

水環境を汚染する医薬品の水生生物への影響

井原 賢

高知大学 農林海洋科学部



「水環境を汚染する医薬品の水生生物への影響」というタイトルでお話をさせていただきます。よろしくお願いします。

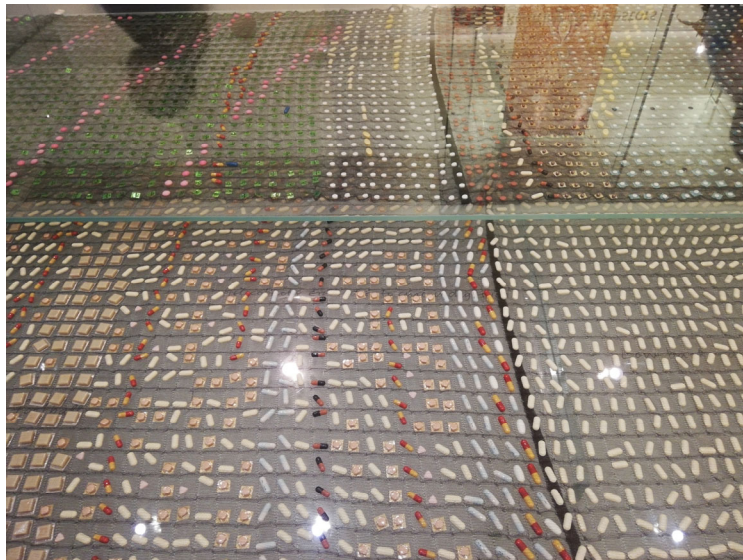
- ①なぜ医薬品が問題か
- ②海外での検出事例
- ③医薬品の薬理活性
- ④水生生物に対して薬理活性の強い医薬品
- ⑤魚の医薬品曝露試験と行動・繁殖異常

今日お話しさせていただく内容をここに掲げております。

最初に、なぜ医薬品が生態影響として問題になっているか。海外での医薬品の検出事例を紹介して、その次に医薬品の持つ薬理活性について少しお話をさせていただきます。その後に、水生生物に対して薬理活性の強い医薬品にどのようなものがあるかということを御紹介させていただいて、最後に魚の医薬品の曝露試験で見られる行動異常・繁殖異常について御紹介をさせていただきます。

2023年9月、大英博物館での展示

イギリスの国民が生涯に使う医薬品の数14000錠を表したart作品



まず最初に御紹介したい写真があります。これは2023年9月、今から2年ほど前ですが、先ほど御紹介いただいた日英の共同研究の関係でイギリスに河川調査に行った際に大英博物館に寄ったときの写真です。

そこにある展示がされていて、どんな展示かという、ここに書いてあるのですが、イギリスの一般的な国民が生涯に使う医薬品の数が統計的に1万4,000錠という計算らしいのですが、その1万4,000錠を種類別に並べて作ったオブジェというか、近代アートになります。これは、イギリスにおける医薬品で水生生物に影響があるというのが古くから研究でも出ておりますし、恐らくイギリスの方々というのは医薬品の生態影響も含めて一般的な関心が高いということがあって、こういったアートが生まれてきているのだらうなと私は受け取りました。こういった芸術作品を見ることはあまりないので、写真を撮ってきて今ここに掲げさせていただきます。人間は生きていくと健康を維持するために非常に多くの医薬品を使っているということが御理解いただけたと思います。

生態影響の研究で医薬品が問題になってきたのは、1990年代の後半から学術論文で下水中や河川水で医薬品が実は検出されるといった研究報告が増えてきました。特に2000年代に入ってきますと、そういった研究が非常に多く出てきます。

日常的に使われる医薬品、抗生物質 トイレから水環境へ

4

✓ 2000年頃から、下水や河川水での医薬品の検出報告増加



Nature, 424, 5, 2003

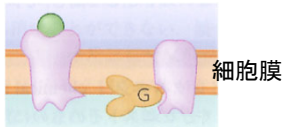
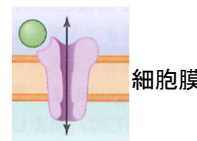
ここに掲げている絵は、学術論文に当時掲載された風刺画ですが、左上の図を見ると「Drug portal to-the World」と書かれています。これは人が飲んだ医薬品がトイレを通じて下水処理場に行って、行く行くは下水処理場から水環境に出ていくということです。また、飲まなかった医薬品も流しに流すということが欧米では多いそうで、そうするとそういった医薬品も下水を通じて最終的には環境に出ていくということを風刺した絵になります。

右のほうは、お医者さんと患者さんがいる絵で、このお医者さんが何を言っているかということ、「Take one three times a day. Or you can just drink the local water」、薬を1日2～3回飲むかその辺の川の水を飲んだらいいよというふうにお医者さんが言っているわけです。これは、川の水の中に医薬品が検出されるということが分かっていたので、薬の代わりに川の水を飲んだらいいといったことを言っている風刺画になります。

医薬品の約半数はGPCR阻害薬/抗うつ薬

5

日本における病院の医薬品処方（厚生労働省DBより、H28）

ランク	医薬品タイプ	錠剤数(億/年)	細胞内の標的分子
1	消化性潰瘍用剤	54	✓ Gタンパク質連結型受容体 
2	糖尿病用剤	47	
3	血圧降下剤	46	
4	血管拡張剤	41	
5	高脂血症用剤	38	
9	その他アレルギー用薬	31	✓ モノアミントランスポーター 
10	抗うつ薬	29	
13	その他中枢神経系用薬	14	
17	気管支拡張剤	3	
18	抗ヒスタミン剤	2	
19, 21	合成抗菌剤/抗ウイルス剤	2/1	

日本ではこういったタイプの医薬品が処方薬が多いかということですが、厚生労働省のデータベースで医薬品の処方量が公開をされています。

ここに掲げているのは、平成28年の少し古いデータですが、まとめたものです。1年間当たり日本でどれくらいの各タイプの医薬品、錠剤の数がどれくらい処方されているかという例です。

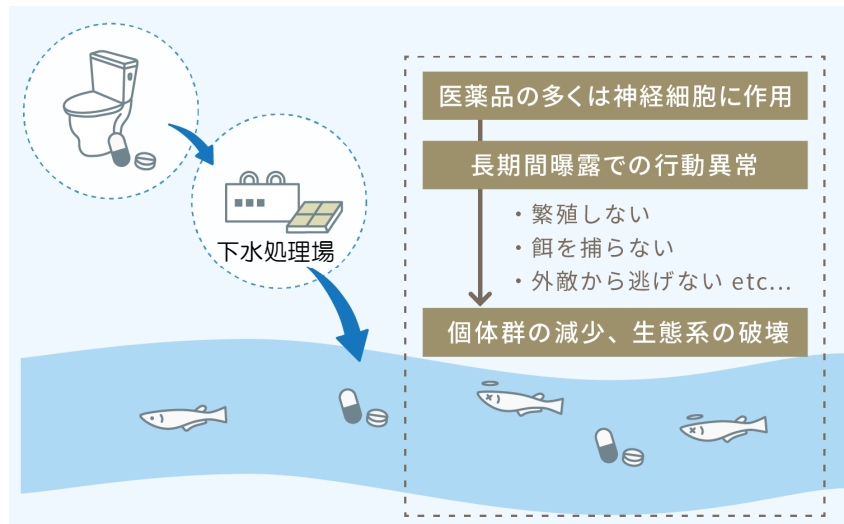
1位は消化性の潰瘍の治療薬で、54億錠。2番目に来るのが糖尿病の治療薬で、3番目に血圧降下剤となります。以下、血管拡張剤、高脂血症の薬、アレルギー用薬、抗うつ薬、中枢神経系用薬、抗ヒスタミン薬というのがきます。

