

国立環境研究所特別研究報告

Report of Special Research from the National Institute for Environmental Studies, Japan

SR-10-'93

先端技術における化学環境の解明に関する研究

Studies for Systematic Evaluation of Chemosphere under Highly Advanced Technologies

昭和62年度～平成3年度

FY 1987~1991

NIES

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

環境庁 国立環境研究所

Report of Special Research from the National Institute for Environmental Studies, Japan

国立環境研究所特別研究報告

SR-10-'93

先端技術における化学環境の解明に関する研究

Studies for Systematic Evaluation of Chemosphere under Highly Advanced Technologies

昭和62年度～平成3年度

FY 1987~1991

環境庁 国立環境研究所

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

特別研究「先端技術における化学環境の解明に関する研究」

(期間 昭和 62 年度～平成 3 年度)

特別研究責任者：松下秀鶴 計測技術部 部長 (昭和 62～63 年度)

森田昌敏 計測技術部 部長 (平成元年度)

特別研究幹事：森田昌敏・相馬悠子

報告書編集担当：相馬悠子

序

この報告書は昭和 62 年度から平成 3 年度にかけて実施された特別研究「先端技術における化学環境の解明に関する研究」の研究成果をまとめたものである。急速な技術革新が進み新たな物質、新たなプロセスが開発される中において、各種の化学物質が重要な原材料としてあるいは製造精製過程で重要な役割を果たす物質として、広範かつ大量に使用されつつある。それと共に、これらの化学物質が環境に放出され、環境に負荷を与える機会も急速に増大してきている。しかしながら、これら環境の放出された化学物質がどのように環境に負荷をかけ、結果としてどのような影響を人に与えるかについては十分に解明されているとはいえない。

国立環境研究所では、水道水に塩化ジベンゾフランが極めて微量ながら検出されたことを契機として、塩化ジベンゾフランの生成機構と毒性に関する特別経常研究を始めた。この研究を引き継いだものが昭和 62 年度からの特別研究「先端技術における化学環境の解明に関する研究」である。

特別研究では、環境中に放出されたこれらの化学物質をモニタリングのための分離分析手法の開発、化学物質の環境中における移動、環境中で生成される物質の生成機構、及びこれらの化学物質の毒性評価、に関して研究を行った。対象物質としては、塩化ジベンゾフランとダイオキシン、揮発性有機塩素化合物、有機スズ化合物、及び金属元素が選ばれた。すでに、「塩化ジベンゾフランとダイオキシン」に関する成果については「国立環境研究所研究報告第 129 号」として公表しているが、本報告書は、その後の成果を含めて、全体として取りまとめたものである。

本報告書が、先端技術に関連する化学物質の環境中での諸現象解明、影響評価、及び対処方策を進める上で関連する方々のお役に立つならば、幸いとすところである。

本研究を進めるにあたっては、客員研究員、共同研究員をはじめとして多くの方々のご指導ご協力を頂いた。深く感謝の意を表したい。

平成 5 年 3 月

国立環境研究所

所 長 市 川 惇 信

目 次

1	研究の目的と経緯	1
2	研究の成果	3
2.1	ダイオキシンと塩化ジベンゾフラン	3
2.1.1	ダイオキシン類の選択的高感度分析法の開発と環境残留濃度	3
2.1.2	環境中における芳香族塩素化合物生成の可能性	11
2.1.3	ラットにおける2-クロロジベンゾフランの代謝	15
2.1.4	3-クロロジベンゾフランの変異原性とその代謝活性化	17
2.1.5	PCBによる特異タンパク質誘導	17
2.1.6	ダイオキシンのリスク評価のための量子化学的アプローチ	20
2.2	揮発性有機塩素化合物	23
2.2.1	大気中の揮発性有機塩素化合物自動モニタリングと つくば地域におけるリスク評価	23
2.2.2	トリクロロエチレンの行動に及ぼす影響	25
2.2.3	土壌中の有機塩素化合物の定量と土壌中の反応	28
2.2.4	トリクロロエチレンの熱分解	29
2.2.5	クロロプロベン類の分子軌道計算	31
2.3	有機スズ	32
2.3.1	ブチルスズ、フェニルスズの分析法の開発と代謝産物の同定	33
2.3.2	トリブチルスズ、トリフェニルスズ化合物の溶解度と海水-底質間の分配	34
2.3.3	アサリ、ムラサキイガイ中の経年変化	36
2.3.4	海産生物への濃縮	39
2.3.5	巻貝での毒性評価	40
2.3.6	有機スズ化合物の細胞毒性影響	42
2.4	金属元素	44
2.4.1	フローインジェクション法を用いたICP-MSによる 大気粉じん中の白金の分析	45

2.4.2 レーザーアブレーション法による葉の上に沈着した 大気粉じんの多元素同時分析	45
2.4.3 FAB-SIMS による固体試料表面の分析	47
2.4.4 重金属の経気道投与による生体影響	49
2.5 まとめ	50
[資料]	
I 研究の組織と研究課題の構成	55
1 研究の組織	55
2 研究課題と担当者	58
II 研究成果発表一覧	59
1 誌上发表	59
2 口頭発表	65

1 研究の目的と経緯

世界中で報告されている化学物質は 940 万種類を超え、産業的に生産されている数は、5 万種類を超えと言われている。このような化学物質は、その有益性の半面、生態系に悪影響を及ぼす可能性を持つものもある。化学物質の安全性については職場での衛生、あるいは流通、取扱い上の危険防止などの面で注意が払われてきているが、化学物質の使用あるいは使用後の廃棄を通じて、それが直接的にあるいは廃棄の過程や環境において変化して、間接的に環境を汚染し、結果として人に影響を与えるという問題についてはまだ解明されるに至っていない。

科学技術の進歩と環境問題は密接な関連がある。近年の状況をみると半導体産業、新素材産業、バイオテクノロジー等の先端技術が急速に進展しており、新たな技術革新は一方で環境汚染防止技術の発展を促し、また一方では新たな環境負荷をもたらす可能性を有している。先端技術産業で使用されるいろいろな化学物質による汚染もその一つであり、生産から廃棄に至るまで化学物質の管理と汚染の未然防止は重要な課題と考えられる。

このような背景をふまえ、本研究では、化学物質のモニタリングあるいはその生物毒性検定のための新技術の開発、化学物質の性状や挙動の予測、暴露評価手法、Dose-responseに関する実験的研究、リスクアセスメント情報システム構築を行い化学物質等によるリスクの認知についての国民的コンセンサス形成のための科学的判断基準を提供すること、環境行政の大きな課題の一つである化学物質の環境汚染に伴うリスクの管理のためのリスク評価手法の確立を目指した。

これらの目的を達成するために以下の課題を設定し、対象化学物質としては「ダイオキシンと塩化ジベンゾフラン」、「揮発性有機塩素化合物」、「有機スズ化合物」、「金属元素」を選び研究を進めた。

(1) 環境中の化学物質の物性評価と分離・分析手法に関する研究

化学環境の評価を行うためには、数多くの物質による微量の汚染を計測する必要がある。そのためには環境中における各々の化学物質の存在状態の把握と極微量の分析技術の開発が不可欠である。このため本研究では溶解や吸着の存在状態を支配する物理化学的性質の評価を行うと共に、高性能質量分析計による同定等、先端的分析技術を用いた高感度の分離・分析法の開発を行う。

(2) 環境中の化学物質の毒性スクリーニング法の開発、応用に関する研究

化学環境の評価には化学物質による環境汚染の状態の把握とともに、化学物質の毒性の把握が不可欠である。しかし、毒性を評価するためには長い時間、多大な労力及びコストをかけ、膨大なデータの集積が必要となる。そこで、ここでは毒性についての一次スクリーニングを行う手法として、生物あるいは細胞の化学物質に対する反応によってその毒性を評価する簡易な手法の開

発を行う。またこれまでに開発された手法を用いて毒性スクリーニングを行う。

(3) 化学物質の環境中における変化と移行過程に関する研究

化学環境の評価には化学物質の環境中での挙動を知ることが必要であり、この挙動はモデルを用いて予測することとなる。ここでは、そのための基礎情報となる化学物質の環境中での化学反応、化学物質の各媒体間（大気-水-土壌-生物）の移動について研究する。また環境中から検出された化学物質の起源や経路を明らかにする手法、さらにはフィールドを設定しての精密なデータの集積を通じて、全体的な化学物質循環のモデルの検討を行う。

(4) 化学物質のリスク評価のための方法論に関する研究

化学物質による環境汚染問題は、その数が非常に多いこと、微量の汚染が問題となることもあるなど、いくつかの点で従来の環境汚染問題とは異なっており、それ故これを防止する方法も、生産・使用段階での管理を含め、複雑多元的な対応が必要であり、従来の環境汚染に対するものとは異なったものとならざるを得ない。ここでは従来とは異なる化学物質のリスク評価のために必要となる具体的な手法の開発を行う。

2 研究の成果

2.1 ダイオキシンと塩化ジベンゾフラン

最近の高度先端技術下の社会においては、いろいろな材料が、いろいろな用途に使用されており、それらが生産や使用の過程であるいは廃棄の過程で化学変化を受け有害な物質として環境を汚染することが少なくない。ポリクロロジベンゾフランやポリクロロジベンゾ-*p*-ダイオキシン（“ダイオキシン”）はこれらの中でも最も毒性の強いものであり、社会的関心の強い物質である。このような非意図的に生成する化学物質については、その生成の機構に不明の点が多く、また汚染物質が極微量であるために、その環境存在量の決定や健康影響の評価には、難しいことが多い。

ポリクロロジベンゾダイオキシン（Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, PCDD）及びポリクロロジベンゾフラン（Polychlorinated dibenzofurans, PCDF）の毒性は強く化学構造に依存し、極めて毒性の高い2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-*p*-ダイオキシンから、ほとんど毒性のないクロロジベンゾジオキシンやフランの異性体にいたるまで各種の異性体と同族体が存在すると言われている。しかしそれら異性体と同族体の環境存在量や毒性については知られていない部分が多く、それらについての科学的知見を集積することが重要であった。また、これらの物質の微量暴露により、前者においては、イタリアのセベソの中毒やベトナムでの奇型児との関連が指摘されており、また後者については、カネミ油症等の中毒が発生している。さらには、PCDDの1つである2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-*p*-ダイオキシンは、強い発がん性をもつことが報告されており、そのリスクの評価と関連して、その発生源と環境存在量の把握が重要な課題となりつつある。

クロロジベンゾダイオキシンの発生源としては、2,4,5-トリクロロフェノールとその関連化合物の合成過程が重要であったが、その後の研究により、いろいろな燃焼過程、中でもゴミ焼却炉における発生が無視しがたいことが明らかとなってきている。また、塩素漂白過程での生成についても明らかとなってきている。水道水の塩素滅菌処理においても、ある種のクロロジベンゾフランが生成することが明らかとなり、その毒性評価が必要となった。クロロジベンゾダイオキシン及びクロロジベンゾフランの環境残留については、毒性の高いかつ環境残留性の高いと考えられるテトラクロロ体以上の塩素数を持つ異性体、同族体について行った。大気粉じん、湖底質、紙製品、また人体汚染として母乳の分析を行った。また一般環境大気中のダイオキシン類の濃度が極めて低いことを考慮して、高感度及び高精度の分析手法の開発も行われた。

