

AR-7-'94

国立環境研究所 特別研究年報

平成 5 年 度

環境庁 国立環境研究所

平成5年度国立環境研究所特別研究年報 の発刊に当たって

研究所の組織改革によって“特別研究”が地域環境研究グループに集約されてから、今年ですでに4年目を迎え、本書はその第3回目の研究成果年次報告書となります。ところで、平成4年度をもって4チームが抱えて実施してきた5つの研究課題が終了し、本年度はこれに代わる新たな2課題がスタートしました。

5つの終了課題のうち、「トリクロロエチレン等の地下水汚染の防止に関する研究」と「有害廃棄物のモニタリングに関する研究」についてはメンバー交替も含めた新たな展開を図るために1年間の準備期間を置くこととしました。

残る3課題のうち、「粒子状物質を主体とした大気汚染物質の生体影響に関する実験的研究」は長期の動物実験によるデータ蓄積が必要なテーマであるため、基本的には発展的継続として再スタートを切りました。ただし、新規計画の特徴は特にディーゼル排気による呼吸器疾患の発生機序の解明と量-反応関係の同定に重点を置いています。新たに工夫し建設した暴露装置を活用しつつ、これまで得られていない新たなメカニズムに関する科学的知見が得られるものと期待しているところであります。

あとの2課題は、すでに昨年度一年間の準備を終えた交通公害対策チームと一体となって、都市環境の保全計画につながる協力プロジェクトとして一つに集約し、「環境負荷の構造変化から見た都市の大気と水質問題の把握とその対応策に関する研究」として、スタートしました。近年、都市機能は様々な面で急激に変化しつつあり、それが環境面にこれまでになかった多くの影響をもたらしつつあります。しかもいまの地球環境問題は、これまでの都市の構造や機能にも大きな制約を課すであろうことが想定されます。このような状況を背景とし、このテーマは新たな都市環境対策を見いだすための第一歩と位置づけて開始したものですから、今後の進展を大いに注視したいと考えております。

なお、環境基本法の制定とこれに伴う各種の環境施策の新たな展開は、当然地域環境に関する特別研究のあり方にも大きな影響を与えるものと考えられます。そこで、地域環境研究の今後の方向性を検討するために、全所的な組織を設けることにいたしました。従ってここでの議論を踏まえた特別研究の変革が、今後の報告の中に反映されていくものと思います。このことに関しても内外からのご提言、ご批判を賜れば幸いです。

平成6年8月

国立環境研究所

所長 鈴木 継 美

目 次

1. 概 況	1
2. 特別研究	
2.1 水環境における化学物質の長期暴露による相乗的生態系影響に関する研究（最終年度）	3
2.2 閉鎖性海域における水界生態系機構の解明および保全に関する研究	13
2.3 環境保全のためのバイオテクノロジーの活用とその環境影響評価に関する研究	21
2.4 湿原の環境変化に伴う生物群集の変遷と生態系の安定化維持機構に関する研究	27
2.5 環境中の有機塩素化合物の暴露量評価と複合健康影響に関する研究	35
2.6 湖沼環境指標の開発と新たな湖沼環境問題の解明に関する研究	41
2.7 都市型環境騒音・大気汚染による環境ストレスと健康影響に関する環境保健研究	51
2.8 環境負荷の構造変化から見た都市の大気と水質問題の把握とその対応策に関する研究（初年度）	59
2.9 ディーゼル排気による慢性呼吸器疾患発症機序の解明とリスク評価に関する研究（初年度）	67

1. 概 況

地域環境研究グループは“保全対策”と“リスク評価”の2分野について10課題の特別研究を12チームによって実施した。それら成果の要点を研究チームごとにまとめると以下のようなものである。

まず“保全対策”分野では4課題を担当した。

海域保全研究チームは本年度は東京湾、瀬戸内海の水質・微生物調査を通じて、湾内の有機汚濁機構及び炭素循環を明らかにするために、海洋生態系の循環機構並びに微小食物連鎖の速度論的検討を行った。

湖沼保全研究チームは屋外実験池を用いて魚密度を変化させることにより、生態系構造の水質、物質循環に及ぼす影響の解析を行った。また、霞ヶ浦等で溶存有機物の内容、動態を調べ、そのモデル化を行った。

有害廃棄物対策研究チームは廃棄物処分地に起因するリスク評価を行うため、埋立地からの浸出水や埋立地汚染土壌の分析手法を検討した。また、揮発性有機塩素化合物によって汚染された土壌、地下水汚染の浄化技術の開発と評価を行った。

水改善手法研究チームは首都圏を対象とし、特に東京湾への生活系の汚濁負荷を削減する上で下水道の高度処理と、単独処理浄化槽の高度合併処理浄化槽への切り換えが効果的なことを見いだした。また団地、外食産業の原単位調査より外食依存度の高い生活パターンでは生活雑排水に比べてし尿由来の排水の占める割合が高まり、効果的に窒素除去を行う上で生活雑排水にかわる有機炭素源が必要なことなどを明らかにした。

都市大気保全研究チームは東京及び大阪地域における大気汚染物質濃度の経年変化や地域分布の特徴を調べ、さらに三次元モデルを用いた解析を行い二次生成大気汚染の広域化の傾向を定量的に解明した。また関西地域において問題となっている春季の高濃度大気汚染の生成機構を明らかにするために、フィールド観測を行い光化学反応の重要性を明らかにした。

交通公害防止研究チームは、大都市を中心とした交通公害問題をより精緻に把握するためのシミュレーションプログラムと情報システムの拡充に努めるとともに、この問題を解決するための手段として公共交通、自動車交通、道路構造のそれぞれの分野における対策案を見いだ

すとともその技術的可能性を検討した。

環境リスク評価を対象としている分野では、5つの特別研究が行われた。このうち、化学物質生態影響評価研究チームが実施してきた特別研究が終了し、複数の農薬の暴露が藻類、動物プランクトン、水生昆虫などに及ぼす相加的あるいは相乗的影響、生物種間の感受性の差や耐性、生物間相互作用に対する影響などの検討を行い、化学物質の水系生態系に及ぼす影響評価に必要な知見を収集・整備した。

他の研究チームの特別研究は中間段階であるが、新生生物評価研究チームでは、バイオテクノロジーを利用した環境保全技術、遺伝子操作生物およびその遺伝子の環境挙動を追跡する手法および遺伝子操作生物の影響評価手法の開発の3つの目的に向かって、組換え体の作成、組換え体の環境中での生残性の検討、マイクロゾムやライシメーターを用いた影響評価実験などを行った。

化学物質健康リスク評価研究チームでは、有機塩素化合物を例にとり、化学物質の環境影響の総合評価手法の開発を目指して、河川での底質および水中の有機塩素化合物の検出、検出された化合物の複合影響評価の *in vitro* 系の試験システムの開発などを行った。

都市環境影響評価研究チームでは、都市における環境ストレスや健康リスクの評価・管理システムの確立に向けて、職業・通勤ストレスなどが騒音ストレスに及ぼす影響や大気汚染がアレルギー性鼻炎に及ぼす影響などを、疫学的な手法によって検討した。

大気影響評価研究チームでは、ディーゼル排気が呼吸器疾患に及ぼす影響の解明を目指して、ディーゼル排気が気管支ぜん息やアレルギー性鼻炎に及ぼす影響やディーゼル排気による呼吸器腫瘍の発症に及ぼす食事性因子の解明などを行った。

なお、本年度10月に発足した“途上国健康影響研究チーム”は開発途上国環境技術共同研究予算によって、途上国（特に中国を主対象に）石炭燃焼による大気汚染がもたらす健康影響の予測のための予備研究を行った。

以上は各研究チームごとの研究概要であるが、特別研究を担当する地域環境研究グループが発足して4年目を迎え、特別研究の課題設定にも次第にこれまでとは変化

が生じてきた。それは、数チームが共同して本年度よりスタートした“都市環境保全・対策”に関する総合的テーマである。まだ、このような試みがどう進展するか不明

であるが、今後もこのような新たなテーマ設定の努力を続け、環境問題の急激な進展に対応していきたいと考えている。

2. 特別研究

2.1 水環境における化学物質の長期暴露による相乗的生態系影響に関する研究（最終年度）

平成元年～5年度（1989～1993年度）

【研究組織】

地域環境研究グループ	
統括研究官	内藤正明
上席研究官	中杉修身
化学物質生態影響評価研究チーム	○畠山成久・笠井文絵・花里孝幸・菅谷芳雄
化学物質健康リスク評価研究チーム	白石寛明
大気影響評価研究チーム	安藤 満
地球環境研究グループ	
統括研究官	安野正之
野生生物保全研究チーム	高村健二
生物圏環境部	
部長	岩熊敏夫
生態機構研究室	宮下 衛・野原精一・上野隆平・多田 満
分子生物学研究室	田中 浄
客員研究員 8名, 共同研究員 2名	

【研究概要】

自然生態系は人間の生存や社会生活の快適性を支えるものであるが、環境汚染や開発の影響に常にさらされている。近年、ある面では環境汚染は改善されつつあるものの、社会経済活動の質的量的拡大により複雑多様化している。河川や湖沼も多種多様な化学物質で汚染されているが、それらの環境中での動態や生態系影響に関する知見はごく限られた範囲にとどまっている。化学物質の安全性評価作業は OECD など国際的な課題でもあり、現在または将来使用が予想される化学物質の生態系リスクアセスメントのための研究が急務とされている。

本研究では化学物質の中で水界生態系に最も広範囲に影響を及ぼしていると考えられる農薬類を主な対象として、その実際の生態影響の評価を行う。一方、各種の実験により生物間の相互関係に基づく化学物質の生態影響評価に関する知見を集積する。それらのためには、当該化学物質の暴露量の推定と各種生物の化学物質感受性の種間差についてのデータが必須である。また生物種間の相互関係をかく乱する化学物質の影響とその波及効果（2次的影響）の解

析も生態系影響評価には不可欠のデータである。野外調査では河川の農薬汚染状況とその生物影響および生態影響との相互関係を明らかにする。これらのデータや知見を総合して、化学物質の生態影響評価のクライテリアの確立をめざし、化学物質の影響から水界生態系を保全するための施策に貢献することを目的とする。

本研究は以下の4つのサブテーマをもって行われたが、各テーマごとに研究の概要を記す。

（1）生態系レベルにおける化学物質の相乗的影響に関する研究

農薬類の水生物に対する暴露量を明らかにするため、河川・池沼の農薬類を高頻度で分析し、それら濃度の季節的変動パターンを明らかにした。これら農薬類の潜在的生態毒性を評価する手法として、緑藻（セテナストルム）やヌカエビを用いた生物試験を行い、除草剤や殺虫剤が水生生物に及ぼす潜在的生態毒性の季節変動を明らかにした。さらに、環境中に検出された各種薬剤の毒性試験データなどから、河川水中のセテナストルム増殖阻害や

ヌカエビの死亡がいかなる薬剤がどの程度関与して引き起こされたかが推定できた。さらに他の水生生物、実験生態系に対する農薬類の複合影響の評価を行った。河川の生物に及ぼす農薬類の影響に関しては、水生昆虫に関して多くの知見が得られた。

(2) 生物の化学物質に対する種特異的感受性に関する研究

環境中に高濃度、高頻度で検出される除草剤としてシメトリンを選び、各地から単離培養された藻類株に対して生物試験を行い、薬剤感受性に広範囲な種間差があることが分かった。実験生態系を高濃度の除草剤で暴露し続けると藻類の優占種は薬剤抵抗性の系統に置換することが分かり、河川においても同様の現象が起こるかどうかの検討を行った。水生昆虫の殺虫剤感受性の種間差を検討し始めたが、さらにデータの蓄積が必要である。農薬汚染河川に優占する水生昆虫の殺虫剤感受性の種間差と薬剤耐性機構を検討した。そのなかで、ユスリカの特定種、または特定の系統は殺虫剤に著しい耐性を有しており、それらの薬剤耐性機構の概要が明らかにされた。生息環境と薬剤耐性獲得との関連についてユスリカ、トビケラに関し調査を行った。ホタル、トンボ、タガメなど環境生物とよばれる水生生物に関しても、農薬類の影響試験がなされ、現在使用されている物質のみならず有機塩素系農薬類など過去にさかのぼっての影響評価もなされた。

(3) 生物種間の相互作用に及ぼす化学物質の影響評価に関する研究

動植物プランクトン群集からなる実験生態系（構成種は霞ヶ浦底泥由来）を屋外実験水槽に作製し、生物間の相互作用を介した化学物質の影響評価を行ってきた。動物プランクトンやその捕食者間の相互関係に基づく化学物質の2次的影響に関してはかなり予測できる段階に達した。一方、1次生産者である藻類（植物プランクトン）、あるいは藻類と動物プランクトン群集の両者が影響を受けた場合の影響評価に関しても、屋外の実験生態系を用いて検討を行った。ミジンコの捕食者（フサカ）の放出するカイロモンや殺虫剤、または両者の相乗効果によりミジンコの形態変化や行動異常が起こりその結果、動物プランクトンが捕食者に捕食されやすい状態になったり成長や繁殖が抑制される事を明らかにした。

(4) 生態系レベルでの化学物質のリスクアセスメントに関する研究

実際の河川において、水生生物が化学物質（農薬類を対象）によっていかなる影響を受けているかを実証するための調査を行ってきた。河川の生態系は農薬以外にも様々な要因で影響を受けるので評価が難しい。そのため、対照として低農薬または無農薬水田地帯を流れる河川の生物相を下流の農薬散布地帯のそれと比較し、農薬類の相乗的影響評価を行ってきた。さらに、農薬汚染の河川水を導入した人工水路などを用い、農薬類複合汚染の生態影響に関する実験を行った。実験生態系（湖沼モデル）を用いて生物間相互関係を介した化学物質の生態影響評価に関する、多くの知見を集積したが、今後は自然生態系における影響評価への適用も検討する。

〔研究成果〕

(1) 生態系レベルにおける化学物質の相乗的影響に関する研究

1) 河川水中でのセテナストルム（緑藻）の増殖は5月から6月にかけて、主として数種類の除草剤により5月中旬をピークとして著しく抑制されることを数河川の試験結果から明らかにした。昨年度は人工水路に河川水を導入した実験から、セテナストルムが著しい増殖阻害を受ける時期には藻類（付着藻）生産も抑制されることを示す試験結果が得られたが、実験の後半から藻類を摂食する底生生物が水路に侵入し、除草剤の藻類生産に及ぼす影響評価を困難にした。今年度は、昨年度の方法に加え、人工水路に侵入する底生生物を除去し続ける操作（週2回）と水路の照明（蛍光灯）を連続光にして、除草剤複合汚染の藻類生産に及ぼす影響をさらに検討した（図1）。今年度も、5月中旬の河川水におけるセテナストルムの増殖はバクテロールとプレチラクロールの相加的影響により著しく阻害されたが、昨年まで見られた6月中のシメトリンの影響は軽微であり、6月上旬のセテナストルムの増殖阻害は約5種類の除草剤の相加的影響によるものであった（図1）。人工河川（小貝川河川水を導入）において、タイル設置3日後にその表面上に発生する藻類量（クロロフィル-aとして）は、セテナストルムの増殖が著しく抑制される時期に、他の時期に比較し約50%前後の値に減少した。5月中旬でも河川水から除草剤を除去すると、河川水中でセテナストルム増殖は完全に回復すること（栄養塩欠乏ではない）、水路の照度、水深、流

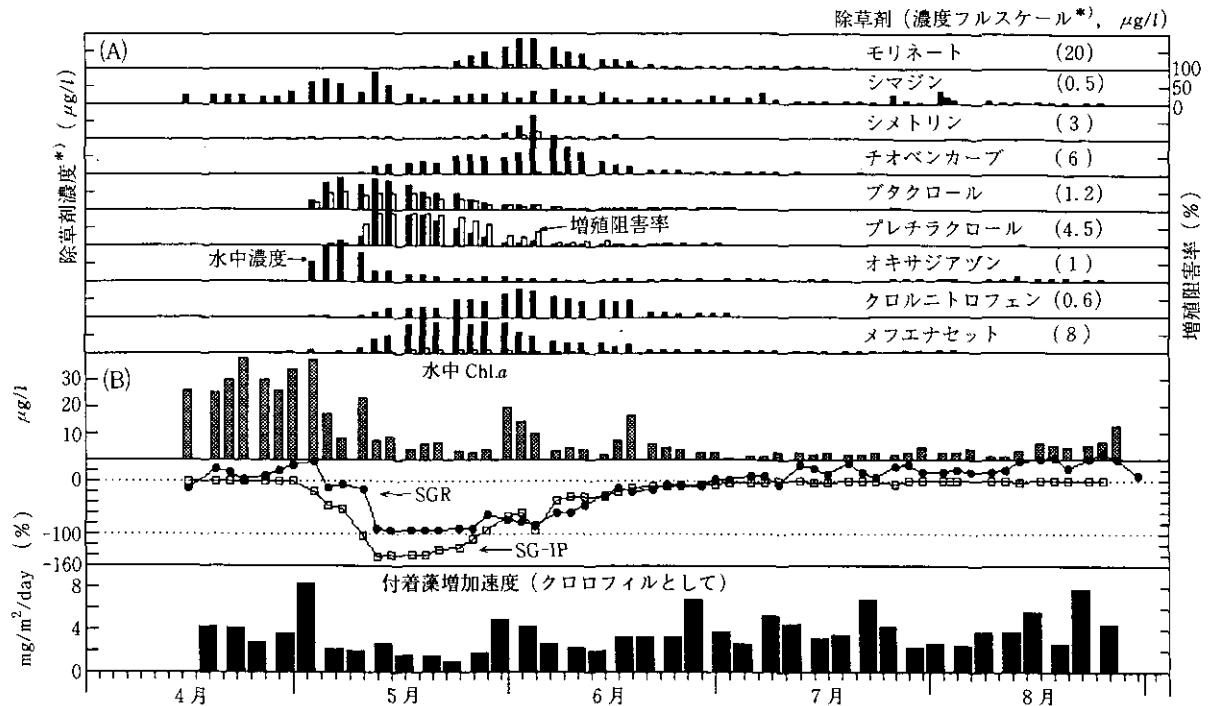


図1 (A): 河川水 (小貝川) 中の各種除草剤濃度とそれら濃度におけるセテナストルム増殖阻害率の変動 (B): 1) 河川水中のクロロフィル濃度, 2) 河川水サンプル中で3日間培養後のセテナストルム増殖率 ($\text{SGR} = (W - C) / C \times 100$, W: 河川水中での増殖密度, C: 対照の増殖密度, 対照は C-培地中で初期濃度 10^4 cells/ml が3日後に70倍前後に増殖) と各除草剤の増殖阻害率の積算値 (相加的影響, SG-IP), 及び 3) 人工基物上に発生した付着藻類の生長速度 (3日後)

速等は一定であった事などから, 5月中旬の藻類生産量の減少は, 上記の除草剤の相加的影響によるものと考えられた。これらの結果は, セテナストルム生物試験のバイオモニタリングにより除草剤による生態影響の一面 (1次生産の減少) が評価可能であることを示す。

2) 殺虫剤複合汚染の水生生物に及ぼす影響評価に関して, ヌカエビ生物試験によるバイオモニタリングが有効であることを示してきた。調査河川 (小貝川, 全長 110km) の定点から採水した河川水中におけるヌカエビ (生後4週間) 死亡率の4月から8月にかけての死亡率の変動を, 5年間にわたって調べ殺虫剤総合毒性の経年変化を明らかにした (図2)。殺虫剤の総合毒性は経年的にやや減少の傾向を示す。いずれの年も, 5月下旬からヌカエビの死亡率が増大し始め6月上旬にピークとなりその後中旬にかけ高死亡率は減少した。7~8月の間欠的な死亡率の増大はいずれの年も, 空中散布によるものと考えられ, それら高死亡率の急速な減少は大雨などの増水によることが多かった。これらヌカエビ死亡率増大の原因はこれまで述べてきたように, 数種類の殺虫剤の

単独あるいは相加的・相乗的な影響によるものでありこれらの除草剤を除去した河川水中では6月上旬の河川水でも死亡率は0となった。

3) 河川水中でのヌカエビ生物試験により, 調査河川は春~夏期にかけ同種の生息がほとんど不可能な環境となることが分かった。今年度は, ヌカエビの死亡率増大が他の水生昆虫 (カゲロウ, 2種) への影響をいかに反映するかについての実験を行った。エルモンヒラタカゲロウは国内の河川に広く分布し, ある程度きれいな河川に優占し付着藻類を摂食する代表種である。鬼怒川上流 (シーズンは鮎の釣り場としてにぎわう) からカゲロウの幼虫 (5mm 前後) を採集し, 水路内のかごに入れてその後の成長・羽化率を調べた。4月から6月にかけてエルモンヒラタカゲロウの羽化率は徐々に減少し, 6月上旬は死亡率が急速に100%まで増大し羽化率は0になった (図3)。しかしその後羽化率は8月末には再び70%程度に増加した。冬季間や農業使用時の直前に水路に導入したカゲロウは, 低水温のため成長速度が遅かったが早春にそのほとんどが羽化した (図3, exp. 8, exp. 9)。

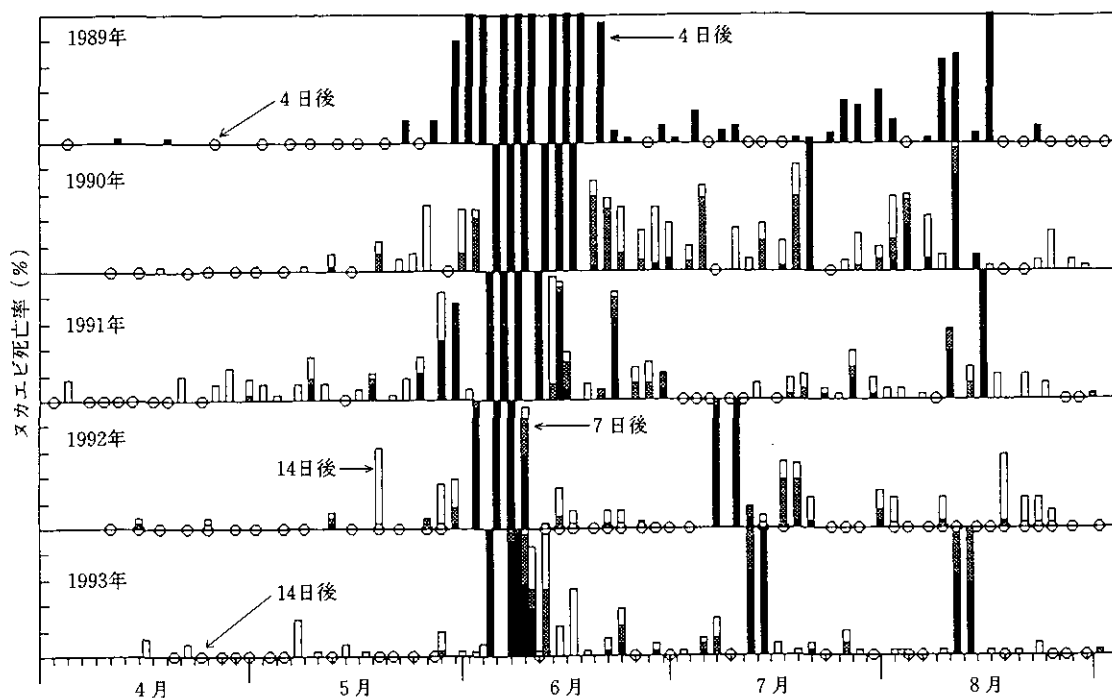


図2 河川水（小貝川）サンプル中でのヌカエビ（生後4週間）死亡率の季節的及び経年的変動（1989～1993年）
（1989年のみは河川水サンプルに導入4日後まで観察，それ以後は2週間後まで観察）。

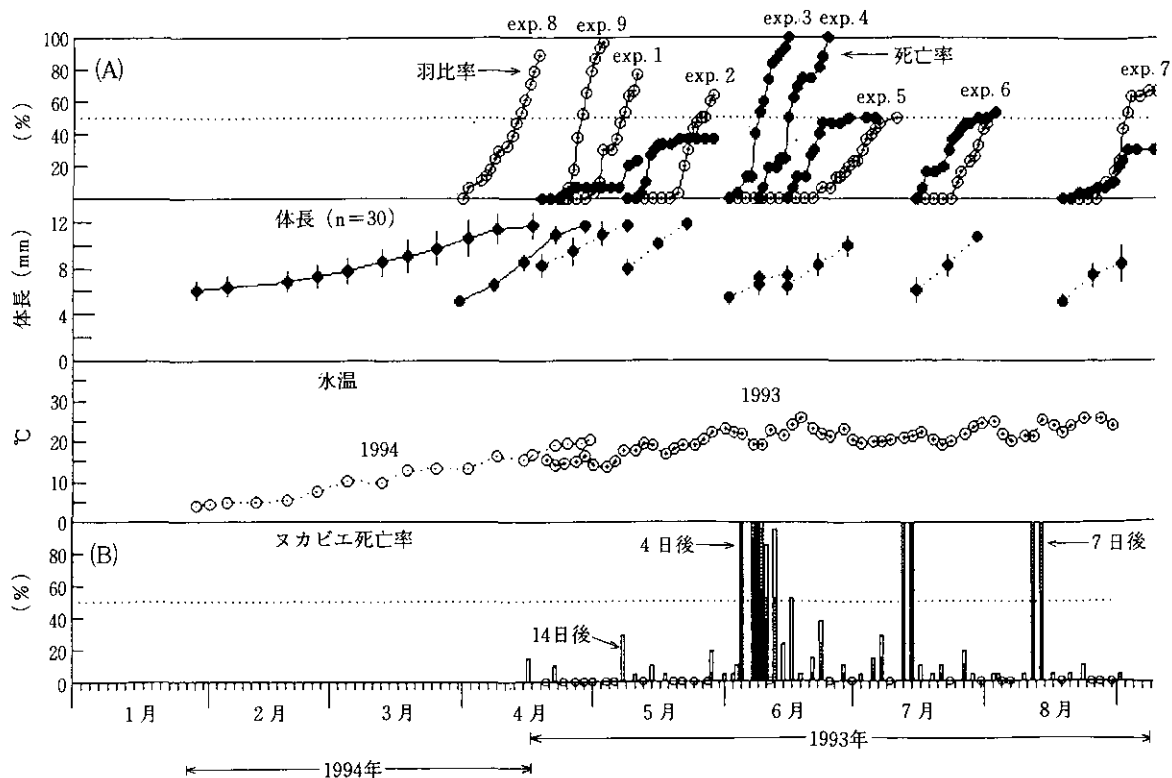


図3 (A)：河川水導入の人工水路におけるエルモンヒラタカゲロウの生長速度及び死亡率・羽化率（カゲロウは鬼怒川上流域から採集） (B)：河川水サンプル中でのヌカエビ死亡率の変動（1993年）

(2) 生物の化学物質に対する種特異的感受性に関する研究

1) 実験生態系を高濃度の除草剤シメトリンに暴露すると藻類群集は耐性系統が優占する藻類組成に置換することが示されたが、実際の河川では藻類群集はもっと低濃度の除草剤にしか暴露されない。自然環境で藻類群集が除草剤に暴露された時どのような変化が起こるかを、小貝川河川水を導入した水路に発生する藻類群集(人工基物設置7日後)から各種藻類を分離してそれら藻類のシメトリン感受性の変化から調べた。図4にそれぞれの日に分離した藻類株のシメトリンに対する7d-EC₅₀値(7日間で、増殖を50%阻害する濃度)と河川水中のシメトリン換算濃度(個々の除草剤のセレナストルム増殖阻害率の積算値(図1)からシメトリン濃度を逆算)の変化を示した。河川水中のシメトリン換算濃度は5月初旬に急激に高まり、5月中旬にピークとなりその後徐々に減少した。ケイ藻や緑藻のEC₅₀値は河川水中のシメトリン換算濃度が低い時期からそのピーク時の5月中旬でも10~50 μg/l とほぼ同じ値を示した。一方、クラミドモナスのEC₅₀値は、シメトリン換算濃度が低い時期には20~30 μg/l と低い値を示したがシメトリン換算濃度のピーク時には200 μg/l 前後とかなり高い値を示し、クラミドモナスはこの時期除草剤耐性の系統に置換したことを示した。しかし、他の藻類の感受性はピーク時以前と変わらず、この程度の除草剤濃度では非常に感受性の高い種のみが

耐性系統に変化し、他の多くの藻類は耐性系統に置換しなかったことを示している。河川水中の除草剤濃度が低下した7月中旬には緑藻類はそれ以前とはほぼ同様の感受性を示したが、ケイ藻類のEC₅₀値はむしろ高い値を示したがそれらの原因については今後の検討を要する。

2) 水生昆虫全般の有機リン系殺虫剤フェニトロチオンに対する感受性の種間差を調べる目的で河川に隣接した人工水路(循環式)や室内に設置した小型流水式水路を用いて、様々な水生昆虫に対する急性毒性試験を行った(図5)。マダラカゲロウ、トビケラ類の中に比較的耐性の高い種があった。特に日本の河川で現存量が最も大きくなる傾向が強いヒゲナガカワトビケラのフェニトロチオンに対する半数致死濃度(24h-LC₅₀)は数100 μg/l と比較的高い耐性を示した。農業汚染環境下の河川に優占するウルマーシマトビケラも高い耐性を示し、特にコガタシマトビケラは著しい耐性を示すが、各地の河川を調べたが同種の感受性系統はこれまでに検出されていない。コカゲロウの数種やエルモンヒラタカゲロウは農薬類にやや汚染された河川でも優占種となることが多く、これらの種はその移動性(流下)や成長速度、多くのコホート(集団)から成っているため殺虫剤などの影響を受けても、その地域への回復能力が高いことによるものと考えられる。

3) 殺虫剤汚染とそこに出現するユスリカ類の薬剤抵抗性については高い相関が認められ、同じ種類であっても

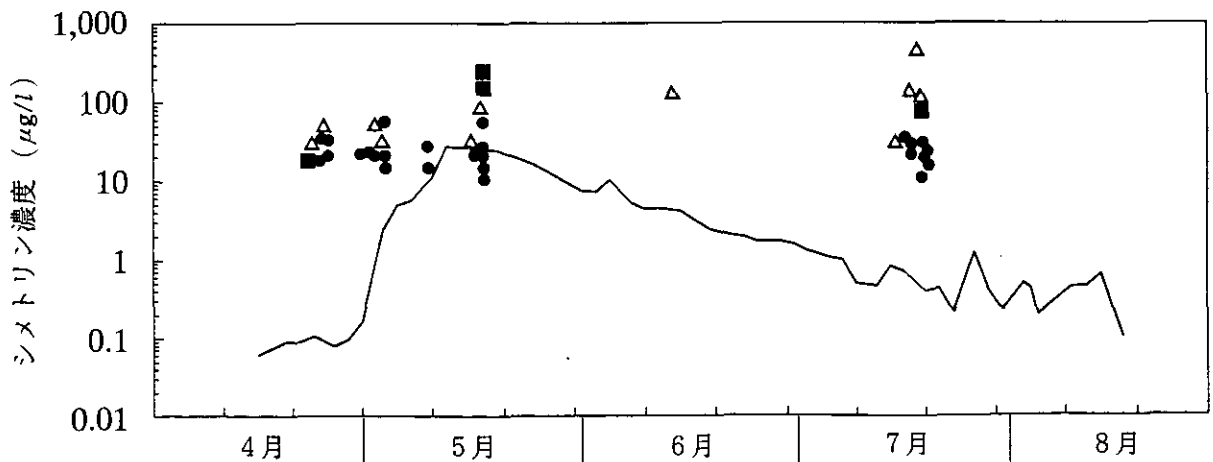


図4 小貝川の河川水のシメトリン濃度換算値(個々の除草剤のセレナストルム増殖阻害率の積算値(図1)と「シメトリン~セレナストルム」の用量~反応(増殖率)のprobit回帰式からシメトリン濃度を逆算)と小貝川から分離された様々な藻類株のシメトリン感受性の変化(シメトリン感受性;7日間の50%増殖阻害濃度)
△:ケイ藻, ●:緑藻, ■:クラミドモナス

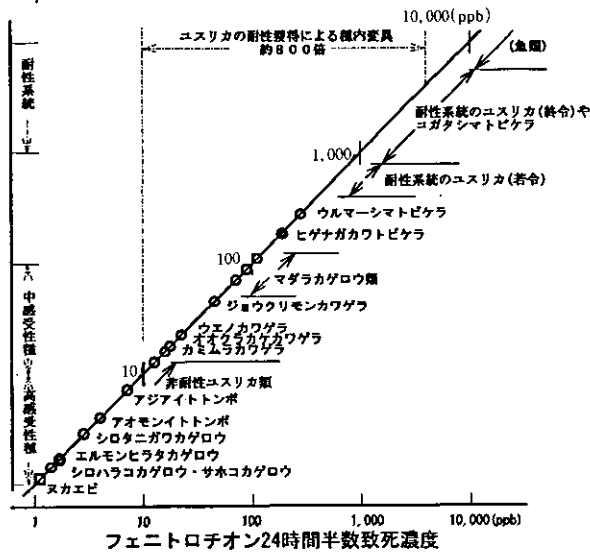


図5 各種底生生物に対するフェニトロチオン（有機リン系殺虫剤）の24時間半数致死濃度（水生昆虫の多くは流水式試験装置により、生物試験を実施）高感受性生物の数ppb程度から殺虫剤抵抗性ユスリカ、コガタシマトビケラまで数1000倍の感受性差が存在した。

汚染地域に生息するもののみが耐性を獲得していた。小貝川では大まかに5月中旬から夏期が汚染される期間であり秋から翌春にかけては少なくとも水中の殺虫剤濃度は検出されないか極めて低い。初夏から秋期まで羽化していたフチグロユスリカ、*Glyptotendipes tokunagai*等は冬期にも採取されるがその間も高い薬剤耐性を示した。一方、冬期にのみ繁殖し優占する *Orthocladius glabripennis* は4種の殺虫剤に対しても高い感受性を示した。この種は夏期を底泥中で夏眠するといわれ、この事により高感受性種にもかかわらず殺虫剤高汚染河川でも生息しようと推測された。

(3) 生物種間の相互作用に及ぼす化学物質の影響評価に関する研究

1) ミジンコ (*Daphnia pulex*) に及ぼす捕食者フサカのカイロモン、貧酸素、及び殺虫剤カルバリルの複合影響を調べた。これら三つの要因は自然の水界でミジンコ個体群に影響を与える環境ストレスと考えられる。三つの要因は、どれもミジンコの幼体成長速度、成熟サイズ、抱卵数、仔虫サイズを低下させることが示された。また、それらの要因の内、いずれの二つのペアでも、また三つすべてについても統計的に相乗影響が認められた。このことはすなわち、いずれの要因もミジンコの他の要因に対する耐性を低下させる作用のあることを意味する。三