この薬のタイプですが、赤で矢印を伸ばした医薬品は、細胞内でも特異的な膜たんぱく質に作用するということが知られている医薬品です。具体的に言うとGたんぱく質連結型受容体と呼ばれる細胞膜上の標的に作用するものです。また、青の矢印で結んだ抗うつ薬については、Gたんぱく質連結型受容体にも作用するし、モノアミントランスポーターという別のタイプの細胞膜上のたんぱく質にも作用するものです。こういった標的受容体への作用を通じて医薬品がお薬としての活性を発揮するということが分かります。

ですので、日本で処方されている医薬品の多くがこのGたんぱく質連結型受容体とモノアミントランスポーターに作用する薬であるということが御理解いただけるかと思います。

下水処理場から水環境への医薬品の排出、懸念される生物影響

6



先ほどお話ししましたように、下水道が整備されている地域ですと、人が飲んだ薬というのは尿や便と一緒に出ていきます。トイレを通じて下水処理場に下水が行くわけですが、医薬品は全てが下水処理で除去されるわけではないので、除去できなかった分というのは河川とか海域も含めて放流先の水域に排出されるということになります。

そうしますと、そこには当然水生生物が棲んでいて、なおかつ医薬品の多くは先ほど紹介したGたんぱく質連結型受容体とかモノアミントランスポーターへの作用を通じて神経細胞に作用が強い薬ですので、長期間水生生物がこういった医薬品を含んだ下水に曝露されると行動がおかしくなるということが想定されます。繁殖がおかしくなるとか餌を取らないとか外敵から逃げないとか、そういった影響が懸念されます。個体数が減少していくと最終的には**population**、個体群のレベルで魚が減っていった生態系がおかしくなるということが想定されるわけです。

毒性の種類

7



個体の異常 ⇒ populationの減少⇒⇒⇒生態系の崩壊

ですので、今日お話しする医薬品の毒性というのは、古くから知られている化学物質の毒性、いわゆる死ぬか生きるかといった毒性ではなくて、死にはしないのだけれども生殖とか行動に影響があると、そういったタイプの毒性のお話になります。

よく言うのは「not lethal, but unhealthy」といったような言い方をされることもあります。

- ①なぜ医薬品が問題か
- ②海外での検出事例
- ③医薬品の薬理活性
- ④水生生物に対して薬理活性の強い医薬品
- ⑤魚の医薬品曝露試験と行動・繁殖異常

ここから紹介するのは、海外での医薬品の検出事例になります。

ヨーロッパ、アメリカでの下水中の抗うつ薬濃度

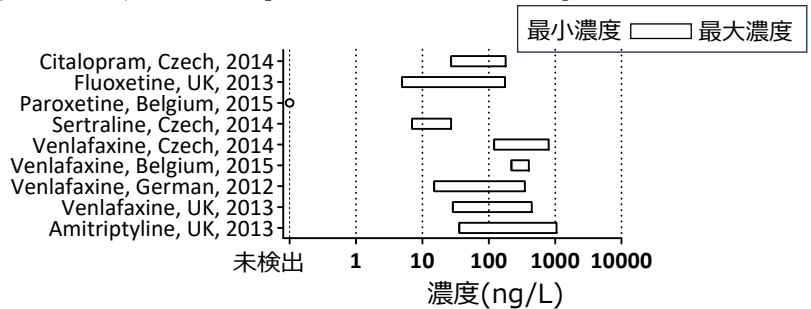
9

下水処理場の流入下水

濃度範囲

10~1,000ng/L

国によって、下水処理場によって、濃度異なる。

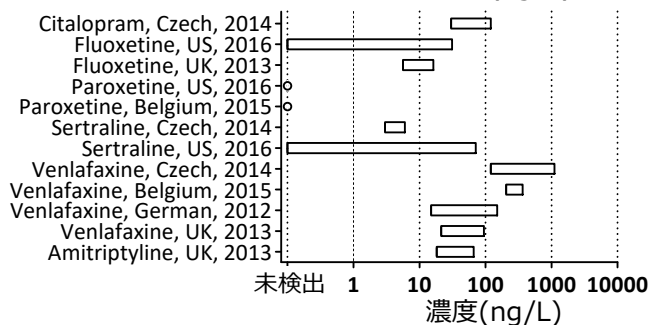


下水処理場の放流水

濃度範囲

1~1,000ng/L

国によって、下水処理場によって濃度異なる。



ちょっと見にくい図で申し訳ないですが、ヨーロッパとアメリカで論文で報告されているデータをここでまとめています。ちょっとここでは古いデータですが。

特に下水処理場に入ってくる流入下水です。いろいろなデータが当時出ていましたが、横軸が水の中の濃度レベルになります。ng/Lという単位です。

ここに名前が書かれていて、これは医薬品、特に抗うつ薬の名前ですが、抗うつ薬の種類によっていろいろな濃度範囲で下水から検出されているということが分かります。おおよそ10~1,000ng/Lという濃度範囲で下水から検出されています。

下水処理場の放流水、これは処理された後の下水ですが、処理された後の下水であっても濃度範囲でいうと1~1,000ng/Lで医薬品が検出されて、こういった下水が水環境中に出ていっているというデータがあります。

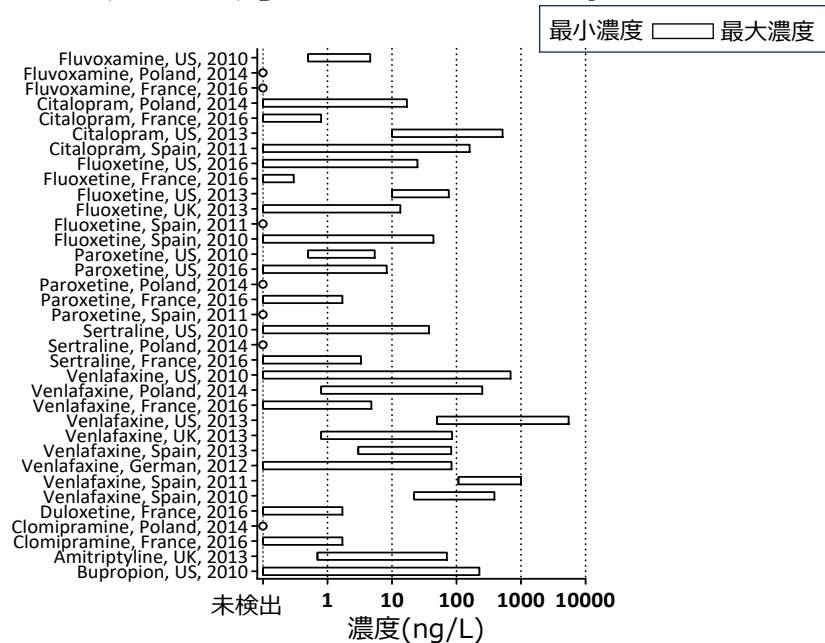
ヨーロッパ、アメリカでの河川水中の抗うつ薬濃度

10

濃度範囲

0.1~1,000ng/L

国によって、下水処理場
によって、濃度異なる。
下水処理場の下流で濃度
が高い傾向。



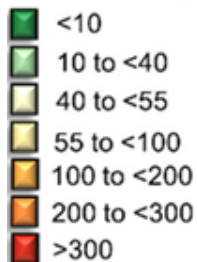
河川中のデータもヨーロッパとかアメリカでは多く論文化されていて、これも国とか医薬品の成分によって濃度範囲というのは違いがあるのですが、未検出という場合ももちろんあります。