2.1.1 ダイオキシン類の選択的高感度分析法の開発と環境残留濃度

(1) 高分離能ガスクロマトグラフ/高分解能質量分析（HRGC/HRMS）法の最適化

ダイオキシン類の微量測定は、現在、ガスクロマトグラフ/質量分析（GC/MS）法を用いる以外に方法がない。GC/MS法といってもイオン化の仕方、GCの分離能やMSの分解能により

感度、精度が異なる。ここでは、最も感度、正確度が高いと考えられる最新の分析法である HRGC/HRMS において、検出限界を明らかとする実験を行った。電子衝撃法によるイオン化とパーフルオロケロセンをモニターするロックマス方式での高分解能 SIM (Selected Ion Monitoring) 測定を行った。GC カラムとして DB-1 及び SP-2331 の 2 本のキャピラリカラムを用い、5 つの TCDD について、その検出下限を調べた。MS の分解能を 10,000 と設定して実験を行った。2,3,7,8-TCDD について求めた検出限界は、DB-1 を用いた場合で約 10 fg, SP-2331 を用いた場合約 50 fg であった。ここで、SP-2331 で検出限界が高い理由として、カラムの熱不安定性が考えられた。

PCDD 及び PCDF の多数の異性体を分析するためには、塩素置換数の違いによりグルーピングを行って分析を行うこととなる。グルーピングを行って測定する場合のクロマトグラフにおける分離状況を知るために、ゴミ焼却炉フライアッシュ抽出物を用いて分析を行った。1 回の注入によって、全塩化物領域の測定が可能であったが、SP-2331 は耐熱性には問題があり、8 塩化物の分析は難しく、一方、DB-1 には、TCDD をはじめとする各異性体の分離が十分でないという問題があり、異性体別の分析には両カラムを併用することになるので、実際上は 2~3 回の注入が必要であることが分かった。

(2) 標準試料の作製と室間クロスチェック

PCDD 及び PCDF の分析にあたり標準試料として使える均一な試料として、ゴミ焼却場のフライアッシュのトルエン抽出液を大量に作製した。ゴミ焼却場のフライアッシュ 3 kg をトルエンで 24 時間抽出したものを 1 l とし、2 ml ずつアンプルに封じ、冷凍庫に保管した。この溶液を、5 つの研究機関に送り、室間のクロスチェックを行った。定量は、炭素の安定同位体で標識した 10 種類のダイオキシンやジベンゾフランの異性体を内部標準物質として用いた。内部標準のない物質は、異性体間の相対感度を測定し、補正を加えた。結果を表 1 に示した。各異性体の変動係数の平均値が、室間で 24% という良好な結果を得た。本研究所で行った 18 回の測定から得られた室内の変動係数の平均値は 4.7% であり、HRGC/HRMS 法によるダイオキシン類の測定法が適切であることが確認された。

(3) 環境試料の前処理法の検討

環境試料中のダイオキシン類の分析は、試料量の制限や、共存する多量の天然成分及び汚染物質からの妨害などのために、極めて困難な分析である。試料の前処理を適切に行わないと、高分解能 GC/高分解能質量分析法をしても十分な感度を得られなくなる。大気粉じん、湖底質、紙製品、母乳の前処理法について検討を加え実試料の分析を行った。表 2 に使用した前処理法の一覧を示した。

表1 PCDDs及びPCDFsの各分析機関での測定した結果と比較

isomer	unit : ng/ μ l						
	A	B	C	D	E	average	this study
2,3,7,8-TCDD	0.0020	0.0022	0.0021	0.0042	0.0069	0.0035(19)	0.0038(6)
1,2,3,7,8-PeCDD	0.0591	0.0453	0.0596	0.0565	0.0691	0.0579(76)	0.0654(0)
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.0677	0.0546	0.0965	0.0752	0.0706	0.0729(14)	0.1085(20)
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1881	0.1540	0.1890	0.1530	0.1380	0.1644(205)	0.1823(29)
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1296	0.0495	0.1690	0.1190	0.1026	0.1139(389)	0.1503(28)
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1.1835	1.1430	0.8770	0.7500	0.6042	0.9115(2233)	0.8755(154)
OCDD	0.8475	0.4900	0.6600	0.5200	0.4100	0.5855(1539)	0.5835(352)
2,3,7,8-TCDF	0.0219	0.0352	0.0327	0.0396	0.0171	0.0293(84)	0.0278(13)
1,2,3,7,8-PeCDF	0.0368	0.0421	0.0329	0.0373	0.0301	0.0358(41)	0.0372(21)
2,3,4,7,8-PeCDF	0.0462	0.0623	0.0453	0.0531	0.0484	0.0511(62)	0.0450(28)
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.0544	0.0424	0.0458	0.0462	0.0622	0.0502(72)	0.0582(30)
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.0590	0.0476	0.0377	0.0448	0.0529	0.0484(72)	0.0511(39)
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.0126	0.0016	0.0078	0.0061	0.0230	0.0102(73)	0.0110(6)
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.0674	0.0030	0.0518	0.0625	0.0901	0.0555(29)	0.0819(34)
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.2265	0.1720	0.1590	0.2150	0.2170	0.1979(270)	0.1763(9)
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.0700	0.0307	0.0389	0.0428	0.0684	0.0491(169)	0.0607(49)
OCDF	0.1810	0.0700	0.1200	0.1100	0.2300	0.1422(565)	0.1163(39)

(4) 大気粉じん中の塩化ダイオキシン及びフラン

PCDDやPCDFは、ゴミ焼却炉等の焼却過程からも生成し、その結果として、環境大気中にその存在が見いだされている。1984年に行われた環境庁による緊急調査では、最も強毒性の異性体である2,3,7,8-TCDDは検出されなかったが、その後、分析技術の向上があり、また一方で、ダイオキシン類の毒性の評価のためには、異性体の精密な定量が必要であることが明らかとなるに伴って、環境大気中から極微量のダイオキシン類の定量を行うことが必要となってきた。ダイオキシン類の蒸気圧は比較的低く、このため大気中のダイオキシン類は、大気粉じんに含まれて存在しやすいこと、また試料の採取及び保存が容易であることを考慮して、大気粉じんを分析対象とすることとした。

大気粉じん試料は、国立公衆衛生院屋上（東京都）で、ハイボリュームサンプラーを用いて24時間吸引により、あらかじめ加熱処理したパルフレックスフィルター上に大気粉じんを集めた。2,3,7,8-TCDDの大気粉じん中濃度は、冬に高く、夏に低い季節変動を示し、通年での平均濃度は9.6fg/m³であった（表3）。またその他のPCDD同族体及びPCDF同族体の分析値も同様な傾向を示し（図1）、冬は夏の約10倍の濃度であることが明らかとなった。PCDF同族体とを比較すると、いくぶんPCDDの方が多し。強毒性の2,3,7,8-TCDD濃度は、4塩化～8塩化のダイオキシン合計の約1/2000であった。6～8月の夏場にPCDD濃度が低いことは、

表2 前処理法一覧

	大気粉じん	底質	紙製品	母乳(ドライミルク)
¹³ C 内部標準	2,3,7,8-TCDD; 2,3,7,8-TCDF; OCDD; OCDF	2,3,7,8-TCDD; 2,3,7,8-TCDF; OCDD; OCDF	2,3,7,8-TCDD; 2,3,7,8-TCDF; OCDD; OCDF	2,3,7,8-TCDD; OCDD
試料量	ハイボリューム, 24時間	2.5~5g	10g	50ml(70g)
抽出法	ソックスレー	ソックスレー	ソックスレー	溶媒抽出
溶媒等	トルエン, 8時間	トルエン, 15時間	トルエン, 8時間	ヘキサン, 2回
2M-KOH/ エタノール	なし	抽出後, 12時間	なし	抽出前, 一夜
濃硫酸処理	なし	あり	あり	あり
アルミナ/ヘキサン: ジクロロメタン	3g/40ml	Sep-Pak, アルミナN	5g/80ml	10g/150ml
シリカゲル/ヘキサン	なし	なし	3g/150ml	なし
逆相 HPLC	なし	なし	なし	ODS/メタルール
ゲルろ過 HPLC	なし	なし	なし	Shodex 800 KF/トルエン
最終液量	100 μ l	20 μ l	20 μ l	100 μ l 以下
MS 分解能	10000	8000	10000	8000

表3 大気粉じん中の2,3,7,8-TCDD(1987年)

	2,3,7,8-TCDD	2,3,7,8-TCDD/全TCDD
1月	10 (fg/m ³)	0.3 \times 10 ⁻³
2月	16	0.6
3月	13	0.5
4月	9	0.8
5月	6	0.9
6月	3	0.7
7月	4	0.5
8月	2	0.4
9月	4	0.5
10月	5	0.3
11月	17	0.5
12月	26	0.5
平均	9.6	0.5

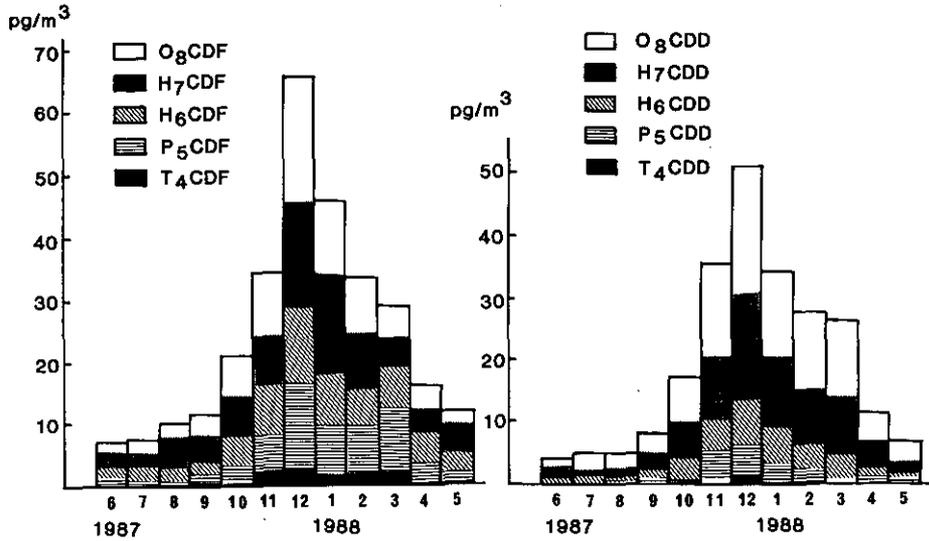


図1 大気粉じん中のPCDFとPCDDの季節変化

①冬に逆転層の生成によって大気中に滞在しやすいこと、②気温が低く、ハイボリュームサンプラーに捕集された物質が逃げにくいこと、③夏期における大気中での紫外線分解の可能性を示している。PCDD及びPCDFの異性体パターンは、ゴミ焼却過程で発生するパターンと極めて類似しており、大気中のPCDD、PCDFの起源が、燃焼のプロセスによるものであることを強く示唆している。

2,3,7,8-TCDDの呼吸による大気からの摂取量は、今回の実験において、約3 fg/kg/d(年平均)と推定された。この数字は米国環境保護庁(EPA)の発がんリスクの評価の数字を用いれば 0.5×10^{-6} に相当する。また他のPCDD、PCDFによる寄与を考慮すると、PCDD全体で2,3,7,8-TCDDの約5倍、PCDFを含めると約15倍の効果を示すことになり、全体で 7.7×10^{-5} のリスクと評価される。リスクに大きく寄与している成分は1,2,3,7,8-及び2,3,4,7,8-ペンタクロロジベンゾフランであり、人体残留性の高い物質である。発がんリスク評価にはEPAのモデル計算を用いているが、これについては批判も多く、リスクの評価手法についてはさらに検討が必要である。

(5) 母乳及びミルク中の塩化ダイオキシン

人間は食物連鎖系の上位にあり、2,3,7,8-TCDDのような蓄積性の物質を生物濃縮しやすいことはよく知られている。人体の2,3,7,8-TCDDの測定については、既にいくつかの報告があるが、いずれもその存在が無視できないレベルにきているのではないかという状況にある。欧米諸国の報告に比較して、我が国のダイオキシンによる人体汚染の報告は例が少なく、そのデータ

表4 母乳及びドライミルク中の2,3,7,8-TCDD及びOCDD

	試料番号	2,3,7,8-TCDD	OCDD
母乳	1	13.6 pg/g	654
	2	4.6	1130
	3	4.1	1180
	4	4.9	1010
	5	8.7	N.A.
	6	4.5	1060
	7	1.6	1520
	8	5.2	5438
	9	2.9	1240
ドライ	1	2.2	N.A.*
ミルク	2	0.8	N.A.
	3	0.7	N.A.