つの要因を様々な組み合わせた条件下で飼育されたミジンコの抱卵数と体長を比較すると、飼育の条件にかかわらず、両者には顕著な正の相関が見られた(図6)。また、同様に親の体長と仔虫サイズの間にも正の相関が得られた ($Y=0.370 X+0.136$, $r=0.82$, $n=34$; Y , 仔の体長, X , 親の体長)。これらのことは、抱卵数や仔虫サイズは親のサイズに直接的に依存し、親のサイズ(成熟サイズ)は幼体時の成長速度に影響されることを示している。すなわち、幼体時に成長速度が低いと、親の成熟サイズが小さくなって抱卵数が低下し、小さな仔虫を産むことになる。カイロモン、貧酸素、カルバリルにさらされたミジンコは成熟サイズ、抱卵数、仔虫サイズを低下させたが、どの要因もこれらのパラメータに直接影響を与えたのではなく、幼体時の成長に影響を与え、成長速度を落としたのが第一義的な影響と考えられる。

2) これまでの研究で、フサカのカイロモンだけでなく、殺虫剤のカルバリルもミジンコの尖頭形成などの形態変

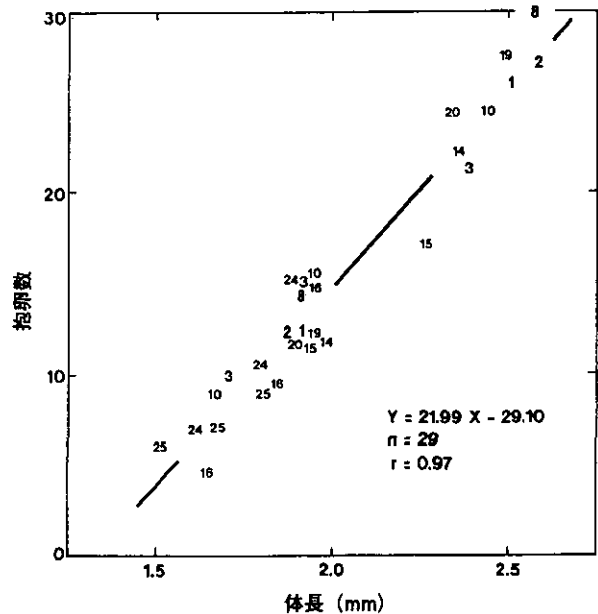


図6 カイロモン(K), 溶存酸素濃度, および殺虫剤(カルバリル; C)を組み合わせた条件下で飼育されたミジンコの体長と抱卵数の関係(極低酸素濃度: 1~2 mg O₂/l (LL), 低酸素濃度: 2~3 mg O₂/l (L), 高酸素濃度: 6~9 mg O₂/l (H)) 図中の数字は飼育条件を指す。1と14: H, 2と19: L, 3: LL, 8: H+K, 10: L+K, 15: H+C (5 μg/l), 16: H+C (10 μg/l), 20: L+C (5 μg/l), 24: H+K+C (5 μg/l), 25: L+K+C (5 μg/l)。

化を誘導することが明らかとなった。そこで、これら二つの要因が複合的に形態変化に影響を与えるものと考え、マギレミジンコを用い、それを実験的に解析した。マギレミジンコはカイロモンに反応して2齢以後に尖頭を形成する。一方、低濃度 [1~3 $\mu\text{g/l}$ (特に1 $\mu\text{g/l}$ ではマギレミジンコの成長や産仔に何の影響も与えない)] のカルバリルに暴露されたときは多少頭部の伸長が見られたが、尖頭は形成しなかった。ところが、このミジンコをカイロモンの存在下でこれら低濃度のカルバリルにさらすと、カイロモンだけにさらされたときより顕著な尖頭を形成した(図7)。ただし、このカイロモンとカルバリルの影響には、相乗的な働きを統計的に検出することができなかった。したがってこの影響は、相乗的影響とい

うよりも相乗的影響といえるであろう。ミジンコの尖頭はフサカによる捕食を妨げる効果があることから、カルバリルは低濃度でもカイロモンが存在すると生物間相互作用(食う-食われる関係)に変化を与え、ミジンコ個体群に影響するものと考えられる。

3) ミジンコ (*Daphnia pulex*) 成体をカルバリルにさらし、行動の変化を解析した。解析にはビデオカメラを用い、三次元方向からミジンコの行動を記録して、デジタイザーを用いて解析した。致死濃度のカルバリル40 $\mu\text{g/l}$ にさらされると、ミジンコはくるくると回転行動を起こした。それより低い濃度(1 $\mu\text{g/l}$ 以下)でもミジンコの跳ね上がる頻度や角度に異常が検出された。100 $\mu\text{g/l}$ のカルバリルに短時間暴露されてくるくる回転しているミジンコと行動

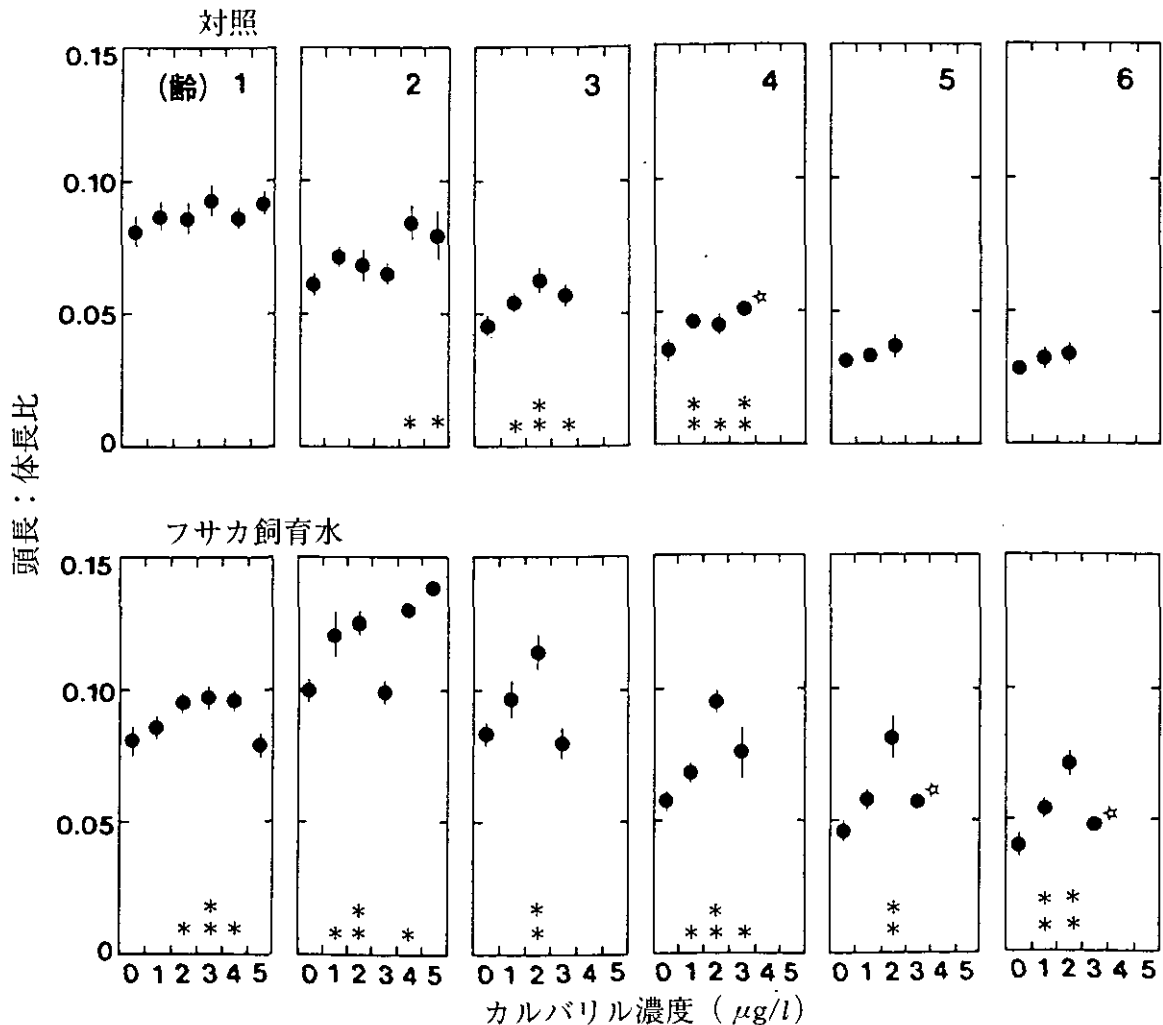


図7 異なる濃度(0~5 $\mu\text{g/l}$)のカルバリルを含んだ対照(カイロモンを含まない)の飼育水と、フサカを飼育した水(カイロモンを含む飼育水)で飼育したマギレミジンコの、頭長:体長比の成長に伴う変化
黒丸と縦棒は平均値と標準誤差を示す(☆は繰り返しの数が2以下、対照との有為差: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$)。

の正常なミジンコを各1個体ずつ魚（ブルーギル）の入った水槽に入れ、魚がどちらのミジンコを先に捕食するかを観察した。全体で42回の試験を行ったうち、31回の試験で回転しているミジンコが先に捕食された（表1）。これは、異常な行動を示唆しているミジンコが魚の注意を引いたために選択的に食べられたものと考えられる。ミジンコの異常な行動は上述したように極めて低濃度のカルバリルでも観察されている。このことは、致死濃度以下の低濃度の殺虫剤でもミジンコの行動に異常を起し、ミジンコが捕食者に食われやすくなることを示唆している。すなわち、殺虫剤は低濃度でも捕食者-被食者関係（食う-食われる関係）に影響を与え、結果的にミジンコの個体群動態に影響を及ぼす可能性が考えられる。

表1 カルバリルに暴露され回転行動を起こしているミジンコ (*Daphnia pulex*) と正常なミジンコ (各1個体) を同時に与えたときの魚 (ブルーギル) の選択的捕食

	先に食われたミジンコ		試験回数
	カルバリル処理 (回転行動)	カルバリル無処理 (正常)	
魚 # 1 (サイズ70mm)	10	4	14
# 2 (サイズ60mm)	11	3	14
# 3 (サイズ56mm)	10	4	14
合計	31	11	42

合計の値のカイ2乗検定値は5.05で、これは $p < 0.025$ で統計的に有意

(4) 生態系レベルの化学物質のリスクアセスメントに関する研究

1) 河川水中でセレナストルムの増殖が除草剤の複合汚染によりほぼ完全に抑制された場合、河川水中での藻類生産も一時的にせよ抑制されることが示された。藻類の増殖速度は速いので、河川水中の除草剤濃度が低下するのに伴って、藻類の生産は速やかに回復する。しかし、主として藻類を餌にしているカゲロウなどの水生昆虫の多くは年1~2世代といわれ、春期（特に、この時期は若齢期）には餌（藻類）の量としての減少のみならず、農薬類によって汚染された藻類（餌）を介した影響も受ける事を示唆される調査結果が得られた（水中の農薬類濃度減少後も死亡率増大）。調査河川（小貝川）では春から夏期にかけ様々

な種類の農薬類で汚染され、ヌカエビのみならず国内の比較的きれいな河川に広く優占するエルモンヒラタカゲロウの死亡率も6月には著しく増大した。しかし、農薬汚染時期からもっとも経過した冬期や農薬使用直前の早春では、エルモンヒラタカゲロウ（この種は、水生昆虫の中では感受性種、図5）でも100%近く羽化することなどから、水質的には感受性の水生昆虫でも生息可能な環境に戻っている可能性が高い。調査河川は、そこに生息している生物の種類数少なく、農薬類汚染時期に優占する水生昆虫はユスリカやタニシ、トビケラなどの殺虫剤耐性種（または系統）である。もし、春-夏期の農薬汚染がないと仮定すれば、過去の薬剤汚染により破壊された生態系も徐々にではあっても回復の傾向に向かうものと推測される。このようなことがら、上流域（約5km）に生物群集の回復源があり、下流域が夏期に年4回も殺虫剤・殺菌剤の空中散布を受ける水田地帯を流下する河川の生物調査においても明らかにされた。

2) 動物プランクトンに及ぼす殺虫剤カルバリルの影響に関するこれまでの研究成果をまとめた。屋外コンクリート水槽を用いた実験では、動物プランクトン種間のカルバリルに対する感受性の違いが見いだされた。すなわち、感受性の高い順に大型枝角類（ダフニア）、中型枝角類（スカシタマミジンコ・オナガミジンコ）、小型枝角類（ニセゾウミジンコ）・カイアシ類・ワムシ類の一部（ミジンコワムシなど）、ワムシ類の一部（コシボソカメノコウワムシなど）となる。実験水槽では、カルバリル10 $\mu\text{g/l}$ でダフニア個体群の明らかな減少が観察された。また、殺虫剤で汚染されていない水槽では感受性の高いダフニアが種間競争関係で最も優位にあることが示され、低濃度のカルバリルでダフニアが影響を受けると、競争関係を通して他の動物プランクトン個体群にも大きな影響が及ぶことが明らかとなった。

室内実験では、ミジンコ (*Daphnia pulex*) で、旋回行動の誘導、魚による被食率の上昇がカルバリル40 $\mu\text{g/l}$ で、成長速度・産仔数の低下が15 $\mu\text{g/l}$ で観察された。それよりはるかに低い5 $\mu\text{g/l}$ で、行動異常と捕食者フサカの放出する化学物質（カイロモン）との相乗効果による成長速度・産仔数の低下が見いだされた。マギレミジンコ (*Daphnia ambigua*) では、3 $\mu\text{g/l}$ で成長速度・産仔数の低下や死亡率の上昇が見られたが、成長などにほとんど影響を与えない1 $\mu\text{g/l}$ でフサカのカイロモンと複合的に働いてミジンコの尖頭の形成を誘導した。すなわち、

これまでの実験室内の毒性試験では影響の見られない低濃度の殺虫剤でも、生物間相互作用を介して影響が現れることを示したことになる。今後、このような生物間相

相互作用を介した化学物質の生態系影響の解明を進める必要があるだろう。

2.2 閉鎖性海域における水界生態系機構の解明および保全に関する研究

平成3～6年度（1991～1994年度）

〔研究組織〕

地域環境研究グループ

統括研究官

海域保全研究チーム

水改善手法研究チーム

水土壤圏環境部

部長

上席研究官

水環境工学研究室

土壤環境研究室

社会環境システム部

環境計画研究室

情報解析研究室

客員研究員 7名, 共同研究員 3名

内藤正明

○竹下俊二・木幡邦男・中村泰男

稲森悠平

渡辺正孝

相崎守弘

原田茂樹

高松武次郎

大井 紘・近藤美則

須賀伸介

〔研究概要〕

内湾の多くは大都市圏に隣接し、経済価値、環境価値を考慮した湾岸域価値は計り知れないほど大きい。しかし、内湾域では大都市圏が大きな汚濁源ともなり、流入する汚濁負荷が大きい上に汚濁物質が蓄積しやすいため、他の水域に比較して環境基準の達成率は依然として低い状況にある。これには、直接流入する有機物以外に、窒素、リン等の栄養塩の流入による、藻類をはじめとする水生生物の増殖（内部生産）が大きく関与している。富栄養化の進行した閉鎖性海域では、赤潮・青潮等の現象に見られる水界生態系破壊が発生しており、水産への被害はもとより、海域のもつ自浄作用の低下による海岸域における開発、利水、舟運、親水等の多様な機能への悪影響が社会問題化しつつある。

このような状況下では、未解明な部分の多い内部生産の機構を定量的に解明するとともに、流入汚濁負荷（有機物、N、P）削減などの対策の意義を明らかにすることは、内湾生態系を保全し、湾岸を含む貴重な内湾域の価値を損なわないために、緊急かつ重要な課題である。

本特別研究では、現場海域におけるフィールド調査、室内実験、大型計算機による数値シミュレーション等を総合することによって、内湾海域における水界生態系の機構を解明するとともに、閉鎖性海域にかかわる人間活

動の影響と保全対策の評価を行うために、以下の研究課題を実施する。

（1）閉鎖性海域における内部生産の評価と抑制に関する研究

海域の有機性汚濁の要因である内部生産 COD について、その値や窒素、リン削減効果を正確に評価するために、内湾（東京湾、播磨灘）の調査を行い、COD、Chl-a、TOC等の測定値相互の関連を明確にする。さらに内部生産者の構成員である微小生物群集の実態・動態を把握するため、現場海域の調査と室内実験によって従属栄養性渦ベン毛虫－バクテリア間の捕食食物連鎖を定量的に明らかにする。

（2）水界生態系の機構と外的要因の変化との関連に関する研究

内湾の生態系に対し強いインパクトを与える無酸素水塊動態を明らかにするために、現場海域の定期調査を行う。さらに、室内における制御実験を併行することによって有機物（栄養塩）・各種バクテリア・溶存酸素・還元態イオウなどの消長を明らかにし、無酸素水塊形成過程を生物・化学的な側面から解析する。また、無酸素水塊形成に水温・塩分に基づく成層発達や鉛直混合・鉛直循

環流が深くかかわっている。このため、そのモデル化のために内湾密度流実験装置や3次元流動モデルの適用性を確立する。内湾密度流実験を用いて、温度・密度成層の崩壊にいたる過程に与える潮汐流・吹送流及び水面冷却の影響を可視化することにより、鉛直混合及び湧昇流との関連性を検討する。

(3) 閉鎖性海域の評価手法に関する基礎的研究

湾岸域は、利水、水産資源供給の場だけでなく経済・環境面で多様な価値を持つ。水質保全対策を総合的に考慮するために課題(2)で得られる現象解明の成果を踏まえ、富栄養化がもたらす沿岸のもつ各種機能に対する影響の評価および海域とその受容についての評価を検討する。

〔研究成果〕

(1) 閉鎖性海域における内部生産の評価と抑制に関する研究

富栄養化した東京湾では、四季を通して、様々な植物プランクトンが生育し、しばしば特定種が場を独占し、赤潮を形成する。特に東京湾奥北東部では、年間を通し栄養塩濃度が高く、植物プランクトン存在量が多い。当海域では、夏期には底層水が貧酸素化し、しばしば青潮による漁業被害も報告されている。東京湾で赤潮を形成する植物プランクトンは、渦ベン毛藻綱、ケイ藻綱、ラフィド藻綱等に属する物が知られている。東京湾の水界生態系を理解する上で、例えば栄養塩濃度との関連から、これら植物プランクトンの変遷を明らかにする必要がある。さらに、内部生産の評価手法として検討している有機物に関する指標、例えば、COD、クロロフィルa(Chl-a)、全有機炭素(TOC)等相互の関係が、植物プランクトンの種類により異なることが前年度までの研究で明らかになっているため、内部生産を評価するためにも、植物プランクトンの網別の存在量を知る必要がある。本年度は、当海域に存在した植物プランクトンを検鏡で同定し、また、植物プランクトン綱に特有の光合成色素(クロロフィル、カロテノイド)をマーカーにして網別の存在量を測定した。

東京湾北東部に4定点(図1)を設け、夏期は毎月、冬期には隔月に、表層から底層まで約4mごとに4から5層で採水し、水質・栄養塩濃度・バクテリア現存量の測定と同時に光合成色素量を測定した。試料中の光合成色素は、

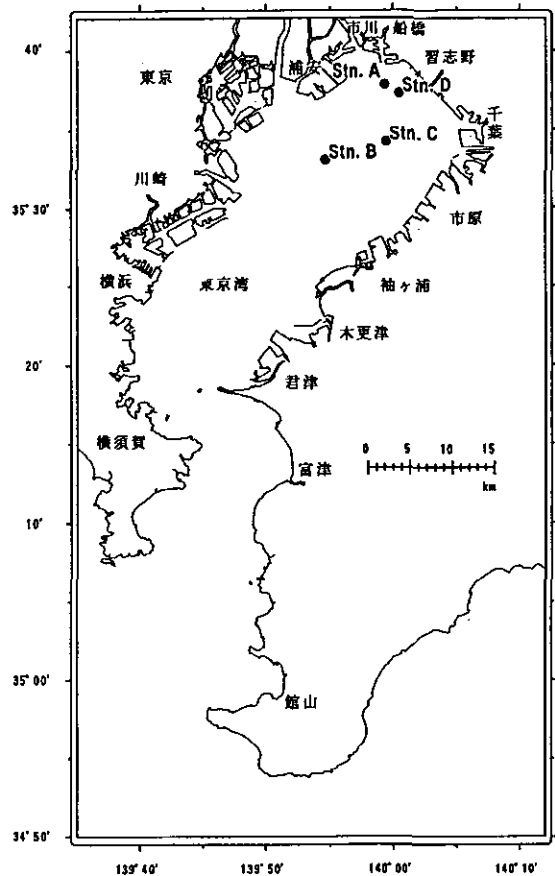


図1 東京湾調査地点

試料の200~500mlをWhatman GF/Fろ紙上にろ別し、ろ紙から90%アセトンにて抽出した。抽出液の400 μ lを高速液体クロマトグラフ装置(HPLC)に直接注入し、色素を分離後、フォトダイオードアレイ検出器を用いて、色素の同定・定量を行った。検鏡による植物プランクトンの測定には、Stn. B(図1)の表層水と4m層の試水およびStn. Dの表層水の200mlをそのまま研究室に持ち帰った試料(生試料)と、さらに、同試水の1000mlを1%グルタルアルデヒドにて固定し研究室に持ち帰った試料(固定試料)を使用した。固定試料は、常法に従い静置濃縮後、検鏡した。ラフィド藻の*Heterosigma akashiwo*のように固定により細胞が破壊される植物プランクトンの計数には生試料を使用し、ケイ藻等の計数には固定試料を使用した。

当海域における調査期間中に、ケイ藻56種、渦ベン毛藻34種、緑藻2種、黄色ベン毛藻2種、ラフィド藻1種の存在が確認できた。ケイ藻のうち、出現頻度・量ともに多かった物は、*Skeletonema costatum*, *Thalassiosira cf. binata*, *Nitzschia pungens*, *N. cf. multistriata*等であり(図2b)、渦ベン毛藻では *Prorocentrum minimum*, *P. triestinum*, *Ceratium fusus*,

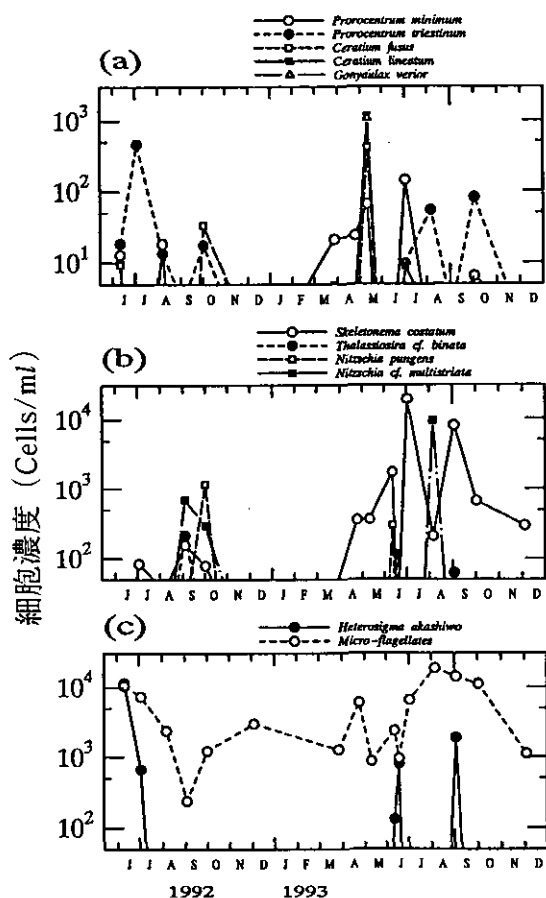


図2 東京湾 Stn. B 表層における植物プランクトンの変遷

C. lineatum, *Gonyaulax verior* 等が多く見いだされた (図 2 a)。一方、ラフィド藻では、*Heterosigma akashiwo* だけが確認された (図 2 c)。当海域で、'92年 6 月、'93年 6 月、9 月に *H. akashiwo* による赤潮が、また、'93年 5 月には渦ベン毛藻の *G. verior*, *C. lineatum* 等による赤潮が観測された。赤潮時以外の当海域ではケイ藻が優占種であった。このような時には、ケイ藻の個体数の変動と Chl-a の変動には良い相関関係があり、さらに、珪藻の主なカロテノイドであるフコキサンチンも同様の変動を示した (図 3 a)。渦ベン毛藻の赤潮時 ('93年 5 月) には、Chl-a 濃度は非常に高い値を示し、また、渦ベン毛藻に特徴的なカロテノイドであるペリジニンの濃度も非常に高い値であった (図 3 a)。実験系で得られたペリジニン/Chl-a の比の値を考慮すると、渦ベン毛藻による赤潮時には、当海域の Chl-a はほとんどすべてが渦ベン毛藻由来であったといえる。ラフィド藻による赤潮時 ('92年 6 月、'93年 6 月、9 月) では、ラフィド藻の主なカロテノイドであるフコキサンチンの他に、ラフィド藻の特徴となるピオラキサンチンが検出された (図 3 b)。また、クリプ

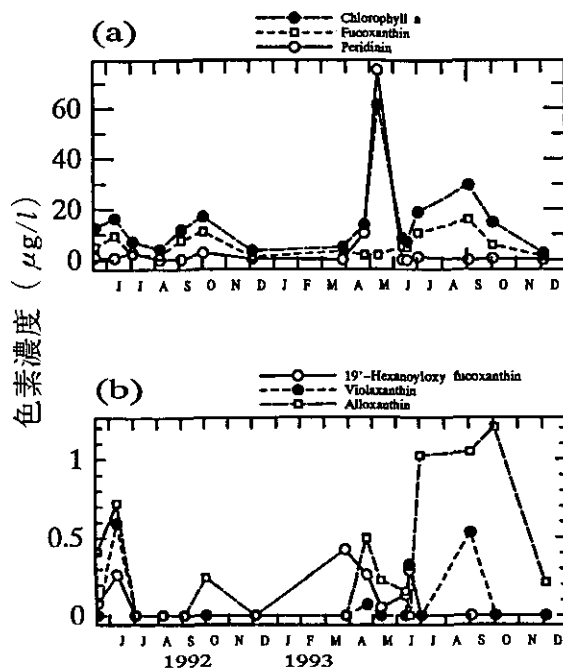


図3 東京湾 Stn. B 表層における光合成色素の変動

ト藻特有のカロテノイドであるアロキサンチンが、夏期に多く検出された (図 3 b)。本研究では、微少な、ペン毛を持つ植物プランクトンを、一括して微細ペン毛藻として計数したが (図 2 c)、この細胞数の変動と、アロキサンチン量の変動の様子は、類似していた。このことから、微細ペン毛藻のかなりの部分が、クリプト藻と考えられ、当海域でクリプト藻が、多いときには生物量の 1 割程度になることが明らかになった。

有機物指標の TOC/Chl-a 比に、明瞭な季節変化が見られることを昨年までに報告しているが、現在、このような比の変動と植物プランクトンの変遷との関連につき解析を進めている。

内湾外洋を問わず、海洋生態系における炭素循環を把握するためには、いわゆる“Microbial Loop”を通じての有機物の流れを明らかにする事が重要である。Microbial Loop とは 10 年前に Azam らによって提唱された概念で $2 \mu\text{m}$ 以下の微小な生物粒子 (=ピコプランクトン; 植物性ピコプランクトンおよびバクテリア) を起点とする食物連鎖である。そしてピコプランクトンが $2\sim 20 \mu\text{m}$ 程度の従属栄養性ペン毛虫 (HNF) に捕食され、HNF は小型動物プランクトン (MZP; $20\sim 200 \mu\text{m}$) に食べられ、さらに MZP がコペポダ等の大型動物プランクトン ($200\sim 2000 \mu\text{m}$) に捕食されることで、ピコプランクトンによる有機物生産が「伝統的食物連鎖」(大型植物プランクトン→コペポダ

→魚)に食み込まれてゆくというのが Microbial Loop の大略である。さらにピコプランクトンによる有機物生産が全一次生産の数％以上にも及ぶことから分かるように、Microbial Loop を通じての有機物の流れは大きく、Microbial Loop は伝統的食物連鎖と並ぶ大きな流れとして機能していると考えられている。

本特別研究は閉鎖性海域における炭素循環を把握し、汚濁負荷の増大に伴う内部生産の増大が貧酸素水塊形成や青潮の発生にどうかかわっているのかを明らかにする事を最終目標としている。そしてこの目的のために本課題においては、閉鎖性海域である瀬戸内海を例として、Microbial Loop を通じての有機物の流れを明らかにしようとするものである。本特研の初年度および2年度においては、夏の瀬戸内海家島諸島で約1ヶ月にわたる連続調査・現場実験を行い以下の点を解析した。1) 植物性ピコプランクトン (APP) 及びバクテリアの現存量・生産量の変動と環境変化との対応。2) APP の現場での増殖を左右する因子の特定。3) HNF 現存量の変動と HNF によるピコプランクトンの摂食。これらの結果はすでに公表されているのでその具体的内容はそちらを参照されたい。

昨年度は HNF およびこれと同サイズの植物性ペン毛虫 (ANF) が小型動物プランクトン (MZP) によって、どれだけの速さで摂食されているのかを中心に現場調査と培養実験に基づいた解析を行った。MZP による HNF, ANF の摂食はその重要性が指摘されているにもかかわらず、MZP 培養が容易ではないこともあって、Microbial Loop 研究の中でも最も立ち遅れている分野である。現場調査は例年通り夏の家島諸島で約1ヶ月にわたって行い、MZP の構成者である従属栄養性渦ペン毛虫 (HDF) と繊毛虫の消長を追跡した。また ANF, HNF の変動をモニターした。しかしながら調査期間中4回台風に見舞われたため、海は著しい乱状態にあり、MZP の消長を ANF・HNF の変動と結びつける事は困難であった。ただし、MZP 現存量の中で HDF の占める割合は繊毛虫に比べて高い事が判明したので、調査終了後は HDF に的を絞った培養実験を行った。すなわち HDF の中で最も豊富に存在していた *Gyrodinium dominans* ($\sim 30 \mu\text{m}$) の培養を確立し、本種の餌嗜好性、増殖・摂食速度の ANF 濃度依存性を解析した。現在まだ実験継続中であるが、これまでに得られて結果の概略は以下のとおりである。

1) *G. dominans* の最大増殖速度はこれまで予想されてき

た HDF 増殖速度よりもはるかに大きく約1.4/day (1日2分裂) である。

2) *G. dominans* は ANF を活発に捕食し増殖するが、特に粒径の大きい ($\sim 15 \mu\text{m}$) ものを好む。粒径の小さい ($\sim 4 \mu\text{m}$) ものを餌とする場合、現場濃度の10倍以上の濃度レベルで、はじめて速やかに増殖できるが、大きい餌では現場濃度と同程度かこれより幾分大きいレベルで速やかに増殖できる (図4)。

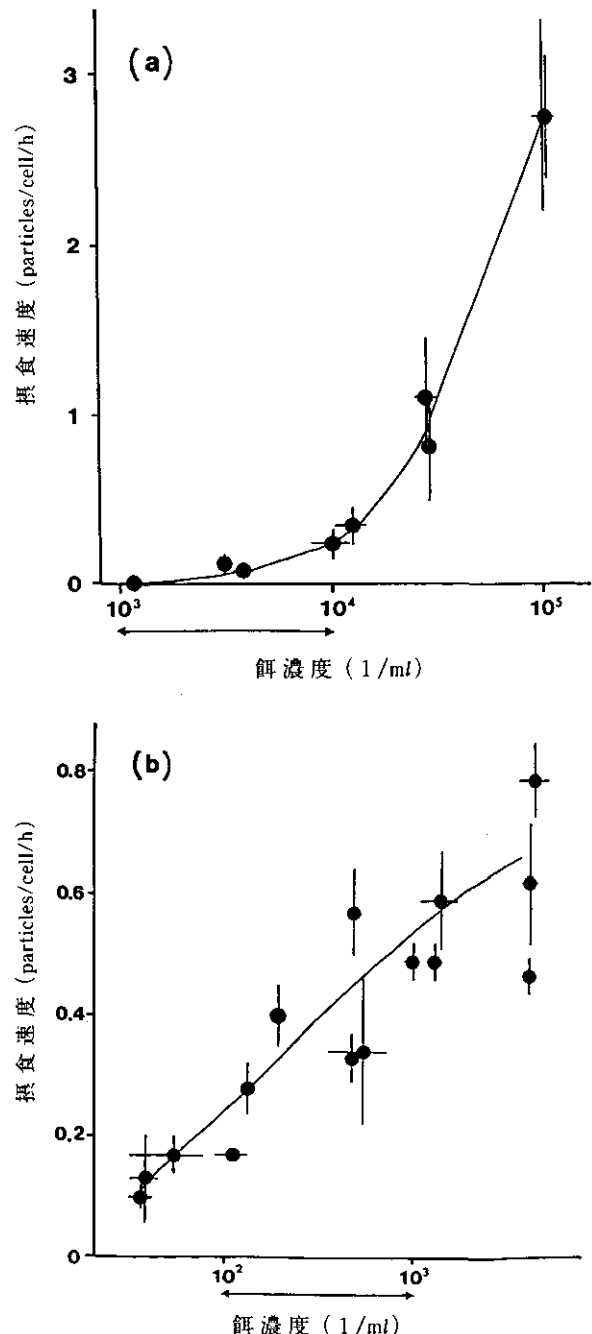


図4 *Gyrodinium dominans* の摂食速度の餌濃度依存性
(a) *Nephroselmis rotunda* ($\sim 4 \mu\text{m}$) を餌とした場合
(b) *Heterocapsa triquetra* ($\sim 15 \mu\text{m}$) を餌とした場合
横軸のは現場での餌濃度の大体の範囲を示す。

3) *G. dominans* は小型の HNF, ANF が付着したバクテリアアフロックを活発に食べ速やかに増殖できるが、ピコプランクトン単独を餌としては増殖できない。本年度は夏の家島諸島で *G. dominans* の消長をモニターし、さらに本種の現場増殖速度を現場実験により推定する予定である。そして上述の培養実験結果を合わせることで、本種が Microbial Loop 内で果たす役割を明らかにしてゆきたい。

(2) 水界生態系の機構と外的要因の変化との関連に関する研究

本年は、千葉県船橋沖において、大規模な青潮の発生しやすい9月下旬('93年9月13~16日, 20~23日)に、溶存酸素(DO)・水温・塩分・硫化水素濃度等を連続調査し、青潮発生との関連について検討した。前年、同時期の調査で、当海域の水質は、等深度線に沿う方向ではほぼ一様であることが確かめられているので、本年は、等深度線に直交する、西浜沖から南西に延び、Stn. A B(図1)を通る線上に3~4 km間隔で5定点を設定し、水質の鉛直2次元分布を求めた。調査期間中、9月22日から北風が卓越し、23日には当海域で青潮が発生したため、現場において青潮が発生する過程が観測された。通常、この時期には、表層の水温が高く、温度成層が発達しているが、9月22日から、北風の連吹により当海域の表層水温が低下し、温度成層が弱まった(図5)。この表層温度低下が、青潮発生機構に関連するものと考えられる。