濃度範囲でいうとおおよそ0.1~1,000ng/Lの範囲で検出されます。ですので、流入下水とか下水処理場の放流水に比べると河川水中の濃度というのはもちろん低いですが、場所によっては非常に高い濃度で検出される場合もあるということが分かります。

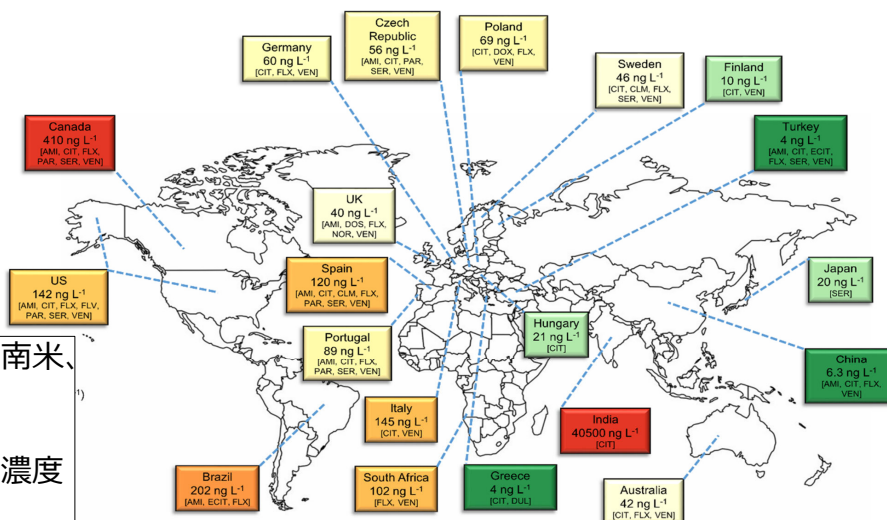
あともう一つ言えるのは、下水処理場の下流の河川で濃度が高いという傾向もいろいろな論文で報告されています。

河川水中の抗うつ薬濃度：論文で報告されている最高濃度の平均値¹¹

濃度範囲(ng/L)



- ✓ ヨーロッパ、北米、南米、アフリカで高い傾向
- ✓ インドも高い。
- ✓ 下水処理場の下流で濃度が高い



Environ. Sci. Technol. 2021, 55, 16299–16312

<https://pubs.acs.org/action/showCitFormats?doi=10.1021/acs.est.1c04724&ref=pdf>

ここに紹介しているのは2021年に報告された論文で、先ほどのスライドとは少しデータが新しくなっていますが、いろいろな国の検出事例をまとめた論文です。

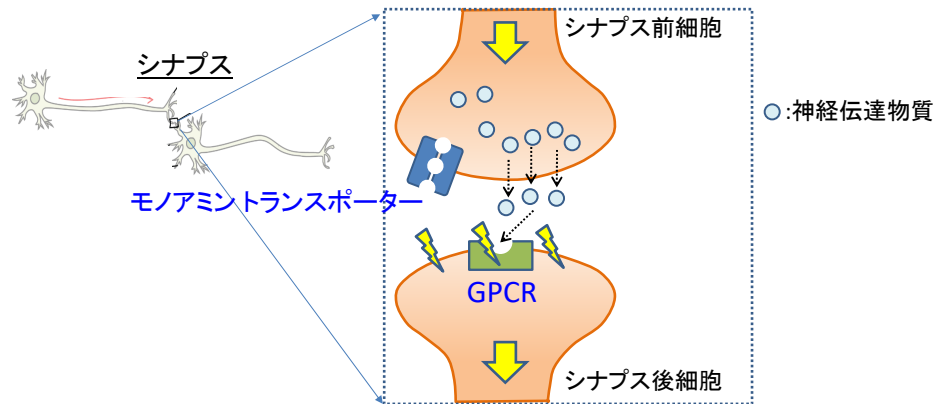
データもまだまだ少ないのですが、日本も報告事例がありますし、多くはヨーロッパとかアメリカで報告事例があります。あと、インドの例もあります。中国もあります。

国名と医薬品の頭文字と書かれていて色分けがされているのですが、赤のほうが濃度が高いということです。傾向としてはヨーロッパ、北米、南米、アフリカで高く、インドも高く、あとはこの論文でもやはり下水処理場の下流で濃度が高いということが言われています。

- ①なぜ医薬品が問題か
- ②海外での検出事例
- ③**医薬品の薬理活性**
- ④水生生物に対して薬理活性の強い医薬品
- ⑤魚の医薬品曝露試験と行動・繁殖異常

ここからは、医薬品の薬理活性について少し詳しくお話をさせていただきます。

- GPCRは神経伝達物質が結合するとシナプス後細胞にシグナルを伝える
- トランスポーター神経伝達物質を再取り込(回収)し、シグナルを止める



- ① 神経伝達物質が放出される
- ② 神経伝達物質がGPCRと結合、シグナルが伝わる
- ③ トランスポーターが神経伝達物質を回収する
- ④ シグナルが止まる

先ほど、医薬品がGPCRとモノアミントランスポーターというたんぱく質に作用するというお話をしました。

神経細胞の模式図をここに書いておりますけれども、神経細胞と神経細胞が2つつながっている構造を「シナプス」というのですが、このシナプスで多くの医薬品が関わってきます。

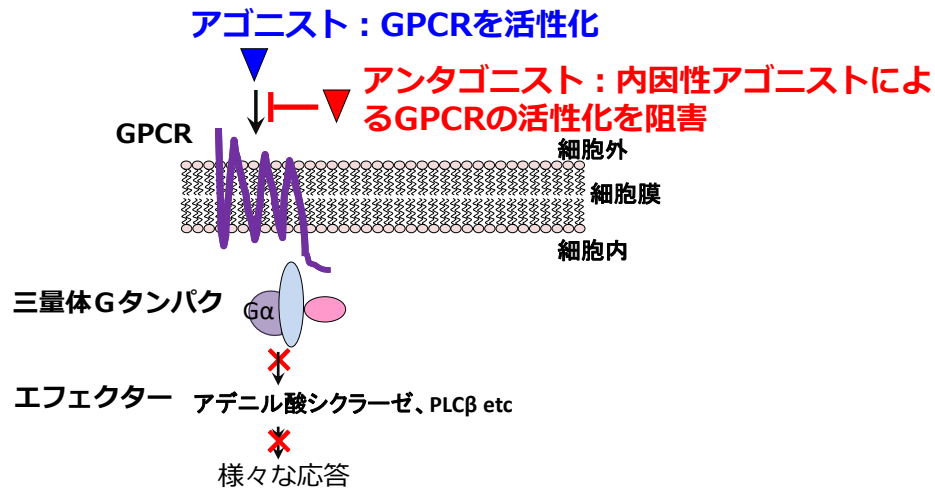
シナプスからは神経伝達物質というものが排出されて、後ろ側のシナプス「シナプス後細胞」といいますが、そこにあるGたんぱく質連結型受容体、略して「GPCR」といいますが、ここに神経伝達物質が結合して作用します。神経伝達物質は、その後モノアミントランスポーターという膜たんぱく質を通じて一度シナプスの細胞の中に回収されるのですが、そうすることによって神経伝達物質の活動が一旦終了するということになります。

医薬品の多くは、このGPCRとかモノアミントランスポーターに結合して、それぞれの受容体やトランスポーターの活動を阻害することで医薬品としての活性を発揮するということになります。

G-protein-coupled receptors (GPCRs)