* not analyzed

の蓄積が必要であった。母乳試料は都内の産院及び奈良県立医科大学より供与していただいた(昭和63年採取)。ドライミルク試料は市販品を使用した。

表4に母乳中及びドライミルク製品中のポリクロロジベンゾ-*p*-ダイオキシン(PCDD)の分析値を示す。母乳9検体の2,3,7,8-TCDDの分析値の平均は5.57 pg/g fatであった。また一方、ドライミルク製品中の2,3,7,8-TCDDの平均値は1.2 pg/g fatであり、ドライミルクの方が母乳より低い傾向が見られ、人体の汚染の方がより高いことをうかがわせる。OCDDの母乳中の濃度は平均1890 pg/g程度であり2,3,7,8-TCDDの約300倍程度の濃度であった。

今回の実験を通じて、2,3,7,8-TCDDの摂取量の推定が可能となった。乳児が体重の1/5量の母乳を毎日摂取するとし、母乳中の乳脂肪量を3.3%と仮定すると、1日当たりの2,3,7,8-TCDDは平均37 pg/kg/dとなる。また10か月の授乳期間中の全摂取量は平均67 ngとなる。2,3,7,8-TCDDは発がん性物質であり、その強さは、アフラトキシンの約50倍と考えられている。母乳中の2,3,7,8-TCDDの持つ生物学的意味については判断が難しいが、提案されている許容値(1~10 pg/kg/d)と比較して考えると、今後とも注意しておく必要のある汚染物質といえよう。OCDDは毒性が低く(高く見積もっても2,3,7,8-TCDDの1/1000程度)、その濃度は2,3,7,8-TCDDの300倍程度であるので、その毒性は2,3,7,8-TCDDより相対的に小さいといえそうである。今回得られた脂質当たり5.6 pptの測定値は、既に我が国において報告された値より幾分低く、米国あるいはヨーロッパと同程度であることが示された。

(6) 紙製品中の塩化ダイオキシン及びフラン

PCDDs及びPCDFsは農業や工業製品中の不純物として、あるいはゴミの焼却過程、及びバル

表5 紙製品中のPCDFs及びPCDDsの濃度(10^{-12} g/g)

	トイレットペーパー (5種)	コピー用紙 (2種)	紙おむつ (3種)	ナプキン (3種)
1,2,7,8-TCDF	0.89-9.7	0.55-0.99	0.32-2.1	0.85-5.1
2,3,7,8-TCDF	1.6-13	0.71-1.2	0.38-3.2	1.5-7.8
Total TCDF	3.5-30	3.1	0.70-6.1	3.0-15
2,3,7,8-TCDD	N.D.-0.62	0.20-0.57	0.25-0.43	N.D.-0.24
Total TCDD	0.35-2.2	1.1-2.1	0.25-0.63	0.18-1.5
Total PeCDF	N.D.-0.41	N.D.	N.D.	N.D.-1.3
Total PeCDD	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Total HxCDF	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Total HxCDD	N.D.-0.92	N.D.-1.3	N.D.-0.55	N.D.-4.9
Total HpCDF	N.D.	N.D.-0.83	N.D.	N.D.-0.59
Total HpCDD	0.69-2.0	0.90-1.7	0.50-1.0	N.D.-1.1
OCDF	N.D.-0.93	0.37-0.39	N.D.-0.30	N.D.-0.32
OCDD	0.46-1.8	1.2	0.55-1.7	N.D.-0.54

プ等の塩素処理過程で生ずる。特に、塩素処理過程では、毒性の強い2,3,7,8-TCDDやTCDFが多く生成することから、ふだん使用する紙製品中にどの程度TCDDsとTCDFsが残留しているか調査を行った。1,2,7,8-TCDFは0.32~9.7 pg/g、2,3,7,8-TCDFは0.38~13.3 pg/g、2,3,7,8-TCDDはN.D.~0.63 pg/gであった(表5)。燃焼過程で生成するフライアッシュ中のTCDDsでは、1,3,6,8-と1,3,7,9-体が多く検出され、2,3,7,8-体の量は、1,3,6,8-体に比べると約1/100であるが、紙製品では、2,3,7,8-体が相対的に多い。また、TCDFについても、フライアッシュではほとんどの異性体ピークが検出されるが、紙製品では、1,2,7,8-TCDFと2,3,7,8-TCDFが特異的に多く出現した。全TCDDに対する2,3,7,8-TCDD及び全TCDFに対する2,3,7,8-TCDFの濃度比は約50%で、フライアッシュ等の燃焼過程で生じた試料とは大きな差があった。紙製品中のPCDDsとPCDFsは、塩素漂白により、生成したものと推察された。また、その他のPCDDs及びPCDFsについても塩素漂白に特異的なパターンを示した。

(7) 湖沼底質中の塩化ダイオキシン及びフラン

古代の人体試料や湖沼底質などで、ダイオキシン類分布の歴史的变化が研究されている。底質は、環境中に放出されたダイオキシン類のシンクとしての役割を持ち、過去における蓄積量や分解速度、放出量などを求める手がかりとなる。そこで、霞ヶ浦湖心で採取した柱状底質試料中のダイオキシン類の鉛直分布を測定した。ダイオキシン類の濃度はOCDDを除いて1 ng/g以下

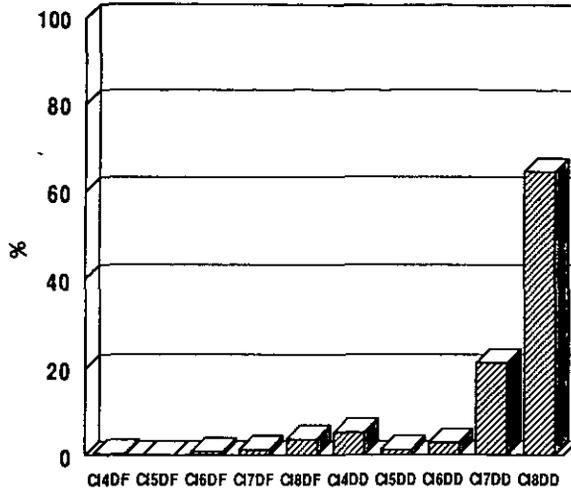


図2 ダイオキシン類のコンジェナーパターン（全試料平均値）

であり、その多くは定量下限程度であった。最も毒性の強い2,3,7,8-TCDD, 2,3,7,8-TCDFは、いずれの試料でも検出されなかった。低濃度のものは誤差が大きく、必ずしもきれいな鉛直分布が得られたわけではないが、全体に表層の等濃度部分と下層にかけて濃度減少部分が見られた。

各置換塩素数ごとにPCDD, PCDFの構成率を、コア全体の平均値で図示した(図2)。OCDDが約60%と大部分を占め、以下HepCDD, TCDD, OCDFの順となった。霞ヶ浦底質では、全体にPCDF(特にC17DF)の割合が低く、TCDDの割合が高いという傾向になった。TCDDの場合は、1,3,6,8-TCDDと1,3,7,9-TCDDの2種類のみが定量された。この2つの物質は、2,4,6-トリクロロフェノールの2量化で生成するため、2,4,6-トリフェノキシ基を持つ化学物質の合成過程の副生成物である可能性が高い。

^{210}Pb 年代測定法により $52\text{ mg/cm}^2\text{y}$ という堆積速度が得られた。これは、コア全体の平均堆積速度として 3.4 mm/y に相当し、平坦部(20cm)で約43年分の底質に相当する。図3に霞ヶ浦底質での主たるダイオキシン類、OCDD, 1,3,6,8-TCDD, 1,3,7,9-TCDDの3つを、横軸に表層からの堆積年代をとって示した。これらのパターンは、混合の有無(霞ヶ浦では40年)、分解半減期の違い、フラックスの変化の結果により異なる。ダイオキシン類の場合、平坦部の厚さは40年程度であり、混合層で深の変化の傾きは、OCDDとTCDDでは異なり、両者の由来あるいは分解性には違いがあるようである。多くの湖沼底質の分析から、1938年をダイオキシン類が増加するhorizon dateと呼ぶ説があるが、今回の結果は、約40年という混合層の存在を考慮すると、実際には1950~60年前後に増加が始まっていることとなり、ほぼ上記の説を支持するものとなった。

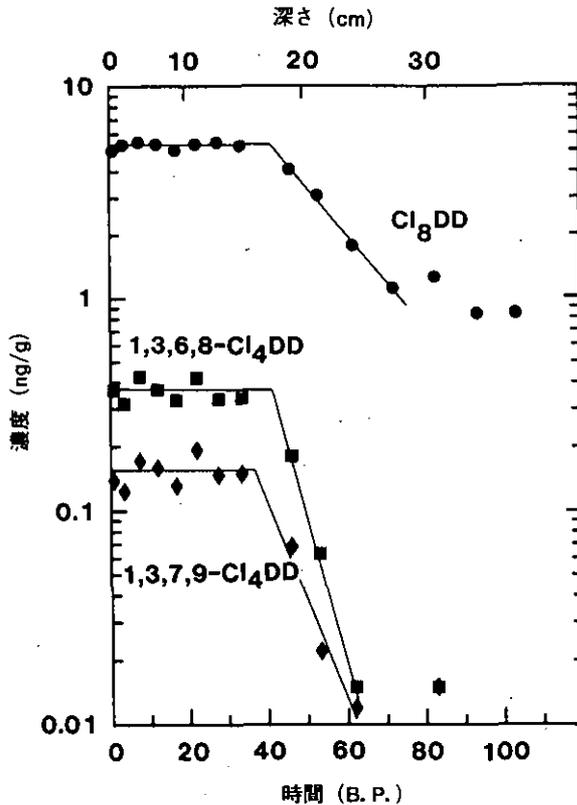


図3 霞ヶ浦底質コア試料のCl₈DD, 1,3,6,8-Cl₄DD, 1,3,7,9-Cl₄DDの鉛直分布

2.1.2 環境中における芳香族塩素化合物生成の可能性

(1) 霞ヶ浦の多環芳香族化合物と塩素化

水道水中に塩素化多環芳香族化合物が低濃度ではあるが検出された。水道原水である霞ヶ浦湖水には、塩素化多環芳香族化合物が検出されないことから、水道水を供給するための湖水の処理過程で使用される塩素により、これらの有機塩素化合物が生成するものと考えられた。また多環芳香族化合物の濃度自体も湖水中の濃度の方が低いことから、水道管などに使用されているタール系塗料が、多環芳香族化合物の供給源である可能性が指摘された。多環芳香族化合物が塩素と反応して塩素化した化合物が生じることはよく知られている事実であり、塩素化多環芳香族化合物が人為的に生成していることは疑いない。しかし、反応の原料となる多環芳香族化合物の起源については、これらが環境中に広く存在する化合物であるため不明な点がある。湖水中の化合物が急速ろ過や活性炭処理などの水処理過程によっては除去されずに蛇口にまで到達している可能性も否定できない。そこで、この点をさらに検討するために、多環芳香族化合物、特に水

