているとの記載は、ばく露濃度を一定に保つための努力として重要ではあるが、例えばネットですくい取る等により換水している場合、生物種によっては相当のストレスを与えている可能性がある。 ✓ 換水時の付着等による持ち込みで MPs のマスバランスが崩れている可能性がある。	①③
供試生物	収容密度が高い	✓ 収容密度が一般的な生物試験よりも高い場合、ストレス等により正しい MPs の影響を観測できていない可能性がある。	
	生物数が少ない	✓ エンドポイントを測定するための供試生物数が少なすぎる場合、正しく影響を測定できていない可能性がある。	①②③
	供試生物の大きさが不均一	✓ 不均一な大きさの供試生物を用いている場合、より有意差が付きやすい可能性がある。	
	毒性試験の推奨種ではない	✓ 一般的な毒性試験では、毒性を正しく評価するためにバリデーションを経た試験種を推奨種として設定し、適正水温も明示されているが、バリデーションを受けていない試験種の場合、それが MPs の毒性評価において妥当な試験生物・水温かどうかを判断できない。	①③
	試験水温が高め		

有害性データの信頼性の評価・採用の可能性を考える際の観点		観点として注目した理由	備考※
	給餌方法について疑義あり	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 給餌せずに長時間試験を行っている場合（給餌量が少ない場合も含む）、影響を正しく観測できていない可能性がある。 ✓ 給餌時間（餌を投入してから回収するまでの時間）が短すぎる場合、供試生物が栄養不足を起こしている可能性がある。 	②③
試験デザイン	細胞の計測方法（特に藻類）	✓ MPs と藻類のサイズが近接している場合、細胞の計測方法に留意しなければ、影響を正しく観測できない可能性がある（例：マイクロプレートの吸光度測定、コールカウンター等による測定）。	
	エンドポイントに対して試験期間が長すぎる/短すぎる	✓ エンドポイントを適切に評価するための試験期間は、生物種によってもエンドポイントによっても異なり、それを適切に設定されている必要があるが、生物種・エンドポイントが一般的なプロトコルのものでない場合、妥当な設定かを判断できない。	①③
	繰り返し数が少ない	✓ 影響を検出する際の統計的な厳密さを確保するために、十分な繰り返し数で試験されている必要がある。	①②③
試験結果	分子/細胞/組織レベルのエンドポイントのみを観察している試験	<ul style="list-style-type: none"> ✓ 分子/細胞/組織レベルのエンドポイントは現状以下のような課題があるため、リスク評価に用いるためには時間をかけた科学的知見の集積が必要と考える。 <ul style="list-style-type: none"> ➢ 分子/細胞/組織レベルのエンドポイントは測定しやすい反面、多少の刺激やストレスによる影響を受けやすく、また生物体内で日々変化するものも多く、エンドポイントとして扱いづらい。 ➢ 化学物質の有害性評価において用いられている例はあるが、その場合は生物個体レベルへのモードオブアクション (MoA) や有害性発言経路 (AOP) の解明が必要となる。 ✓ さらに、リスク評価を目的とする場合には、「生物個体レベルにどの程度の影響を与えるのか」という定量的な関係性についても解明が必要となる。 	②③
	行動異常をエンドポイントとして設定	✓ 行動異常の測定は難しく、正確に測定できているのが論点となるが、正確性を第三者が確認するのは困難。	
	試験結果の分散がほぼない	✓ 試験結果の分散が機器分析の誤差よりも小さいような場合、生物試験として正しく影響を測定できていない可能性がある。	
	用量応答関係が逆転している	✓ 用量応答関係が逆転している場合、試験が成立していない可能性がある。なお、用量応答関係が確認されなかったとしても、最小用量で影響ありと判断する場合はある。	②③
	検定方法の記載が不十分	✓ 多重比較検定等の検定方法に関する記載が不十分な場合、正しく有意差を評価できているのが確認するのは困難。	①
	最小用量で全エンドポイントで影響あり	✓ 最小用量でも全エンドポイントに影響が見られる場合、試験が成立していない可能性がある。	

※生態影響に関する信頼性評価について整理している先行文献（2報）及び過年度の検討において言及がある観点について、参考としてフラグを立てた。具体的には、Kokalj et al (2021)⁷で言及がある観点には①、de Rujiter et al (2020)⁸で言及がある観点には②、過年度業務で言及がある観点には③を付与した。

以上