14

- ✓ GPCRは、細胞外から運ばれてくるホルモンや成長因子、神経伝達物質と結合、
細胞内へシグナルを伝達



✓生理活性はGPCRの活性化/阻害によってもたらされる

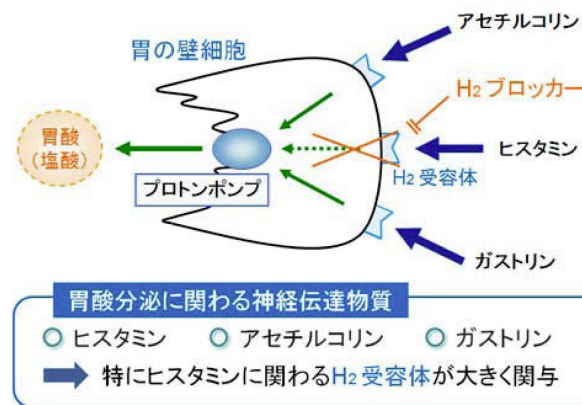
これはGPCRの働きの模式図ですが、細胞膜上にGPCRというたんぱく質があって、そこにGPCRを活性化するような物質が結合すると細胞内でいろいろな反動が起こります。

その結合を阻害するような物質、「アンタゴニスト」と呼ばれるものですが、それがあると細胞内の応答が阻害されます。

医薬品の多くは、このアンタゴニスト型の物質が医薬品として多く使われているということになります。

GPCRを標的とした医薬品の例：ガスター

- ✓ガスター(ファモチジン)：H₂受容体のアンタゴニスト
- ✓ヒスタミンがH₂受容体に作用すると大量の胃酸が分泌されるが、ガスターはヒスタミンの結合をブロックすることで胃酸分泌を抑制する



<http://kusuri-jouhou.com/medi/digestive/famotidine.html>

1つ身近な例を出しますと胃酸分泌を抑える「ガスター」という薬があります。成分名は「ファモチジン」です。これはH₂受容体というGPCRの一つの種類ですけれども、そこに作用する医薬品です。

ここに胃の内壁の細胞の模式図があります。ここにはいろいろな受容体がありますが、このH₂受容体にヒスタミンが作用すると胃の細胞から胃酸が排出されます。これをガスターがブロックしてやると胃酸の出過ぎが抑えられるといった薬になっています。

昔、胃腸風邪に罹った時に、

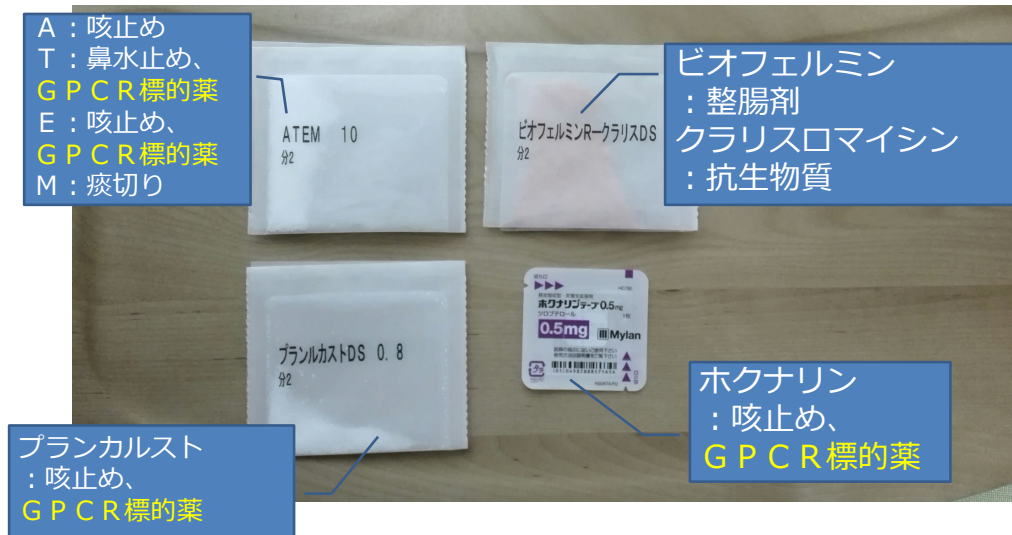


ちょっと身近な例で言いますと、昔私が胃腸風邪にかかったときに、病院で処方された薬を調べてみました。

胃腸風邪なので、下痢を抑える薬とか整腸剤とかあります。

あとは吐き気も強かったので、プリンペランという吐き気止めを処方されていたのですけれども、これはGPCRの標的薬になります。

娘(1歳7ヶ月、当時)も胃腸風邪に罹りまして、、、



当時、私の娘も胃腸風邪になってしまって、娘が処方された薬は非常にいろいろな種類があるのですが、その中で鼻水を止めるとかせきを止めるとか、せき止めが2種類あります。これらは全てGPCRの標的薬です。

あとはせき止めの貼り薬も処方されたのですが、これもGPCRの標的薬になります。

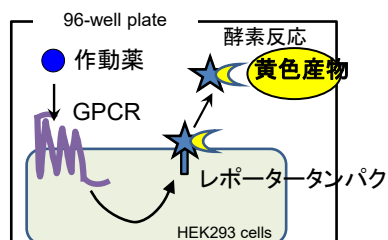
ですので、ふだん処方される薬の中で非常に身近なところでこのGPCR標的薬というのがあるということになります。

GPCR阻害薬の活性測定試験: TGF α shedding assay

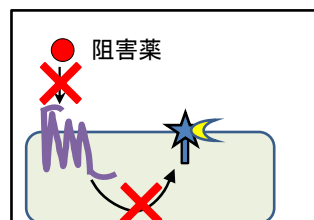
18

1. HEK293細胞にヒトGPCR発現プラスミドを導入 * Inoue et al., *Nature methods*, 2012
2. 試料曝露
3. プレートリーダーで405 nm吸光度測定

GPCR作動薬・アゴニストの場合



GPCR阻害薬の場合



- ✓ 培地が黄色に発色 ⇒ GPCRの作動薬・アゴニストを定量可能
- ✓ 培地が黄色に発色しない ⇒ GPCR阻害薬を定量可能

⇒TGF α shedding assayを下水からのGPCR阻害活性の検出に適用した

このGPCRの阻害薬ですが、医薬品として多く使われています。何とかして下水中とか河川の水の中にある医薬品の活性を測定したいということで考えていました。

2012年に当時東北大学の薬学部の先生方がGPCR阻害薬の活性を測定できる試験を開発されました。「TGF α shedding assay」というのですが、開発をされました。方法は細かくは申しませんが、培養細胞でGPCRを発現させてやって、そこにGPCRに作用する薬とかもしくは阻害する薬があると、培地の色を測定してやることで医薬品がどれくらいあるかを定量できるという非常に優れた試験系になります。

これは、もともと薬学の先生方が新しい医薬品の候補物質を見つけるためにつくられた試験系なのですが、私はこれを下水からGPCR阻害薬の活性を検出するために使えるのではないかと考えました。

東北大の先生方からこのassayを御提供いただいて実際に試してみたら、下水からも医薬品の活性が検出されたということになります。

GPCR標的医薬品の例、下水からの活性の検出

19

受容体	受容体クラス	主要医薬品	受容体	受容体クラス	主要医薬品
AT1	アンジオテンシン	・抗高血圧薬 ・平滑筋作用薬	V1A	バソプレッシン	・平滑筋作用薬 ・利尿薬
D2	ドーパミン	・抗精神病薬	V2	ヒスタミン	・鼻アレルギー治療薬 ・消化性潰瘍治療薬
D4			H1		
α1B	アドレナリン	・抗高血圧薬 ・気管支拡張薬	H2		
α2A			H3	セロトニン	・平滑筋作用薬 ・鎮静睡眠薬
β1			5-HT1A		
β3			5-HT2C	カンナビノイド	・薬物依存治療
M1	アセチルコリン	・気管支拡張薬	CB1		
M3			EP3	プロスタノイド	・平滑筋作用薬
			BLT1	ロイコトリエン	・平滑筋作用薬