道水中に検出される、フルオレン、ジベンゾフラン、フェナントレン、アントラセン、フルオランテン、及びピレンの存在量の調査を水源である霞ヶ浦の10地点で1986年4月～1987年3月にかけて行った。

先に報告した水道水中の多環芳香族化合物の濃度範囲はフルオレン (5.8～0.25 ng/l)、ジベンゾフラン (56.2～1 ng/l)、フェナントレン (1.41～0.45 ng/l)、フルオランテン (0.21～0.02 ng/l)、ピレン (不検出) であり、どの場合でもジベンゾフランが主成分であった。1986年4月～1987年3月にかけて9回測定を行ったが、観測された湖水中の溶存多環芳香族化合物の濃度は極めて低かった。濃度範囲はフルオレン (1.8～0.4 ng/l)、ジベンゾフラン (3.1～0.3 ng/l)、フェナントレン (2.2～0.7 ng/l)、フルオランテン (1.1～0.4 ng/l)、ピレン (0.9～0.3 ng/l) であった。また、水道水の場合のように、すべての試料でジベンゾフランが主成分であるということとはなかった。

これらのデータから見る限り、フルオレンとジベンゾフランは水道水中の方が高濃度であり、フェナントレンは同程度、フルオランテンとピレンは原水より水道水の方が低濃度となっているといえる。塩素化されていないフルオランテンとピレンだけに着目すれば、原水から蛇口までの間で、これら化合物は除去されているといえようが、塩素との反応生成物である塩化フェナントレンと塩化フルオランテンが、それぞれの無置換体の0.4倍及び0.7～7倍存在していることに注意する必要がある。これは、フェナントレン、フルオランテンやピレンと塩素の反応性が高いためであると考えられ、したがって、測定された以外の物質に形を変えて存在している可能性は残っている。水道水中のフルオレンとジベンゾフランの濃度変動はかなり大きかったが、湖水中の濃度変化はそれほど大きくはなかった。今回の調査では、フルオレンとジベンゾフランに関しては、水道水の最高濃度を上回る濃度を湖水に見いだすことはできなかった。このことから、これらの化合物に関しては湖水以外、例えば、配管中の塗料などの供給源を考える必要があると思われる。水道原水中のこれら化合物の濃度は非常に低いレベルにあり、しかも季節変化等は観測されず比較的安定しているようである。しかし、河口域は突発的な汚染の影響を受けることがある。高濃度で観測されるとき水道水中のジベンゾフランの起源に関しては、そのような濃度を湖水中に見いだすことはできず、湖水以外に別の供給源を考えるざるを得ない。これを明らかにするには、水道水中の濃度変化の原因を解明する必要があると思われる。

(2) 塩化ビニル樹脂の熱分解による芳香族塩素化合物の生成

塩素を含有する物質を燃やしたときに、ポリクロロジベンゾ-*p*-ダイオキシン (PCDD) やポリクロロジベンゾフラン (PCDF) のような、有毒の有機塩素化合物が生成すると言われている。特に、PCDFについてはポリクロロビフェニル (PCB) の熱分解で生成することが、多くの研究で分かっている。また、塩素原子を含むポリマーも燃焼の際、いろいろな塩素化合物が大気中に放出され、大気を汚染するおそれがある。すでに、数人の研究者によって、塩化ビニル樹脂の熱

分解が調べられている。ポリ塩化ビニル樹脂と同じように、広くラップ材として使われているポリマーに塩化ビニリデン樹脂がある。塩化ビニリデン樹脂は広く使われているにもかかわらず、その熱分解についてはあまり知られていない。最近、日本国内の埋立地から、かなりの量のポリクロロベンゼンやPCBが放出されていることを見いだされ、これらの化合物は塩素原子を含むポリマーが熱で分解する際に生成したのであろうと考えられた。塩化ビニリデン樹脂が焼却炉で燃やされたり、埋立地で熱分解したりするときに、どのような化合物が生成してくるかを調べることは極めて重要なことである。

ごみの埋立地や焼却場で塩素系ポリマーが分解するときに、どのような生成物が生じるかを明らかにするために、以下のような熱分解実験を行った。塩化ビニリデン樹脂で作られたラップ材を空気気流中で500℃で熱分解した。ヘキサンを入れたインピンジャーで捕集された生成物をキャピラリーカラムを使用したGC/MSで分析した結果、クロロベンゼン類、クロロスチレン類、クロロフェノール類、クロロフェニルアセチレン類、クロロナフタレン類(PCN)、クロロビフェニル類(PCB)、クロロベンゾフラン類が主要な化合物として検出された。これらの化合物の大半はこの実験で新たに検出されたものである。また、GC/MSによる高感度分析法であるSIM法を使用したところ、4種類のモノクロロジベンゾフランすべてを検出した。2-クロロ体と3-クロロ体は使用したキャピラリーカラムでは完全には分離できなかったが、樹脂1gからのおおよその生成量として、1-クロロ体で0.2 μ g、2-クロロ体及び3-クロロ体(合計)で2 μ g、4-クロロ体で0.4 μ gであった。さらに、200~600℃までの温度で熱分解を行ったところ、200℃でも多くの塩素化芳香族化合物の生成が観察された。600℃での熱分解では、少量の3-クロロジベンゾフランとジクロロジベンゾフランの生成が観察された(表6)。

ポリ(塩化ビニリデン)樹脂の熱分解によって、いろいろな塩素化合物が生成したことは最も注目すべきことである。脂肪族の塩素化合物としては、質量スペクトルから同定した、3種類の

表6 クロロジベンゾフランの生成量(μ g/ポリマー1g)

Run No.	1-Chloro-	2- & 3-Chloro-	4-Chloro-
1	0.11	1.5	0.26
2	0.43	3.3	0.59
4	0.25	2.3	0.39
5	0.25	2.0	0.39
6	0.24	2.3	0.37
Average	0.26	2.3	0.40
7	0.14	2.3	0.40
8	0.26	2.8	0.51
Average	0.20	2.6	0.46

ポリクロロブタジエンが見つかった。一方、芳香族の塩素化合物はたくさん見つかった。これらの化合物は次の7つのグループに分けられる。つまり、クロロベンゼン類、クロロスチレン類、クロロフェノール類、クロロフェニルアセチレン類、クロロナフタリン類、クロロビフェニル類、クロロベンゾフラン類である。

多くのポリクロロスチレン類が検出されたことは特筆すべきである。実験全部を通してのポリクロロスチレン類の量は、重量で、元のポリマーの0.1%にも達しており、環境への汚染が無視できない可能性がある。オクタクロロスチレン、ヘプタクロロスチレンやヘキサクロロスチレンなどの塩素数の多いポリクロロスチレン類は電解を利用している工場で、副産物として生成することが知られており、それらの化合物による河川や底質の汚染も既に報告されている。しかしながら、この実験でも示されたように、熱分解で生成する、低塩素化のポリクロロスチレン類が環境を汚染しているかどうかは、今後調査の必要があろう。

(3) 粘土鉱物表面でのクロロフェノールの反応

生産、使用された有機塩素化合物は最終的に底質や土壌に取り込まれることが多いので、自然環境の中で、土壌や土壌構成物質によりPCDDやPCDFが生成されるような可能性があるかどうかを調べることは重要である。土壌中では有機物質の分解の大部分は土壌微生物による働きであるとされているが、簡単な分子から、より複雑な分子の合成反応、二量化反応や重合反応がどのように起こるか、例えば自然環境条件下でクロロフェノールからPCDDやPCDFが土壌中で化学的反応により生成するかどうか、の報告はいまだなされていない。ポリクロロフェノール(PCP)には、合成過程で生成する不純物としてポリクロロジベンゾ-*p*-ダイオキシン(PCDD)やポリクロロジベンゾフラン(PCDF)が含まれることがある。また、クロロフェノールから熱や光によりPCDDやPCDFを生成する反応があることは知られている。

これまでに我々は遷移金属イオン(例えば Fe^{3+} や Cu^{2+})で交換した粘土鉱物モンモリロナイト(スメクタイト)が芳香族化合物を酸化する反応を調べてきた。この反応で粘土鉱物層間の遷移金属イオンの還元に伴い、層間に吸着した芳香族化合物分子がラジカルを生成し、このラジカルが中間体となって二量化や重合反応が起こるといふ反応機構を明らかにした。ここでは土壌の構成成分である粘土鉱物のうち、層状構造を持つモンモリロナイトと非晶質粘土鉱物アロフェンヘクロロフェノールの3異性体(オルト-, パラ-, メタ-)を室温、空气中で吸着させたとき、どのような反応生成物が得られるかをGC/MS(ガスクロ質量分析計)で調べ、生成物が粘土の含水量と共にどのように変化するかを研究した。

アロフェン, Na-, Fe-モンモリロナイト上のクロロフェノールの吸着反応生成物を図4に示した。反応生成物のうち脱塩素化, 塩素化, 水酸化反応, 異性化反応の生成物であるベンゼン置換体とキノンは, アロフェン, Na-, Fe-モンモリロナイトのどの粘土鉱物でも生成が確かめられた。クロロビフェニルジオール, クロロヒドロキシジフェニルエーテル, クロロヒドロキシジ