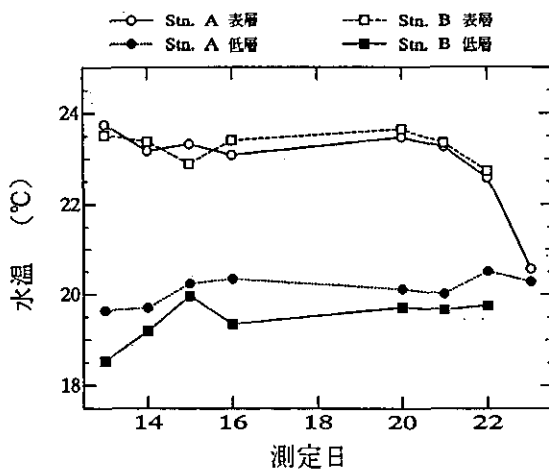


図5 東京湾 Stn. A, B における、'93年9月13~23日の表層・底層の水温変化

青潮発生前日まで、底層水は、DOが3 mg/l以下で貧酸素状態ではあったものの還元状態にはなっていなかった。一方、底泥は還元状態にあり、硫化水素の発生がみられた。青潮の原因となる硫黄の微粒子は、還元状態の水界が酸素と触れることで生成すると考えられるため、これらのことから、青潮の発生には、無酸素底層水の他に、底泥が重要な役割を担っていることが推察された。

東京湾奥で毎年夏から初秋にかけて発生する青潮を予察するために、東京湾奥北東部海域の4定点(図1)で1989年から行っている水質調査で得られたデータ(水温・塩分・溶存酸素の鉛直分布)及び気象データ(日平均気温、風向、風速など)を用いて、青潮発生との関連を調べた。一方、既設の内湾密度流実験装置(①内湾部:長さ4 m, 幅0.5 m, 水深0~0.7 m, ②外洋部:長さ1.5 m, 幅1.5 m, 水深0.6~1.3 m, 流体温度5~35°C, ③風洞部:風速0~5 m/s, 風速分布一様性±2%以下, 気流温度5~35°C)を用いて、湾央及び湾奥部の流動パターンを実験的に調べた。実験は、気流温度、風速、流体(海水)温度、塩分濃度、温度・密度成層厚さをそれぞれ変化させて行った。得られた湾奥、湾央、湾口部での水温・塩分の鉛直分布と8ミリビデオに録画された流れの軌跡(ピトー管式染色法)から成層の崩壊過程などの流動機構を解析した。その結果、初期条件を表層と下層の流体密度差1%, 気流と流体の温度差10°C(表面冷却)に設定し、風速4 m/sで連吹させると、マクロ的にはまず表層には湾奥から湾口部に向かう吹送流が発生し、下層には湾口部に湾奥向きの補流が形成され始めた。補流は徐々に発達し湾央部を経て数十分後に湾奥に到達し、一部は湧昇流、一部は下層厚みの増加に分流した。一方ミクロ的には表層では(i)気流中への熱放射、(ii)気液界面における対流による顕熱移動および(iii)流体(海水)の蒸発による潜熱移動によって、液表面から水温の低下が見られ、表層で生じた冷水塊は鉛直混合流を形成しながら下層に輸送されるフローパターンが確認された。時間の経過とともに温度・密度成層が次第に弱まり、約1時間には成層が崩壊するとともに、湾奥部では補流が岸壁に沿って表層に上昇するという、いわゆる湧昇流が再現された。本実験条件では最大0.5 cm/sの湧昇速度が観測された。上述の水質調査データと気象データに加え本実験で得られた気流速度(風速)及び気流と海水の温度差の大きさによって生ずる鉛直混合流の効果を評価することによって、青潮発生のメカニズムをより詳細に検討した。その結果、図

6のような青潮発生因子と発生条件が特定された。条件1は貧酸素水の存在を意味し、条件2は風向に基づく流動の影響を表す条件である。北偏風の連吹が沖合いに向

かう吹送流を発生させるとともに底層の貧酸素水塊が補流となって接岸流及び湧昇流を生起させる作用をもつ。条件3は室内実験の結果から鉛直混合流が温度・密度成層の崩壊を促進し、湧昇流の発生すなわち青潮発生を起りやすくする条件を意味している。

表1に1989年から1993年までの過去5年間に東京湾で発生した青潮事例を示す。合計31件、延54日が確認されている(千葉県水質保全課, 千葉県水産試験場, 船橋漁業協同組合, 国立環境研究所海域保全研究チームの各調査資料に基づく)。これら全事例について、条件1, 2, 3を満たしているか否かを調べた結果、延54日中50日が満足しており、青潮発生は約93%の確率で適合することが分かった。図7は1993年の7月を例に風向と平均気温の変化の推移が青潮発生にいかにかかわっているかを示したものである。北偏風に連動して一定値以上の気温低下が見られると青潮が発生する事を良く表現している。

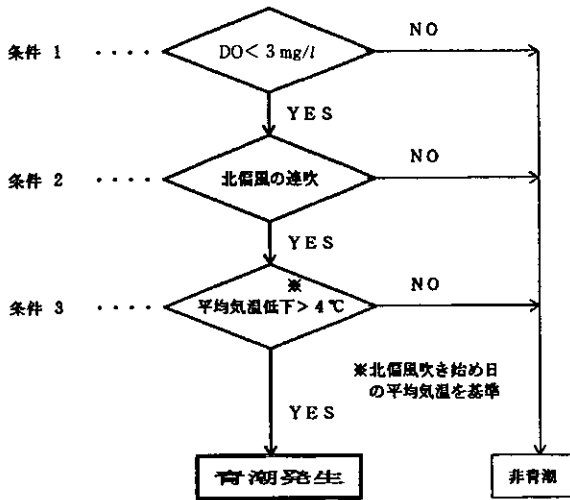


図6 東京湾青潮発生条件

表1 東京湾における青潮発生事例

発生年	発生日	発生海域	発生状況
1989年	6月20日	船橋航路内 船橋地先～千葉市 幕張地先	小規模 中規模
	7月4日		
	8月5日		
	9月24日		
	10月2日 10月29日		
1990年	6月27日	茜浜～稲毛地先, 千葉港 稲毛地先～千葉市 市川地先～市原市 船橋地先 千葉港内 幕張地先	着色なし
	8月4日		
	8月5日		
	9月7日		
	9月8日		
	9月27日		
1991年	6月24日	船橋航路内 船橋航路～茜浜 市川航路, 海浜公園地先 船橋航路 茜浜	アサリへい死
	8月5日～8日		
	8月8日～10日		
	8月12日～14日		
	8月16日～18日		
1992年	6月1日	船橋航路～茜浜～幕張地先 千葉港 船橋航路～茜浜, 千葉港 船橋航路～茜浜 市川航路～船橋航路～茜浜 葛西臨海公園地先～市川港 千葉港, 船橋航路～茜浜	中規模
	6月11日		
	6月19日		
	7月2日		
	8月3日～6日		
	9月6日～11日		
	10月6日～8日		
1993年	6月2日	江戸川～養老河口 千葉港～検見川 船橋港～幕張地先, 千葉港 浦安～千葉港 千葉港 船橋航路 茜浜～幕張地先	中規模
	7月1日～2日		
	7月8日		
	7月21～24日		
	8月27日		
	9月10日		
	9月22～26日		

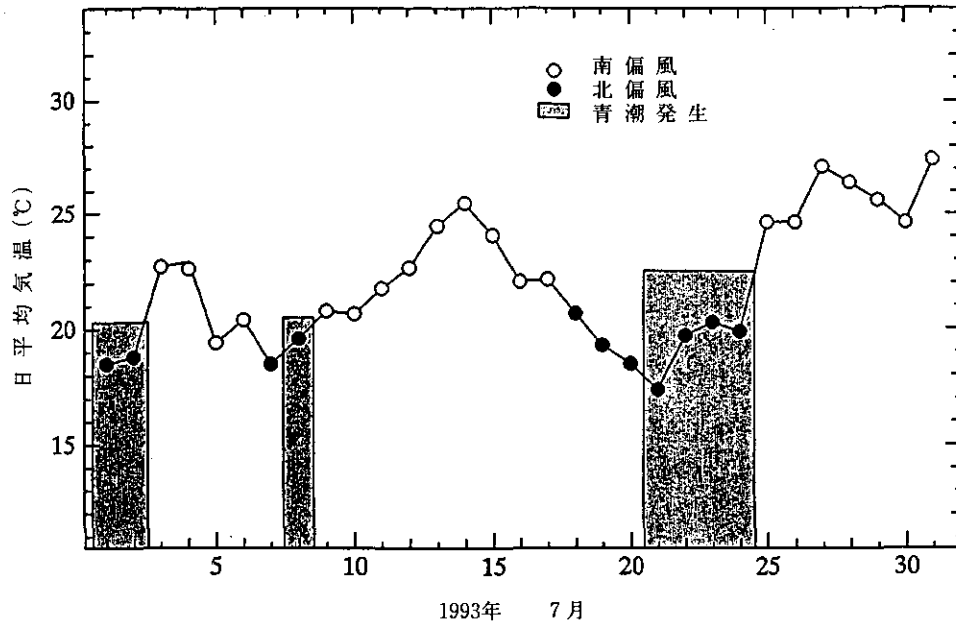


図7 青潮発生前後における日平均気温と風向の変化

(3) 閉鎖性海域の評価手法に関する基礎的研究

平成5年度は、地域の住民にとっての身近な海に対してもつ価値を分析するために、4年度に行った海についての意識調査結果データを入力処理し、データを分析した。調査では、海域としては東京湾を取り、調査地域は川崎市川崎区と東京湾からやや離れた同高津区とともに住宅地区と、対岸の木更津市の東京湾に面した中島地区を中心とした地域(木更津西と呼ぶ)と、やや内陸部に入った真里谷地区を中心とした地域の計4地域である。調査は自由連想法によった。このとき刺激語は、「海」、「東京湾」、「東京湾横断道路」を採用し、刺激語ごとに連想することを自由に回答用紙に記述してもらった。結果の分析では回答者の記述した単語に着目する。これまで川崎

区を除く3地域について連想語の記述頻度について分析を行った。

木更津西地域の結果は他と比べて特徴的であった。「海」及び「東京湾」からの連想では、ともに生活と漁業と漁獲品に関する語の頻度が他の地域よりも高かった。また、「東京湾」空の連想では、東京湾横断道路の連想も他の地域よりもかなり高かった。さらに、「東京湾横断道路」からの連想では、「騒音」「公害」の頻度が他の地域と比べるとかなり上位であり、横断道路に対する心配、不安が他の地域よりも高いものと考えられる。

また、この意識調査の分析と並行して、海域の自然価値について多くの側面から検討し、それらの体系化を試みた。

2.3 環境保全のためのバイオテクノロジーの活用とその環境影響評価に関する研究

平成3～7年度（1991～1995年度）

〔研究組織〕

地域環境研究グループ

- ・ 上席研究官
- 新生物評価研究チーム
- 水改善手法研究チーム

水土壤圏環境部

- 水環境質研究室
- 水環境工学研究室
- 土壤環境研究室

生物圏環境部

- 環境植物研究室
- 環境微生物研究室
- 分子生物学研究室

客員研究員 40名, 共同研究員 6名

中杉修身

○近藤矩朗・佐治 光・中嶋信美・岩崎一弘
稲森悠平・高木博夫・水落元之

矢木修身・内山裕夫・富岡典子

今井章雄

向井 哲・服部浩之

大政謙次・名取俊樹・清水英幸

渡辺 信・広木幹也

久保明弘・青野光子

〔研究概要〕

最近のバイオテクノロジーの発展はめざましく、中でも組換え DNA 技術をはじめとする遺伝子関連技術は、様々な分野において活用され、人間生活の向上に大きく寄与するものとして期待されている。これまで、組換え DNA 実験やこの技術の利用は、組換え体の生物学的および物理的封じ込めという二重の手段を講じた閉鎖系で進められてきたが、技術の進展に伴い、環境保全、農林水産、鉱工業等の分野において開放系での利用が考えられる段階にきている。

近年の環境問題はますます複雑化し、人間をはじめとする生物に多大なストレスを与えている。生物は種々の環境ストレスの影響を受け、環境変化を緩和する能力を有しており、環境保全のために環境指標生物、環境浄化生物として利用されている。このような環境保全分野においても、組換え DNA 技術を利用した環境指標植物や環境浄化微生物等の作成が進められてきており、これを野外で活用することが期待されている。

一方、遺伝子組換え生物の開放系での利用は、物理的封じ込めが不可能なことに加え、自己増殖能力を有する点で化学物質とは異なり、環境条件次第で大繁殖する可能性があるという生物特有の問題がある。さらに生物は、生物を取り巻く物理化学的および生物学的環境によって、その挙動が大きく左右され、また環境にも影響を与える

可能性がある。しかしながら、組換え体の生態系に及ぼす影響に関する研究および手法の開発はこれまでほとんど行われていない。

本研究では、環境保全に有用な遺伝子を探索して遺伝子組換え生物を作成するとともに、それら遺伝子組換え生物のモニタリング手法を開発して遺伝子組換え生物およびその遺伝子の環境中における挙動を調べ、さらにそれらの生態系への影響を検討し、生態系影響評価手法を開発することを目的とする。

以上の目的を達成するために、以下の課題を設定して研究を進める。

(1) 環境保全のための遺伝子の探索と活用に関する研究

1) 有用遺伝子の探索と有用生物の作成

有害化学物質分解菌等を探索し、関連遺伝子を単離する。また、植物の大気汚染環境浄化、乾燥耐性等に関与している遺伝子を探索・単離する。さらに、組換え DNA 技術等のバイオテクノロジーを利用して、これらの生物の環境指標性、環境浄化能の向上を図る。

2) 遺伝子組換え体の検出用マーカーおよび検出法の開発

上記1)の研究を通して得られた有用生物にマーカー

を付与し、その検出技術の開発を行う。すなわち、マーカーの導入手法の確立、マーカー付き生物の環境中からの検出手法の確立を図るとともに、マーカーの検出感度、精度、安定性、利用可能な宿主の範囲等を明らかにする。

(2) 環境中における遺伝子組換え生物およびその遺伝子の挙動に関する研究

1) 外来遺伝子の環境中での挙動に関する研究

組換え微生物の遺伝子の伝播の評価法を確立し、伝播に及ぼす各種環境因子の影響を明らかにするとともに、そのメカニズムを解明する。また、組換え遺伝子の構造変化、コピー数等に及ぼす影響因子を明らかにし、環境中での遺伝子の残留性について検討する。

また、遺伝子組換え植物についても、マーカーとして導入された遺伝子の成長過程および繁殖過程における脱落および他の植物への伝播について研究する。

2) 遺伝子組換え体の検出用マーカーおよび検出法の開発

フラスコ、カラム等の小規模のマイクロコズムから、自然環境に近い比較的大型のマイクロコズムを作成し、組換え微生物の挙動を解明するためのマイクロコズムの適性規模等の検討を行い、組換え微生物の生残性、増殖性、拡散性、移動性等を検討する。さらに、生残性に及ぼす pH、含水率、土質、温度、光、降雨、各種土着生物等の環境因子の影響を検討する。また、移動性に及ぼす生物的・土壌的因子をモデル解析と基礎的実験により解明する。

3) 環境中での組換え植物の利用に関する研究

組換え植物を大気環境指標として用いるために、組換え植物を野外で使用するための一般的な試験法を確立することを目的として、小規模な野外試験のあり方について検討する。

(3) 遺伝子組換え生物の生態系への影響に関する研究

1) 制御実験系を用いた組換え微生物の各生物相に及ぼす影響の解明

フラスコレベルでのマイクロコズムを用いて、組換え微生物の一般細菌、脱窒・硝化菌、グラム陰性菌、糸状菌等の微生物、原生動物、藻類への影響、および呼吸活性、各種酵素活性等への影響を調べ、その影響要因を明らかにする。また、微生物、原生動物、藻類を組み合わせた

水圏生態系の標準マイクロコズムシステムを確立し、組換え微生物の各生物相に及ぼす影響を解明する。

2) 模擬生態系による組換え微生物の生態系影響評価

ライシメーター、大型水槽等を用いた大型マイクロコズムを開発し、装置の大型化に伴う試験手法の確立を図るとともに、遺伝子組換え微生物の各種微生物、原生動物、藻類、呼吸・酵素活性等への影響評価を行う。また、フラスコレベルでのマイクロコズムの結果と比較検討し、マイクロコズムのスケール効果等を明らかにする。

3) 環境影響評価手法の確立

各サブテーマで得られた成果および手法を用いて、遺伝子組換え微生物の野外利用における環境影響評価指針の作成に資する、環境影響評価手法を確立する。

【研究成果】

(1) 環境保全のための遺伝子の探索と活用に関する研究

1) 酵母グルタチオンレダクターゼ遺伝子の単離

大気汚染ガスをはじめ様々な環境要因によって生じる植物の傷害には、活性酸素が関与していると考えられており、そのような傷害の防御に、植物の細胞内に存在する活性酸素消去系酵素が重要な役割を果たしている可能性がある。グルタチオンレダクターゼ(GR)はそのような酵素の一つであり、大腸菌から単離された GR 遺伝子を植物に導入することにより、植物の二酸化硫黄などに対する耐性が高まることをすでに明らかにした。この点についてさらに詳しく調べるため、酵母の GR の cDNA の単離を試みた。酵母は真核生物であり、その GR は植物のものと同様の性質を示す。また酵母 GR に対する抗体は、大腸菌 GR に対しても植物の GR に対しても反応性が低く、その遺伝子をこれらの生物に導入した場合にその遺伝子の発現を免疫化学的に検出できるという利点がある。

そこで酵母の cDNA ライブラリーを作成し、抗体を用いたスクリーニングにより、GR の cDNA と思われるクローンを単離した。このクローンをもった大腸菌内の GR 活性は有意に高い値を示した。DNA 塩基配列を決定した結果、これが確かに GR の cDNA であることが確認できた。この DNA 塩基配列から予想されるアミノ酸配列を他の生物の GR のアミノ酸配列と比較した結果、得られ

た酵母 GR の cDNA は、翻訳開始部位の DNA 領域を欠くが、GR の暗号指定領域のほぼ全長を含むことが分かった (図 1)。他の生物の GR のアミノ酸配列との相同性は、大腸菌及びヒトに対して 50% と最も高く、その他の *Pseudomonas* や植物に対しては、35-40% であった。また、GR の活性発現に重要と思われる領域の相同性は、特に高かった。

現在、この酵母 GR の cDNA をトマト RuBP カルボキシラーゼのプロモーター及び通過ペプチド領域の DNA の下流につなぎ、植物への導入を試みている。

2) 組換え微生物の作成とその諸性質

水銀化合物分解酵素遺伝子 (水銀マーカー) をベクター pSUP104 に組み込んだ組換えプラスミド pSR134 を電気パルス法により、*Pseudomonas putida* PpY101, PRS2000, *P. fluorescens* LB303, *P. aeruginosa* PAO1, *Escherichia coli* HB101, *Klebsiella oxytoca* R16 に導入して得られた各種組換え体およびその宿主の世代時間および水銀化合物分解酵素遺伝子発現能の比較検討を行った。世代時間はいずれの菌株においても組換え体の方が若干長くなることが認められた (表 1)。さらにいずれの組換え体においても

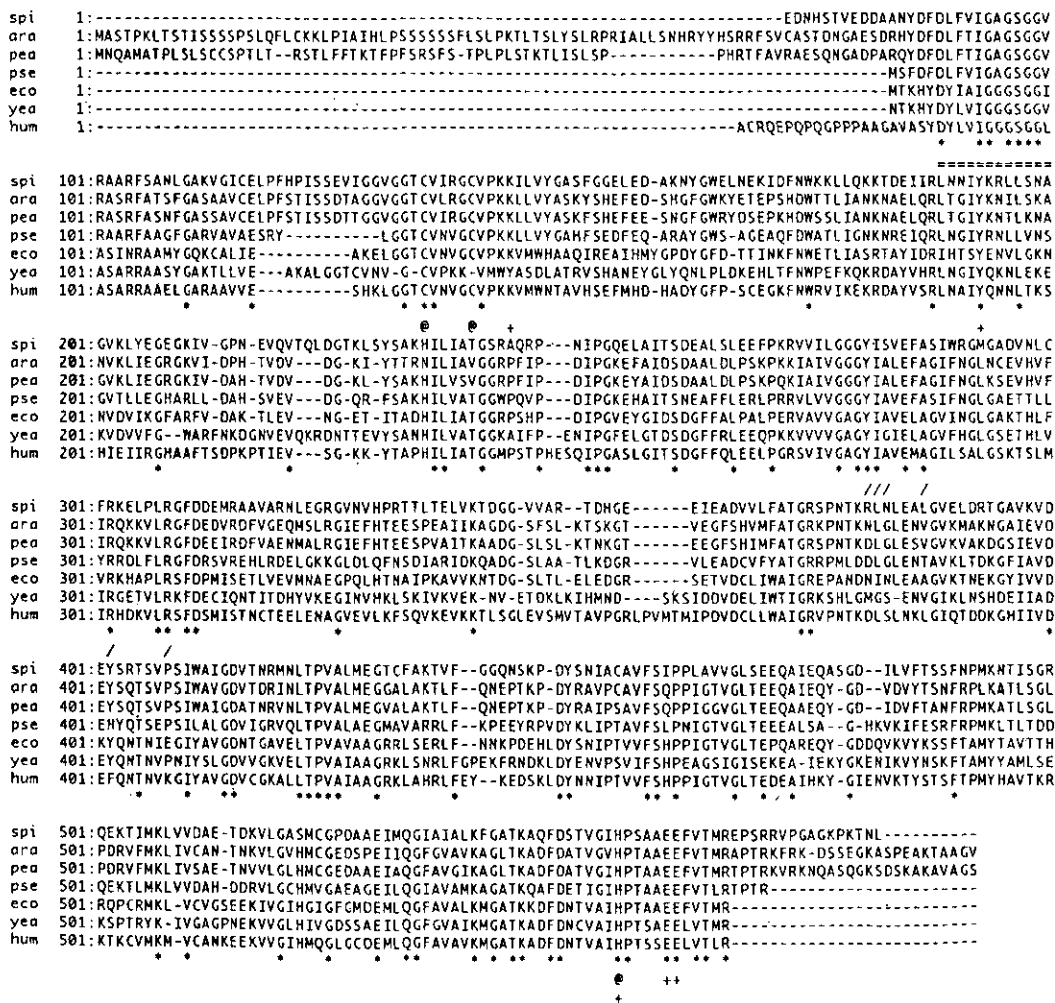


図 1 異なる生物で決定されたグルタチオンレダクターゼのアミノ酸配列

spi: ホウレンソウ, ara: シロイヌナズナ, pea: アラスカエンドウ,

pse: *Pseudomonas aeruginosa*, eco: 大腸菌, yea: 酵母, hum: ヒト,

*: すべての生物間で一致したアミノ酸配列, @: 活性部位,

+ : GSSG の結合部位, / : NADPH の結合部位, = : FAD の結合部位

水銀化合物分解酵素遺伝子が発現し、金属水銀が生成されていることを確認した(図2)。

表1 LB培地および10倍希釈LB培地における各種組換え微生物とその宿主の世代時間

菌 株	世代時間(分)	
	LB培地	1/10LB培地
<i>P. putida</i>		
PpY101 Wild-type	52	85
GEM	55	91
<i>P. putida</i>		
PRS2000 Wild-type	48	70
GEM	50	70
<i>P. fluorescens</i>		
LB303 Wild-type	45	54
GEM	45	55
<i>P. aeruginosa</i>		
PA01 Wild-type	30	51
GEM	34	56
<i>K. oxytoca</i>		
R16 Wild-type	38	64
GEM	41	69
<i>E. coli</i>		
HB101 Wild-type	33	70
GEM	33	71

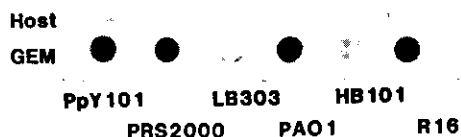


図2 X線フィルム法による各種微生物の塩化水銀還元能の比較

(2) 環境中における遺伝子組換え生物及びその遺伝子の挙動に関する研究

1) 水系マイクロコズムにおける組換え微生物の挙動

水銀化合物分解組換え微生物を用いて、組換え微生物の生残性に及ぼす接種濃度の影響を調べた。500ml 容三角フラスコに手賀沼水200mlを分注し、これを水系マイクロコズムとした。これに組換え体(*P. putida* PpY101/pSR134)及び非組換え体(*P. putida* PpY101)を $10^3 \sim 10^7$ CFU/mlのオーダーで変化させそれぞれ接種し、5,000lxの照射条件下における生残性を比較した。いずれの濃度の場合も培養一週間後には $10^2 \sim 10^3$ CFU/mlのオーダーに低下したが、その後3週間まではほとんど同数を維持した。水マイクロコズム中では細胞数が低い場合は長期間の生残が可能であること、また組換え体の方が非組換え体に比べやや速い速度で死滅するものと考えられた(図3)。

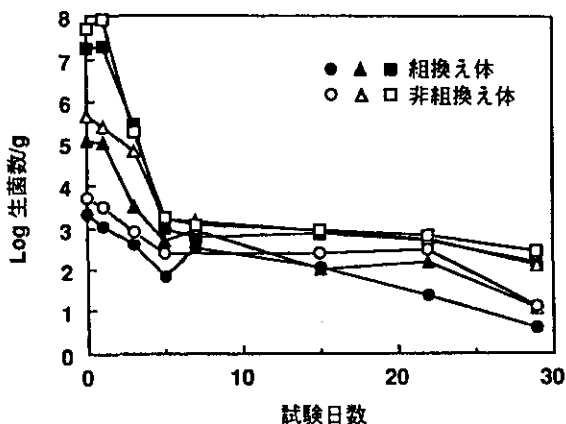


図3 手賀沼水中における組換え体および非組換え体の生残性に及ぼす接種量の影響

2) 土壌系マイクロコズムにおける組換え微生物の挙動

組換え微生物の生残性に及ぼす土壌水分の影響を、土壌系マイクロコズムを用いて調べた。生土の場合、沖積土では*K. oxytoca* R16、*P. putida* PpY101とも、最大含水量の40%の水分含量のときに生残性が最も良く、8週後でも菌数はほとんど減少しなかった。20%では一週間目に菌数が大きく減少し、8週目には検出限界(10^2 CFU/g乾土)以下となった。一方、60%以上では、水分含量が多くなるほど生残性が悪くなる傾向にあり、*K. oxytoca*は灌水状態で6週目に検出限界以下となった。また、火山灰土では沖積土に比べて全体的に生残性が悪かったが、水分の影響をみると沖積土の場合と同じような傾向にあった(図4)。

また土壌中の生残に及ぼす接種菌体濃度の影響について調べた。 $10^5 \sim 10^9$ CFU/g乾土のオーダー接種したところ、組換え体、非組換え体ともにいずれの濃度においても死滅速度に大きな差は認められなかったが、濃度が高い方がやや速い死滅速度を示した(図5)。

3) 水土壤系(水田)マイクロコズムにおける組換え微生物の挙動

水土壤系マイクロコズムにおける組換え窒素固定菌*K. oxytoca*の挙動を調べた。2lのプラスチック製ポットに沖積土壌を灌水しつつ充てんした後、灌水し水土壤マイクロコズムとした。また菌の生残性に及ぼす植物の影響を調べるために水稲を植えた系も用意した。供試菌はポット土壌の表層5cmに 10^7 セル/g乾土オーダーを添加し混和した。水稲栽培は温度:20(暗時)~30℃(明時)、

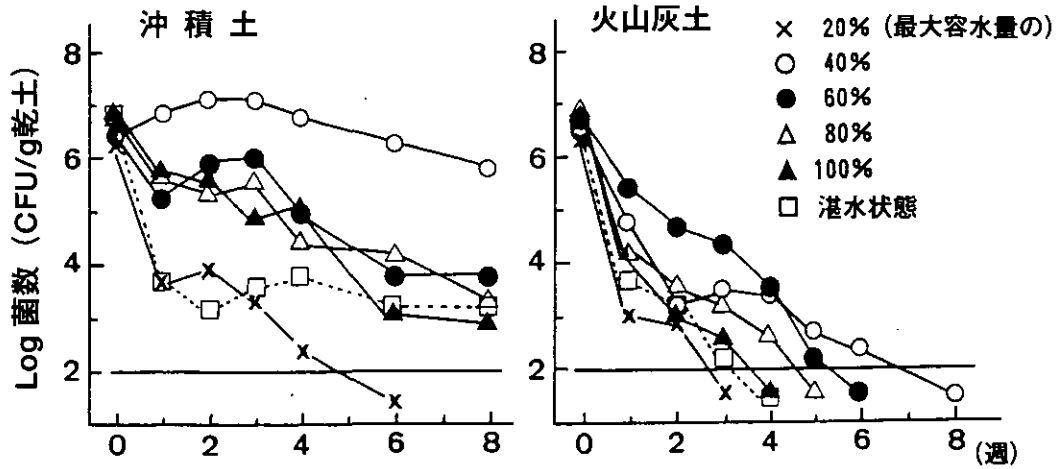


図4 *Pseudomonas putida* の生残性に及ぼす土壌水分の影響

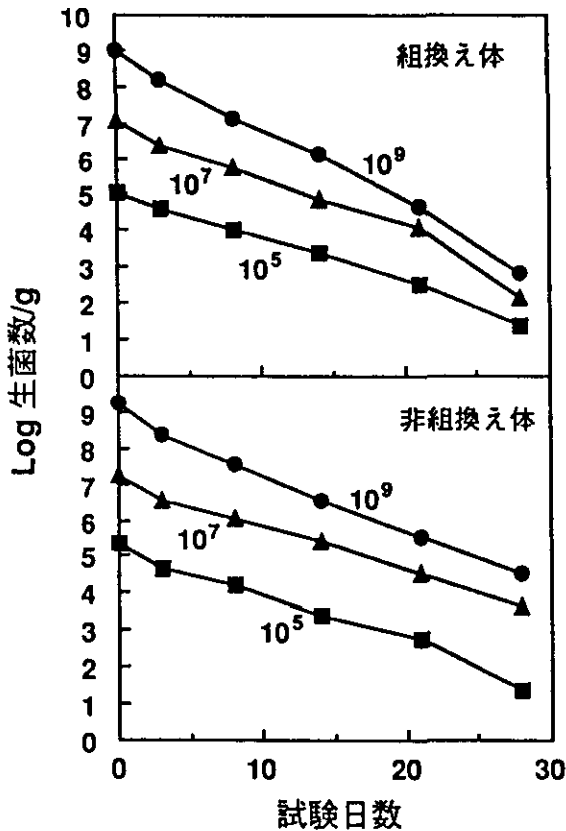


図5 黒ボク土壌における組換え体、非組換え体の生残性に及ぼす接種量の影響

湿度：70～75%，照度：ポット上面1～2万ルクスの人工環境条件下で行った。非組換え窒素固定菌 NG13，組換え体 R16及び水銀分解能を導入した R16/pSR134の土壌相及び湛水相における生残性を比較した。土壌相，湛水相ともに非組換え体 NG13が最も生残性が良く，次いでR16，

R16/pSR134の順であった（図6）。また，添加菌の生残性に及ぼす水稲の影響は認められなかった。

(3) 組換え微生物の生態系への影響

1) 水および土壌マイクロコズムによる影響評価試験

500ml 容三角フラスコに手賀沼水200mlを分注し，これを水系マイクロコズムとした。各種菌体濃度 ($10^3 \sim 10^7$ CFU/ml) になるように組換えおよび非組換え *P. putida* をそれぞれ接種し，一般細菌数，原生動物数及び藻類（クロコフィル a）に及ぼす影響を検討した。組換え体，非組換え体ともいずれの生物数に及ぼす影響も認められなかった（図7）。また黒ボク土を充てんした土壌マイクロコズムにおける組換え体，非組換え体接種の土壌微生物に及ぼす影響を調べた。組換え体，非組換え体とも10 CFU/g 接種した系においても一般細菌数，グラム陰性菌数および糸状菌数に及ぼす影響は認められなかった（図8）。

2) 水田ライシメータ試験法の開発

ステンレス製ライシメータ(75(縦)×75(横)×60(深さ)cm)に沖積土壌を充てんして作成した水田模擬環境中における組換え体接種の影響評価を行うために，まず水田ライシメータの土壌微生物数の季節変動を調べた。5基のライシメータの表層土壌をサンプリングし，それぞれの土壌試料に含まれる一般細菌，グラム陰性菌，放線菌，耐塩性菌，シュドモナス属および糸状菌を計数した。その結果いずれのライシメータにおいてもこれら土壌微生物数の季節変動およびライシメータ間の違いはほとんど認められなかった。

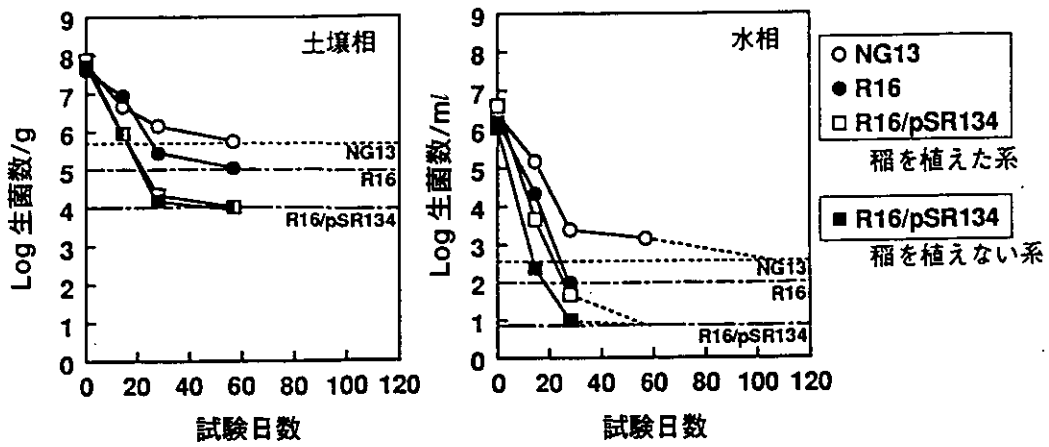


図6 水土壤マイクロコズムにおける組換えおよび非組換え窒素固定菌の生残性

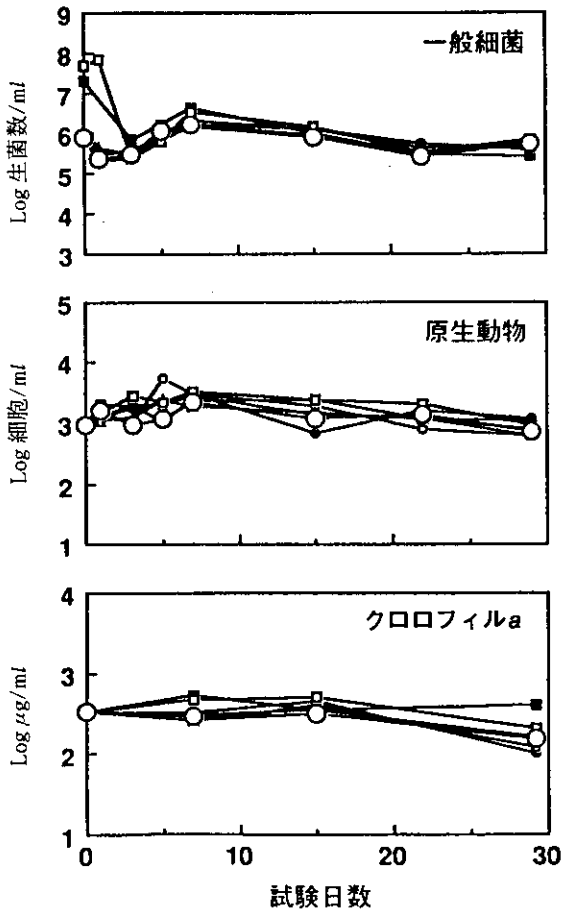


図7 手賀沼水中の各種生物に及ぼす組換え体、非組換え体接種の影響

組換え体接種：●(10⁹CFU/ml), ▲(10⁶CFU/ml), ■(10⁷CFU/ml)
 非組換え体接種：○(10³CFU/ml), △(10⁵CFU/ml), □(10⁷CFU/ml)
 無接種：○