✓ヒトの7種類のGPCRに対して下水処理水中から活性を世界で初めて検出*()

* Ihara et al., *ES&T*, 2015, 49, 1903-1911

これは2015年なので、今から10年以上前ですが、先ほどのassayを用いて下水に適用したところ、非常に多くの医薬品が検出されました。ここに受容体の名前と、主な医薬品としての種類を書いています。

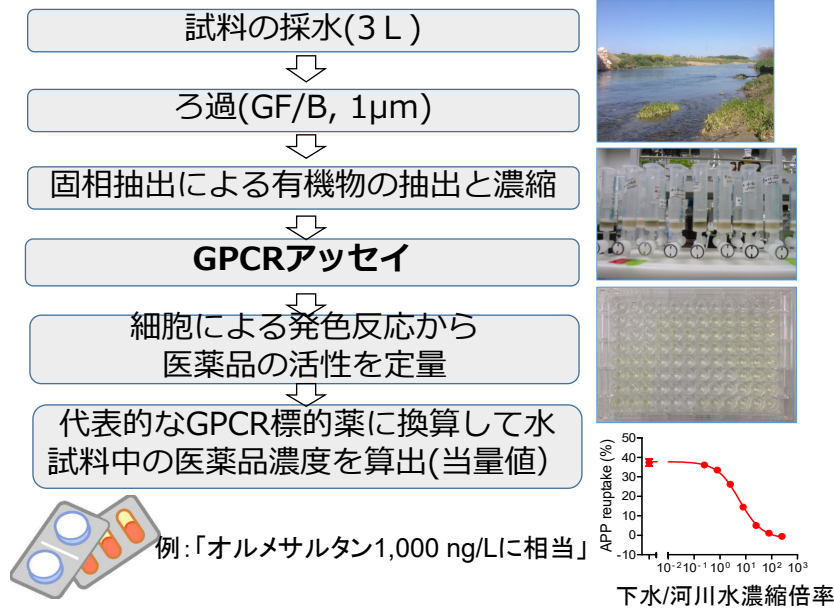
AT1というアンジオテンシン受容体ですが、高血圧の治療薬でよく使われています。こういった医薬品の活性が下水から強く検出されます。

あとはドーパミンや抗アドレナリン受容体やアセチルコリン受容体、バソプレッシンとかヒスタミン受容体、こういったものについて非常に高い活性が下水から検出されました。

こういった活性が検出された受容体の種類というのは、実際に医薬品のターゲットになっている多くの種類の医薬品が販売・処方されている受容体になりますので、日本で使われている医薬品の実態というのを下水が反映しているということが分かります。

水試料の前処理、GPCRアッセイ

20



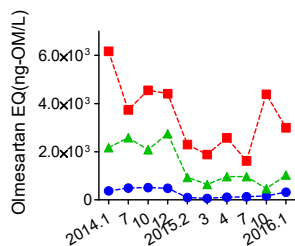
水を取ってきて、それを「固相抽出」と呼ばれる方法で医薬品成分を抽出してきて、培養細胞の試験で調べます。

ここにプレートの写真を載せているのですが、うっすら黄色い色が見えると思います。こういった黄色の色を測定してやると医薬品の活性が定量できるという試験になります。

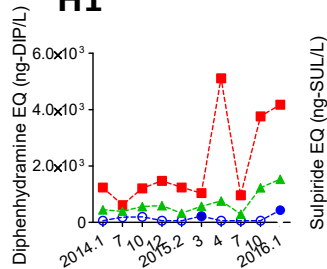
下水、河川水での医薬品濃度(当量値EQ)

21

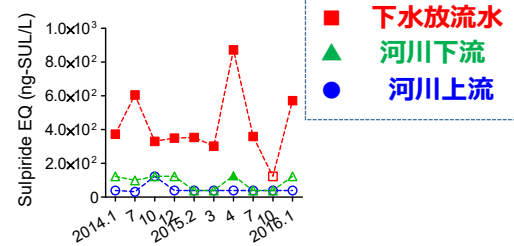
ヒト
アンジオテンシン受容体
AT1



ヒト
ヒスタミン受容体
H1



ヒト
ドーパミン受容体
D2



Ihara, et al., J. Appl Toxicol., 2020.

- ✓ 医薬品濃度: 下水放流水 > 下流 > 上流
- ✓ 下流での濃度、下水放流水の変動に一致 ⇒ 下水放流水が汚染源

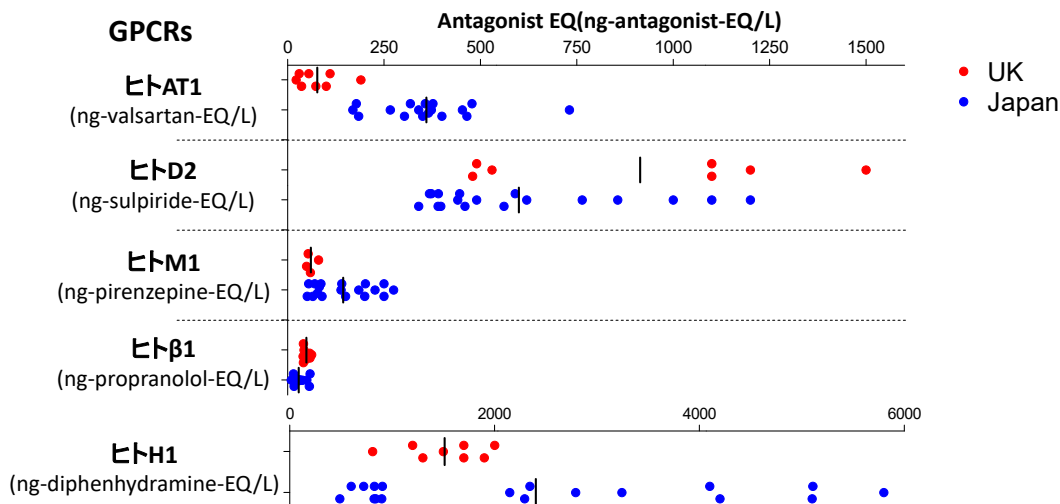
その結果がこんな感じになっておりまして、まずアンジオテンシン受容体に対する医薬品の活性です。縦軸が医薬品の活性で、数値が大きいほど医薬品の活性が強いということになります。横軸は時間軸で取っていて、3~4か月に1回のペースで取っていました。赤が下水処理場の放流水の活性で、緑が河川の下流、青が上流です。

これを見ますと、上流では比較的活性が低いのですが、下流で高くなります。それは下水処理場の放流水の活性の増減のパターンと河川の下流での増減のパターンというのが一致していますので、下水処理場からの放流水の放流によって河川中での活性が上がるということが分かります。それはヒスタミン受容体についても同様です。河川では検出下限値未満で検出されないという場合ももちろんありますが、下水処理場の放流水からは押しなべて多くのサンプルから活性が検出されています。

ここでは下水放流水が汚染源というような書き方をしていますが、下水処理場があるからこそここまで活性が抑えられているという面も当然ありますので、処理されずに河川水中にヒトのふん便を含む排水がそのまま垂れ流しになっていたとするともっともっと強い活性が出ているはずですので、これは下水処理場で処理されたおかげでここまで低くなっているという言い方ももちろんできるかと思います。

下水処理場放流水での医薬品活性: イギリスと日本の比較

22



Ihara et al., *Environmental Science & Technology*, 2015. Zhang et al., *Environmental Science & Technology*, 2018. Ihara, et al., *J. Appl Toxicol.*, 2020.