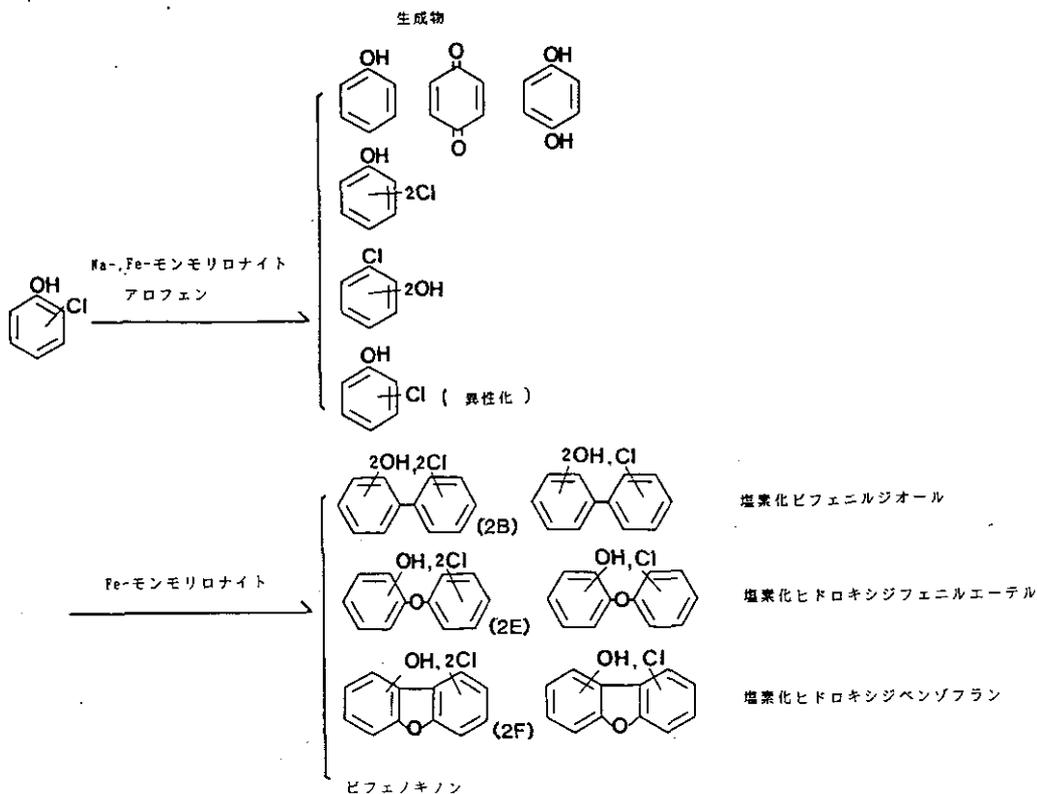


図4 Na, Fe-モンモリロナイト, アロフェン表面でのオルト-, メタ-, パラ-クロロフェノールの反応生成物

ベンゾフラン等の二量体生成物はFe-モンモリロナイトでのみ観測された。したがって他の芳香族化合物の場合と同様に、クロロフェノールの二量化には Fe^{3+} イオンのような遷移金属イオンが必要と考えられる。また三量体の形の生成物も、Fe-モンモリロナイトでは見られた。

二量体生成物の分布はオルト-, メタ-, パラ-クロロフェノールのどの場合でも、乾燥したFe-モンモリロナイトで生成するクロロヒドロキシジベンゾフランの量はビフェニルジオールとヒドロキシジフェニルエーテルの生成量の約10%であった。またヒドロキシジベンゾフランの生成は湿度に強く依存し、乾燥したモンモリロナイトで反応が進み、Fe-モンモリロナイトでは吸着クロロフェノールの0.1~0.5%がクロロヒドロキシジベンゾフランになった。パラ-クロロフェノールの塩素は反応活性が高く、重合反応やキノンの生成をしたり、オルト-やメタ-クロロフェノールの反応とは異なる生成物が確認された。

2.1.3 ラットにおける2-クロロジベンゾフランの代謝

2-クロロジベンゾフラン(2-Cl-DBF)の生体内における動態を雄性ウィスター系ラットを用

いて検討した。 ^{14}C でラベルした 2-Cl-DBF を静脈内に投与したところ、24 時間以内に投与量の 86% が尿、大腸内容物、及び糞に検出された。約 3% は 48 時間後において皮下脂肪に検出された。経口投与したラットにおいても同様の排せつ傾向が認められた。*in vitro* における実験から 80% の 2-Cl-DBF が赤血球中に分配されること、残りが血しょう中に存在することが判明した。胆管のカニューレーション実験から、胆汁中へは静注後 3 時間までに投与量の約 60% が排せつされ、胆汁への排せつ量はこの頃までにプラトーに達し、2-Cl-DBF が腸肝循環を受けていることが示唆された (図 5)。胆汁をスルファターゼと β -グルクロニダーゼで処理した後、高速液体クロマトグラフィーを用いて分析したところ、2-Cl-DBF は存在せず、数多くの代謝産物が存在することが明らかとなった。比較のため行った ^{14}C -3-Cl-DBF の生体組織中の分布パターンは 2-Cl-DBF と同様であるが、投与後 48 時間目までを比較すると、3-Cl-DBF よりも 2-Cl-DBF のほうが皮下脂肪、血液など体内により多く蓄積する傾向が観察された。今回の結果から、2-Cl-DBF はラットの体内で速やかに代謝され体外に排せつされるが、一部は皮下脂肪に残る傾向があること、また、数多くの代謝産物が存在することが明らかとなった。

そこで、2-クロロジベンゾフランのラット肝臓における代謝機構を調べるために胆汁中に排せつされる代謝産物を同定した。ラットに無標識の 2-クロロジベンゾフランを経口投与して、24 時間分の胆汁を採取した。胆汁をスルファターゼと β -グルクロニダーゼで処理した後、高速液体クロマトグラフィーを用いて脱抱合後の 3 つの代謝産物の分画を分取し、質量分析計並びに核磁気共鳴装置により代謝産物の化学構造を決定した。これらの 3 つの代謝産物を、2-クロロ-3, 7-ジヒドロキシジベンゾフラン、2-クロロ-3-ヒドロキシジベンゾフラン、2-クロロ-7-ヒドロキ

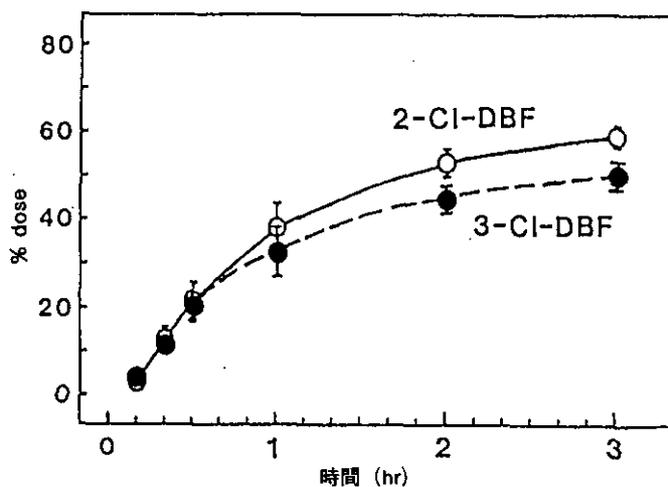


図 5 ^{14}C -2-クロロジベンゾフラン、または ^{14}C -3-クロロジベンゾフランを静脈内投与したラットにおける ^{14}C 由来の放射能の胆汁中への累積排せつ量

ジベンゾフランと同定した(図6)。これらの代謝産物は抱合体として胆汁中に排せつされており、2-クロロジベンゾフランは検出されなかった。これらのことは、2-クロロジベンゾフランはラット肝臓において速やかに代謝されることに加え、ジベンゾフラン環の3と7位が代謝上重要な部位であることを示唆している。

2.1.4 3-クロロジベンゾフランの変異原性とその代謝活性化

モノクロロジベンゾフランの4つの異性体について、サルモネラ菌のTA98、TA100の両株による変異原性試験(Amesテスト)を、フェノバルビタール及び β -ナフトフラボンの誘導を受けたラットの肝臓の9,000 Xg上清画分の存在下及び非存在下で行った。その結果、1-クロロジベンゾフラン及び4-クロロジベンゾフランは明らかな変異原性を示さず、2-クロロジベンゾフランはTA98株に対してごく弱い変異原性を示した。3-クロロジベンゾフランはモノクロロジベンゾフランの4つの異性体の中で唯一強い変異原性を示した。この化合物はS9を添加しない条件下でも変異原性を示したが、S9の添加によりさらに活性化された(表7)。

そこで、2種の誘導剤を前もって投与したラットより調製した肝臓のS9及び細胞画分を用いて3-クロロジベンゾフランの変異原性における代謝活性化について検討を行った。フェノバルビタール型の誘導剤として1,1-ジクロロ-2,2-ビス(p -クロロフェニル)エチレン(DDE)を、3-メチルコランスレン型の誘導剤として β -ナフトフラボン(β NF)を使用した。4群のラット、すなわち非誘導、DDE誘導、 β NF誘導及びDDEと β NFによる誘導を受けたラットよりS9、ミクロソーム画分、ミトコンドリア画分及び可溶性画分を調製した。

3-クロロジベンゾフランはTA100株よりTA98株において強く変異原性が認められたので、変異原性試験はサルモネラ菌のTA98株を用いて行った。この化合物は β NF誘導によるミクロソーム画分によって最も強く活性化されたが、ベンゾ[a]ピレンと異なり可溶性画分によってもかなり活性化された。さらに誘導剤を投与されていないラットの肝臓の各画分においても強く活性化を受けた。各画分の芳香族炭化水素水酸化酵素活性(AHH)を測定したところ、必ずしも3-クロロジベンゾフランの代謝活性化の指標とならないことが分かった。

この研究の結果、3-クロロジベンゾフランは3-メチルコランスレン型の誘導剤によって誘導されるチクトクロームP-448だけでなく、誘導を受けないラットの肝臓に存在している酵素によっても活性化を受けることが分かった。この結果は3-クロロジベンゾフランの正常な動物に対する毒性発現の危険性を示唆している。

2.1.5 PCBによる特異タンパク質誘導

多塩素化ビフェニル(PCB)、及びその関連化合物は強い肝発がん性があり、それは発がんプロモーター作用であると考えられている。これらの化合物にはまた、いくつかの毒作用が知られており、これらの毒性はPCB毒性体の構造に依存し、一般にコプラナーPCBは非コプラナー