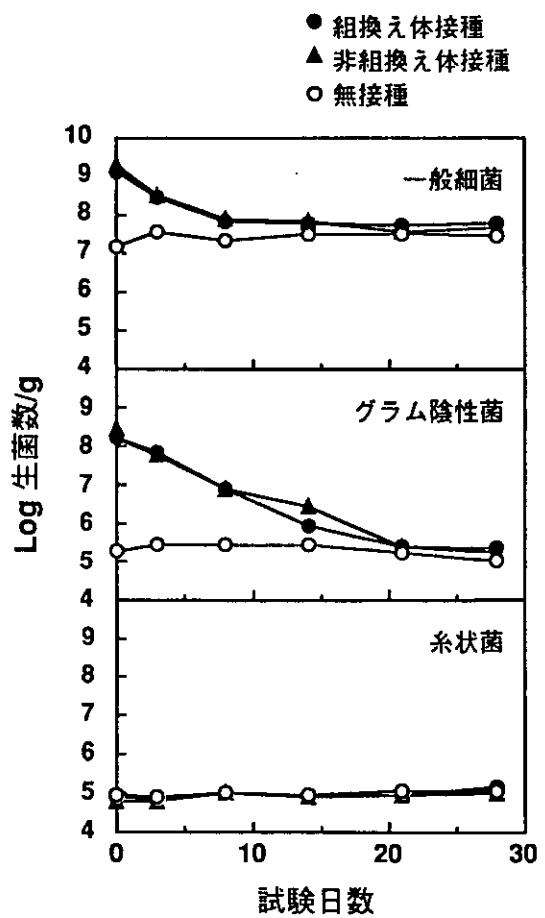


図8 土壌微生物に及ぼす組換え体、非組換え体の影響 (10⁹生菌数/g接種)

2.4 湿原の環境変化に伴う生物群集の変遷と生態系の安定化維持機構に関する研究

平成3～7年度（1991～1995年度）

〔研究組織〕

生物圏環境部

部長

生態機構研究室

環境微生物研究室

分子生物学研究室

社会環境システム部

情報解析研究室

地域環境研究グループ

有害廃棄物対策研究チーム

客員研究員 8名

○岩熊敏夫

野原精一・上野隆平

渡辺 信・野崎久義・広木幹也

田中 浄

山形与志樹

平田健正

〔研究概要〕

湿原が“弱い生態系”といわれる由縁は、その生物の生活が、人間の干渉や活動によって容易に変動しやすい水体系に支えられていることと、植生の大部分が人間の踏みつけ等で容易に壊されやすい草本類で構成されている点にある。

湿原は多様な環境と固有の植生を発達させている。我が国では、尾瀬に代表される高層湿原や平野部・河川等に発達した低層湿原や沼沢湿原が全国的に見られる。湿原は水を含む巨大なスポンジの上に成り立ち、多様な動植物の生息の場である。しかしながら、このような湿原は、我が国のような狭い国土では、人間の生活域に存在するために、開発等により人間活動の影響を受け、加速度的に消失しており、さらに湿原に特有の多くの生物種が絶滅を危ぐされる状態に至っている。

湿原の持つ環境保全機能や、生物の生息場所としての重要性及び生物学的な多様性の保護については近年国際的な関心が高まっている。このような情勢から、“弱い生態系”といわれる湿原生態系の特性を把握し、湿原環境の変化を監視し、それに伴う生物群集の変動を早期に検知する手法を開発し、湿原の保全に資する知見を早急に提供することが必要とされている。

本特別研究では、湿原の生態系の現場調査手法の開発と空中写真等の活用により、過去から現在までの湿原の変遷の実態解明を行いつつ、生態学的・生態遺伝学的手

法を用いて湿原生態系の特性と生物群集の変動特性を把握することにより、湿原生態系の安定化維持機構を明らかにすることを目的として、以下の研究課題を設定して研究を実施する。課題(3)はまとめを兼ねている。

(1) 湿原の変遷とそのモニタリングに関する研究

湿原土壌・生物の採取方法、測定項目等、湿原生態系の調査方法を検討した。平成5年度からは、地上における植生調査や、湿原全域の空中写真等により湿原植生を把握し、一方で空中写真・衛星データ等による植物群落の区分を行い地上における調査と対応させている。また湿原の立地・成因別に現況を整理し、湿原とその環境の比較的短期間における(数十年)変遷を把握する。また土壌の柱状試料を採取し生物遺骸等から長年月の湿原の変遷の把握を行う。

(2) 湿原生態系の特性に関する研究

湿原における気象・地下水位等の物理環境要因の連続測定を行った。宮床湿原では細菌、藻類、無脊椎動物等の個体数・現存量と食物連鎖関係を調査した。植生調査を行い湿原の生物群集構造を明らかにした。また生物生産量と分解量を定量し、今後さらに水収支・水質収支を求め、湿原内の物質循環機構、生態系の機能を明らかにしていく。湿原に生息する生物種の多様性を明らかにした。

(3) 湿原生物群集の変動要因に関する研究

この課題では、開発等による水系及び湿原生態系の変化を様々なレベルで比較する。これらの環境変化に対する生物の適応性を明らかにしていく。各種の湿原生態系の安定性に関する情報を整理し、環境変化に対応する湿原生態系の変遷過程を明らかにする。

〔研究成果〕

昨年度に引き続き、福島県の2つの高層湿原、南会津の標高約850mに位置する面積8haの宮床湿原と猪苗代湖北西に位置する海拔約525m、面積43.6haの赤井谷地湿原で現地調査を行った。

(1) 湿原の変遷とそのモニタリングに関する研究

昨年度に引き続き連続写真撮影の簡易装置を利用し、福島県の宮床湿原において植物および景観の季節変化等の記録を行った。ザゼンソウ・ミズバショウの種子は、成熟する前の6月に動物に食べられ消失していた。またヒツジグサ、エゾリンドウ、ゼンテイカの開花の日周リズムが明らかにされた。

宮床湿原は草本・ミズゴケ類を主体とする湿原植生からなり、以下のような水生植物群落2型、高層湿原植生6型、中間湿原植生3型が識別された。①フトヒルムシロ群落、②ヒツジグサーミツガシワ群落(以上水生植物群落)、③ミカツキグサーハリミズゴケ群落、④ミカツキグサーワタミズゴケ群落、⑤ヌマガヤーイボミズゴケ群落、⑥ヌマガヤーチャミズゴケ群落、⑦スギバミズゴケ群落、⑧ヌマガヤーオオミズゴケ群落(以上高層湿原植生)、⑨ヤチカワズゲ群落、⑩ミズギク群落、⑪ヌマガヤ群落(以上中間湿原植生)。

これらのうち、最も広い面積を占めているのが高層湿原植生のヌマガヤーイボミズゴケ群落で、湿原北西～中央のやや盛り上がったドーム状の地域に発達していた。本群落が属するヌマガヤーイボミズゴケ群集は東北地方の高層湿原には普遍的な群落である。宮床湿原においても本群落は池塘の縁や小凹地(ホロー)の縁辺などの地下水位が高い平坦地に分布しているが、分布の中心はドーム上で、平坦地(ローン)～小隆起地(ハンモック)を形成していた。ドーム上の周縁部の斜面中～下部の小凹地ではミカツキグサーハリミズゴケ群落やミカツキグサーワタミズゴケ群落、小隆起地ではチャミズゴケが混生する群落がそれぞれ発達していることも共通していた

(図1)。

森林植生としては湿原を取り囲む湿性に、ノリウツギーイソノキ群落、ハンノキ群落が、湿原周囲の斜面には夏緑広葉樹林のブナ・ヒメアオキ群落、ミズナラーヤマツツジ群落、コナラ・オクチョウジ・ザクラ群落が成立していた。この他湿原周辺から、スギ植林、ススキ群落、カモガヤ群落(牧草地)が確認された。

(2) 湿原生態系の特性に関する研究

深度150cmと250cmの全水頭は、1991年にはW2、W3、W4、W5の順に減少しており、これらの地下水は長軸方向の地形傾斜に沿って湿原南東端に向かって流れていると考えられる。1992年には、W3地点の150cmと250cm深でかなりの全水頭の低下が観測されており、またW4とW5の50cm深で全水頭は逆転しているが、全体としては地形傾斜に沿った流れが卓越していると考えて差し支えない(図2)。

ところが湿原の単軸方向の観測井AからJまでの全水頭をみると、西からはA、B、Cの順に、また東からはJ、H、G、F、K、E、Cの順に低下していた。観測井BとCの全水頭にはほとんど差がなく、これらの結果は湿原東端と西端において周辺山地から供給された地下水は地点BやCに集水されることを表していた。さらに長軸方向観測を補完するために設けたL、M、N地点の全水頭もこの順に減少しており、湿原南東端に向かう長軸方向流れの卓越していることを示していた。宮床湿原の地下水は北西の一部で流水Aに沿った流出成分はあるものの、他の大部分は地形傾斜に基づく長軸方向流れが支配的であり、南東端に流出していると結論できる。

微地形および環境条件が泥炭の微生物性および有機物分解活性に及ぼす影響を明らかにするため、前年度に引き続き、宮床湿原において調査を行った。湿原を東西方向に横切る調査線上に、小隆起地(ハンモック)2地点、小凹地(ホロー)2地点、湿原中央を流れる水路の脇1地点および湿原外縁の灌木地2地点の計7地点の調査地点を設けた。各地点において泥炭のpH、微生物数および泥炭中に埋め込まれたろ紙の分解率を測定した。

泥炭のpHは湧水のある湿原東部(pH5.0)から西部(pH3.6)に向けて徐々に低下していたが、湿原中央を流れる水路脇のpHはその周囲よりも高く(pH4.5)、泥炭の理化学性に水路を流れる水が影響を及ぼしていることが示唆された(図3)。

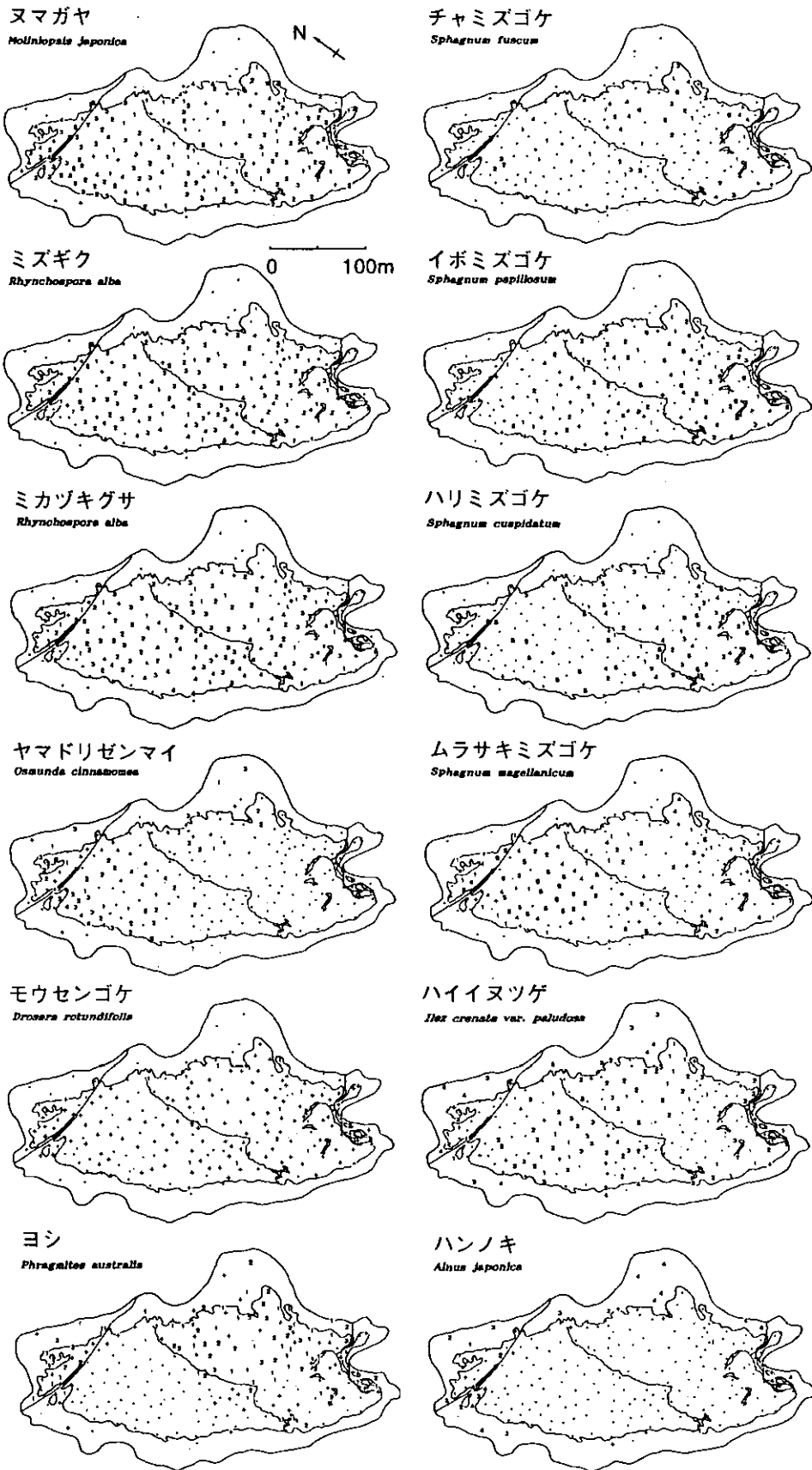


図1 宮床湿原における主要植物種の分布
 数値は優占度を示す。

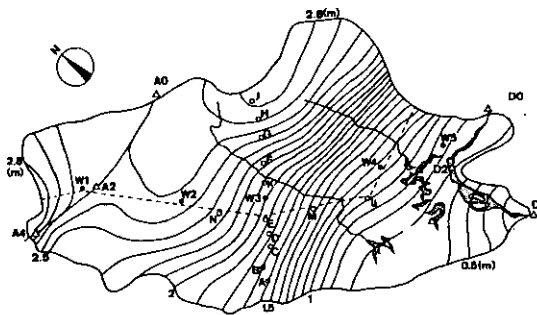
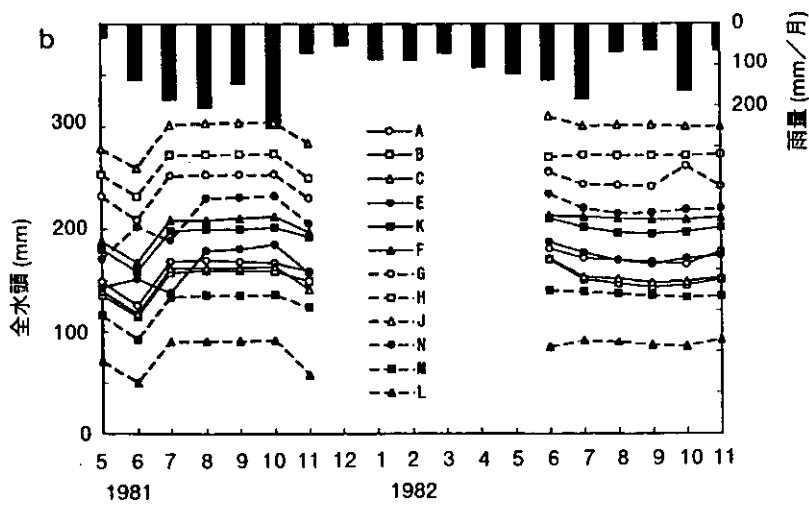
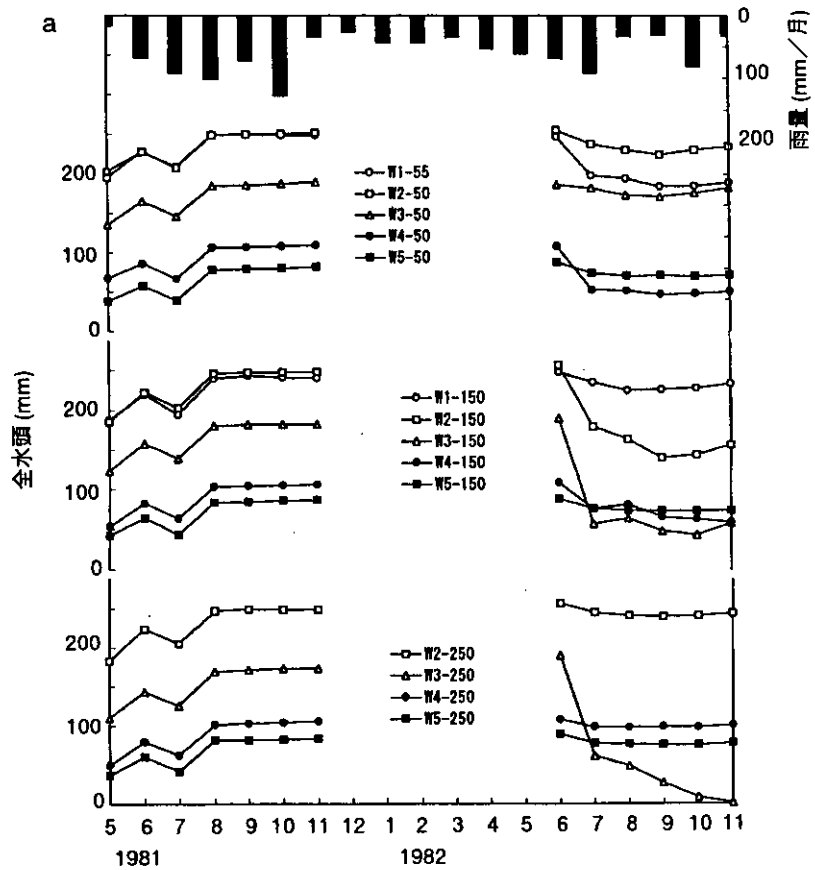


図2 湿原の地下水全水頭の季節変化
a : 長軸方向, b : 短軸方向

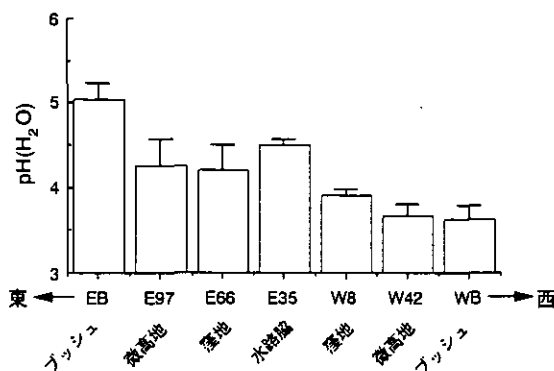


図3 湿原を東西に横切る調査線上の泥炭のpH

泥炭中の微生物数は地点間で大きな差があり、好気性細菌および糸状菌数は窪地では微高地よりも少ない傾向にあった。湿原東側および西側の窪木地ではともに細菌数は高かったのに対し、糸状菌数は場所により異なり、東側の窪木地では低く、西側の窪木地では高かった(図4)。

泥炭に埋め込んだろ紙は、湿原周辺の窪木地および微高地の1地点では5ヵ月間(5~10月)にその重量の30~50%が分解により失われたが、他の微高地および窪地や水路の脇ではろ紙の分解率は低く、5ヵ月間の重量の減少率は4%以下であった(図5)。これらのろ紙の分解率と泥炭中の微生物数との間には有意な関係は認められなかった。湿原内部よりも湿原周辺部でセルロース分解活性が高かったことは泥炭の含水比、pH、微生物数の差など1つの要因だけでは説明できず、有機物分解活性が他の複数の要因の影響を受けていることが示唆された。

宮床湿原泥炭土壌について、表層から300cmの深さにわたって20点の試料を採取し、無機成分およびワックスマンの近似分析法による有機物の分析を行った。試料採取地点では40~70cmに不透水層、140~150cmおよび240~260cmに木質層が存在していた。

全塩基量および全リンは現植生の影響がある表層で高く、以下90~110cmまで深さとともに減少するが、シルトの混入が認められる200cm前後の層位で全塩基が最高値を示し、以下再び減少する傾向を示した。この傾向はカルシウム、マグネシウムで顕著に認められた。その他、鉄、アルミニウム、銅、鉛、亜鉛なども、40~70cmの不透水層を境に上部と下部では様相を異にしていた。ほとんどの無機成分は上部では深さとともに減少するのに対し、下部では深さとともに増加する傾向を示した。さら

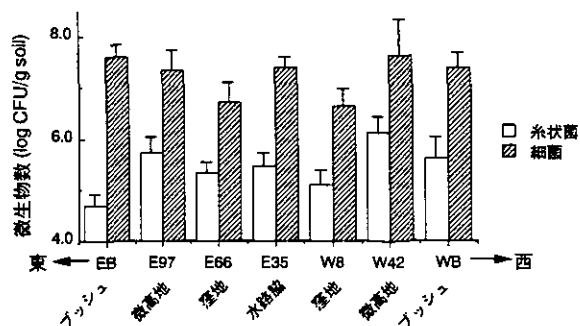


図4 湿原を東西に横切る調査線上の泥炭中の好気性細菌および糸状菌数(5回の調査の平均値および標準偏差)
窪地では他の地点よりも微生物数は少ない。

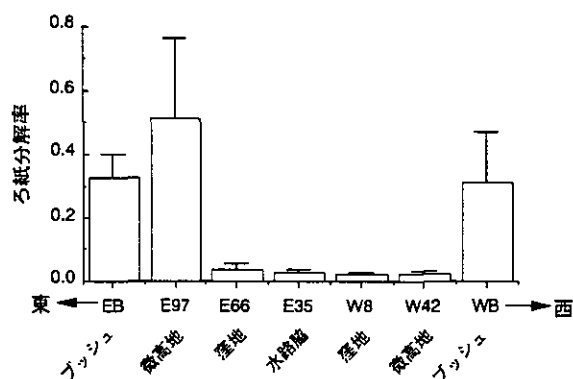


図5 泥炭中に埋め込んだろ紙の5ヵ月間の分解率(5連の測定の前平均値および標準偏差)
微生物数が比較的高かったE35及びW42でも、ろ紙分解活性は低い。

に100, 200cm前後の層位では過去における乾燥化による影響が確認された。

ワックスマン近似分析法による熱水画分、塩酸加水分解画分および硫酸加水分解画分として分画される有機物の組成とその量は、前述の3つの特徴的な層位の影響を強く受けていた。塩酸加水分解画分ではペントースが多く、硫酸加水分解画分ではヘキソースがその主体であった。この傾向は新鮮な植物遺体が存在する層位で顕著であった。また、ペントース、ヘキソースが各画分の全炭素に占める割合は深さとともに減少し、腐植物質の混入割合が高くなっていった。宮床湿原は40~70cmの層位にヨシを素材とする不透水層を有し、その下層には140~150cmおよび240~260cmに木質層が存在し、これら3つの特徴的な層位が他の層位の化学性および有機物組成に大きく影響することが判明した。すなわち40cmより上部の層位にはヘミセルロースを主体とする比較的新鮮な植

物遺体が多量に存在し、不透水層により表層と下位層では有機物の分解、各種化学成分の動態が異なることが明らかとなった。さらに上部の層位での重金属量が下層に比べ明らかに高いことから、現在の湿原環境が大きく変化していることが認められた。また、下層の2つの木質層の上部ではともに有機成分の減少と無機成分の増加が認められ、過去に乾燥化を受けた層位であることが認められた。

宮床湿原池塘D2およびB4における底生藻類の多様性を4月から10月の間隔月に調べた。池塘D2および池塘B4に出現した藻類種の総数はそれぞれ93種類および67種類であった。池塘D2では種類数および現存量が雪解け後の4月に少なかったが、6月に最も多く、8、10月に減少した。ケイ藻類が全藻類の現存量の90%~98%を占めていた(図6 a)。4月には羽状目ケイ藻 *Frustulia rhomboides*, *Actinella punctata* が優占種であったが、6月、8月には藻類相が大きく変動し、中心目ケイ藻 *Aulacoseira laevis* が優占種となり、全体の現存量の30%~40%を占めていた。10月には再び藻類相が変動し、羽状目ケイ藻 *Actinella punctata*, *Stauroneis phoenicenteron* 及び *Pinnularia subgibba* 等が占める割合が多くなった。種の多様度を表現する指標としてSimpsonの多様度指数(個体数及び現存量換算)を求めたところ、種類数の変動とは全く逆の変動を示し、4月、10月に高く、6月、8月に低かった。池塘D2では藻類の種類数は母集団の現存量が大きくなって種類数が増えたが、ある特定の種の個体数および現存量が相対的に大きく増加したことを意味する。池塘B4では種類数は4月から8月にかけて変わらず、10月に著しく増加した。しかし、現存量は4月に最も多く、6月から10月にかけて徐々に減少した。ケイ藻類と鼓藻類がそれぞれ全藻類の現存量の33%~82%及び15%~63%を占めていた(図6 b)。池塘D2がケイ藻類が優占するのに対して、池塘B4はケイ藻類と鼓藻類が優占していた。全期間を通じて羽状目ケイ藻類 *Frustulia rhomboides* が優占し、 $1 \sim 2 \mu\text{gC}/\text{mm}^2$ の現存量で存在していたが、4月には鼓藻類 *Gloenlandia neglecta* var. *neglecta* が、6月には *Bambusina brebissonii* var. *brebissonii* と *Netrium digitus* var. *digitus* が $0.6 \sim 1 \mu\text{gC}/\text{mm}^2$ の現存量で優占していた。多様度指数は現存量および種類数の変動と対応して変動していた。種類数、多様度指数の双方で、どの季節も池塘D2の方が池塘B4と比べて高い値を示しており、池塘D2はB4と比べると種類が豊富で、複

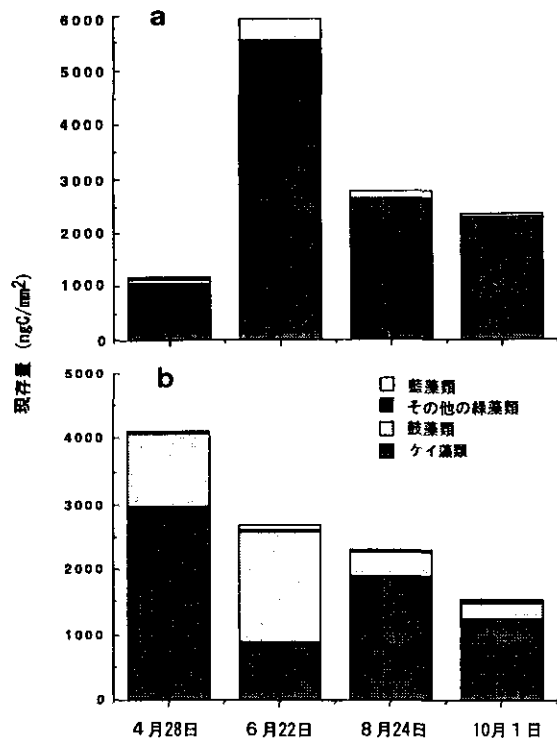


図6 池塘の藻類の現存量の季節的変動
a: D2, b: B2

雑な群集であることが示唆された。

宮床湿原の高等植物はミズゴケ類7種、維管束植物が47種、計54種類が確認された。周辺の林内では100種以上の植物種が確認されていることから、種数だけでみれば、湿原内に樹木が侵入することは植物の種類数を増やすことにほかならない。湿原植物の多様性を考える上では、ミズゴケ類やワタスゲ、ミズギク等あくまで湿原特有の種類に着目していく必要がある。

宮床湿原の池塘2ヶ所における底生藻類は、ケイ藻類、鼓藻類を主要グループとして93種類及び67種類出現した。藻類の多様度は、池塘により、季節により変動した。池塘間における藻類の多様性の差異がいかなる環境因子と関連しているか、現在解析中である。

昨年に引き続き宮床湿原内の水路、池塘、湧水等からユスリカ科昆虫の採集を継続した結果、4亜科38種類が分類された。このうちカユスリカ亜科が13種類を占めることと、このグループに属する種類は地点間で共通種の少ないことが特色であった。宮床湿原に出現したユスリカ類は、貧栄養水域から富栄養湖水域に出現する種類が混在していた。また今回採集されたオオヤマユスリカ亜科の *Compteromesa* は新種である。今後水生植物付着の種類を調べることで、種数はさらに増えるものと考えられ

る。水域の pH の値による出現種数の違いは明瞭ではなかった (表 1)。

湿原の藻類やユスリカ類は報告が少なく、したがって我が国で確認されていた種数も非常に少なかった。湿原がこれらの微少な生物にとって多様な環境を提供し、それにより多くの種類が採集されたものと考えられる。

植物の結実に対する訪花昆虫の寄与を評価するために、宮床湿原で 6 月および 8 月に多数開花するゼンテイカおよびコバギボウシの開花個体に網袋をかけて、昆虫による受粉を阻害する実験を行った。1993 年 6 月 23 日に 15 個体 (花序) のゼンテイカの各 1 個ずつの蕾に袋をかけ約 40 日後に結実の有無を調べた結果、無効なもの (袋が外れた等) を除く 9 個体の袋掛けした蕾すべてが結実しなかった。これら 9 花序は袋掛けした蕾のほかに 12 個の蕾、5 個のすでに開花していた花を含んでおり、これら袋掛けした蕾を除く花の結実率は 65% だった。実験を行った

場所と水路をはさんで隣接する 2 グループのゼンテイカの結実率は、それぞれ 68% (58 花中)、60% (67 花中) だった。このように、昆虫等を排除することにより結実率が低下したことから、ゼンテイカは自殖を行わずに結実を昆虫の送粉に依存していると考えられた。1993 年 8 月 5 日には 20 個体のコバギボウシの各花序全体に袋を掛けて同様の実験を行った。無効なものを除く 8 個体の結実率は 36% だった。周囲の袋を掛けなかった標識個体は、悪天候による損傷が大きかったため、比較に用いなかった。結実率は袋を掛けた時にすでに開花していた花の割合 (41%) に近いことから、袋掛けにより送粉が阻害されたと考えられる。しかし、袋掛けの時にすべて蕾だった花序でも結実が見られ (9 個中 1 個)、自殖を行う可能性もある。なお、これら 2 種の植物の主な送粉者はトラマルハナバチであり、これは宮床湿原で最も高頻度に見られた訪花昆虫である。

表 1 宮床湿原の水路、池塘より羽化したユスリカ成虫

種名	種数 pH (中央値)	灯火採集		底質から羽化							
		D1	B2	D4	A0	A4	A2	D0	D2		
		6	6	11	9	3	8	8	6		
TANYPODINAE (13)											
<i>Conchapelopia ?viator</i> (Kieffer)		F		M*							
TANYPODINAE sp.		F			M						
<i>Apsectrotanypus</i> sp.			M								
<i>Procladius culiciformis</i> (L.)			F						MF		
<i>Natarsia punctata</i> (Fabricius)				MFM*				F			
<i>Ablabesmyia ?monilis</i> (L.)	F			M					L		
PENTANEURINI sp.	F			MF							
<i>Macropelopia</i> sp. 1					M						
<i>?Trissopelopia</i> sp.					F						
<i>?Macropelopia</i> sp. 2							M		F		
<i>Alotanypus</i> sp.								M*			
<i>Procladius</i> sp.	F										
<i>Rheopelopia ?maculipennis</i> (Zett.)	F										
PRODIAMESINAE (1)											
<i>Compteromesa</i> sp. n.									M*		
ORTHOCLADIINAE (9)											
<i>Cricotopus</i> sp. <i>tremulus</i> gr.			MF								
<i>Heterotrissocladius</i> sp.			M			MF					
<i>Psectrocladius ?yunoquartus</i> Sasa			M	MF					M		
ORTHOCLADIINAE spp.				M	M						
<i>Brillia modesta</i> (Meigen)								M*			
<i>Limnophyes</i> sp.								M*			
<i>Doithrix villosa</i> Saether et Sublette									M*		
<i>Parameteriocnemus</i> nr. <i>togadigit</i> Sasa								M*			
<i>Cricotopus ?sylvestris</i> (Fabricius)	F										
CHIRONOMINAE (15)											
TANYTARSINI spp.			MF	MF					M*		
<i>Micropsectra yunoprana</i> Sasa			M*					M*	M		
<i>Polypedilum kasumiense</i> Sasa				M	M*						
<i>Tanytarsus</i> spp.				MF	MF		M				
<i>Tanytarsus</i> sp. 1					M*						
<i>Tanytarsus</i> sp. 2					M*						
<i>Stictochironomus akizukii</i> Tokunaga					F*	MF		MF	MM*		
<i>Dicrotendipes</i> sp.						F					
<i>Polypedilum</i> sp.						M	F				
<i>Micropsectra</i> sp.						MF		M	MFM*		
CHIRONOMINI sp.							M				
<i>Tanytarsus</i> sp. 3								MF			
<i>?Chaetolabis</i> sp.	F										
<i>Chironomus</i> sp.	F										
<i>Polypedilum ?unifascium</i> Sasa	F										

*は乱振法による捕獲

(3) 湿原生物群集の変動要因に関する研究

湿原池塘で優占する底生動物の水温に対する成長特性を解析した。池塘ではユスリカ科の *Stictochironomus* と *Procladius* が優占しているが、毎月採集された個体の体長の頻度分布から成長速度を求めた。*Stictochironomus* と *Procladius* の発育零点はそれぞれ3.8℃、2.6℃と推定された。植食性の *Stictochironomus* は、他の湖沼で出現する

Chironomus 等の植食性ユスリカとはほぼ同等の、水温に対する成長特性を示していた(図7)。一方肉食性の *Procladius* の成長特性についてはこれまでに報告がない。雪に覆われ、冬季間水温が0℃に低下する小池塘に比べ、湧水が流入し冬季も水温が5℃以上に保たれる比較的大きな池塘では冬季にもこれらのユスリカによる有機物分解が盛んに行われることが示唆された。