同様の調査を、日本だけではなくてイギリスでも行いました。

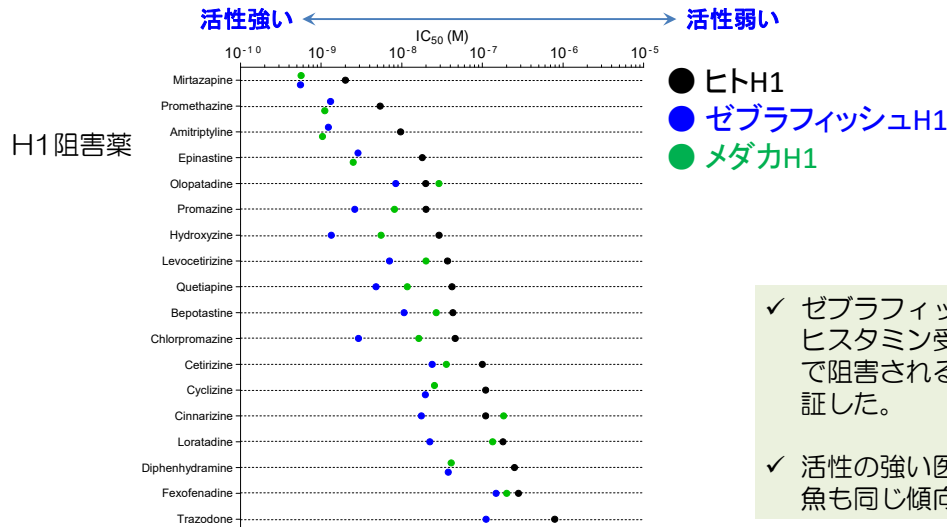
その結果をお示しして、横軸に医薬品の活性値を並べています。GPCRに対する医薬品を調べたのですが、受容体の種類としてはAT1受容体、ドーパミン受容体、アセチルコリンとアドレナリン受容体とヒスタミン受容体、この5つを調べています。赤がイギリス人下水処理場の下水で、青が日本の下水処理場の放流水ということになります。

すると、日本だけではなくてイギリスでももちろん医薬品の活性が強く検出されるということになります。

アンジオテンシン受容体、高血圧の治療薬が多くはこれですが、これについては日本の方が活性が強い、つまり日本の方が処方されている量が多いということが分かります。

ヒスタミン受容体についても同様で、日本のほうが濃度の高い時期が多いということが見えてきております。

- ✓ 宮川先生によるメダカ受容体の発現ベクターの構築
- ✓ ゼブラフィッシュ需要胚はGenBank登録配列より人工合成



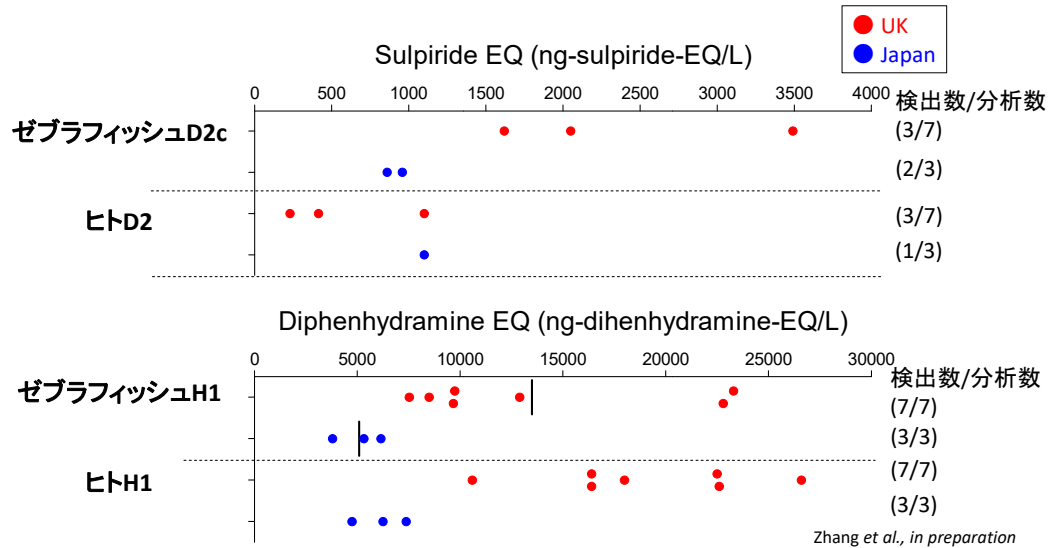
これはヒトとゼブラフィッシュとメダカのヒスタミン受容体に対する医薬品の活性を調べた結果になります。

縦に並べているアルファベットが医薬品の名前になります。ここでは IC_{50} 値という値を示していて、 IC_{50} 値が小さいほど医薬品としての活性が強いということになります。

そうすると、ヒトの受容体にヒトの医薬品の活性が反応するのはもちろんですが、ゼブラフィッシュとかメダカ、魚についても強い活性があります。特にヒトの受容体よりも魚の受容体のほうが医薬品は強く作用しているということも分かってきました。

下水での医薬品活性値：イギリスと日本の比較

24



✓ ゼブラフィッシュのGPCRも、下水放流水によって阻害を受ける

先ほど、イギリスの下水処理場からも活性が出たというお話をしたのですが、ヒトの受容体ではなくて魚の受容体を使ったらどうなるかということも試してみると、やはり魚の受容体に対してもイギリスと日本の下水処理場で活性が検出されるということが分かりました。

- ①なぜ医薬品が問題か
- ②海外での検出事例
- ③医薬品の薬理活性
- ④水生生物に対して薬理活性の強い医薬品
- ⑤魚の医薬品曝露試験と行動・繁殖異常

ここからは、魚に対して特に薬理活性の強い医薬品を御紹介したいと思います。

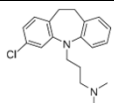
抗うつ薬：モノアミントランスポーター阻害薬

26

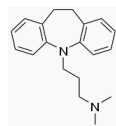
✓ 水環境で最も頻繁に検出される人用医薬品の一つ

三環系抗うつ薬 Tricyclic antidepressants (TCAs)

Clomipramine

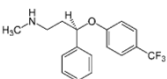


Desipramine

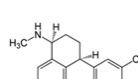


選択的セロトニン再吸収阻害剤 Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRIs)

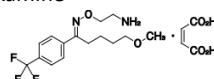
Fluoxetine



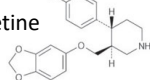
Sertraline



Fluvoxamine

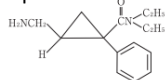


Paroxetine

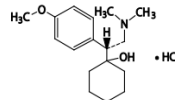


セロトニン-ノルエピネフリン再吸収阻害剤 (SNRIs)