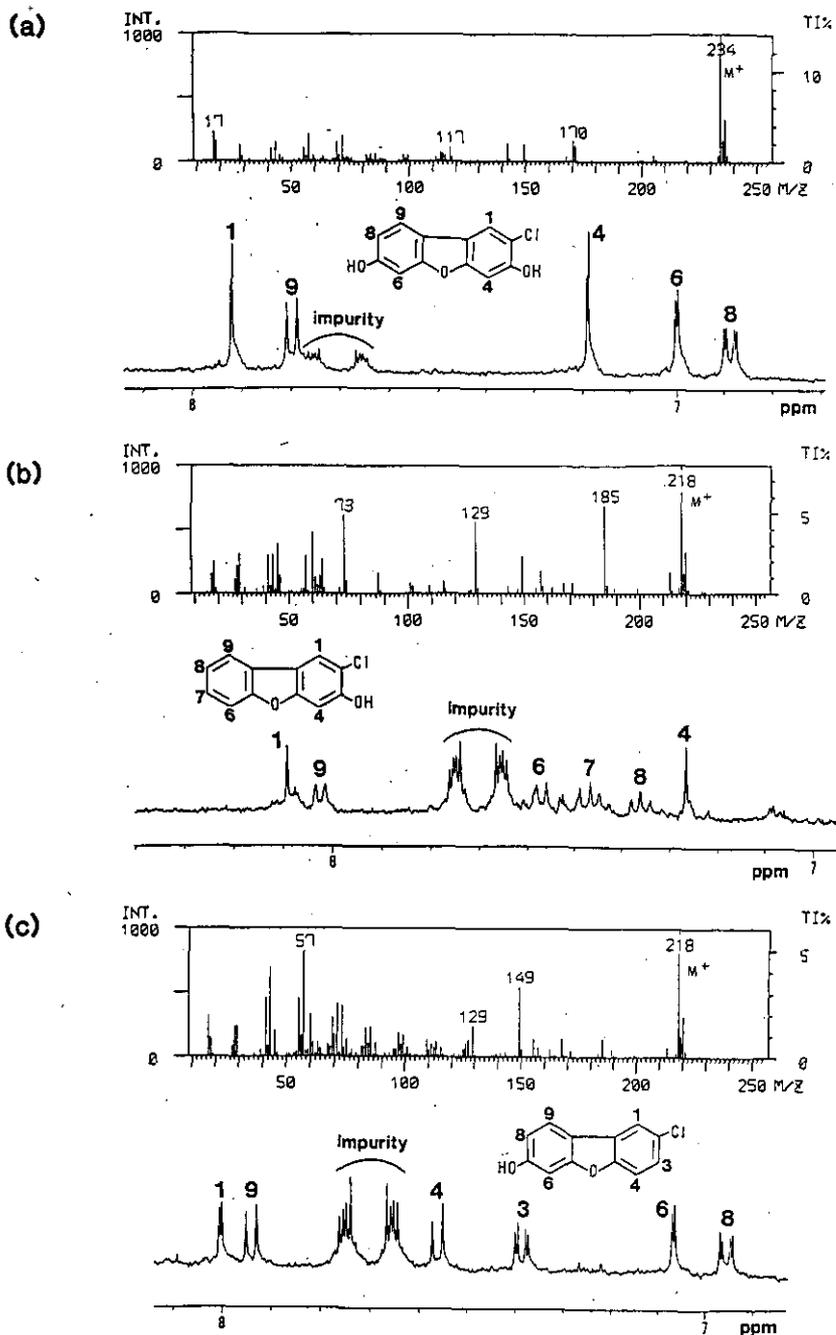


図6 2-クロロジベンゾフランの代謝物 (a,b,c) の質量並びに核磁気共鳴スペクトル

質量スペクトルは試料直接注入によるEI法により測定した。核磁気共鳴スペクトルはアセトン-d₆ 溶媒中で測定し、テトラメチルシランのプロトン共鳴位置を0.00ppmとして化学シフトの相対位置を示してある。図中にジベンゾフラン環に結合したプロトンの帰属を示してある。

表7 サルモネラ TA98株に対するジベンゾフランとモノクロロジベンゾフランの変異原性^a

Dose (μ mol/plate)	Dibenzofuran		1-Chlorodibenzofuran		2-Chlorodibenzofuran		3-Chlorodibenzofuran		4-Chlorodibenzofuran	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
0.025	- ^b	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.05	-	-	-	-	-	-	-	116	-	-
0.1	-	-	-	27	-	-	71	402	-	-
0.4	-	-	19	-	52	-	282	517	-	-
1.6	LE(13) ^c	LE(22)	-	22	64	-	268	876	-	-
4.0	ND ^d	ND	19	24	84	52	391	1645	81	-
10.0	ND	ND	20	17	233	153	761	2370	LE(40)	LE(78)

	-S9	+S9
Control and positive controls (mean \pm SE)		
DMSO (100 μ l)		35 \pm 2 41 \pm 1
Benzo-[a]-pyrene (5 μ g)		36 \pm 2 368 \pm 22
2-Nitrofluorene (2 μ g)		730 \pm 19 437 \pm 52

- a: His⁺ revertants/plate. 3プレートの平均値。
 b: 変異コロニー数が対照値の(平均値 \pm 標準偏差の2倍)の範囲に含まれているもの。
 c: LE 殺菌作用が認められたもの。()内の数字は1プレート当たりの変異コロニー数を示す。
 d: ND 未試験。

PCBよりも毒性が高い。コプラナー PCB はメチルコランズレンと同様にシトクロム P450 I A 1 と P450 I A 2 を誘導するが、PCB の発がん性と毒性はシトクロム P450 の誘導だけからは単純に説明できず、シトクロム P450 以外の遺伝子発現の変化が肝発がんに関係していると考えられている。しかしながら PCB により誘導される遺伝子は組織的には調べられていない。

そこで、培養ラット肝実質細胞をコプラナー、及び非コプラナー PCB に暴露し、PCB により肝細胞に誘導されるタンパク質の同定を試みた。

ラット肝初代培養細胞を 10 あるいは 100 nM のコプラナー PCB (3,4,5,3',4'-PCB と 3,4,5,3',4',5'-PCB) に暴露したところ図 7 に示すように分子量 25000 のタンパク質 (25 K-protein) の発現が増加していた。3,4,5,3',4'-PCB は 25 K-protein の発現の増加に 3,4,5,3',4',5'-PCB より効果的であった。

他の PCB あるいは薬剤では 25 K-protein は 100 nM の 3,4,3',4'-PCB でわずかに増加していたが、100 nM の非コプラナー PCB (2,3,4,3',4'-PCB, 2,3,4,5,3',4'-PCB, 2,4,5,2',4',5'-PCB), 2 mM フェノバルビタール, 20 μ M p-アミノアセトフェノンでは増加しなかった。ジメチルニトロソアミン, ジブプロモエタン, DDT は無効果であった。

GST-P の分子量 (25000) が 25 K-protein と同様なこと、また、GST-P が化学発がん剤投与により生じた肝がん組織のマーカーであることより、25 K-protein と GST-P の関係を免疫ブロッ

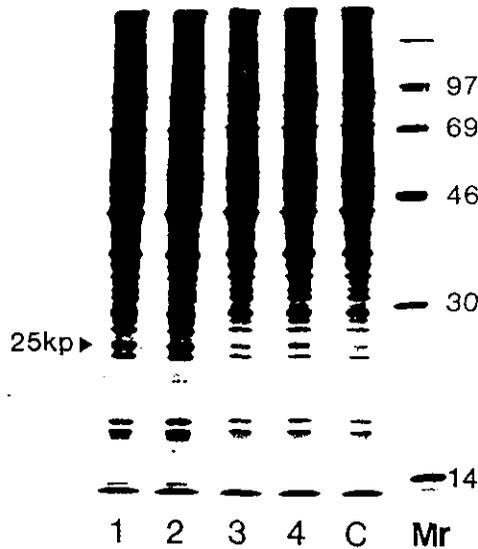


図7 コプラナー PCB により初代培養ラット肝実細胞中の 25 K-protein の誘導
 10 nM (lane1) 及び 100 nM (lane2) ; 3,4,5,3',4'-PCB, 10 nM (lane3) 及び 100 nM (lane4) ; 3,4,5,3',4',5'-PCB
 Mr ; 分子量マーカー, 97 (Mr=97,000), 69 (69,000), 46 (46,000), 30 (30,000), 14 (14,000)

ティング法により調べた。その結果、抗 GST-P 抗体と反応するバンドが 3,4,5,3',4'-PCB に暴露した細胞の粗抽出液に検出された。このバンドは 25 K-protein の位置に対応し、その分子量は純品のラット GST-P と同じであった。GST-P はコントロールの細胞には検出されなかった。これらの結果より、25 K-protein は GST-P と同じであり、この酵素は 3,4,5,3',4'-PCB により初代肝実質細胞に誘導されることが示された。また、3,4,5,3',4'-PCB による GST-P 合成の誘導が 2 次元ゲル電気泳動で認められた。他のコプラナー PCB, 3,4,5,3',4',5'-PCB も同様に GST-P を誘導し、さらに 3,4,3',4'-PCB も若干有効であった。しかし、非コプラナー PCB は GST-P を全く誘導しなかった。他の代謝酵素やマイクロゾームタンパク質を誘導する薬剤は 17 時間の暴露時間内で GST-P の誘導能はなかった。これらの結果は GST-P はコプラナー PCB により特異的に誘導され、この酵素の誘導は薬剤によって起こるマイクロゾームタンパク質の非特異的な増加によるものではないことが示唆された。

2.1.6 ダイオキシンのリスク評価のための量子化学的アプローチ

(1) 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) の構造とエネルギー

生物学の諸現象を電子のレベルで考えていく時代がきたとして、多くの研究者が生体分子の電子状態とその機能を関連づけることを行うようになってきた。一方、CPU の進歩によりいわゆ

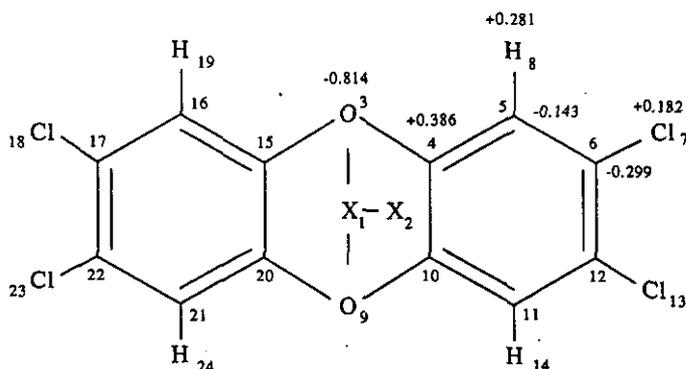


図9 2,3,7,8-TCDDの電子密度分布

エネルギーと物理定数；Hartree-Fock法の範囲内で問題の本質が理解できるのも、あるいは定量的ないしは半定量的に予測可能な物理定数を求め検討した。

HF全電子エネルギー (SCF)	-2444.0346 a.u.
イオン化エネルギー (IE)	+9.07 eV
電子親和力 (EA)	-2.22 eV
熱力学的データ Total Thermal Energy (Et+Er+Ev)	97.12 Kcal/mol
Heat Capacity (Cv)	51.20 cal/mol.K
Entropy	117.9 cal/mol.K
Zero-Point Vibrational Energy	86.58 Kcal/mole
Dipole Moment (Debye)	0

IE値は、ダイオキシンのような大きな分子では、Koopmansの定理がうまく適用できる。計算値は約10%過大評価するが、これを補正すると信頼度は高くなる。

振動解析；Hartree-Fock (DZP)法による力の定数から求めた基準振動は、約10%過大評価するが、その比率は非常に均一なので、赤外やラマンスペクトルの同定に有用となる。

(2) ダイオキシンとジベンゾフランの毒性(変異原性指数)と構造の相関関係

Polychlorodibenzofuran(PCDFs)はPCDDと化学構造が類似する有機塩素系化合物であり、両者とも代表的な生化学反応は、AHH活性の誘導である。PCDDs, PCDFsは結合する塩素原子の数と位置による異性体により毒性やAHH誘導性が異なるが、異性体と毒性の間には高い相関性が観察されている。そこで我々は、薬物の構造活性相関において現在のところ最も有効な方法であるニューラルネットワーク法を用い、PCDDsとPCDFsの異性体と毒性との構造活性相関を調べた。本研究では下記に示す解析を行った。

①ダイオキシン類とジベンゾフラン類の全体的な毒性の比較

- ②Cl 原子の数と毒性との関係
- ③分子のイオン化エネルギーと毒性との関係
- ④分子の最低空軌道準位と毒性との関係
- ⑤分子の双極子能率と毒性との関係

その結果、AHH 薬物代謝酵素誘導性など3種の生物活性値に対してはIP 値とLUMOの準位が毒性に大きく関与することが分かった。それに対し生成熱及び双極子能率は活性には関係なく、Cl 原子数も活性への関与は弱い。

IP 値は最高被占軌道 (LUMO) のエネルギー値を現す。また、LUMO も強く相関することより、これらの化合物と酵素との結合は、電荷移動型錯体形成によることが強く示唆される。