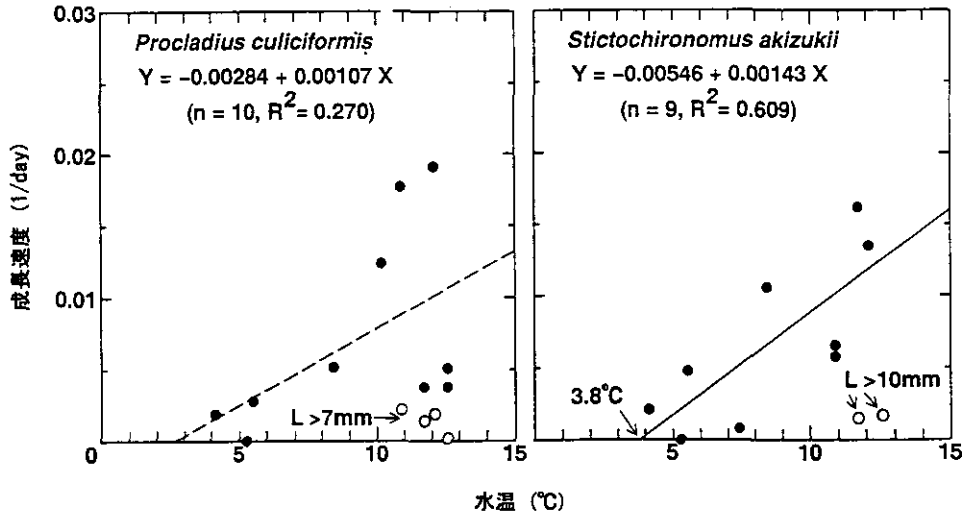


図7 池塘D2における2種のユスリカの成長速度 (1/day)

2.5 環境中の有機塩素化合物の暴露量評価と複合健康影響に関する研究

平成4～8年度（1992～1996年度）

〔研究組織〕

地域環境研究グループ

化学物質健康リスク評価研究チーム

都市環境影響評価研究チーム

化学環境部

部長

首席研究官

計測技術研究室

計測管理研究室

化学毒性研究室

環境健康部

部長

生体機能研究室

保健指標研究室

客員研究員 9名，共同研究員 4名

○相馬悠子・米元純三・白石寛明・稲葉一穂・梅津豊司
高橋慎司

森田昌敏

相馬光之

藤井敏博

伊藤裕康・山本貴士

白石不二雄

三浦 卓

鈴木 明

松本 理・国本 学

〔研究概要〕

我が国の化学物質の種類は生産量の増加率の数倍の速さで増加している。これは先端産業の進歩とともに、化学製品の多様化、高付価値化が要求され、それぞれの量は少ないが非常に多種類の化学物質が生産、使用されることによっている。そして将来生産される種類はますます増加すると予想され、それに伴って、化学物質の環境への放出も少量ではあるが多種類の放出になることが考えられる。＜化学物質による質的低下をもたらさない環境の持続＞への危機を防ぐためには、どのような種類の化学物質がどのような環境に、どの位存在し、複合してどのような影響を環境に与えるかという、化学物質の総合影響評価をする必要がある。化学物質の中でも塩素を含む有機化合物、有機塩素化合物は、化合物としての安定性、化学合成中間体としての有用性から、化学工業製品の中でもその種類、割合はきわだって多い。一方化審法に基づいて規制がなされている化学物質のうち、第一種特定化学物質で8種、第二種特定化学物質、指定化学物質20種が塩素の入った物質であり、化合物の安定性、殺菌殺虫作用といった有機塩素化合物の有用性が難分解性、有毒性といった環境汚染につながっていると考えられる。

この研究では、環境に存在する化学物質、特に有機塩

素化合物の健康影響を体系的に評価するために、環境中の多種類の有機塩素化合物の暴露量評価及び健康影響評価に関する研究を行い、調査したモデル地域で、人の健康に影響を与える可能性がある有機塩素化合物のプライオリティリストを作製する。

本特別研究は、下記の3つのサブテーマに分かれて進められるが、今年度実施された研究課題を以下に示した。

（1）有機塩素化合物の暴露量評価に関する研究

現在日本における塩素を含有する化学工業品の生産量は、①塩化ビニルのような高分子、樹脂、②フロン類を含む揮発性有機塩素化合物、③漂白、水処理用工業品、④芳香族化合物など semivolatile なものといった順序になっている。したがって水、底質中の有機塩素化合物の survey には semivolatile なものとともに、漂白などの塩素処理によってどのような化合物が新たに生成するかを調べるのが重要になってくる。今年度は次の課題が行われた。

- ・都市河川および河川底質中の有機塩素化合物と有機塩素量
- ・生活排水関連の有機塩素化合物と有機塩素量
- ・塩素処理と有機塩素化合物（バルブ漂白、下水処理場）

- (2) 有機塩素化合物の複合健康影響評価に関する研究
 - ・フィールド試料（河川底質）から検出された有機塩素化合物の *in vitro* 系テストシステムによる単独および複合暴露の毒性評価に関する研究
 - ・コンフリクト試験を用いるトリクロロエチレン、テトラクロロエチレンの行動毒性試験
 - ・PCBの相互作用機序解明に関する研究

(3) 環境中有機塩素化合物の総合影響評価

有機塩素化合物の構造と毒性の相関（ダイオキシンの変異原性指数と構造の相関関係、クロロプロペン類の分子軌道と変異原性発現機構）

〔研究成果〕

(1) 有機塩素化合物の暴露量評価に関する研究

汚染が進んでいる東京、埼玉、千葉の河川（隅田川、芝川、新芝川、綾瀬川、古綾瀬川、大堀川、大津川）で底質および水中の有機塩素化合物と有機塩素量の調査をした結果をまとめると、次のようになる。

◆ 工業地域の河川水および底質の有機塩素化合物は付近の工場の影響を受け、場所によって異なるさまざまな物質が検出されることが特徴である。しかしPCBは図1 aに示すように工業地域の河川底質には共通に検出された。

◆ 下水処理場の放流水で検出された有機塩素化合物のうち濃度が高かったトリクロサン（殺菌石けん、デオドラント剤に使用）は河川底質でも広く検出され（図1 b）、特に生活排水で汚染されている河川底質で濃度が高くトリクロロカルバン（殺菌石けんを使用）とともに下水道経由の生活排水の新しい指標となると考えられた。

◆ プラスチック添加剤のTCEP（Tris (chloroethyl) phosphate）も多くの河川底質で検出され、生活排水由来のトリクロサンやトリクロロカルバンと似た分布を示している。

◆ *p*-ジクロロベンゼン（防虫剤）は、河川水、底質とも多くの場所で検出された。しかしGCMSで検出した河川水中の有機塩素化合物は、クロロホルムやトリクロロエタンなどのPOX（purgeable organic halogen）が*p*-ジクロロベンゼンなど芳香族有機塩素化合物の10倍以上あった。表1には、隅田川上流から東京湾までの有機塩素化合物、有機塩素量の測定例を示した。

◆ GCMSで検出できる有機塩素化合物は環境中の全有

機塩素化合物のごく一部なので、全量を知るために、活性炭に吸着する有機物を熱分解してハロゲン量を測るAOX（adsorbable organic halogen）、有機溶剤で抽出した有機物を熱分解してハロゲン量を測るEOX（extractable organic halogen）の測定を行った。河川水では表1に示すように、全有機塩素量はGCMSで定量できた有機塩素化合物の5～15倍あるのが分かる（但し表1の下流3地点のAOX値は海水の影響で大きくなっている）。河川底質中のEOXは、工業地域、住宅地域を問わず、底質の有機炭素含量の多い所で多い傾向が見られた。調査した河川で有機炭素1g当たり平均500μg程度であり、生活排水由来の河川底質の有機塩素量が工業地域と比較し無視できない量になっており、有機塩素量と塩素処理（漂白、殺菌）との関係を調べる必要があると考えられた。

◆ 塩素処理が行われるパルプ工場の排水は、有機塩素量は2000～3000μg塩素/lであるが、そのうちGCMSで検出される有機塩素化合物は1%以下であった。

(2) 有機塩素化合物の複合健康影響評価に関する研究

このサブテーマでは前年度行われたフィールド試料（河川底質）の分析の結果、頻繁に検出された有機塩素化合物について、*in vitro* 系のテストシステムを用いて、単独および複合暴露の毒性評価を中心に行った。

対象とした有機塩素化合物は

-

クロロアニリン（PCA）、3,4-ジクロロアニリン（DCA）、*p*-ジクロロベンゼン（PDCB）、*o*-ジクロロベンゼン（ODCB）、リン酸トリス（2-クロロエチル）（TCEP）の5種類である。これらの化合物は難溶性であるので、マイルドな生物学的界面活性剤であるsodium taurodeoxycholateを含むDMSOに溶解し、適宜培養液で希釈した。神経系由来の細胞株（ヒト神経芽細胞腫細胞NB-1、ヒト神経膠芽細胞腫細胞HTB-14、チャイニーズハムスター肺由来のCHL細胞、およびラット胎仔肢芽細胞（LBC）における毒性評価の結果を表2に示す。

これらの有機塩素化合物の毒性はLBCにおけるPCAを除いて比較的低いと考えられる。毒性の強さの順序は神経系由来の細胞ではDCA > ODCB ~ PDCB > TCEP > PCA、CHL細胞ではDCA > ODCB > PDCB > PCA > TCEP、LBCではPCA > DCA > PDCB > ODCB > TCEPであった。株化細胞ではPCAの毒性は比較的低いのにに対し、胎仔由来の初代培養細胞であるLBCでは最も毒性が高く、P/D比も高く、発生毒性のポテンシャルが

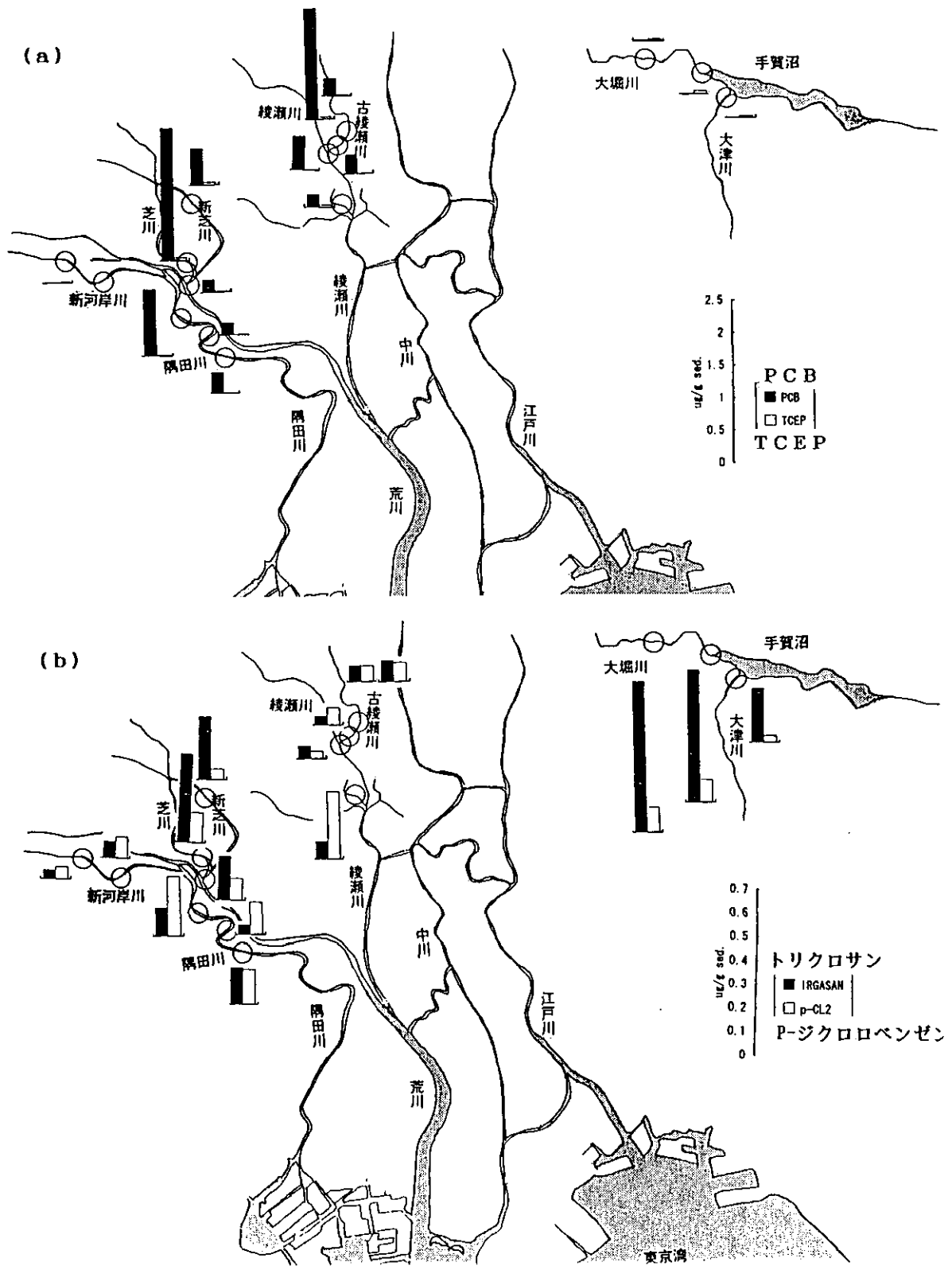


図1 都市河川底質中の有機塩素化合物

(a) : PCB (ポリクロロビフェニル) と TCEP (リン酸トリスクロロエチル)

(b) : トリクロロサン (Irgasan) と p-ジクロロベンゼン

表1 隅田川（1993年7月28日）の河川水中の有機塩素化合物濃度（ μg 塩素/l）

	荒川水門	小台橋	千住大橋	白髭橋	両国橋	永代橋	中水研前	御台場
揮発性有機塩素総量	3.095	2.495	3.400	3.840	2.301	1.758	1.122	0.428
ベンゼン類	0.155	0.113	0.117	0.075	0.166	0.135	0.088	0.079
トリクロロエチルホスフェート	0.040	0.027	0.029	0.033	0.038	0.029	0.021	0.025
農薬	0.016	0.015	0.018	0.020	0.019	0.015	0.013	0.014
アニソール類	0.005	0.004	0.005	0.003	0.004	0.004	0.002	0.002
トリクロサン	0.009	0.008	0.009	0.010	0.013	0.005	0.003	0.003
合計 μg 塩素/l	4.130	2.662	3.578	3.981	2.541	1.945	1.249	0.550
吸着性有機塩素総量	26	36	22	16	29	80	150	386
電導度	0.338	0.302	0.301	0.302	2.3	2.83	13.77	17.85
水温	24.5	25.3	24.1	25.1	24.7	25	24.5	25.1
pH	6.87	6.91	7.01	7.01	7.01	7.01	7.32	7.48

表2 5種の有機塩素化合物の細胞毒性（mM）

	神経芽細胞腫細胞 NB-1	神経膠芽細胞腫細胞 HTB-14	CHL細胞	ラット胎仔胚芽細胞 LBC		
	LC ₅₀ (mM)		IG ₅₀ (mM)	IP ₅₀ (増殖) (mM)	ID ₅₀ (分化) (mM)	P/D
PCA	3.0	>3.3	1.24	0.071	0.024	2.95
DCA	0.49	0.67	0.18	0.21	0.19	1.10
PDCB	2.4	2.3	0.75	0.66	0.59	1.13
ODCB	1.5	1.3	0.49	0.74	0.63	1.17
TCEP	2.4	2.5	1.62	3.6	1.57	2.3

高いと考えられた。また、TCEPについてはCHL細胞、LBCでは他のものと比較して毒性が低いのに対し、神経由来の細胞ではPDCBと同程度でPCAより毒性が高く、他の細胞よりもTCEPに対して感受性が高い可能性が考えられた。TCEPが海馬に特異的な傷害作用を持つことと関連があるかもしれない。これらの結果は多面的なスクリーニングの有用性を示唆する。

次にPCAとTCEPの複合暴露の影響を検討した。NB-1細胞において各々の50%致死濃度に近いPCAとTCEPの各2mMの単独暴露と1mM+1mMの複合暴露の影響を比較すると生細胞数は各々対照の84.1%、64%、72.5%となり、複合暴露の影響が各単独暴露の平均に近いものとなった。また、LBCにおいて、単独暴露におけるEC50の値を1として相対化したToxic Unitとisobole diagramを用いて複合暴露の影響を検討したところ（図2）、混合物の毒性は細胞増殖に対してはそれぞれのToxic Unitの1を結んだ線よりも内側に位置し相加的よ

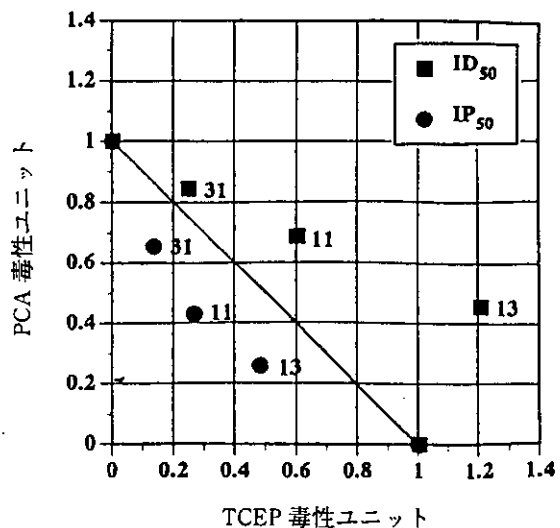


図2 ラット胎仔胚芽細胞におけるp-クロロアニリンとTCEPの複合暴露の影響

りも強い作用を有していた。これに対し、分化に対しては相加的よりもやや弱く、両者の作用点が少し異なる可能性が示唆された。

in vivo の行動毒性学的研究では、昨年までの研究で他の行動試験法より鋭敏に影響が検出できることが示された抗コンフリクトテストを使って揮発性有機塩素化合物のガス暴露実験を行った。オペラント行動測定装置を組み込んだガス暴露実験装置を作成し、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンを暴露したときのマウスのコ

ンフリクト行動の変化を観察した。マウスやラットにおいて抗コンフリクト作用を示す物質は、人においては不安除去、緊張緩和、精神安定作用をもたらすことが知られている。トリクロロエチレンおよびテトラクロロエチレンのガスを暴露したときの成績を図3 a, bに示した。トリクロロエチレンは明らかな抗コンフリクト作用を示したが、テトラクロロエチレンは今回の濃度範囲では影響を及ぼさなかった。

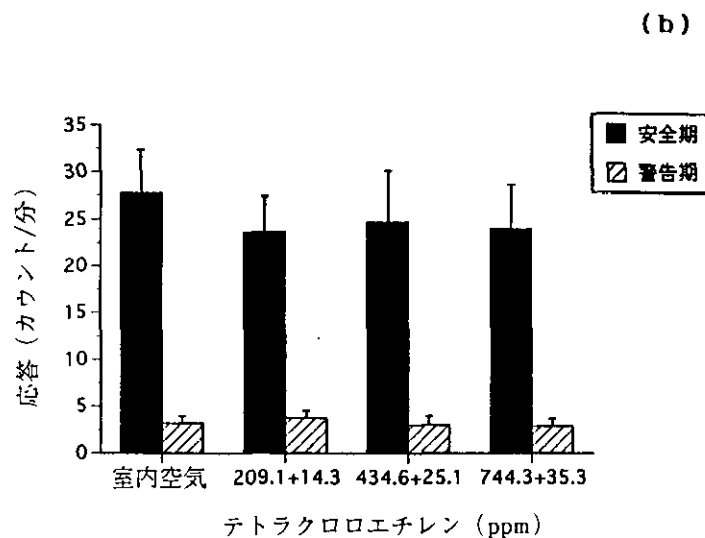
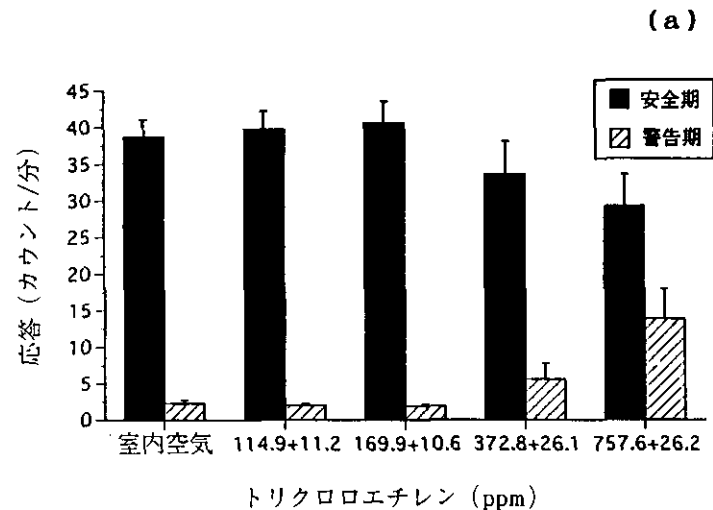


図3 マウスのコンフリクト行動に及ぼすトリクロロエチレン (a), テトラクロロエチレン (b) の効果
グラフの下値は暴露濃度の平均値+標準誤差を示す。

2.6 湖沼環境指標の開発と新たな湖沼環境問題の解明に関する研究

平成4～8年度（1992～1996年度）

【研究組織】

地域環境研究グループ	
統括研究官	内藤正明
湖沼保全研究チーム	○福島武彦・松重一夫
海域保全研究チーム	木幡邦男
有害廃棄物対策研究チーム	平田健正
水改善手法研究チーム	稲森悠平・高木博夫
化学物質生態影響評価研究チーム	花里孝幸
主任研究官	春日清一
地球環境研究グループ	
統括研究官	安野正之
社会環境システム部	
資源管理研究室	天野耕二
化学環境部	
計測技術研究室	河合崇欣
化学毒性研究室	彼谷邦光・佐野友春
水土壤圏環境部	
上席研究官	相崎守弘
水環境質研究室	矢木修身
水環境工学研究室	海老瀬潜一・今井章雄・井上隆信
生物圏環境部	
環境微生物研究室	渡辺 信・野崎久義
生態機構研究室	高村典子
客員研究員 17名、共同研究員 10名	

【研究概要】

湖沼環境は国民共通の資産として維持保全していかなければならない。しかしながら、現状では湖沼環境基準の達成率は依然として低く、また多くの湖沼でアオコや淡水赤潮の発生が報告されている。さらに、中栄養湖である琵琶湖北湖ではピコプランクトン (*Synechococcus*) の異常発生が起り、平行して鮎の大量へい死が起っている。富栄養湖である霞ヶ浦においても夏期のミクロキスティス (*Microcystis*) を中心としたアオコからオシラトリア (*Oscillatoria*) を中心としたアオコに変化し始めており、それに伴って魚類の現存量の減少、異臭味の発生等が起きている。このような現象は湖沼水を利用して国民に多くの不安を与え、信頼感を失わせている。

このように湖沼環境は近年急激な勢いで変化しており、特に藻類組成変化を含む生態系の変化が著しい。このよ

うな急激な変化が生じてきた原因としてはさまざまな要因が考えられるが、流域からの負荷流出特性の変化もその原因の一つとして考えられる。流域における各種対策の効果によって近年リンの負荷量は減少しつつある反面、窒素の負荷量は横ばいか微増の傾向にある。そのため、水中の N/P 比が増加している湖沼が多く、その影響評価が行われなければならない。またこのような湖沼環境変化は従来の COD を中心とする水質項目では的確に表現できず、新たな湖沼環境指標の開発が必要である。

本研究に連なるこれまでの研究成果により、流入負荷量と植物プランクトン現存量の量的関係についてはかなり明らかにされてきたが、質的な関係については不明な点が多く残されている。したがって、なぜピコプランクトンが増殖するのか、アオコが発生するのか、淡水赤潮が発生するのか等、湖沼環境と優占する植物プランクト

ンの関係については研究が進んでいない。

本研究では、流域での各種対策や土地利用変化が負荷発生にどのような変化をもたらしているのか、窒素やリン等の負荷として、また有機物の負荷として自然由来のものはどの程度あるのか、N/P比の変化は湖沼水質環境や生態系にどのような影響を与えているのか、湖沼水中の有機物の起源はどこにあるのか、ピコプランクトンの異常発生はどうして起きるのか等の調査研究を行うとともに、最近の急激な湖沼生態系の変化を表現できる新たな指標の開発を行うことを目的とする。

本研究で新たに開発を目指す湖沼環境指標としては、(1)流域における水環境状態、水利用に関するもの、(2)湖沼生態系に関するもの、(3)水中有機物に関するものを、また新たな湖沼環境問題としてはピコプランクトンの異常発生、N/P比の変化の藻類種への影響などを対象と考えている。こうした目的を達成するために全体を以下の3つのサブテーマに分けて研究を行っている。

(1) 流域特性と水質との関係の評価に関する研究

従来からの調査研究によって情報の蓄積している霞ヶ浦流域を対象として、近年の土地利用変化や各種排水対策が負荷発生量、発生負荷特性にどのような変化を与えているのかを、地理情報システムや簡単な流域モデルを用いて明らかにしてきた。また、このような負荷発生特性の変化が流域河川や地下水の水質に与える影響を解析している。

湖沼に流入する水質は流域の土壌特性や森林特性によって強く規定され、降雨等による負荷も土壌や植生の違いで流出特性が異なる。湖沼に流入する自然由来の負荷の算定を行うために、人為汚染の少ない溪流河川での水質特性を調べ、土壌特性や植生等との関係の解析を進めている。

(2) 湖沼環境指標に関する研究

湖水中の有機物量は湖沼やその流域環境の指標として重要であり、その挙動は湖沼管理上重要な意味を持つ。昨年度よりCODに代わる有機物指標としてTOC(全有機炭素)を取り上げ、その測定精度、湖沼での変動特性、CODとの関係、生分解性の評価方法などを中心に検討を進めている。また、特に溶存有機物はその起源や挙動があまり明らかにされていないところから、溶存有機物を化学的特性、生物分解性等から分画し、それぞれの分画

の起源や水中での変動特性等を明らかにするため、調査、実験を行っている。

湖沼環境変化を引き起こす原因の一つとして湖水のN/P比の変化が考えられている。N/P比の変化が植物プランクトン組成等に与える影響について、屋外実験池での実験を中心に検討を進めてきた。次年度以降は各地の湖沼での状況を収集することからその影響を評価したい。

また、湖沼生態系の中で中間的位置を占めている動物プランクトン等の植物プランクトン食者に着目し、高次捕食者である魚や、餌となる植物プランクトンと植物プランクトン食者の種組成や大きさ、量等との関係につき調査研究を行っている。植物プランクトン食者は食物連鎖を通じて一次生産者及び高次捕食者と密接な関係があるところから、これらの群集的特徴を明らかにすることにより、湖沼の生物群集構造を推測する。さらに、一般市民が湖沼環境を評価する際のものさしとなる景観指標(見た目アオコ指標)を提案し、全国いくつかの湖沼に適用した。

(3) ピコプランクトンの異常発生機構に関する研究

淡水湖におけるピコプランクトンの異常発生機構および水界生態系や水利用に与える影響を明らかにするために、ピコプランクトンの基本的特性、毒性の有無、湖沼における分布や消長等を調べる。まず、基本特性として培養、生理学的特性を調べるために、無菌培養手法を確立した。今後、ピコプランクトンの大量培養を行い、マウスに対する毒性や魚毒性等を調べ、毒物の抽出と構造決定を行う計画である。

野外では、いくつかの湖沼でピコプランクトンの分布や消長を調べ湖沼環境との関係を明らかにする。さらに、その優占する湖で、生態系の構成要素(栄養塩、細菌、従属ペン毛虫、繊毛虫、植物・動物プランクトン、魚類など)を全部調べることから、生物間の相互作用を明らかにする。

【研究成果】

(1) 流域特性と水質との関係の評価に関する研究

平成4年度には、パソコン上で動く地理情報システムに、流域指標の計算機能、異なる集計単位への変換機能などを追加した。本年度はこのシステムをあるダム湖流域へ適用して、数河川流域の特性評価に利用するとともに、水質との関係の解析作業を始めた。流域の大部分が

森林であるため、自然負荷の基本特性が評価できるものと考えている。

また、平成4年度に引き続き、霞ヶ浦の恋瀬川流域で高頻度の水質観測を行い、栄養塩、有機物関連の水質項目の流出特性を調べた結果、DOC（溶存態全有機炭素）は溶存態のCODと比べその流出負荷量に対する流量変化の影響が小さく、年格差も小さいことが分かった。

(2) 湖沼環境指標に関する研究

1) 生態系構造の水質、物質循環に及ぼす影響

平成4年度には臨湖実験施設の小型実験池を用いて、様々なN/P比を変化させ、アオコの発生量、ならびに溶存有機物の動態を観測、調査した。その際、動物プランクトンの大増殖により、水中のDOが枯渇する現象が観察された。こうした点を踏まえて、本年度は生態系構造の水質、物質循環に及ぼす影響を明らかにするために、以下のような実験を行った。

6つの屋外小型実験池を用いて、栄養塩供給条件は全池同じに、3段階に金魚の密度を変化させ（表1）、約40日間連続に水質、生物量ならびに沈降量、魚の排出量などを測定した。同時に、5分間隔で測定したpH、DO（実験池1と2での実測例を図1に示す）、水温、風速の測定値を用いて、光合成、呼吸、大気との交換量を推定する方式を開発し、適用した。これらを整理して、魚のいない池、高密度にいる池での炭素、窒素、リンの物質収支を調べたところ、よく合うことが示された。一例として炭素循環の様子を図2に示す。魚を高密度に入れた池ほど、動物プランクトン、ベントスは少なくなったが（表2）、植物プランクトン、栄養塩量は多かった（表3）。この原因として、動物プランクトンによって食べられる植物プランクトンが少ないことに加えて、グロス、ネットの沈降速度が小さく水中での栄養塩濃度が高く、また光合成量、呼吸量が大きいためから栄養塩の循環速度も速いことが考えられる。さらに、魚をいれない池では*Microcystis*が増殖しないこと、*Microcystis*の増殖した池では植物プランクトン量の変動が少ないこと、また魚が高密度にいる池ではNO₂-N、NH₄-Nなどのピーク値が高い（図3）、植物色素の組成が異なるなどの特性が分かった。すなわち、湖沼水質にはその生態系構造が大きな影響を及ぼしていることが明らかになるとともに、ある水質項目を測定することから生態系の情報を得る手がかりをつかんだ。

また、昨年度から継続して行っている洞爺湖での水質、

生物量のモニター結果から、透明度の激しい変動は動物プランクトンの異常増殖によってもたらされていることが判明した。

表1 屋外実験池での魚の量

	実験開始時 (1993. 8. 3)		実験終了時 (1993. 9. 10)	
	平均湿重量 g	密度 ₃ gC/m ³	平均湿重量 g	密度 ₃ gC/m ³
P1 & P4	0	0	0	0
P2	2.86	14.0	3.65	17.9
P3	2.86	1.61	5.53	3.11
P5	2.86	14.0	3.51	14.5
P6	2.86	1.63	7.18	4.16

2) 卓越藻類種の変化

4種類の藻類(*Anabaena*, *Phormidium*, *Oscillatoria*, *Microcystis*)を共存させた系における霞ヶ浦湖水のAGP試験から、*Oscillatoria*のみ、増殖にEDTAを必要としなかった。また、底泥抽出液を用いて*Microcystis*の増殖に及ぼす影響を調べた結果、底泥アルカリ抽出液、特にフミン酸画分に著しい増殖促進効果が認められた。同様な*Microcystis*の培養実験では、促進物質として米ぬか抽出液（特に分子量1,000以下の画分）、腐植酸、阻害物質として農薬類が確認された。

3) 溶存有機物の動態

湖内での有機物質の動態に関しては、その分画各成分の地点、季節変化特性を霞ヶ浦全域調査結果から明らかにした（図4には霞ヶ浦湖心での季節変化を、図5には流入河川、湖内地点での年平均値の地点差を示す）。すなわち、霞ヶ浦湖水、流入河川水の溶存態成分の生分解性実験を行うことから、易分解性画分は夏期に高く、冬期に低い傾向があり、植物プランクトンの現存量に若干の遅れがあるものの追従した季節変化を示すが、地点差は見られなかった。これに対して難分解性画分は季節差が少ないものの流下方向に増加していて、湖内での生産の可能性を示唆した。現在、有機物の化学的特性から起源の情報を得る方法について機器分析手法の検討を進めている。

以上と同時に、臨湖実験施設の小型実験池、霞ヶ浦浄化センターの下水処理水の滞留池での実験に際して溶存有機物の挙動を調べ、合わせて溶存有機物の分解性試験を行った結果、植物プランクトンの減衰時に難分解性有機物が生産されることが明らかになった（図6）。すなわ