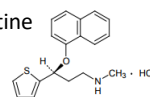
Milnacipran



Venlafaxine



Duloxetine

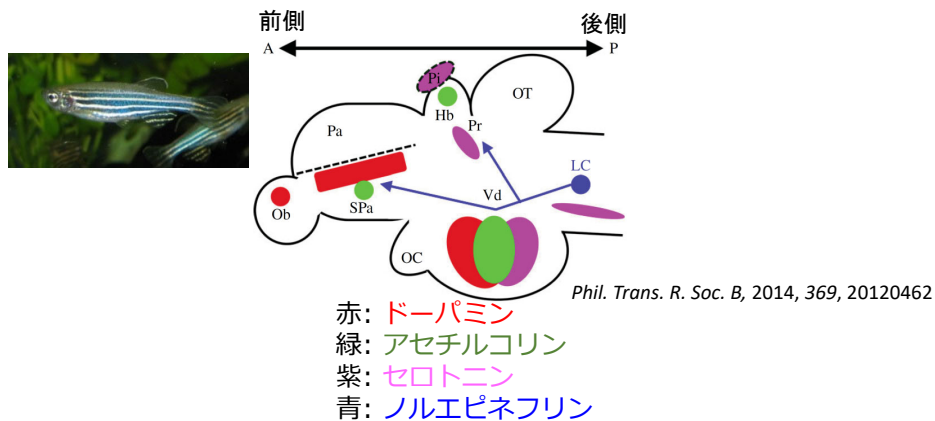


特に抗うつ薬は魚の受容体に対して非常に強い活性を持ちます。

抗うつ薬は非常に多くの種類がありますが、構造的に「三環系抗うつ薬」と呼ばれるものとか「選択的セロトニン再吸収阻害剤 (SSRIs)」と呼ばれるものとか「セロトニン-ノルエピネフリン再吸収阻害剤」というように幾つかのトランスポーターを阻害するというもの、いろいろなバリエーションがあります。

魚の脳にもGPCRやモノアミントランスポーターが存在する²⁷

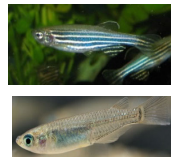
✓ゼブラフィッシュ脳でのモノアミンの発現



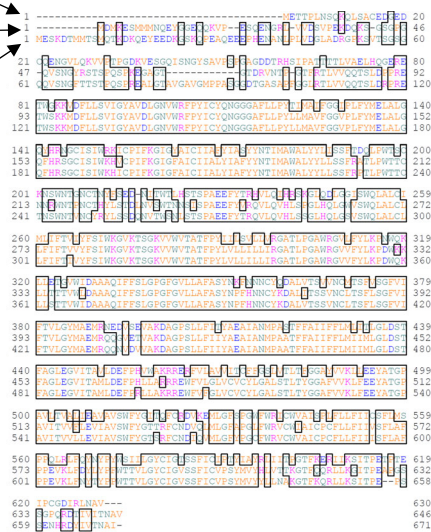
魚の脳にも、今日ここまでお話ししたドーパミン、アセチルコリン、セロトニン、ノルエピネフリンという神経伝達物質がもちろん働いていて、こういった脳の領域で働いているかということも分かってきています。

魚とヒトのGPCR、モノアミントランスポーターの遺伝子は似ている²⁸

セロトニントランスポーター(SERT)のアミノ酸配列の比較



ヒト
ゼブラフィッシュ
メダカ



アミノ酸相同性

ヒト vs メダカ: 91%

ヒト vs ゼブラフィッシュ: 91%

メダカ vs ゼブラフィッシュ: 93%

魚のモノアミントランスポーターも我々は実験をしました。

ここではセロトニントランスポーター、これは「SERT」といいますが、ヒトとゼブラフィッシュとメダカのアミノ酸配列を比較しています。

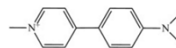
アミノ酸が同じところは太い四角で囲っています。

そうすると、非常に多くのアミノ酸がヒトと魚で一致しているというのがお分かりいただけるかと思います。ヒトとメダカですとアミノ酸の相同性が91%ありますし、ヒトとゼブラフィッシュでも91%ですので、ヒトのセロトニントランスポーターをターゲットにする抗うつ薬は魚のモノアミントランスポーターも阻害してしまうことがあり得るだろうなということがここからも分かるわけです。

抗うつ薬活性測定のための培養細胞試験: モノアミントランスポーター阻害アッセイ¹⁾ 29

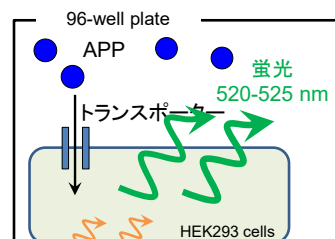
✓ APP: fluorescent substrate of transporter

(J. Biological chemistry, 2012, 287, 8852-8863)

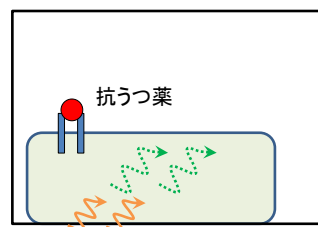


1. HEK293 細胞へトランスポーター発現プラスミドを導入
2. 細胞を医薬品とAPPへばく露 (1h)
3. 細胞を洗浄、細胞外の APP を除去する
4. 細胞内の APP 蛍光をプレートリーダーで測定

下水中に抗うつ薬が無い場合



抗うつ薬が有る場合



⇒ APPの蛍光を測定することによって、抗うつ薬の生理活性を定量する

[1] Ihara et al., STOTEN, 2021

先ほど、GPCRに対する医薬品の活性を測定する培養細胞の試験系では TGF α shedding assay というのを御紹介したのですが、抗うつ薬の活性を測定する培養細胞の試験系は別のものがあります。

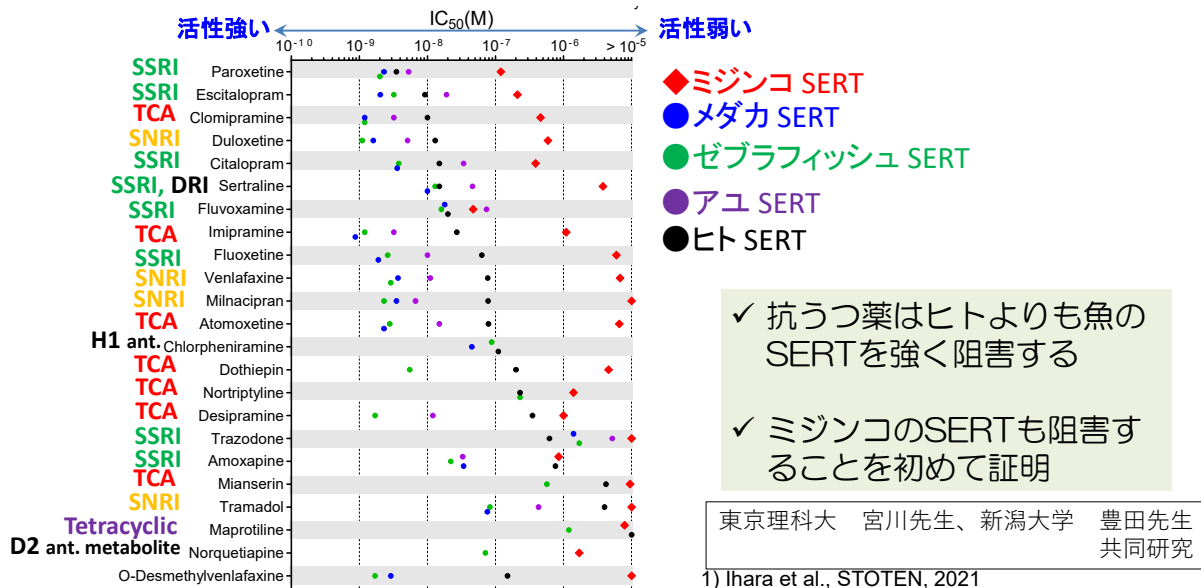
これは「モノアミントランスポーター阻害アッセイ」という名前をつけて、2011年に論文で報告をしているのですが、「APP」と呼ばれる特異的な蛍光物質を使ってやるとこのモノアミントランスポーターを阻害する、医薬品の活性を測れるという系になります。