2.2 揮発性有機塩素化合物

トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンを代表とする揮発性有機塩素化合物は、地下水への汚染を通して飲料水への汚染が大きな問題となっている。また最近では、一部の有機塩素化合物は成層圏まで達し、オゾン層破壊物質として地球環境問題にもなっている。日本では1987年にトリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、四塩化炭素、クロロホルム、1,2-ジクロロエタンが化審法（化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律）で指定化学物質となり、そのうちトリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、四塩化炭素は1989年に第2種特定化学物質と定められた。そして同年トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンは水質汚濁防止法有害物質に指定され、水質環境目標、排水基準が定められた。また廃棄物処理法及び海洋防止法における最終処分基準も設定された。

この特別研究では、大気や水の中の揮発性有機塩素化合物を自動測定するための分析装置の開発、この装置での自動測定結果を使用して、つくば地域における揮発性有機塩素化合物の健康リスク評価、トリクロロエチレンの動物に対する行動影響、有機塩素化合物の土壌中での反応、熱分解など環境中での変化の研究が行われた。

2.2.1 大気中の揮発性有機塩素化合物自動モニタリングとつくば地域におけるリスク評価

大気中の揮発性有機塩素化合物を自動測定する装置を開発した。移動可能な装置とするためには、ハロゲンに感度の良いECD 検出器は使用できないため、有機塩素化合物を分解して塩素イオンを電気伝導度で測定するHall 検出器をガスクロマトグラフの検出器として使用した。自動測定は吸着剤Porapak に0℃で空気を毎分40 ml、50分吸着後、180℃で脱離しガスクロマトグラフに導入、測定した。この装置を使用し、研究所構内で1988年11月から1989年12月までの368日間、クロロホルム、1,1,1-トリクロロエタン、四塩化炭素、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンの5種類の物質について70分ごとの大気濃度の自動測定を行った。いずれの物質も冬濃度が高く、夏低い季節変動が見られ、時間変動の最大値は通常には朝、最小値は日

中に見られ、この時間変動は冬に顕著であった。この自動測定値の 7023 点の平均を暴露量評価のための一般大気環境濃度として使用した。

また、これらの物質はクリーニングや家庭用品に使用されているため、大気の流通の小さい室内では大気濃度が高くなりやすい。つくば地域の高層住宅、一戸建て住宅、延べ 12 戸で 1990 年 10 月と 1991 年 2 月に室内濃度を調査した。起床時から就寝時までに 8 回、真空のステンレスボトルに採取したものを分析し、これらの測定値から 1 日の平均濃度を得た。これらの測定値から室内と室外の濃度差にしたものを図 10 に示した。1,1,1-トリクロロエタン、テトラクロロエチレン、クロロホルムは室外に比較して室内濃度が高くなっている。これらはそれぞれ家庭用品（防水スプレー、ゴム糊溶剤、修正剤）の使用、クリーニングした衣類、水道（湯）に由来すると考えられる。そのほかに有機塩素化合物濃度が高いと考えられたクリーニング店、道路交差点、スーパー、パチンコ店、駐車場、地下街などの大気濃度調査をした。一般的に空調設備が整っていたり、風通しの良い広い道路では高い濃度は検出されず、閉め切ったクリーニング店内、交通量の多い狭い道路で濃度が高いのがみられた。

これらの結果を合わせて、つくば市大人 1 日当たりの有機塩素化合物暴露量を推定したのが図 11 である。呼吸量 $20 \text{ m}^3/\text{day}$ 、水道飲水量 $2 \text{ l}/\text{day}$ 、室内にいる時間 17 時間としている。トリクロロエタンの暴露量が特別大きいのが、半分は室内濃度が高いことによる。クロロホルムは他の物質に比べ飲水による暴露があり、室内で高い原因も水によると考えられる。

発がんリスクの推定は、閾値がないという仮定でマルチステージモデルにより低濃度へ外挿して得られたユニットリスクを使用して行った。つくば市の一般環境濃度を使用して 100 万人当たりの過剰発がんを試算すると、クロロホルム、四塩化炭素、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレンは、それぞれ 19, 14, 1, 9 人となる。非発がんリスクの推定は、NOAEL の値が得られている四塩化炭素と 1,1,1-トリクロロエタンで図 11 に示した暴露量と比較すると、トリクロロエタンの暴露量は四塩化炭素の 10 倍以上にもかかわらず、非発がんリスクに対する安全率

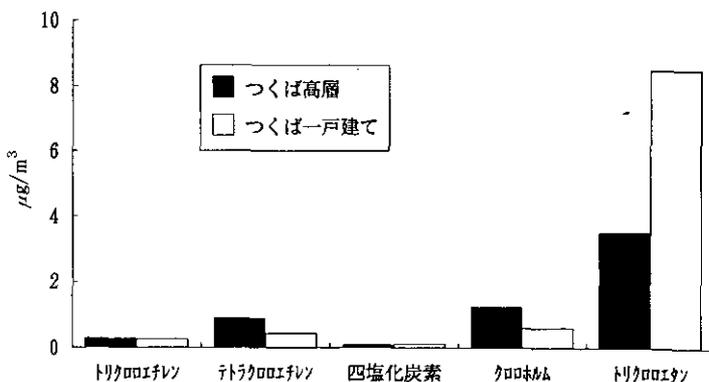


図10 揮発性有機塩素化合物の室内と室外濃度差 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

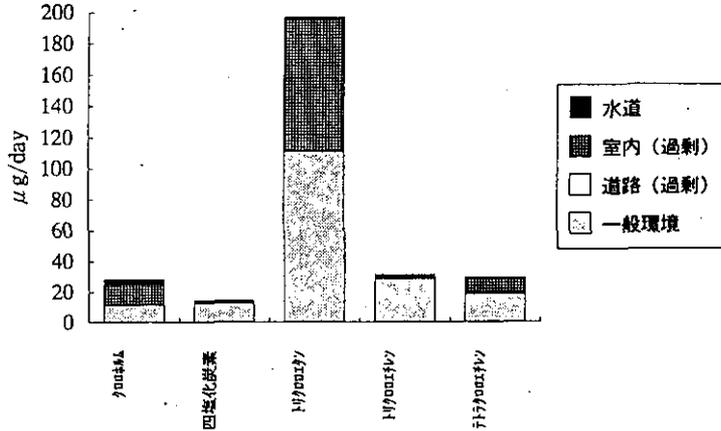


図11 つくば市大人1日有機塩素化合物暴露量
室内と道路での暴露量はそれぞれ室内17時間/1日，交通量の多い道路に15分/1日いることによる過剰暴露量として表してある。

としては四塩化炭素の方が低いことが分かった。

2.2.2 トリクロロエチレンの行動に及ぼす影響

今日までの労働衛生学分野における報告によると，トリクロロエチレンの高濃度暴露の場合には，毒性としては主として中枢神経抑制作用（麻酔作用）が現れることが示されている。また，志願者を各種濃度のトリクロロエチレンに暴露した場合の自覚症状として，眼の刺激，眠気あるいは頭痛，倦怠感が現れるのに平行して行動能力や知的能力が低下することが知られている。これらの症状もまた，トリクロロエチレンが中枢神経系に作用し向精神作用を発現することを示している。したがって，トリクロロエチレンの生体影響を評価する上で，その中枢神経系の各種機能に及ぼす作用の検討は欠かすことができない。しかしながら，トリクロロエチレンの中枢神経系に及ぼす作用について，動物実験による系統的な検討は，今日までほとんどなされていない。

化学物質の中枢作用を動物実験で検討するにおいて，行動薬理学的方法を用いることは極めて有効である。そこで，トリクロロエチレンがマウスの種々の行動に及ぼす影響について検討したので，その成績を以下に紹介する。

(1) 正向反射に及ぼす作用

人において認められる麻酔作用は，動物においては正向反射の消失として観察される。表8は，2000～5000 mg/kgのトリクロロエチレンをICR系マウスの腹腔内に注射投与した場合にみられた正向反射消失の頻度を示している。トリクロロエチレンはオリーブ油に溶解し，マウスの体重100g当たり1mlとなるように濃度を調整した。この場合，2000 mg/kg, ip以上の投与で正向反

表8 正向反射に及ぼす作用の用量-効果相関とその予後

	5000mg/kg, ip	4000mg/kg, ip	2000mg/kg, ip
正向反射消失の割合	10/10	9/10	2/10
死亡率	9/10	4/10	1/10

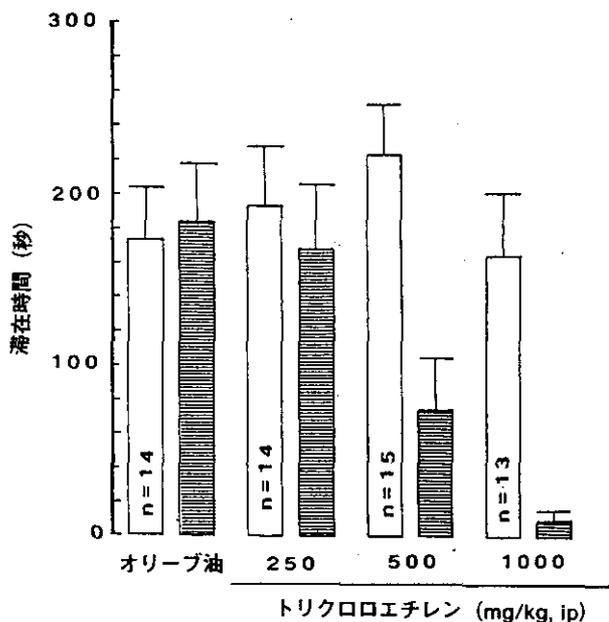


図12 マウスのブリッジテストにおける滞在時間のトリクロロエチレン投与による変化

□; 10 試行目の成績

■; オリーブ油あるいはトリクロロエチレン投与 30 分後の成績

射の消失したマウスが観察され、用量が高くなるにつれてその頻度が高まることを示している。さらに、これらの動物の予後についても観察し、その成績も表8に示してある。2000 mg/kg, ipでは1例が死亡し他は回復したが、5000 mg/kg, ipでは10例中9例が24時間以内に死亡した。

(2) ブリッジテスト

この実験では、直径約 15 mm の丸棒を床から 30 cm の高さで水平に固定し、マウスをその上に置き、マウスが棒上に滞在できる時間を最長 300 秒まで測定している。10 回の訓練の後、オリーブ油にトリクロロエチレンを溶解させたものを腹腔内に投与し、30 分後にチャレンジ・テストを行っている。その成績を示したのが図 12 である。トリクロロエチレンを 500 mg/kg, ip 以上投与した場合、マウスが棒上に滞在できた時間は、明らかに用量に依存して短縮した。このテストでは、マウスが丸棒上でうまくバランスをとって居続ける能力を評価しているので、トリクロ

ロエチレンは、500 mg/kg, ip 以上でマウスの協調的運動能力を低下させることが明らかとなった。マウスにおけるトリクロロエチレンのこのような作用は、ヒトにおいて報告されている行動能力を低下させる作用に通じるものであろう。