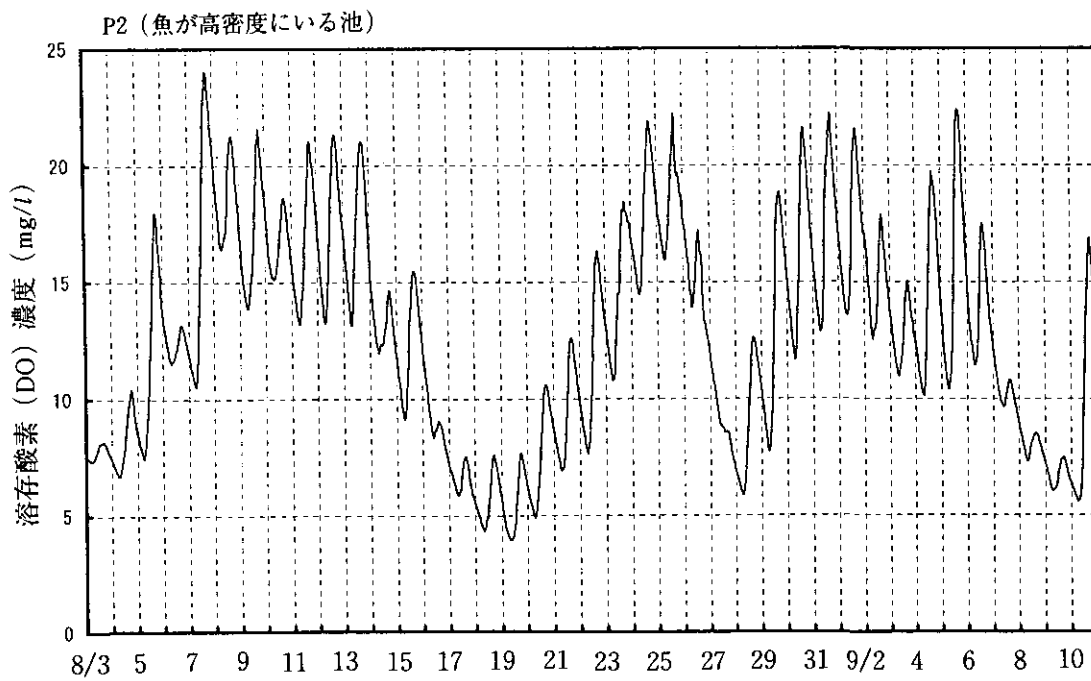
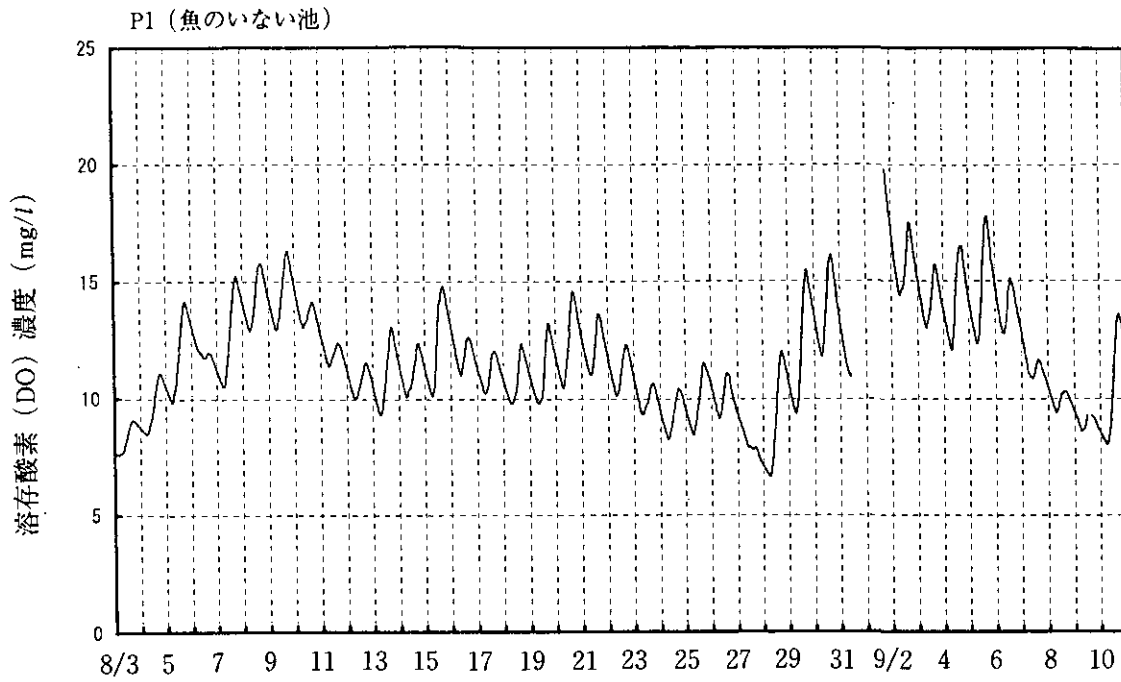
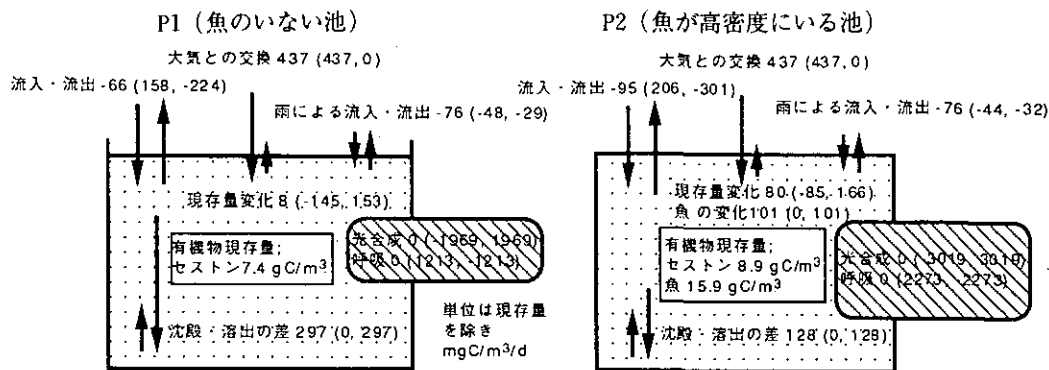


図1 屋外実験池でのDOの変化



(現存量変化) = (流入・流出) + (大気との交換) + (雨による流入・流出) - (沈降・溶出の差)

図2 炭素循環 数字は全炭素(無機炭素, 有機炭素)

表2 屋外実験池での動物プランクトン, ベントス, 細菌数

	P1 (魚なし)	P2 (魚高密度)	
動物プランクトン			
密度 (no./l)	1150	112	Aug.3-Sep.10の平均
第一卓越種	<i>Bosmina</i>	<i>Brachionus</i>	
第二卓越種	<i>Brachionus</i>	<i>Bosmina</i>	
ベントス			
密度 (no./m ²)	11023	484	Sep. 3
卓越種	<i>Chironomidae</i> <i>Pentapedium sp.</i>	<i>Chironomidae</i> <i>Pentapedium sp.</i>	
バクテリア			
密度 cells/ml	1.6×1000000	1.6×1000000	3つの測定の平均

表3 屋外実験池での水質平均値

	P1	P4	P3	P6	P2	P5	Inflow
平均							
Chlorophyll-a (μg/l)	65±40	82±52	74±29	74±30	144±72	142±63	2±1
Phycocyanin (μg/l)	10±17	4±7	70±56	27±27	1±2	326±257	2±2
DOC (mg/l)	3.3±0.3	3.2±0.4	3.4±0.3	3.8±0.8	4.4±0.7	3.6±0.5	2.7±0.1
DON (mg/l)	0.48±0.09	0.40±0.08	0.42±0.08	0.47±0.09	0.64±0.17	0.56±0.14	0.30±0.06
POC (mg/l)	4.1±2.0	4.5±2.5	3.5±1.3	3.2±1.2	4.5±1.8	6.4±3.2	0.3±0.1
PON (mg/l)	0.65±0.26	0.68±0.33	0.59±0.20	0.55±0.17	0.77±0.28	1.21±0.58	0.04±0.02
TN (mg/l)	2.12±0.31	1.70±0.43	1.60±0.38	1.87±0.52	2.34±0.51	2.66±0.28	0.91±0.11
TP (mg/l)	0.19±0.02	0.15±0.04	0.12±0.04	0.13±0.07	0.15±0.05	0.21±0.34	0.05±0.01
NO ₂ -N (mg/l)	0.014±0.004	0.008±0.004	0.013±0.008	0.016±0.008	0.058±0.017	0.028±0.026	0.003±0.003
最大値							
NH ₄ -N (mg/l)	0.062	0.035	0.096	0.048	0.117	0.087	0.013

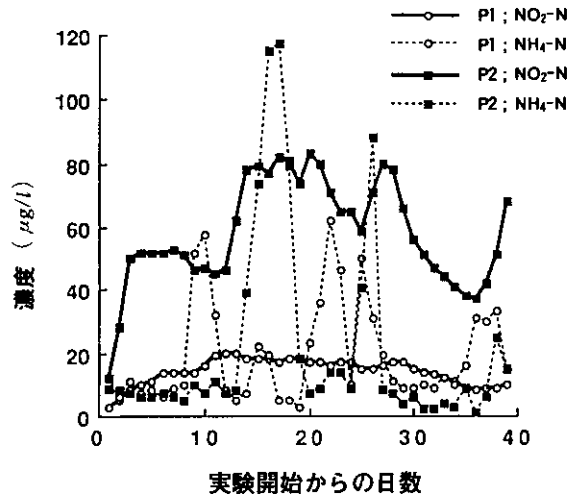


図3 屋外実験池でのNO₂-N, NH₄-Nの変化

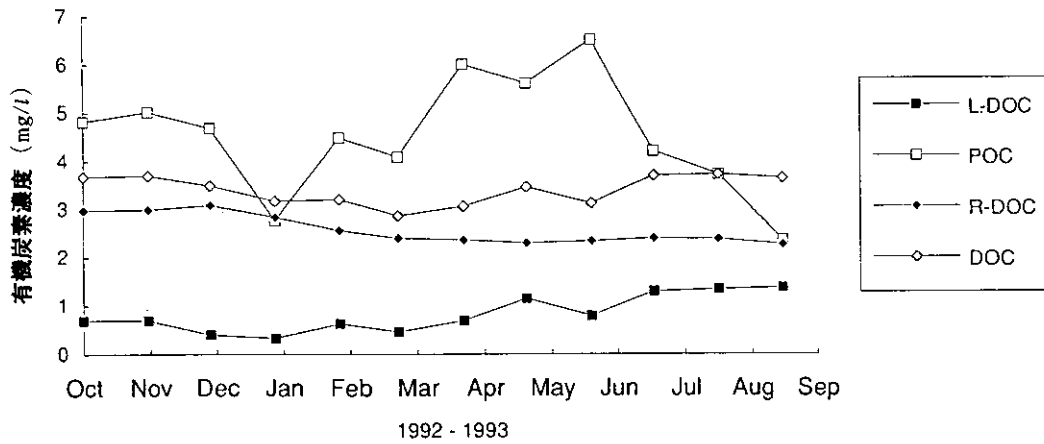


図4 霞ヶ浦湖心での溶存態有機炭素(DOC), 易分解性溶存態有機物量(L-DOC), 難分解性溶存態有機炭素(R-DOC), 懸濁態有機炭素(POC) 各濃度の季節変化

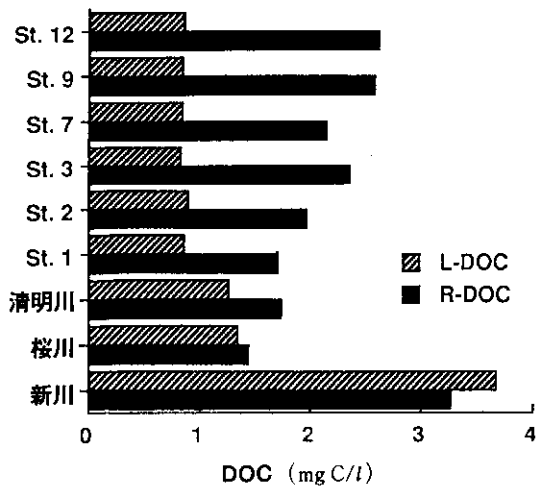


図5 霞ヶ浦および流入河川での易分解性溶存態有機炭素(L-DOC), 難分解性溶存態有機炭素(R-DOC) 濃度の年平均値の流下方向変化(図の下から上へ流下する)

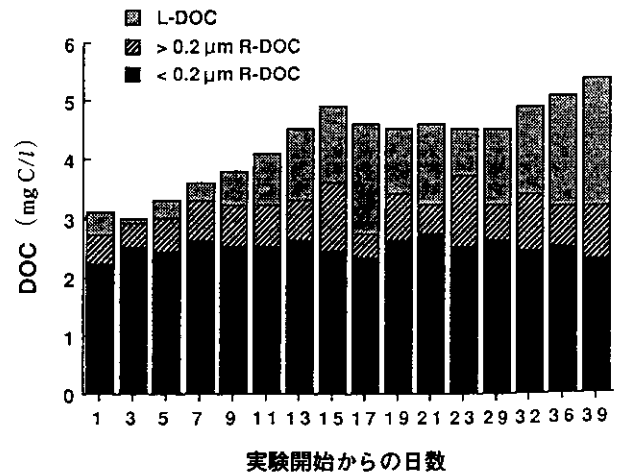


図6 魚が高密度にいる屋外実験池での易, 難分解性有機物の変化

ち、先ほどの霞ヶ浦における難分解性有機物の流下方向の増加と合わせて考えれば、流域以外に湖内生産起源の難分解性有機物が存在することを意味している。さらに生分解性実験において、セラミックろ過管の利用によりバクテリア画分の除外が可能となった。

また、いろいろ特徴のある水域の水サンプルを対象とした実験から、ポリマー粒子を充填したミニカートリッジカラム（ミリポア社の Sep-Pak Plus PS-2 と tC18）への溶存有機物捕捉率と難分解性有機物比率には比例関係があることが分かった（図7）。すなわち、生分解性試験は多大の時間を有することから、簡易的にはカートリッジへの捕捉率をもとに生分解性を予測することも可能であるといえる。

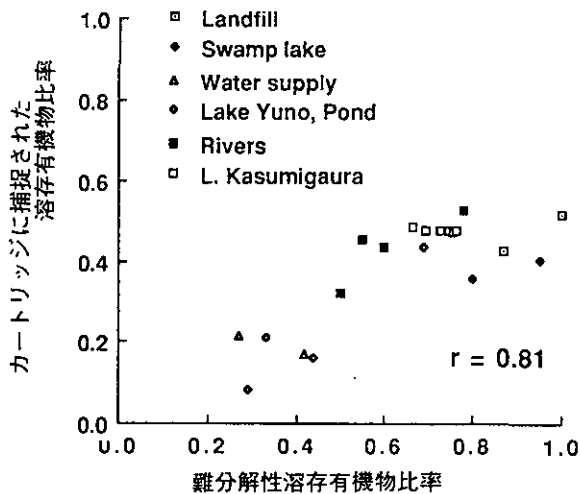


図7 ミニカートリッジ(ミリポア社 Sep-pak plus PS-2)に捕捉される有機物比率と難分解性有機物比率の関係

4) その他

全国各地の湖沼で見た目アオコ指標に関するアンケート調査を行い、水利用意識との関連を解析した。また、湖沼の水質と底質の結合モデルを完成し、湯の湖にあてはめ、湖沼水質改善手法のいくつかを比較検討した。合わせて、湯の湖では現在底質のしゅんせつが進行中であるため水質、底質の観測を継続して行っていて、将来モデルの検証データとする予定である。

(3) ピコプランクトンの異常発生機構に関する研究

1) ピコプランクトンの動態

平成4年度より、ピコプランクトンが大量発生する長野野尻湖にて毎月一度、ピコ植物プランクトンの動態

ならびに生態系の他の構成要素との関係を把握するための調査を行っている。平成5年度は6月に最も多く増加し表層から10m層にかけて4-6×10⁵細胞/mlの濃度で集積していた。しかし、7-10月にかけて急激に減少し、11月に再び増加した（図8）。この変動パターンは平成4年度のものとはかなり異なっており、その原因として冷夏の影響、導水の影響等が考えられた。また、表層におけるピコ植物プランクトンに対する捕食圧は細菌類と比べて低い傾向が見られた。

タマミジンコのラン藻ピコプランクトンおよび緑藻ピコプランクトンの摂餌特性を調べたところ、双方のピコプランクトンを良く摂取するが、ラン藻に関しては成長は悪く、産仔もしなかった。これに対して緑藻では成長は良く産仔も確認できた。ラン藻ピコプランクトンは大

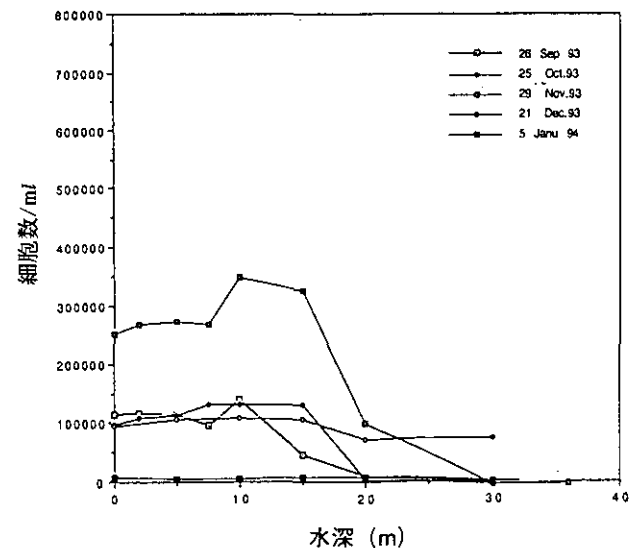
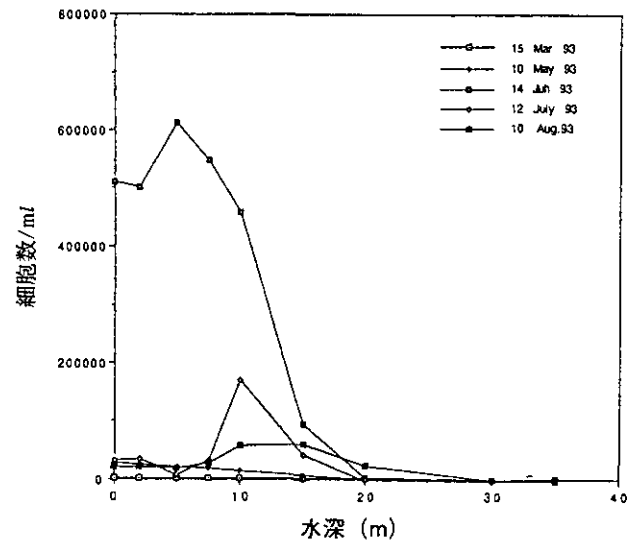


図8 野尻湖でのピコ植物プランクトンの現存量の垂直分布と季節の変動

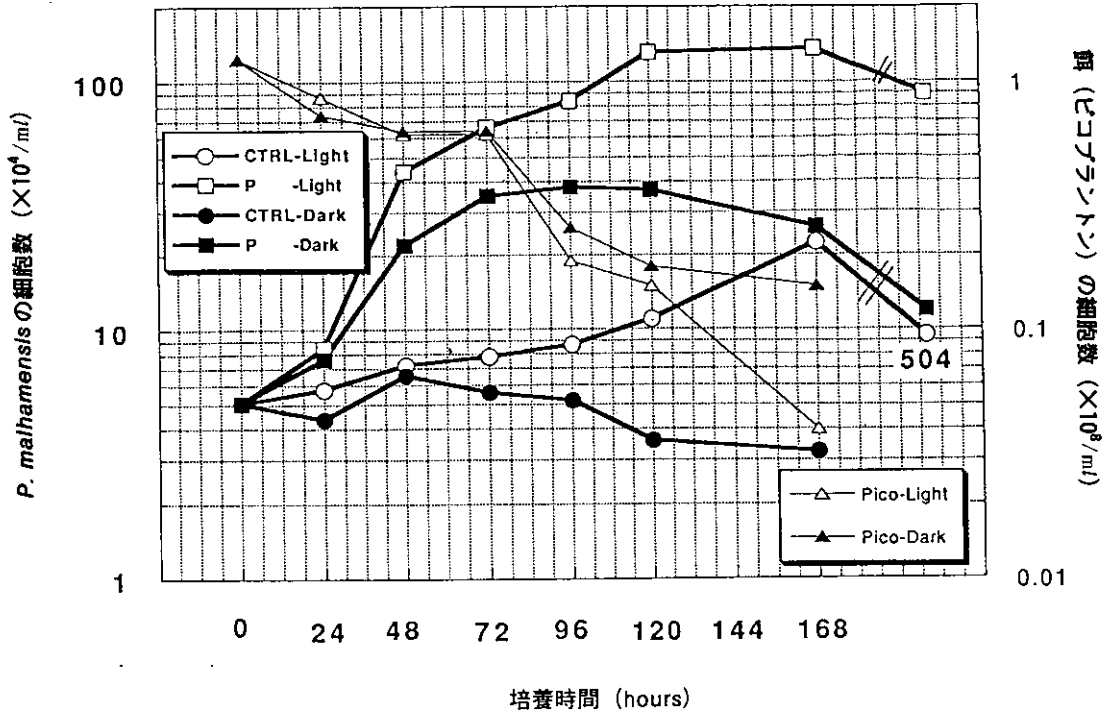


図9 黄金色藻類 *Poteroochromonas malhamensis* の独立栄養条件 (CTRL) 及び摂食栄養条件 (P; ピコ植物プランクトンを餌として与えた場合) における明期 (Light) 及び暗期 (Dark) での増殖。

ンクトンの重要な捕食者であることが分かってきた。野尻湖にも出現する *Poteroochromonas malhamensis* はラン藻ピコプラクトンを捕食し、増殖するが、独立栄養の場合よりも増殖は良いという結果を得た (図9)。黄金色藻類はペン毛装置構造で4つのグループに区別されるが、そのうちペン毛根ルート3が円形に発達しているグループAのみが捕食作用をもつことが明らかとなった (図10)。こうした情報をもとに、今後生物間の相互作用を明らかにする予定である。

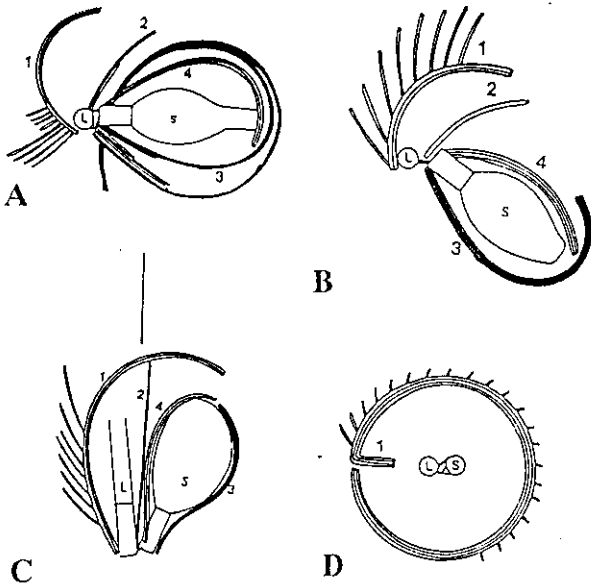


図10 黄金色藻類のペン毛装置構造

L; 長ペン毛, S; 短ペン毛, 1; ルート1, 2; ルート2, 3; ルート3, 4; ルート4

型の動物プランクトンには摂取されるものの、主食としての役割は果たさない。これに対して緑藻ピコプラクトンは主食として摂取されることが示唆された。

また、混合栄養を行う黄金色ペン毛藻はピコ植物プラ

2) ピコプラクトンの培養

緑藻ピコプラクトンは希釈法および抗生物質処理法にて無菌化することができたが、ラン藻ピコプラクトンはこれらの手法では無菌化はできず、アガロース包埋法にて無菌化することができた。このことにより、培養実験での解析の基礎が確立できた。

3) ピコプラクトンの毒性

ラン藻ピコプラクトン *Synechococcus* sp. が生産する有毒物質 thionsulfolipid の毒性発現に関与する部分を明らかにするため、thionsulfolipid を加水分解し、スホキノボス、パルトチオS-酸、パルミチン酸、スルホキノボ

シルグリセロール及び硫化水素に分け、コイ科のアカヒレを用いて魚毒性を指標に調べたところ、パルトチオS-酸と硫化水素が thionsulfolipid と同程度の毒性を示した。このことから、魚毒性の発現には有毒成分の部分構造であるアルキルチオO-酸エステル、あるいはその分解で生成するアルキルチオS-酸が関与していると考えられた。

また、他のラン藻ピコプランクトン *Synechocystis* sp. にも毒性があることが分かった。次に、ピコプランクトン抽出成分の毒性発現部位を明らかにするため、その成分を加水分解したものについて魚毒性を調べ、その原因物質を明らかにした。

2.7 都市型環境騒音・大気汚染による環境ストレスと健康影響 に関する環境保健研究

平成4～7年度（1992～1995年度）

〔研究組織〕

地域環境研究グループ

統括研究官

上席研究官

都市環境影響評価研究チーム

主任研究官

環境健康部

部長

環境疫学研究室

生体機能研究室

社会環境システム部

環境計画研究室

情報解析研究室

内藤正明

中杉修身

○兜 真徳・新田裕史・影山隆之・今井秀樹

松本幸雄

三浦 卓

小野雅司・田村憲治・本田 靖

小林隆弘・藤巻秀和

大井 紘・近藤美則

田村正行・須賀伸介

〔研究概要〕

大気汚染、騒音などの環境汚染状況は、超都市化の進行と相まって都市型汚染の傾向を強めており、環境保健領域の研究として、そこでの居住に伴う環境ストレスあるいは健康影響・リスクの評価・管理システムを体系化していく作業が重要となっている。その対象として、とくに主要幹線道路沿道における大気汚染と騒音の複合汚染状況とその影響はなお最も憂慮されるものの1つである。また、これら都市交通に由来する環境汚染による環境ストレスや健康影響については、さらに都市活動のあり方を含めリスク・マネジメントの視点から体系的に整理・検討し、今後の都市の環境政策における基本的指針とすることも重要な課題であると考えられる。

本特別研究は、上記目的を遂行するため、以下の4つの小課題・内容から構成されている。

(1) 都市環境の“反アメニティ要因”としての騒音によるストレスの規定要因に関する心理・生理学的実験研究

1) 都市環境騒音の“不快さ”とその規定要因に関する実験研究

都市の生活環境中の各種音を録音・採取し、音の快・不快に関する心理・生理学的実験を行う。主観的に快適と感じられる音による生理反応については、暴露時の主

観的ストレスとの関連も調べ、ストレス評価法としての可能性を検討する。なお、騒音評価の視点から、主観的な快・不快にかかわる音の物理的特性についても分析・検討する。

2) ストレスの生物学的評価法の実験ならびに調査研究

ストレスの生物学的評価法としては、未だ確立された適切な方法がない。本研究では、尿中・血中のホルモン、カテコールアミンを用いた内分泌学的測定法、また、脳波、指尖脈波、心電図などを用いた電気生理学的測定法につき必要な諸検討を行い、また主観的ストレス指標、ストレス関連性格、その他健康調査法などの指標とともに、総合的に評価指標を最適化し、実験のみならず一般住民調査においても利用可能な方法を確立する。

(2) 都市型大気汚染状況と呼吸器系アレルギー疾患の関連性に関する疫学的研究

動物実験結果から示唆されているスギ花粉症の発症・増悪に大気汚染（とくにディーゼル排ガス）が関与している可能性を検討するために、大気汚染レベルとスギ花粉飛散状況の異なる数地域において、住民健診の受診者を対象に、新たに作成したスギ花粉症質問票と血清検査を組み合わせた手法による有病率調査を行い、質問票の

みによる花粉症把握の妥当性・信頼性について疫学的な検討を行う。また、スギ花粉飛散時期のスギ花粉への暴露状況を把握するために、スギ花粉飛散数観測点のデータと対象世帯の屋内・屋外のスギ花粉数、個人暴露数および屋内粉じん中スギアレルゲン量測定を実施する。

(3) 都市環境の“反アメニティ要因”としての複合的環境ストレス状況評価のための調査研究

大気汚染と騒音の複合影響が予想される地域の選定を行い、それら複合影響の調査内容や方法についての予備的検討を行う他、調査内容に(1)のストレス評価法に関する成果を盛り込み、体系化を図る。

(4) 総合評価

小課題(1)～(3)の成果を集約し、都市型騒音と大気汚染の複合的汚染にかかわる道路沿道地域におけるストレスあるいは健康影響・リスクの総合的評価にかかわる基本的情報を整理する。

〔研究成果〕

(1) 都市環境の“反アメニティ要因”としての騒音によるストレスの規定要因に関する心理・生理学的実験研究

1) 都市環境の“不快さ”とその規定要因に関する実験研究

平成4年度に行った心理実験(男女学生90名を対象として幹線道路周辺で採録した自動車騒音を実験室で呈示)の結果を整理検討した。音レベル上昇に伴う不快感の増大に比較した場合、周波数特性や共存する他の環境音の影響は大きくないこと、パーソナリティ特性による不快感の差は大きくないこと、風景映像を同時に呈示すると騒音による不快感が低減する傾向があること、などが示されている。

2) ストレスの生物学的評価法に関する実験的研究

音刺激に対する指尖容積脈波反応(血管収縮に伴う一過性の血流減少)により示される交感神経系活動と、心拍間隔変動のスペクトル成分(交感神経系活動に対応するMayer-Wave性洞性不整脈成分CCV_{MWSA}と、心臓迷走神経系活動に対応する呼吸性洞性不整脈成分CCV_{RSA})を指標とした自律神経活動との関連、これらの指標の呼吸速度・食事・精神作業負荷などによる変動、およびこれ

らの指標と尿中カテコールアミン排せつ速度との関連などについて、基礎的検討を行った。その結果、

①CCV_{MWSA}とCCV_{RSA}について、測定条件(呼吸速度、食事、運動)の影響についての基礎実験を行い、CCV_{RSA}値は呼吸速度によって変動するが、体位別には呼吸速度との間に直線的関係があること、また、食後90分間は食事の影響がみられること、さらに運動後の心拍亢進状況下ではこれら自律神経系活動指標も変動していることを確認した。

②健康者および不安神経症患者(騒音に対して高感受性と考えられる)についての実験から、安静時CCV_{MWSA}と音刺激に対する脈波反応からみた交感神経系反応性とがよく相関することが示された。

③健康者について日中の尿中カテコールアミン排せつ速度とCCV_{MWSA}の個人内・間変動を検討したところ、両者とも個人内よりも個人間変動が大きく、個人間では有意な相関を示した。②③より、上記諸指標についての方法論的な妥当性が確認された。

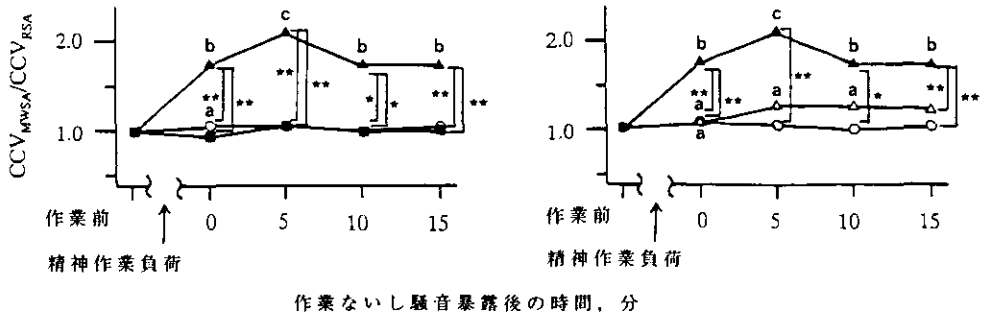
④複合的ストレス評価の可能性に関する予備的知見として、精神作業ストレスによる交感神経系活動亢進状態の回復過程が、作業後の騒音暴露(60～70dB(A)の道路交通騒音、しかし騒音単独で暴露しても自律神経系への影響はみられない)により大きく阻害されること(図1)、騒音の代わりに市販の「快適音楽」を同レベルで暴露すると結果は全く異なること、などが示された。

(2) 都市型大気汚染状況と呼吸器系アレルギー疾患の関連性に関する疫学的研究

1) 質問票の妥当性の検討およびIgE抗体保有状況調査

本研究で用いるために新たに作成したスギ花粉症質問票の妥当性の検討とスギ花粉特異的IgE抗体陽性者の性・年齢分布を検討するために、平成4年度に引き続いて本年度も、茨城県の2市(北部A市および南西部B市)の住民健診の受診者を対象に、質問票と血清検査を組み合わせ合わせた手法による有病率調査を実施した。アレルギー症状に関する質問は、厚生省研究班が示したスギ花粉症有病率調査のための診断基準のうちの症状項目に関する基準を満たすように構成したものである。血清中非特異的IgE抗体価(総IgE)と血清中スギ花粉特異IgE抗体価(スギIgE)はCAP RAST FEIA法により測定した。

スギIgE抗体が陽性(CAP RASTスコア2以上)で



実験条件： ○ = 精神作業後に静穏下で休息。
 ■ = 精神作業なしでただちに騒音(70dB(A))暴露。
 ▲ = 精神作業後に騒音(70dB(A))暴露。
 △ = 精神作業後に騒音(60dB(A))暴露。

自律神経指標： CCV_{MWSA} = Mayer-wave 成分変動係数(%).
 CCV_{RSA} = 呼吸性洞性不整脈成分変動係数(%).
 ただし両者の比(交感神経系活動性の指標)を、実験前値を基準 (= 1) とした相対値として表している。

実験前値との比較： a, p<0.05; b, p<0.01; c, p<0.001.
 実験条件間の比較： †, p<0.05; ††, p<0.01.