これも詳しくはお話しはしませんが、培養細胞で医薬品を曝露して、そのときの励起光を当てて蛍光を測ると医薬品の活性が定量できるという試験系になります。

セロトニントランスポーター(SERT) に対する抗うつ薬の50%阻害値

30

抗うつ薬活性を、培養細胞を使ったモノアミントランスポーター阻害アッセイ¹⁾で試験した

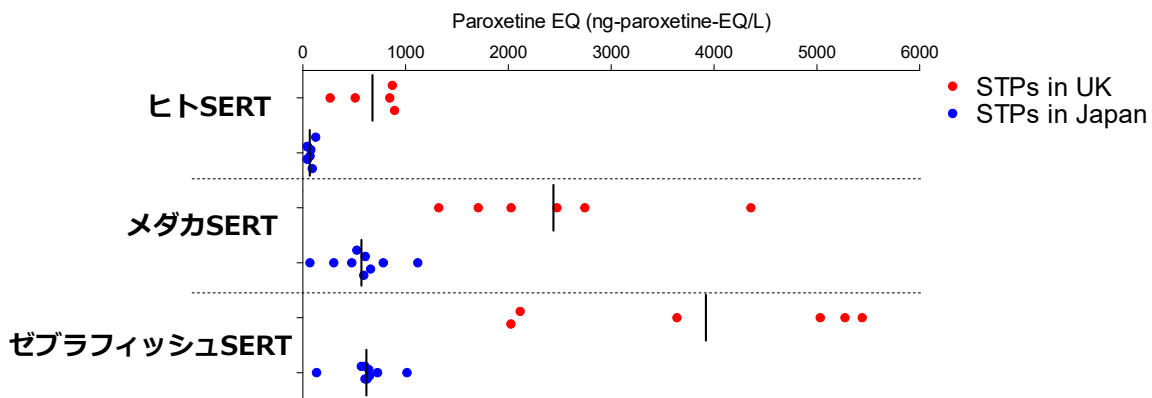


その医薬品の抗うつ薬の活性をヒトのSERTとアユとゼブラフィッシュとメダカ、さらにミジンコのセロトニントランスポーターも新潟大学の豊田先生、今広島大学に移っておられますが、豊田先生と宮川先生の共同研究で調べました。

そこから分かったことというのは、抗うつ薬はヒトのセロトニントランスポーターだけではなくて魚も阻害をするし、さらにはミジンコも阻害するということが分かりました。

下水での抗うつ薬活性値(当量値EQ)、イギリスと日本の比較

- 4 STPs in Japan, in 2018 August, and 2019 December
- Oxford, Aylesbury, and Benson STPs, in 2019 September



- ✓ UKの下水の方が、日本の下水よりもSERTに対する阻害活性が強い
- ✓ メダカとゼブラフィッシュの方がヒトSERTよりも強く阻害を受ける

1) Ihara et al., STOTEN, 2021; 2) Zhang et al., ES&T, 2023

この辺はちょっと飛ばして。

- ①なぜ医薬品が問題か
- ②海外での検出事例
- ③医薬品の薬理活性
- ④水生生物に対して薬理活性の強い医薬品
- ⑤魚の医薬品曝露試験と行動・繁殖異常

最後、魚の曝露試験の結果を御紹介させていただきます。

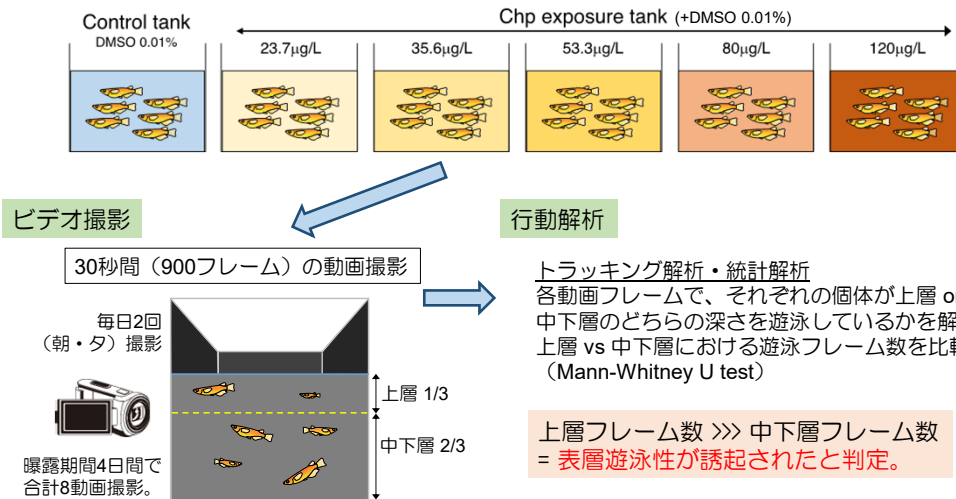
メダカの行動に及ぼす医薬品の影響

33

試験方法

医薬品曝露（半止水式曝露・4日間）

長崎大 征矢野先生、長江先生、薙平先生より
スライド提供



これは長崎大学の先生方との共同研究の結果になります。

水槽でメダカを飼って、そこに医薬品を濃度を変えて曝露します。4日間曝露するのですが、毎日朝と晩にメダカの行動をカメラで撮影します。それで行動に異常がないかを確認しました。

- ✓ 医薬品の類型と構造の関係を把握する
- ✓ ヒトと魚でなぜ医薬品の活性が異なるのか、医薬品と受容体の構造のどこに起因するのかを調べる
- ✓ 医薬品曝露によるメダカの行動異常の精緻な観察、試験法の確立
- ✓ 表層遊泳以外の行動や繁殖の影響の解明
- ✓ 医薬品によって影響を受ける神経系の解明

ご清聴ありがとうございました

最後、今後どういったことをやっていくかということをし少しだけお話しをして終わりにさせていただきます。

まずは、医薬品の種類が分けられるというお話をしました。そこをもう少し深めて、医薬品のタイプと構造を解析しよう。特にどこのアミノ酸が違っているとヒトと魚で医薬品の活性の違いが出てくるかということ調べてようと思っっています。これは、ほかの大学の薬学系でAIを使った構造のシミュレーションといったことが御専門の先生方と今進めているところです。

今お話しした、ヒトと魚でなぜ医薬品の活性が異なるのかです。それを受容体の構造から見ていきます。行く行くはいろいろな生物で受容体をクローニングできたときに、そのアミノ酸配列から医薬品の活性がどれくらい強く阻害を受けるかというのを試験しなくても、ある程度アミノ酸配列から構造を予測して、そこから医薬品の活性も予測できるというようなことができればと思っています。

あと、メダカの行動異常、先ほど表層遊泳を御紹介しましたが、もう少し詳しく観察して、最後に試験法まで持っていければというのを、今ほかの大学の先生方とやろうとしているところです。

あとは、表層遊泳以外の行動とか繁殖の影響の解明ということです。

医薬品によって魚の生体内でどこのどういう神経が影響を受けるかということも *vivo* を使って観察していきたいと考えています。

私からの発表は以上になります。御清聴、ありがとうございました。

ラボメンバー、共同研究者(敬称略)

高知大学

井原満理子

長崎大学

征矢野清

長江真樹

薙平裕次(現 高知大学)

東京理科大学

宮川信一

広島大学

豊田賢治

京都大学

Zhang Han(現 大連工科大学)

加藤大典(現 日立)

韓旻光

花本征也(現 金沢大学)

中田典秀(現 神奈川大学)

田中宏明

**本研究は、琵琶湖淀川研究基金、フソウ財団、科研費基盤B、科研費基盤A、
環境再生保全機構環境研究総合推進費(5-1952, 5-2204)の支援を受けて実施しました。**