図1 交感神経系活動性に対する精神作業と騒音の複合負荷の影響

かつ典型症状を持つ者をスギ花粉症確定群と考え、スギ花粉抗体陽性者の中で典型症状を示していない者の割合は約3分の2であった。一方、スギ花粉症の典型症状を示している者の中に一部スギIgE抗体が陰性であるものも含まれていた。しかしながら、この割合は少なく、2年度・2地域のデータを総合すると質問票調査によって典型症状を持つと判断された者の中でスギ花粉症確定群の割合は83%であった(表1)。症状の保有状況別に総IgE値とスギIgE値の相関図(両対数)を図2に示した。対数値の相関係数は典型症状群で0.526、非典型症状群で0.473、症状なし群で0.375であった。スギIgE値に対する総IgE値の回帰係数は典型症状群で最も大きく、次いで非典型症状群、症状なし群の順であった。また、典型症状群はおおむね相関図の上部にプロットされており、すなわちスギIgE値と総IgE値の比が他の群よりも大きい傾向にあった。非典型症状群は典型症状群と症状なし群のほぼ中間に位置していた。表1を症状の類型別にみても、症状なし群、非典型症状群、典型症状群の順にスギIgE抗体陽性率が高くなっており、質問票から得られた症状と陽性率の対応関係が示されていた。

2) スギ花粉症有病率の断面調査

平成4年度に東京都C区で500名を対象に予備調査を実施し、調査実施上の問題点を探るとともに、有症率の性・

年齢分布を検討したが、本年度はその結果を踏まえて、茨城県A市、茨城県B市、東京都C区、神奈川県D区、神奈川県E区の5地域で、スギ花粉症有病率の断面調査を実施した。各地域の大気汚染測定局あるいはスギ花粉測定点の周辺住民(20歳以上60歳未満の男女)各1000名を住民基本台帳から単純無作為抽出した。各地域のスギ花粉飛散状況は茨城県A市とB市が最も多く、ついで神奈川県E区、東京都C区、神奈川県D区の順であった。一方、大気汚染レベルは東京都C区と神奈川県D区が最も高く、次いで神奈川県E区と茨城県B市で、茨城県A市が最も低レベルであった。質問票調査はスギ花粉飛散の季節を終えた7月に、郵送法により実施した。質問票(資料)で、「鼻症状(くしゃみ、鼻水、鼻づまりのうち2つ以上)と眼(かゆみなど)の症状がかぜをひいていないのに、毎年のように繰り返して、早春に起きる。」場合を典型症状が「あり」とし、「鼻症状(くしゃみ、鼻水、鼻づまり)のうち2つが欠けたり、眼症状だけが毎年早春に繰り返して起きるか、もしくは症状がそろっていても早春だけに起こることもない。」場合を非典型症状が「あり」とした。その他、症状が全くないものや上記に該当しないものは症状「なし」とした。症状の有無と各種要因との関係については、多重ロジスティックモデルにより解析を行った。各地域の累積スギ花粉飛散数については自治体の観測データに基づいて算出した。ただし、

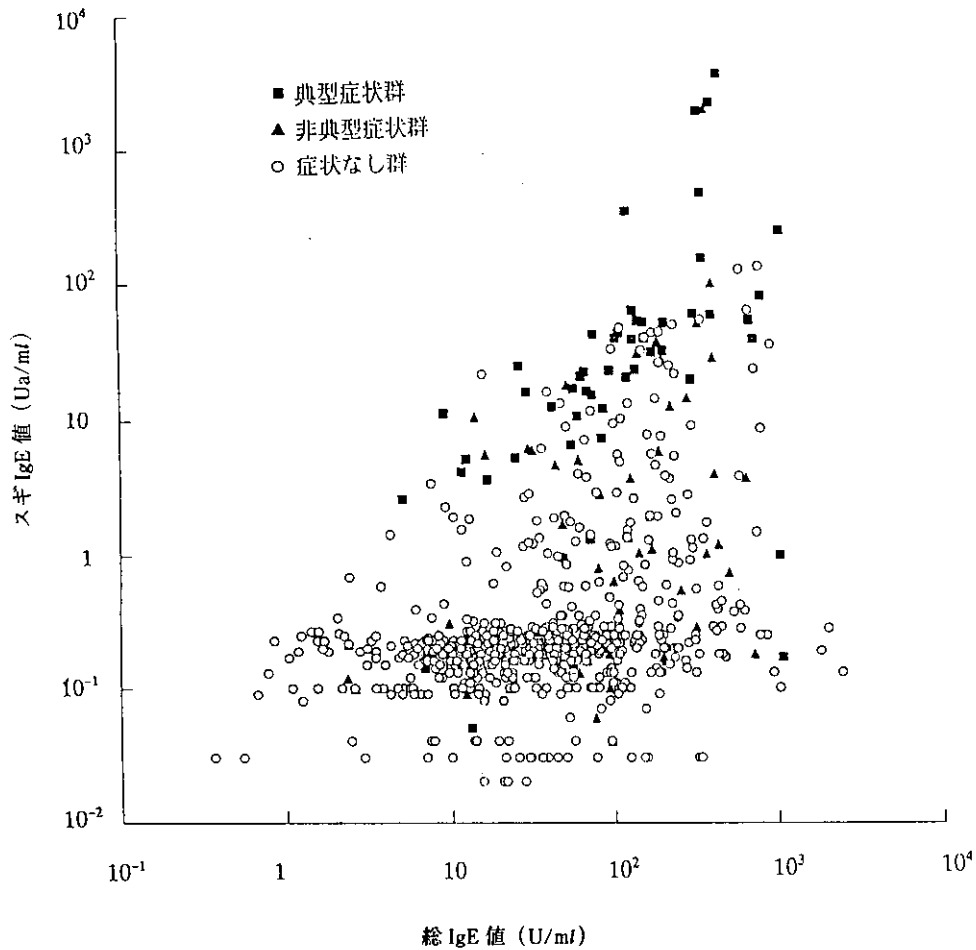


図2 総IgE値とスギIgE値との相関図

表1 スギ花粉抗体価と症状の関係(2地域・2年度合計)

		症状		
		なし・不明確	非典型	典型
スギ花粉 特異IgE抗体	陰性	814 (77.2)	61 (55.0)	17 (14.7)
	偽陽性	61 (5.8)	3 (2.7)	3 (2.6)
	陽性	179 (17.0)	47 (42.3)	96 (82.8)

実数(%)

茨城県A市には過去のデータがなかったため、平成5年度のデータに基づいて、他の観測点での飛散数との比より推定した。

回収率は全体で57%、地域別には茨城県A市が64%で最も高く、東京都C区が51%で最も低かった。表2に調査票が回収された者(以下、解析対象者とする)の属性を地域別に示した。性別には女性の方がやや多い傾向が

みられたが、地域別には大きな差はなかった。年齢分布は地域によってやや異なり、茨城県B市と神奈川県D区は40歳台、50歳台が多く、神奈川県E区では20歳台が多くなっていた。アレルギー疾患の既往歴についてみると、本人については神奈川県E区が高い傾向がみられるが、家族の既往歴については本人の既往歴ほど地域差は大きくなかった。現住所での居住年数は神奈川県E区が他の地域よりも短い傾向がみられた。

5地域全体の粗有症率(典型症状群のみ)は20.7%、年齢別では30歳台が29%で最も高く、20歳台と40歳台は21%、50歳台は14%であった。各地域の粗有症率は茨城県A市24.4%、茨城県B市19.9%、東京都C区17.8%、神奈川県D区19.1%、神奈川県E区21.7%で、スギ花粉飛散数が多いと考えられる茨城県A市が最も高かった(図3)。性別地域別に年齢別有症率をみると、全体としては30歳台にピークがあるのに対して、茨城県A市とB市の男では20歳台で高くなっていた。このため、有症率

表2 ズギ花粉症有症率調査の解析対象者の基本属性分布 (%)

	茨城県 A 市	茨城県 B 市	東京都 C 区	神奈川県 D 区	神奈川県 E 区
回収率	64.0	60.3	50.6	55.0	54.9
性別					
男	47.8	44.4	45.6	49.3	47.2
女	52.2	55.6	54.4	50.7	52.8
年齢					
20歳台	19.0	20.4	21.0	20.5	29.1
30歳台	24.6	17.9	24.0	21.9	24.2
40歳台	30.9	28.7	29.6	26.7	23.8
50歳台	25.5	33.0	25.5	30.9	23.0
アレルギー疾患既往歴					
本人	35.2	29.9	32.2	34.0	42.1
父	20.5	20.2	21.7	22.6	22.2
母	18.6	17.6	21.0	19.3	24.6
兄弟	30.5	27.0	33.2	31.3	35.2
住居年数 (現住所)					
3年未満	15.5	10.7	13.5	12.6	28.9
3~10年	29.0	13.9	26.6	24.0	26.8
10~20年	28.1	30.8	28.4	20.1	25.4
20年以上	27.4	44.6	31.6	43.3	18.9

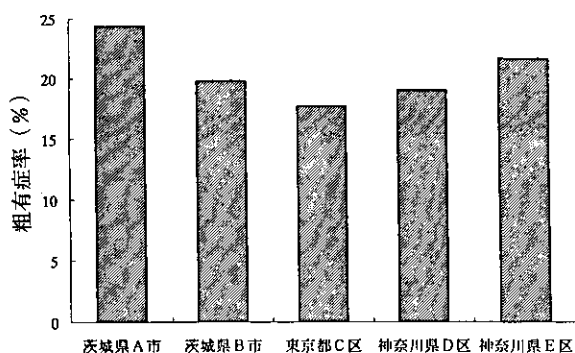


図3 地域別ズギ花粉症粗有症率

の地域差は20歳台で大きくなる傾向を示した。アレルギー疾患の家族歴との関係を見ると、父親が既往ありの場合の有症率は26.5%で、父親の既往がない場合の18.8%を上回っていた。母親のアレルギー疾患の有無別有症率についてもそれぞれ、28.6%、18.2%であり、既往がある場合の有症率が高かった。その他、職業の種類や就業形態、居住年数の違いによる有症率の差はみられなかった。

有症率と最も関連性が大きかった年齢で調整した有症率は茨城県 A 市25.3%、茨城県 B 市23.1%、東京都 C 区18.2%、神奈川県 D 区19.3%、神奈川県 E 区21.7%であり、ズギ花粉飛散数が多い地域ほど年齢調整有症率が高い傾向がみられた (傾向性に関する拡張マンテル検定 $p=0.053$)。次に、

地域、性、年齢、父親のアレルギー疾患既往、母親のアレルギー疾患既往を説明変数とした多重ロジスティックモデルによる解析から推定した各地域のオッズ比 (茨城県 B 市を 1 とした場合) と累積ズギ花粉飛散数 (昭和63年から平成3年までの累積) の関係を図4に示した。各要因の影響を除いた場合においても、ズギ花粉飛散数と有症率との関連性が認められた。多重ロジスティックモ

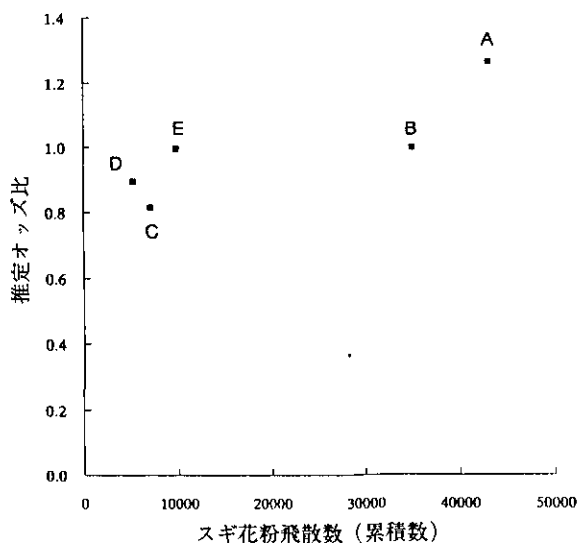


図4 性・年齢・両親のアレルギー疾患既往歴で調整した各地域の推定オッズ比 (B 地区を 1 とした場合) と累積ズギ花粉飛散数との関係

デルに近接の気象測定局のSPM濃度を加えた場合、SPM濃度に対する係数は統計的に有意ではなかった。

3) スギ花粉への暴露状況調査

調査①スギ花粉飛散時期のスギ花粉への暴露状況を把握するために東京および筑波在住者それぞれ4名を対象として、対象世帯の屋内・屋外のスギ花粉数、個人暴露数および屋内粉じん中スギアレルゲン量測定を実施した。屋内・屋外のスギ花粉数および個人暴露数は小型の花粉個人サンプラーを新たに考案して用いた。このサンプラーは、50mm×35mm×7mmのバジ型プラスチックケースの底面にワセリンを塗布した長さ40mmのメリネックステープを貼り、前面を目開き4mmのナイロンメッシュで覆ったものである。これを胸に付けて暴露し、回収後、テープ面に付着したスギ花粉数を計測してスギ花粉個人暴露数とした。屋内粉じん中スギアレルゲン(Cry j I)はエアサンプラーで屋内空気を吸引し、フィルター上に捕集した粉じんからアレルゲンを抽出し、サンドイッチELISA法により定量した。

調査②東京都板橋区在住の10名および山形市ないしその周辺部在住の16名を対象として、東京地区はスギ花粉飛散シーズン中の1週間、山形地区では2週間個人サンプラーを用いて、スギ花粉個人暴露数を測定した。また、ダーラム式花粉捕集器を用いた屋外の観測値との比較を行った。

調査①の結果では、スギ飛散数(ダーラム式)は第1週と第2週が多く、第3週と第4週は少なかったが、その傾向は各世帯の屋内スギ花粉数にも反映されていた。また、屋内粉じん中スギ花粉アレルゲン量についても同様の変動傾向を示していた。スギ花粉個人暴露数については変動傾向は必ずしも明確ではなかった。総スギ花粉飛散数は筑波が東京の約2~3倍程度になっていたが、屋内スギ花粉数およびスギ花粉抗原量についても筑波での測定値が高くなっていた。

調査②の東京地区の対象者はすべて主婦であり、山形地区の対象者は主として自治体等の職員で、その中には外勤職員も含まれていた。東京地区の対象者のスギ花粉暴露数は数個から10数個/cm²/dayであり、対象者間の違いはそれほど大きくはなかった。山形地区では外勤職員を除けば、東京地区のほぼ同程度の暴露数であった。外勤職員では外勤日の暴露数が非常に多く、数百個/cm²/dayに達している場合もあった。ダーラム式捕集器によるス

ギ花粉飛散数とスギ花粉個人暴露数の日間変動の傾向をみると、個人暴露レベルの中央値とスギ花粉飛散数(ダーラム式)の関係は必ずしも明確ではないが、75パーセントイルとスギ花粉飛散数は対応しており、スギ花粉飛散数が多い日には高レベルに暴露する人の割合が増えていた(図5)。

スギ花粉症の診断は問診とアレルギー検査に基づくものであるが、新たに作成した質問票を用いた自己記入式の調査によって、ある一定の精度をもってスギ花粉症の有症状況を把握できるものと考えられた。

スギ花粉症有症率は従来から指摘されているように若年層で高く、年齢による違いが最も大きかった。年齢による有症率の違いを調整したスギ花粉症有症率の地域差はスギ花粉飛散数に対応しており、大気汚染レベルとの対応関係は認められなかった。ただし、有症率の年齢別パターンに地域による違いがみられたことは症状出現にかかわる要因に違いがあることを示唆するものとも考えられる。全体的には、30歳台にピークがあったのに対して、茨城県A市では20歳台が最も高く、年齢とともに低下する傾向はスギ花粉特異IgE抗体陽性率の年齢分布においても同様にみられており、症状の出現だけではなく、感作における傾向を反映している可能性がある。

スギ花粉への暴露状況に関する調査結果をみると、これまで全国各地で実施されているダーラム式花粉捕集器によるスギ花粉飛散数の観測値と、個人個人のスギ花粉への暴露レベルとは相対的には関連性を示していた。一方、同一地域の居住者であってもスギ花粉と大気汚染物質への暴露には違いがあり、地域集団の平均暴露レベルと同時に同一地域集団内での違いも評価する必要がある。また、現住所での居住年数とスギ花粉の有症率との関連性はみられなかったものの、過去の暴露レベルにさかのぼって評価することが必要である。

(3) 都市環境の“反アメニティ要因”としての複合的環境ストレス状況評価のための調査研究

1) 職業・通勤環境等を考慮したストレス評価に係わる調査研究

東京都心部の一企業の従業員75名(若年~中高年ホワイトカラー男子)を対象に、血圧測定、身体測定、採血による生化学的検査(免疫・内分泌機能検査を含む)、睡眠時尿中カテコールアミン排せつ速度測定、生活時間・通勤ストレス・職場ストレス等に関する問診などを行っ

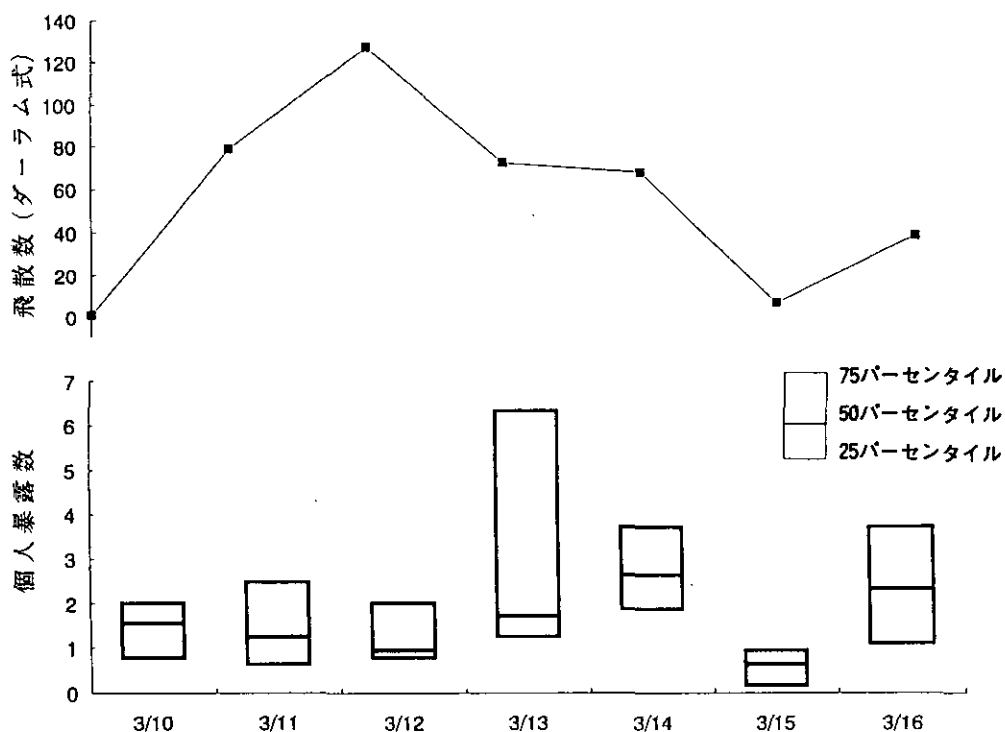


図5 スギ花粉個人暴露数の分布とダーラム式スギ花粉補集器による飛散数の日間変動（東京）

た。これまでの報告と同様、心拍間隔変動から評価した心臓迷走神経系機能 (CCV_{RSA}) が加齢・肥満によって有意に、また喫煙によってやや低下することが示された。また、心拍間隔変動から評価した交感神経系活動性 (CCV_{MWSA}) が、睡眠時尿中カテコールアミン排泄速度と有意に相関することも示された。職場環境、パーソナリティなどとの関連について引き続き検討中である。

2) 不眠症の疫学と環境騒音性不眠に関する調査研究

不眠症の発生には夜間の騒音以外の種々の要因の関与が示唆されていることから、可能性のある諸要因の影響を総合的に評価すること、また不眠症の発生との関連で最適な騒音評価指標を検討するために、不眠症の疫学調査を実施した。騒音・振動・大気汚染の複合影響が推定される東京都の環七・中山道交差点付近の地域住民1,245名 (33~62歳女性, 3年前に行った大気汚染と自覚症状についての調査と同じ対象者) を道路と住居の距離に応じて層別無作為抽出し、騒音と睡眠に関する質問紙調査を郵送法で実施した (有効回答率57.7%, N=716)。なお、不眠症の評価基準については、厚生省で進行中の調査研究との整合性を考慮しつつ、国際的診断基準にできるだけ近づけた。

全体での粗有症率は7%弱であったが (表3), その約3分の1は「不眠の一因として屋外の騒音がある」と回答し、実際、前記幹線道路の沿道住民では有症率が高い傾向が認められた (図6)。ただし、不眠症発症の原因ないし修飾要因と考えられている要因により対象者を層別した場合、階層によって上記傾向が異なる場合があり、騒音に対する高 (低) 感受性群の存在も示唆された。いずれにせよ、不眠症の疫学という観点からみた場合、治療中の病気やミオクロヌス様症状などに関連した不眠症と並んで、高騒音レベル地域における環境騒音性不眠症の存在が強く示唆された。

表3 「不眠症」の粗有症率 (n=716)

	有症数 (%)
入眠困難	36 (5.0)
中途覚醒	26 (3.5)
早朝覚醒	11 (1.5)
熟眠困難	26 (3.6)
「不眠症」*	48 (6.7)

*入眠困難・中途覚醒・早朝覚醒・熟眠困難のうち1つ以上がある場合

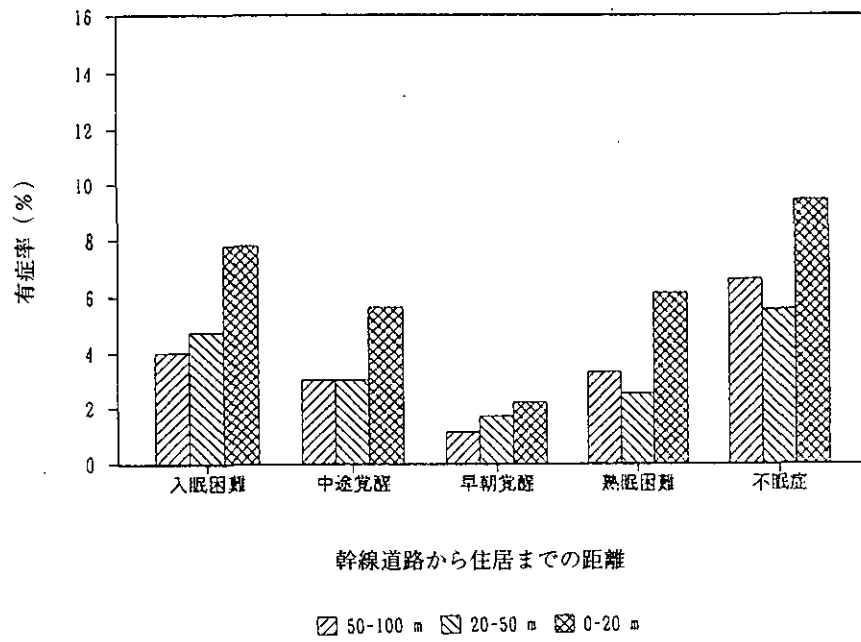


図6 幹線道路からの距離別の不眠症有症率

2.8 環境負荷の構造変化から見た都市の大気と水質問題の把握と その対応策に関する研究（初年度）

平成5～8年度（1993～1996年度）

〔研究組織〕

地域環境研究グループ

統括研究官

都市大気保全研究チーム

交通公害防止研究チーム

水改善手法研究チーム

湖沼保全研究チーム

海域保全研究チーム

主任研究官

大気圏環境部

大気物理研究室

高層大気研究室

水圏環境部

上席研究官

客員研究員 26名，共同研究員 7名

内藤正明

○若松伸司・上原 清

清水 浩・森口祐一

稲森悠平・高木博夫・水落元之

福島武彦・松重一夫

竹下俊二

松本幸雄

鶴野伊津志

杉本伸夫・松井一郎

相崎守弘

〔研究概要〕

都市機能の一極集中や地価の高騰などによる都市の社会、経済的变化や物理的变化は、産業構造や都市構造の変化に大きな影響を及ぼしている。例えば、都心におけるサービス産業を中心とした第3次産業の増加や都市への過度の人口集中による高人口密度地域の都市周辺部へのスプロール化、交通、物流の都市域内密度の増大等が顕在化している。一方都市住民のライフスタイルや生活の質および生活パターンは快適性の志向により増々エネルギー多消費型になりつつある。このような都市構造変化、生活様式の変化は環境負荷の構造を大きく変えている。例えば都市域のスプロール化は通勤距離を増大させ、このことにより自動車交通量の増加や交通渋滞が発生している。また都市に向けての物流の増加は自動車の車種変化をもたらし、大型ディーゼル貨物車の混入率の増加とこれによる窒素酸化物汚染、粒子状物質汚染が大きな社会問題となっている。このように大気汚染、騒音の問題はさらに深刻になっている。生活様式の変化や多様化は排水や廃棄物の質や量を大きく変化させており、都心部における第3次産業レストラン等の高濃度油分含有排水や、都市周辺地域における小規模未規制排水による表流水系の汚染が大きな問題となりつつある。都市域の拡

大やエネルギー消費の増大は都市気候にも影響を及ぼし、ヒートアイランド等の問題が生じている。

環境負荷の構造変化に伴う地域の環境要因の悪化を早急に食い止め、改善に向かわせることが急務である。原因等が複雑化している都市環境問題を解決して行くためには、発生源の個別的な対策のみならず地域問題として総合的な対策を講じる必要がある。そのためには都市環境問題の現状を様々な面から定量的に正確に把握し現状改善等を見だしていくための科学的知見の蓄積が必要である。

本研究においては、このような観点から環境負荷の構造変化が都市環境に及ぼす影響の把握とその対応策に関する研究を行う。具体的には首都圏を中心とする都市域における環境負荷の構造変化の実態解明並びに環境要因の中でも特に緊急の対策を必要とする大気問題、水質問題の改善に関する研究を行い、交通問題、都市大気環境問題、都市域の未規制排水問題に対する新たな対応策とその評価を明らかにすることにより、都市の大気問題と水質問題に対する行政施策に有用な知見を提供することを目的とする。以上の目的のもとに本研究では環境負荷の構造変化から見た都市の大気問題と水質問題を把握し、その対応策と対策効果の評価を行うために、以下の4つ

の課題に沿って研究を行うことになっている。

(1) 環境負荷の構造変化の要因の同定とそれに伴う都市の大気と水質問題の実態解明に関する研究

1) 都市域における大気、騒音と水質問題の経年変化に関する解析

都市域のエネルギー消費や交通流、物流、廃水、廃棄物等の質的、量的な変化が大気、騒音、水質、並びに都市気候変化に及ぼす影響を国際比較をも含めて明らかにする。

2) 都市域における大気、騒音と水質問題の地域分布に関する解析

都市域の物理、化学、生物学的特徴を間接的または直接的な方法を用いて解明する。具体的には衛星画像データ等を用いて都市及びその周辺地域の物理的、生物学的特徴を解析するとともに航空機等を用いた観測を実施して大気質、水質並びに気候等の地域分布を明らかにする。また特定の地域及び施設等についての環境調査も合わせて実施し人為起源、自然起源の環境負荷寄与率を明らかにするとともに、局所的な高濃度大気汚染、騒音、表流水汚染等の動態を把握する。

(2) 環境負荷の構造変化に伴う都市の大気問題と水質問題の予測に関する研究

1) 都市の大気問題の予測に関する研究

統計解析データや、フィールド観測データ、実験室データ等を用いて都市の大気拡散、大気汚染、騒音、都市気候の予測を行う。予測に当たっては大型拡散風洞、騒音実験施設、スーパーコンピューター、並びに大型計算機を用いる。

2) 都市の水質問題の予測に関する研究

統計解析データや、観測データ、実験室データ等を用いて都市の水質の予測を行う。予測に当たっては水生生物実験施設、臨湖実験施設を用いる。

(3) 都市の大気問題と水質問題への新たな対応策に関する研究

1) 都市の大気問題への新たな対応策に関する研究

沿道大気汚染、交通騒音等の予測・評価結果並びに他の環境問題に関しての評価等に基づいて望ましい実現可

能な対応策を検討する。具体的には局所交通流対策、モーダルシフト、地下物流システム、高速輸送機関の建設による対策等を提案する。

2) 都市の水質問題への新たな対応策に関する研究

表流水汚染の予測・評価結果並びに他の要因に関しての評価等に基づいて望ましい実現可能な対応策を検討する。具体的には地域特性及び排水特性に応じた小規模排水処理方法を検討し、小規模未規制排水の有機物、窒素、リンの同時除去システム、等を提案する。さらにはこれらのシステムの都市及び周辺地域への適正立地評価手法の開発を行う。

(4) 都市大気環境の対策の評価および都市水質汚濁負荷の削減効果の評価に関する研究

1) 都市大気環境の対策の評価に関する研究

交通問題および都市大気環境問題に対する対応策の対策効果の評価に関する研究を行い、各種のシナリオを提案する。

2) 都市水質汚濁負荷の対策の評価に関する研究

都市域の未規制排水対策による水質汚濁負荷の削減効果の評価を行い、各種のシナリオを提案する。

本年度はこの研究課題を図1に示したフローチャートに従ってとり行った。本年度に重点的に実施した研究概要と研究成果、並びに今後の展望を以下に示す。

〔研究成果〕

本年度は本特研の初年度であった。研究は都市の大気問題と水質問題それぞれに対して並列的に実施したため以下2つに分けて示す。

(1) 環境負荷の構造変化から見た都市の大気問題の把握とその対応策に関する研究

1) 都市域における大気環境質変化の研究

環境負荷の構造変化が都市の大気環境質の変化に及ぼす影響を明らかにするために大気汚染常時監視データを用いて東京首都圏地域と関西地域における過去15年間にわたっての大気汚染物質濃度の経年変化、地域分布変化を解析した。研究の結果①NO₂高濃度汚染出現地域(年平均値0.06ppm以上)が大都市周辺地域にまで拡大してきていること、②光化学大気汚染高濃度出現地域が都心地

(現象の時間・空間変化の把握) (予測モデル) (対応策) (評価と将来計画)

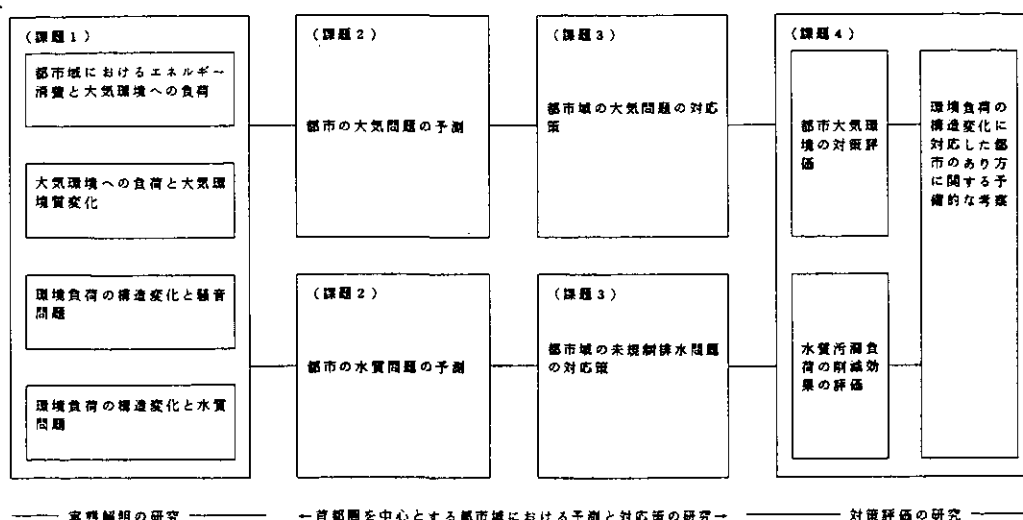


図1 環境負荷の構造変化から見た都市の大気と水質問題の把握とその対応策に関する研究の全体構成

域から都市周辺地域に移動していること、③大気汚染質の組成を示す指標として重要な NMHC/NO_x 比が ppmC/ppb の単位で最近10以下に減少していること等が両地域において共通して明らかになった。

2) 都市大気汚染挙動の変化に関する研究

三次元モデルを用いて東京首都圏地域における大気汚染物質発生源変化と環境濃度との関連性を予測計算し、光化学大気汚染の出現機構の変化を解析した。研究の結果 NO_x 発生量の増加が光化学オゾン生成ポテンシャルを高め NMHC/NO_x の比率の低下が、高濃度オゾン出現時刻を遅らせるため光化学大気汚染出現地域が都心地域から都市周辺地域に移動することが定量的に初めて明らかにされた。

3) 春季高濃度大気汚染生成機構に関する研究

関西地域においては春季に NO₂ を中心とした高濃度大気汚染が出現するがその生成機構は明らかにされていない。また春季においては道路近傍においても高濃度 NO₂ 汚染が出現するため広域大気汚染と局地大気汚染を統一的に評価、解析するためのモデルフレームを確立することが大きな課題となっている。平成5年度においてはこれらのことを明らかにするために関西地域をフィールドとして航空機、レーザーレーダー、低層ゾンデ、パイロットバルーン並びに自動ガスクロ等の機器を用いての大気汚染と気象の総合観測を実施した。平成5年4月のフィー

ルド観測では高濃度の光化学オゾンが上空2,400m まで観測された。この光化学二次生成物質が関西地域における春季の NO₂ 濃度の上昇に大きな役割を果たしていることが、今回の研究により初めて具体的に明らかにされた。この観測を実施するに当たって大気拡散に大きな影響を及ぼす混合層の日変化を連続的に観測しその動態を把握することができるレーザーレーダーシステムを完成させた。

4) 沿道大気汚染生成機構に関する研究

沿道およびその周辺地域において、NO が NO₂ に変化して行く様子をフィールド観測により明らかにした。またストリートキャニオン内部での濃度分布をフィルター法により求め、さらに濃度分布の状況を風洞を用いて再現しモデル評価のための基礎的データを収集、解析した。フィールド観測は「関西地域における春季高濃度大気汚染生成機構調査」の一環として兵庫県西宮市において実施した。観測に当たっては西宮市内の国道2号沿道、国道43号沿道および大阪湾岸にある一般環境大気測定局(一般局)2ヶ所および自動車排出ガス測定局(自排局)2ヶ所にオゾン計を設置し、NO_x、NO₂、O₃ の濃度変動の相互関係を調査した。図2に示すように、高濃度日には、NO₂ と O₃ の合計 (PO:ポテンシャルオゾン) のピークは約160ppb に達した。PO 濃度の時刻変化は、4測定局ではほぼ一致し、また、航空機観測による上空300m の PO もほぼ同レベルであった。自排局の NO₂ 濃度とこれに対

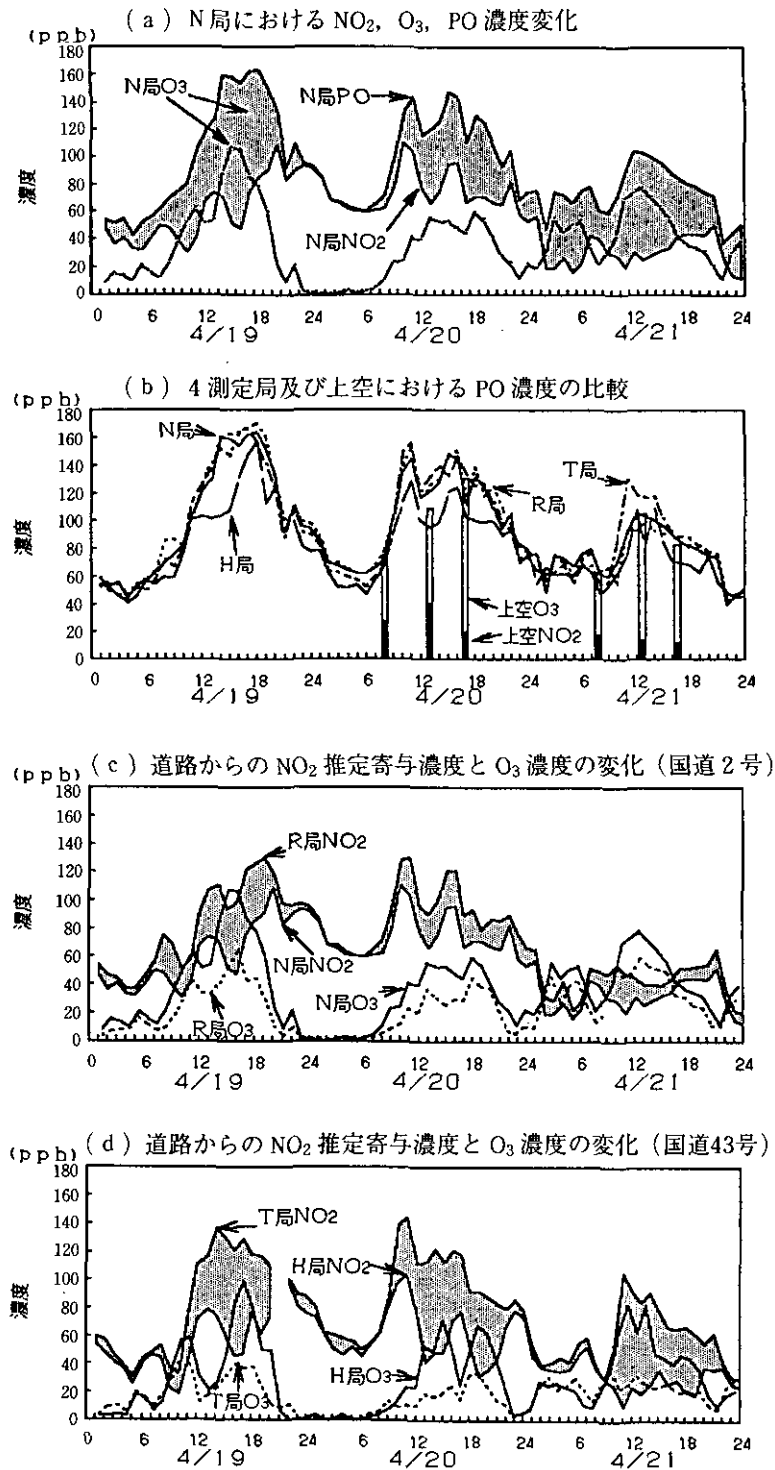


図 2

応するバックグラウンドと考えた一般局の濃度差のピークは、国道2号で50ppb、国道43号で約90ppbに達した。この大半は、自動車から排出されたNOと大気中のO₃の沿道での反応による生成成分であり、反応による生成成分の沿道NO₂濃度に対する寄与はピークでは50%を超えることが明らかとなった。また、同時期に国道2号沿道にお

いて、PTIO法ディフュージョンサンプラーを用い、NO₂及びNO_xの1日平均値及び昼間の8時間値を測定し、濃度の時間・空間変動を調査した。道路から離れた地点におけるNO_xおよびNO₂濃度は、一般局で観測された濃度とほぼ一致し、道路に近い地点では、自動車排気ガスの直接寄与と見られる濃度変動が観測された。道路からの

距離による濃度の差異は、NO_xでは一般局濃度の数倍に達したのに対し、NO₂では一般局濃度の数+%にとどまっております。従来、他の沿道地区で行った観測結果と同様の傾向を示した。さらに、PIXE法により同時期に採取した浮遊粒子状物質の元素組成分析調査を共同研究として実施し、沿道大気汚染に対する各発生源の寄与を推定する基礎資料を得た。

5) 都市圏レベルの交通公害対策効果予測シミュレーションシステムの開発に関する研究
交通公害特研で開発に着手した「広域交通公害シミュ

レーションシステム (RTPSS)」の機能改良を行った。RTPSSは、交通量予測モデルと大気汚染予測モデルを連結して、道路網整備、モーダルシフトなどの交通流対策による大気汚染改善効果を予測するシステムである。今年度は、従来独立して実行していた大気汚染予測モデルを、ワークステーション上のRTPSSに組み入れ、交通流対策のシナリオ設定から予測結果のコンピュータグラフィックスによる表示までを一環して行えるように改良した。RTPSSによる環境影響予測の流れを図3に示す。これにより、次年度以降開発予定の固定発生源を含む都市大気汚染モデルとの連結の準備が整えられた。

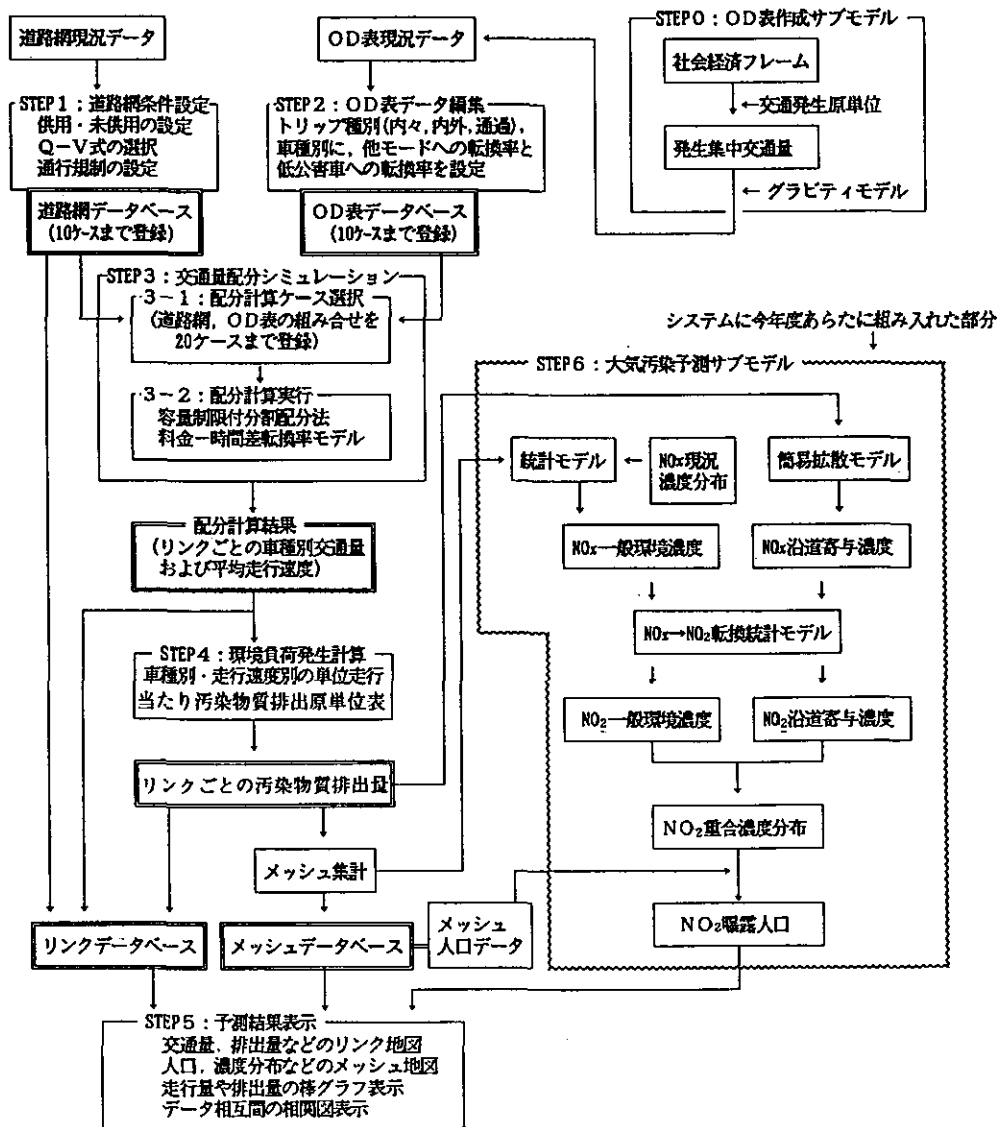


図3 一元化されたRTPSSの構成

6) エアロゾルの広域分布に関する研究

都市エアロゾルの問題はNO₂問題と同様に残された大きな課題であるがNO₂に比べてその出現範囲がより広域であるため1000kmのスケールの現象の一部として都市エアロゾルを把握する必要がある。このため平成5年度は日本の都市に及ぼす広域的エアロゾルの影響を把握した。データは対馬および福岡での通年にわたる観測結果を用いた。解析の結果大陸からの季節風が卓越する冬季と太平洋高気圧が卓越する夏季とではエアロゾルの濃度と組成が大きく異なっていることが示された。このような特徴は以前から指摘されていたが、一年間以上を通して複数の地点で同一の方法で同時にエアロゾルの時間変化を明らかにしたのは今回の研究が初めてである。

7) 都市気象モデルに関する研究

都市の大気環境問題は大気汚染のみならず都市気象・気候変化についても検討していく必要がある。都市の構造変化や都市活動により消費されるエネルギーが都市の気温、湿度、風などにどのような影響を及ぼすかを明らかにするためには都市気象モデルを用いた研究が必要である。本年度はモデルの基礎的な検討を行った。

(2) 環境負荷の構造変化から見た都市の水質問題の把握とその対応策に関する研究

都市部における生活様式の変化や多様化は、排水や廃棄物の質や量を大きく変化させ、第3次産業レストラン等の高濃度油分含有排水や、都市周辺地域における小規模未規制排水による表流水系の汚染を引き起こす可能性が高いことから、これらの水問題に対する新たな対応策とその評価手法を見だし、行政で対応を図る上での知見を集積するために検討を行った。本年度の計画は課題1では、環境負荷の構造変化の要因の同定と都市域における水質汚濁負荷に関するデータベースの基本フレームづくり、課題2では、統計解析データおよび実験データをもとにした環境負荷の構造変化と都市水質問題の関連性の解析、課題3では、都市の水質問題に大きな影響を及ぼす第3次産業レストラン等の高濃度油分含有排水の処理対策および都市の流域形態を利用した自然浄化システム等の検討を行い、対応策を行ったときの環境負荷への影響の検討、課題4では、都市水質環境の対策評価を行うための基本的な手法の検討であったが各課題ごとに得られた成果は以下に示すとおりである。

1) 課題1においては、小規模排水の中で水質汚濁負荷量の高い業種である食品製造業に着目して検討を行い、有機汚濁度(図4)は畜産食料品製造業が最も高く、みそ、醤油製造業、酒類製造業、飲料製造業の順であり、かつレストラン排水においては、業種形態により異なるが有機汚濁度に占める油分の割合が高く油分としてノルマルヘキサン濃度が100mg/lを超える場合は生物処理が困難となることから油分の前処理を行う必要があることなど、特に第3次産業の増加に起因する水質問題に対する検討を行っていく上でのデータベースを整備した。

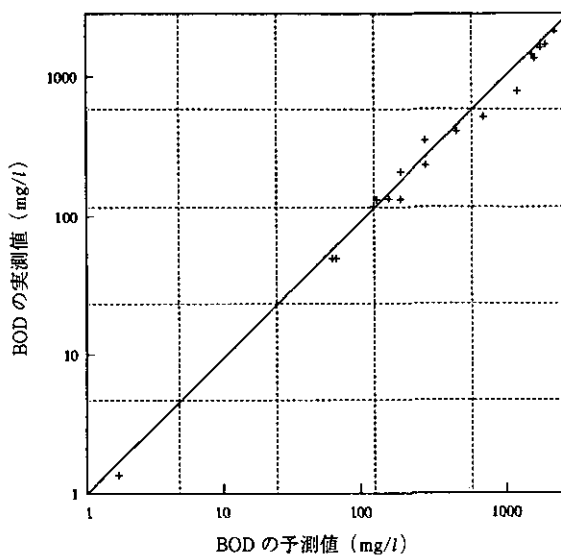


図4 食料品製造業におけるBODの重回帰分析
 $\log BOD = -0.47 \log \text{透視度} + 0.45 \log T-N + 0.31 \log \text{油分} + 0.15 \log \text{Org.-N} + 1.63$
(重相関係数 0.86, サンプル数 18)

2) 課題2においては、実態調査と同時に文献および資料調査を行ったが建築用途の違いにより水量、有機汚濁負荷量は大きく異なること、同じ生活系排水であってもし尿系排水の占める割合と生活雑排水の占める割合は変化し、団地排水でもBOD250mg/l、T-N50mg/lと標準生活排水のBOD200mg/l、T-N50mg/lに比べC/N比が通常の3以上に対して2以下と小さい場合が認められ(図5)、これは外食主体で台所から排出される生活雑排水の負荷が小さく、し尿負荷が高まるという生活スタイルの構造変化に由来するものではないかということが示唆された。また、このような構造変化は窒素除去対策等を図っていく上でも生物学的硝化脱窒機構のみでの活用では限界があることを意味するもので特にC/Nバランスの悪い排水

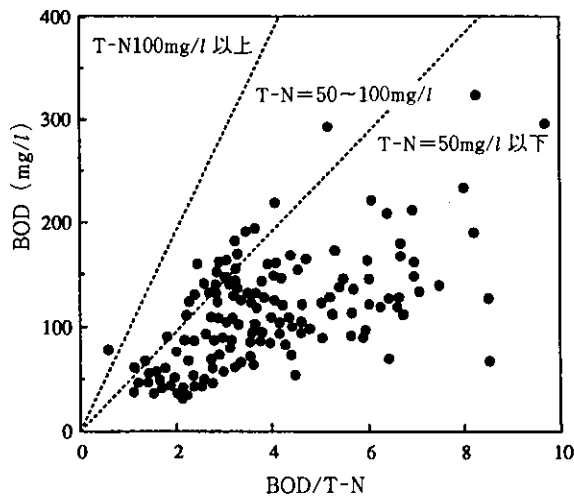


図5 生活スタイルの構造変化による生活雑排水とし尿の割合の異なる生活排水のC/N比

に対する新たな対応策の検討が必須であることなどの新たな知見が得られた。

3) 課題3においては、油分含有量の高いレストラン排水を対象として油分と同時に窒素、リンを高度に除去するシステム開発実験を行った。すなわち、酸素溶解効率を高めた高濃度活性汚泥法において適正な間欠ばっ気サイクルであるばっ気時間45分、嫌気時間60分を繰り返すと硝化・脱窒によるアルカリ度の消費と供給がバランスされ pH7の条件が維持され、油分の分解除去と同時に窒素、リンの除去能の高まること、またこの方法は通気のためのエネルギーコストを1/3に低減可能であり、有効な対策手法の一つになることを明らかにできた。また、同時に各種油分含有排水の処理方式の特性についての調査も行った。

4) 課題4においては、窒素、リンの環境基準、排水基準の定められた海域の中で、汚濁負荷の中で生活排水の占める割合、すなわち窒素で57%、リンで58%と高い東京湾に着目し、各種排水の高度処理の効果を評価した(図6)。特に、下水道と合併処理浄化槽に対して窒素、リン除去性能を付加した場合について放流水質基準、処理方式等をパラメータとして排出負荷量を試算すると下水道における負荷削減の実施が大きな効果を有することから東京湾での下水道をはじめとする窒素、リンの上乗せ規制の実行の必要性が明らかとなった。

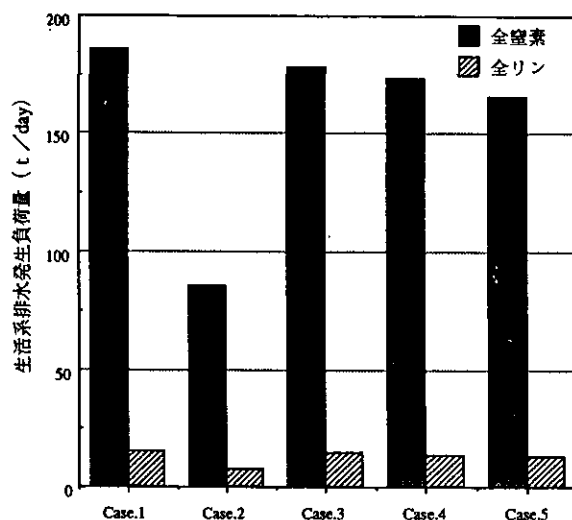


図6 東京湾における生活排水の高度処理対策の負荷削減効果

- Case.1 : 第3次総量規制の平成6年度の削減計画
- Case.2 : 既設下水・し尿処理場のみの高度処理対策
- Case.3 : 既設合併処理浄化槽のみの高度処理対策
- Case.4 : 未処理雑排水の高度合併処理浄化槽での処理対策
- Case.5 : Case.3 + Case.4

2.9 ディーゼル排気による慢性呼吸器疾患発症機序の解明と リスク評価に関する研究（初年度）

平成5～9年度（1993～1997年度）

〔研究組織〕

地域環境研究グループ
上席研究官
大気影響評価研究チーム
環境健康部
生体機能研究室
病態機構研究室
環境疫学研究室

中杉修身
○嵯峨井勝・市瀬孝道・熊谷嘉人

小林隆弘・古山昭子
藤巻秀和
田村憲治・本田 靖

〔研究概要〕

近年、大都市部における大気環境は一向に改善の兆しがみられず、なかでも二酸化窒素と浮遊粒子状物質の環境基準値の達成率はきわめて低い。この原因として自動車の増加が、特にディーゼル車の増加が注目されている。ディーゼル車はガソリン車に比べると、窒素酸化物で2～20倍、浮遊粒子状物質で30～100倍も多量に排出しており、大都市部の大気汚染の主な原因になっていると考えられている。

さらに、ディーゼル排気微粒子（DEP）は、種々の有害化学物質の複合物であり、二酸化窒素や一般の浮遊粒子状物質とは異なり、肺がんや気管支ぜん息等の呼吸器疾患の原因となる可能が指摘されている。しかしながら、ディーゼル排気による呼吸器疾患に関する研究は、ラットに対する高濃度暴露発がん実験とDEPがIgE抗体産生に対してアジュバント効果を示すという研究があるのみで、ディーゼル排気（DE, diesel exhaust）あるいはDEPが気管支ぜん息の発症と関連するというを示した研究はまだほとんど行われていない。また、DEPの発がん性に関しても、DEP中のベンゾ(a)ピレンやニトロアレン等に代表される発がん物質がDEP発がんの原因と考えられてきたが、最近、これとは全く異なるメカニズムで肺がんが起こる可能性が指摘されてきた。このようなことから、ディーゼル排気（DE）による呼吸器疾患に関する科学的知見をさらに蓄積し、防止対策を講じることが急務となっている。

そこで、本特別研究では、ディーゼル排気（DE）の吸入暴露実験装置を用いて、①マウスで気管支ぜん息等の

慢性呼吸器疾患の発症とディーゼル排気（DE）との間の因果関係の有無を解析する。さらに、その発症機序の解明および量-反応関係の解析も行う。②マウスに対する低濃度DEの長期暴露による発がん実験を行い高脂肪食や緑黄色野菜に含まれているβ-カロチンなどの食事性栄養素を多量に摂取した場合の発がん率の抑制等を調べる。このような実験的研究を通じて、ディーゼル排気がどのような機序でヒトの慢性呼吸器疾患を引き起こすのかを明らかにする。さらに、高濃度のディーゼル排気暴露を受けている集団の個人暴露量、健康影響調査の結果と合わせてディーゼル排気によるヒトの健康に及ぼすリスクを評価し、都市大気汚染防止に資する科学的知見を得ることを目的とする。

本研究ではディーゼル排気ガス（DE）を実験動物に吸入させることにより、慢性呼吸器疾患を発症する機序を解明するとともに、量-反応関係を明らかにし、さらに、ヒトの個人暴露量の推定の結果から、ヒトの健康に及ぼすリスク評価を行うことを目的に以下の4つの課題の研究を行う。

- (1) ディーゼル排気による気管支ぜん息等慢性呼吸器疾患の発症機序と量-反応関係の解析に関する研究
 - 1) 免疫的刺激によるIgE等抗体産生能に及ぼす影響
 - 2) 気管支ぜん息を誘起する炎症発生等に及ぼす影響
 - 3) 気道過敏性亢進等に及ぼす呼吸生理学的影響

近年、ディーゼル車の増加に伴い、大都市部において学童や老人に気管支ぜん息等が増加しているという。し

かし、両者の因果関係は依然として不明である。この因果関係を実験的に明らかにすることを目的に、上記の3つの段階の反応をそれぞれのサブテーマに分けて研究する。

3つのサブテーマの中には、IgE抗体産生誘起反応、炎症反応、粘液分泌促進反応、化学伝達物質遊離反応、自律神経系の受容体異常および気道過敏性の亢進等の様々な病態の解明が含まれ、これら病態がディーゼル排気吸入によって発現するかどうかをディーゼル排気暴露実験により検討する。このような各反応の解析によって、ディーゼル排気がそれら病態を引き起こすメカニズムを明らかにすると同時に、各病態がどの程度のディーゼル排気濃度の吸入で発症するかという量-反応関係をも明らかにし、ヒトのリスク評価の基礎資料を得る。

(2) ディーゼル排気による呼吸器系腫瘍発生に及ぼす食事性因子のリスク評価に関する研究

1) 高脂肪食摂取による呼吸器系発がん率の変動に関する研究

2) 高脂肪食による呼吸器系発がんの抑制因子の解析に関する研究

ヒトの肺がんによる死亡率は各種のがんの中で最も高い割合で年々増え続けており、胃がんを追い越す勢いである。この増加の最大の原因は食事因子と喫煙であると言われている。しかし、近年増加しているのは喫煙のリスクが最も低い腺がんであり、この腺がんは食事性脂肪の過剰摂取と深い関連があることが示唆されている。

そこで、近年の日本人の食事性脂肪摂取量(約15%)に近い高脂肪食と通常脂肪食(4%)を摂取させたマウスに低濃度のディーゼル排気を長期間吸入させ、それによる発がん率の違いを調べる。さらに、食事性発がん抑制因子の解析を行うとともにディーゼル排気による8-ヒドロキシグアノシン(8-OH-dG)の生成やDNA鎖切断能に関する研究も行い、ライフスタイルとしての食事性因子の呼吸器系発がんに及ぼすリスク評価を行う。

(3) ディーゼル排気高濃度暴露集団の個人暴露量の推定とリスク評価に関する研究

1) ディーゼル排気高濃度暴露集団の個人暴露量推定に関する研究

ディーゼル排気暴露によるヒトの慢性呼吸器疾患発症のリスクを評価するために、特にディーゼル排気等の高

濃度の大气汚染物質に暴露されていると考えられる職域や地域の集団を対象に、浮遊粒子状物質(SPM)とNO₂の個人暴露量を推定するための調査を行い、一般住民の暴露レベルとの違いを明らかにする。このため、職域集団としては自動車乗務員等を、地域集団としては幹線道路周辺沿道の商店店員等を対象として、リスク因子としてのSPMについて、重量濃度と粒子中の多環芳香族炭化水素濃度を測定する。

また、高濃度ディーゼル排気暴露を受けている職域集団を対象に、各人の健康診断結果をまとめるとともに、既往歴などの健康関連情報の収集を行い、暴露量と健康関連情報との間の相関を調べ、ヒトの健康に及ぼすリスク評価に資する。

2) ディーゼル排気高濃度暴露集団の分子遺伝学的リスク評価に関する研究

高濃度ディーゼル排気暴露を受けている職域集団と大気汚染地域に居住している呼吸器疾患患者を対象に、その人たちの血液を用いて、白血球中の各種標的遺伝子(DNA)のスクリーニングを行い、標的遺伝子の欠損程度と呼吸器疾患との関連を解析する手法を解析する。これにより、慢性呼吸器疾患にかかりやすい人と、かかりづらい人の違いを分子遺伝学的に解析し、慢性呼吸器疾患発症に及ぼす遺伝的素因の寄与を明らかにする。

(4) ディーゼル排気のヒトの健康影響とリスク評価に関する総合的研究

(1)と(2)でディーゼル排気による各種の慢性呼吸器疾患の発症機序と量-反応関係を実験的に明らかにし、(3)でヒトが現実にとどの程度のディーゼル排気暴露を受けているか、またそれによってどの程度の健康影響を受けているかを明らかにし、その両者の結果から、ディーゼル排気によるヒトの慢性呼吸器疾患発症にかかわるリスクを算出し、都市大気汚染防止対策に資する科学的知見を得る。

[研究成果]

(1) 気管支喘息等慢性呼吸器疾患の発症機序と量-反応関係の解析に関する研究

1) 免疫的刺激によるIgE抗体産生能に及ぼすDEPの影響

アレルギー反応の誘導において重要な役割を果たして

いる IgE 抗体産生に関して、DEP を卵白アルブミン (OA) のような抗原とともに投与すると抗原特異的 IgE 抗体産生の増強がみられることが明らかになっている。しかしながら、その機構については不明な点が数多く残されている。

昨年度は、DEP による IgE 抗体産生の増強について局所リンパ節におけるサイトカイン、中でも IgE 抗体産生の増強に働くと考えられているインターロイキン 4 (IL-4) 産生の変動について検討し、DEP と抗原を投与されたマウスの縦隔リンパ節細胞の *in vitro* の培養系で IL-4 産生が抗原のみの群に比べ増強したことを報告した。

今年度は、IgE 抗体産生系が活性化されるときに始めに抗原を認識し、それを取り込み、さらにリンパ球への情報伝達に参与する抗原提示細胞への影響について検討した。

マウスの腹腔内にスギ花粉抗原を単独、あるいは DEP とともに投与し、24 時間後に抗原提示能を有する腹腔マクロファージを取り出し培養した。培養上清中のインターロイキン 1 α (IL-1 α) の産生能を腹腔マクロファージ活性化の指標とした。

その結果、表 1 に示すように、IL-1 α 産生量は対照としてのアルブミン、あるいは抗原単独群でそれぞれ 28.5, 36.3 pg/ml の値であったが、DEP + 抗原投与群では 66.0 pg/ml と有意に高い値を示した。また、*in vitro* で LPS により腹腔マクロファージを刺激してそれぞれの群の IL-1 α を測定すると、DEP と抗原の投与群で最も高い産生がみられた。IL-1 は、T リンパ球の分化・増殖を促進する働きがあり、DEP が IL-4 産生のみならず IL-1 産生についても増強させる働きが示唆された。今後、サイトカイン産生細胞間の調節機構について検索することにより DEP の作用機構が明らかになるとと思われる。

また今年度は、アレルギー反応に参与する IgE 抗体産生能におよぼす DEP の作用機序を検索するために、マウスに 0.1 mg DEP あるいは 0.2 mg の DEP を毎週 1 回ずつ 16 週間にわたって気管内投与し、その間に 10 μ g の OA を 3 週間に 1 回ずつ、DEP と同時あるいは OA のみを投与し、OA 抗原特異的 IgE 抗体産生能を調べた。その結果は、図 1 に示すように、OA と DEP とを同時に投与した場合、抗体価は 80~160 であり、3 週目ごとに OA のみを投与した場合の抗体価は 40~80 であった。OA 単独投与の場合の抗体価はやや低い値ながらも DEP+OA の場合とほぼ同じレベルの抗体産生能を示していた。これは、抗原濃度

表 1 DEP と抗原を腹腔内投与したマウスの腹腔細胞の *in vitro* での IL-1 α 産生

Group	IL-1 α (pg/ml)	
	LPS(-)	LPS(+)
1 100 μ g BSA	28.5 \pm 5.4	62.3 \pm 11.7
1 100 μ g JCP	36.3 \pm 4.7	89.4 \pm 13.9
1 100 μ g JCP + 0.3mg DEP	66.0 \pm 1.6**	110.7 \pm 8.8*

*P<0.01 **P<0.001

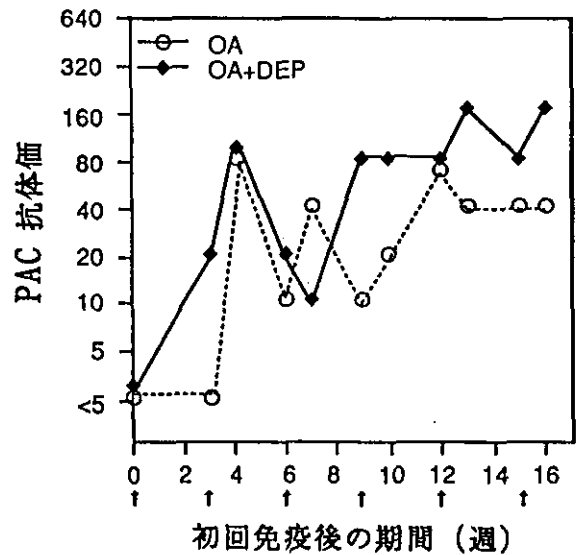


図 1 0.2 mg DEP を 1 週間に 1 回ずつ投与しているマウスに 3 週目ごとに 10 μ g 卵白アルブミン (OA) のみ、あるいは 10 μ g OA + 0.2 mg DEP を同時に投与した場合の IgE 特異抗体産生能力の比較

◆: 3 週目ごとに 10 μ g OA のみを投与した群 ○: 3 週目ごとに 10 μ g OA と 0.2 mg DEP を同時に投与した群。なお、この群では毎週 1 回ずつの DEP 投与は 3 週目ごとに中止。

が比較的高いと、それだけで抗体産生が増加し、DEP のアジュバント効果は見られないことを示している。なお、DEP 単独投与では IgE 値に変化はないことが知られているが、我々の実験でも同じであった。一方、この時の気管支周辺部への好酸球と好中球の浸潤を両細胞を組織染色で染め分けて、その数を顕微鏡下で数えて、図 2 に示した。好酸球の浸潤は OA と DEP を同時に投与した場合の方が OA 単独投与の場合より若干高い値を示し、IgE 抗体産生と平行していた。しかしながら、IgE 抗体産生を起さない DEP 単独投与群でもかなり高い好酸球浸潤が

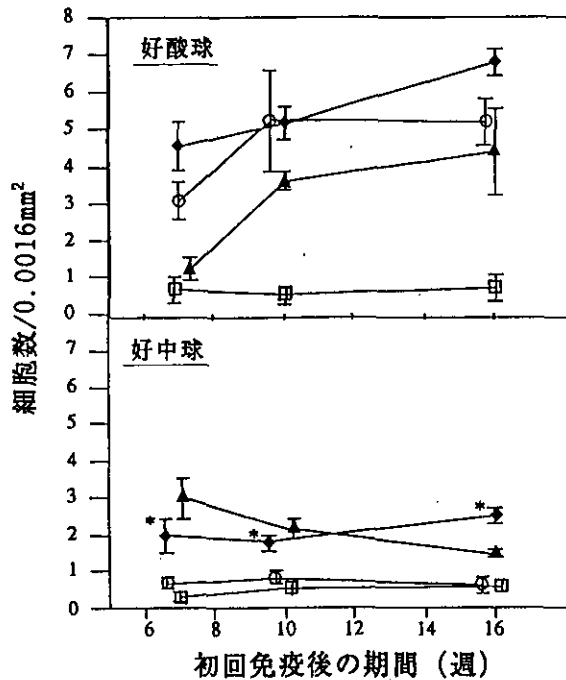


図2 各投与群のマウスの末梢細気管支および中等大細気管支粘膜下組織へ浸潤した好酸球数と好中球数の経時変化
 □：緩衝液のみ毎週1回ずつ投与，▲：0.2mg DEPのみ毎週1回ずつ投与，○：0.2mg DEPを毎週1回ずつ投与し，3週目ごとに10 μ g OAを1回ずつ投与，◆：0.22mg DEPを毎週1回ずつ投与し，3週目ごとに10 μ g OAと0.2mg DEPを同時に投与した群。

認められ、IgEの産生を介さないメカニズムによっても慢性炎症が起こることが示された。なお、この16週目での好中球の浸潤はどの群でもほとんど変化がなかった。

2) 気管支ぜん息（慢性炎症）発症機序とその量-反応関係の解析

ディーゼル排気微粒子（DEP）の慢性的気管内投与実験で観察されたIgE抗体産生亢進のような免疫的刺激を介さず、活性酸素によってぜん息様病態が起こることは先に示した。さらに、このぜん息様病態、すなわち気管支粘膜下への好酸球浸潤はポリエチレングリコール（PEG）結合型スーパーオキシドジスムターゼ（PEG-SOD）前投与によって軽減することも明らかにした。ここでは、そのメカニズムの解析の一環として、マウスにDEPを毎週1回ずつ16週間にわたって気管内投与した場合の気管支粘膜下組織への好酸球と好中球の浸潤を調べ、その結果を図3に示した。好酸球はDEPが0.1mgでも0.2mgでもほぼ同じレベルに増加していた。PEGの前処理は好酸

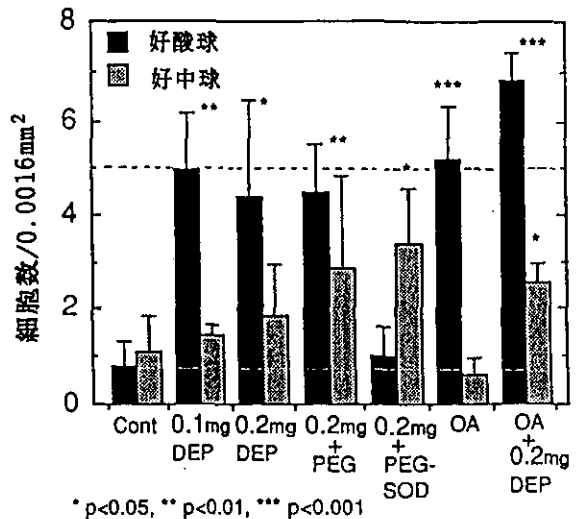


図3 DEP、DEP+PEG、DEP+PEG-SOD、OA及びOA+DEPの繰り返し投与による気管支粘膜下組織の好酸球数と好中球数の16週目の変化
 * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001

球の低下を起こさないが、PEG-SOD前処理は好酸球の浸潤を著しく抑制していた。一方、OA単独群でもDEP単独投与群なみに増加し、さらにOA+DEP群ではさらに32%程度増加していた。一方、好中球の浸潤はDEP濃度の増加につれて増加し、さらにPEGやPEG-SOD前処理群でさらに増加していた。また、OA投与群での増加はそれほどではないが、OA+DEP群ではDEP単独投与群より増加していた。今後は、ぜん息時に増加することが知られている様々な化学伝達物質の拮抗薬等の薬理学的手法を用いてぜん息様病態の発症機序を明らかにする。さらに今年度は、マウスを用いて、ディーゼル排気の長期暴露実験を開始した。この吸入暴露実験によってぜん息様病態が発症するかどうかを調べるとともに、その量-反応関係を明らかにし、ヒトにおよぼすリスク評価に資するデータを得ることに努める。

3) 気道過敏性に関する研究

上記の実験のように、DEPの気管内への繰り返し16回投与で、マウスの吸入アセチルコリン・エアロゾルに対する気道過敏性に及ぼす影響を検討した。その結果、図4に示すように、0.1mg DEP投与群では気道過敏性は対照マウスの約10倍に増加し、0.2mg DEPでは約100倍に上昇し、dose-dependentに気道過敏性が増加していることの再現性が確認された。本実験の測定は、帝京大学医学部第二内科大田健助教授らによって行われた。現在、この気道過敏性増加が起こる機構を解析するため、組織、細胞、

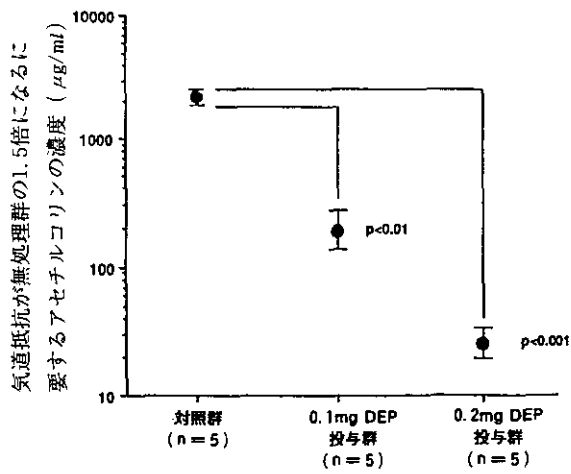


図4 緩衝液のみ(対照群), 0.1mg DEP および0.2mg DEP を毎週1回ずつ16週間にわたって投与したマウスの気道過敏性

化学伝達物質などの変化からその影響の検討を行っている。

(2) 高濃度暴露集団の個人暴露量の推定とリスク評価に関する研究

1) ディーゼル排気高濃度暴露集団の個人暴露量推定に関する研究

走行車両内外のSPM サンプリング法など個人暴露量調査方法の検討と、粉じん濃度モニターの並行測定による暴露測定の時間分解能改善などの技術的改良を行っている。さらに個人暴露量調査の対象となる高濃度暴露職域集団の選定と、SPMおよびNO₂測定ハード面の充実に努めている。

平成5年度編集小委員会

委員長 高松 武次郎

委員長代理 松本 幸雄

委員 栗原 崇

〃 正木 清郎

〃 原島 省

〃 永田 尚志

〃 高橋 慎司

〃 山形 与志樹

〃 瀬山 春彦

〃 鈴木 明

〃 鶴野 伊津志

〃 田中 浄

〃 大坪 国順

事務局 名取 美保子

国立環境研究所特別研究年報

平成5年度

平成6年8月31日

編集 国立環境研究所 編集小委員会

発行 環境庁 国立環境研究所

〒305 茨城県つくば市小野川16番2

電話 0298-51-6111 (代表)

印刷 朝日印刷株式会社

〒308 茨城県下館市中館186

本年報は再生紙を使用しております。