(3) 正強化オペラント行動（レバー押し）に対する影響

マウス用スキナー箱を用いて、食餌を強化子とする正強化オペラント行動（レバー押し）をマウスに条件付け、FR 10 で維持させた（1日1試行、1試行1時間）。レバー押しの頻度（反応数）が安定したのを確認した後、トリクロロエチレンの投与実験を行った。トリクロロエチレンはオリーブ油に溶解してマウスの腹腔内に投与した。投与 30 分後にそのマウスをスキナー箱に入れ、1時間におわたって反応数（レバー押しの頻度）を測定している。図 13 はその結果を示している。図から明らかなように、500 mg/kg, ip 以上のトリクロロエチレンの投与により、反応数が用量に依存して低下した。本実験で観察した正強化オペラント行動とは、レバーを一定回数（今回の場合は 10 回）押したときに食餌ペレット（20 mg）を 1 個与えることによって学習させた習得的行動である。したがって、トリクロロエチレンは学習した行動の遂行を妨げる作用を有することを示している。このようなトリクロロエチレンの作用は、ヒトにおいて種々の作業や仕事を行うことを妨げる可能性を予想させる。ヒトにおけるトリクロロエチレンによる行動能力や知的能力の低下との関連性が考えられる。

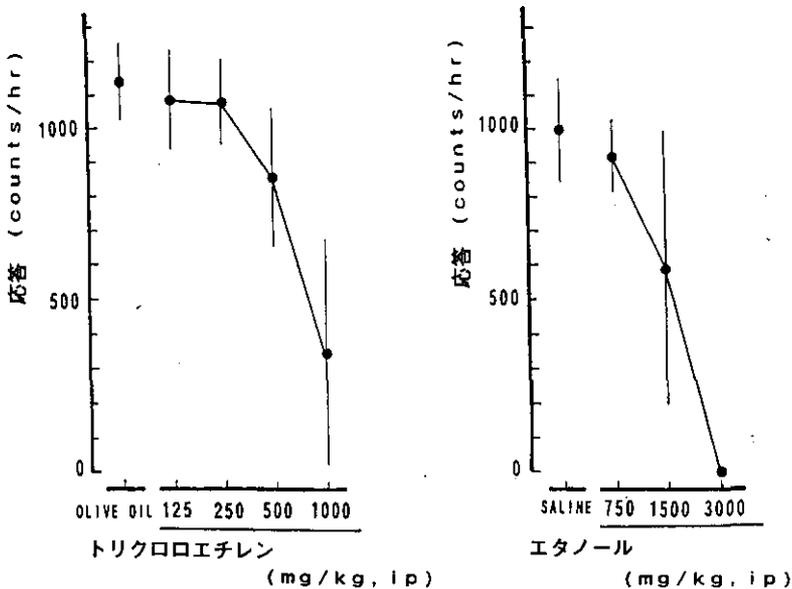


図13 マウスの食餌による正強化オペラント行動（レバー押し，FR10）のトリクロロエチレン及びエタノールによる変化（n=6）

(4) ペントバルビタールの麻酔作用のトリクロロエチレンによる修飾

ペントバルビタールは中枢神経系に作用し、十分な量を与えれば麻酔作用を発揮する。したがって、トリクロロエチレンが中枢作用を有するのであれば、ペントバルビタールの作用と何らかの相互作用を示し、その作用を修飾することが予想される。そこで、ペントバルビタールとトリクロロエチレンを併用したときの正向反射に対する作用について検討した。

実際には、トリクロロエチレン 500 mg/kg をマウスの腹腔内に投与し、30 分後にペントバルビタール 25 mg/kg をさらに腹腔内に投与し、正向反射が消失している時間を測定している。対照として、オリーブ油を投与してから 30 分後に同じ用量のペントバルビタールを与えた場合について検討した。表9はその成績をまとめたものである。トリクロロエチレン 500 mg/kg, ip を投与すると、単独では正向反射を消失させないものの、ペントバルビタールの正向反射を消失させる作用を明らかに増強させた。この成績は、トリクロロエチレンが持つ中枢抑制作用がペントバルビタールの作用と協力し、その作用を増強させたことを示唆している。

表9 ペントバルビタールの麻酔作用のトリクロロエチレンによる修飾

	オリーブ油+ペント25mg/kg, ip	トリクレン500mg/kg, ip+ペント25mg/kg, ip
正向反射が消失した割合	3/4	4/4
正向反射消失時間	3.2 min	60 min
	12.8	60
	29.7	60
		60
	15.2±13.4	67.5±5.0

(5) まとめ

以上のように、トリクロロエチレンの 500 mg/kg 以上をマウスに腹腔内投与した場合、行動作用を発揮することが明らかである。これらマウスの行動に及ぼす作用は、トリクロロエチレンが中枢神経抑制作用を有することを示唆している。

2.2.3 土壌中の有機塩素化合物の定量と土壌中の反応

土壌中の揮発性有機塩素化合物（ジクロロメタン、1,1-ジクロロエチレン、trans-1,2-ジクロロエチレン、cis-1,2-ジクロロエチレン、1,1-ジクロロエタン、1,2-ジクロロエタン、クロロホルム、1,1,1-トリクロロエタン、四塩化炭素、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン）を、土壌サンプルの加熱気化成分の Tenax GC 管への濃縮、濃縮成分のキャピラリー GC/MS への導入によって、高感度高精度に分析する方法の開発を行った。検出限界は 0.05~0.5 ng, 回収率はすべての物質で 90% 以上、相対標準偏差は 1.1~5.6% と良好であった。この分析システム

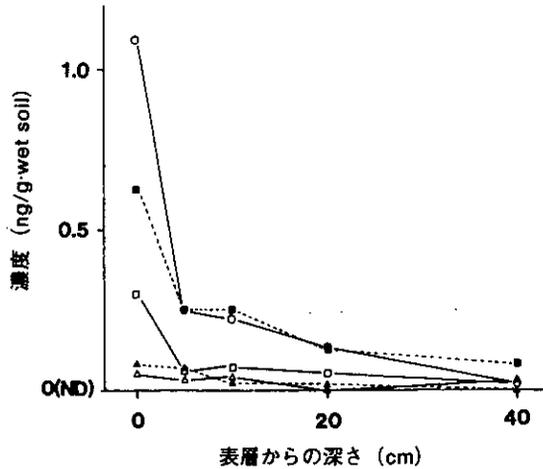


図14 揮発性有機塩素化合物のバックグラウンド地域の鉛直濃度分布
 △：DCM, ■：TCM, □：TCA, ▲：TCE, ○：PCE

を使って汚染レベルの異なる3地域において、土壌中の揮発性有機塩素化合物の分析を行った。その結果、直接的な汚染源のない地域においてもテトラクロロエチレン等が土壌中に最高2 ng/g・湿土壌の濃度レベルで存在することが明らかになった。またそれらの鉛直濃度分布は図14に示すように、表層に近いほど高濃度となる傾向を示して、その起源が大気からの寄与（雨水を含む）であることが示唆された。

殺菌した鹿沼土や黒ボク土を使ったモデル実験で土壌への吸着及び化学反応を調べ、土壌への有機塩素化合物の吸着係数を算出した。その結果、含水率の少ない表面土壌では土壌中の有機成分より粘土鉱物等の無機成分への吸着を考える必要があることが示された。また土壌中でこれら化合物の反応速度は土壌中濃度に対し1次で進んだ。反応速度を図15に示してあるが、1,1,1-トリクロロエタンから1,1-ジクロロエチレンへの速度が非常に大きいことが分かった。これは使用量が少ないにもかかわらず地下水汚染調査で近年1,1-ジクロロエチレンが検出されることとの関連が考えられる。

2.2.4 トリクロロエチレンの熱分解

トリクロロエチレンを熱処理した場合、どのような分解をするかを知るために空气中でトリクロロエチレンを熱分解し、分解生成物を調べた。室温で154 ml/lのトリクロロエチレンを含んだ空気を300, 400, 500, 600, 700, 800℃に加熱した石英管に通した。トリクロロエチレンは容易に熱分解され、500℃ぐらいで大部分が壊れてしまい、生成物の種類は400℃で最も多かった。表10は1gのトリクロロエチレンを熱分解したときの生成物を示す。多くの塩素が入ったアルカン、アルケン類、ヘキサクロロベンゼン、酸素との反応生成物トリクロロ酢酸メチル等が検出

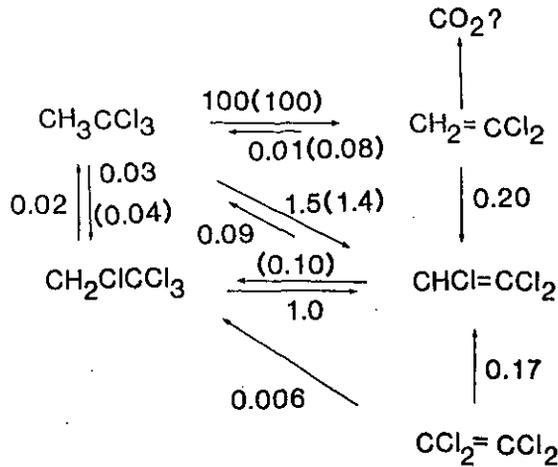


図15 1,1,1-トリクロロエタン，トリクロロエチレン，テトラクロロエチレン等の乾燥鹿沼土表面における一次反応速度係数 (/h)

表10 トリクロロエチレンの熱分解生成物

化合物名	生成量 (μg)						Tr (min)
	熱分解温度 (°C)						
	300	400	500	600	700	800	
四塩化炭素*	216	8200	38600	73500	48400	31000	10.64
トリクロロエチレン*	302000	143000	773				12.13
テトラクロロエチレン*	1720	40400	68500	81000	27200	173	16.54
トリクロロ酢酸メチル*	3450	9090					20.67
1,2,3,3-テトラクロロプロペン	474	199					21.09
塩化2,3,3-トリクロロプロペノイル	444	827					22.46
ペンタクロロエタン*	58	186					22.96
ペンタクロロシクロプロパン	1850	2300	167				25.35
ヘキサクロロエタン*	1454	16100	2260	481	313		26.44
1,1,2,3,3-ペンタクロロ-1-プロペン	390	2780					26.56
ヘキサクロロプロペン	92	831					30.43
ヘキサクロロブタジエン*	1970	4280	4160	809			30.65
1,1,1,2,3,3,3-ヘプタクロロプロパン*		93					33.64
ヘキサクロロシクロペンタジエン*		106					34.11
ペプタクロロブテン	55	204					36.29
ヘプタクロロブテン		73					36.92
ペンタクロロベンゼン*		131	44				39.27
ヘキサクロロベンゼン*		807	1420	290	43		45.12

*: 標品との照合を行い，定量した化合物。これ以外はトリクロロエチレンの検量線で定量した。

された。

2.2.5 クロロプロペン類の分子軌道計算

有機塩素化合物は我々の身の回りの至るところに存在している物質であるが、近年それらの発がん性が問題となってきた。その発がん機構についてはいくらか明らかになりつつあるものの、ほとんど未解決といってよい。ここで取り上げるクロロプロペン類は土壌改良剤としてや、プラスチック工業材料としても広く使われ、そのいくつかは発がん性が認められ変異原性も調べられてきた。その結果、クロロプロペン類は塩素の置換位置によって2通りの変異原性発現機構があると考えられている。このことを詳細に検討するために、 $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2\text{Cl}$ (1), $\text{CH}_2=\text{CCl}-\text{CH}_2\text{Cl}$ (2), $\text{CHCl}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{Cl}$ (3), $\text{CHCl}=\text{CCl}-\text{CHCl}_2$ (4), $\text{CHCl}=\text{CCl}-\text{CH}_2\text{Cl}$ (5), $\text{CCl}_2=\text{CCl}-\text{CCl}_3$ (6) について分子軌道計算を実行した。

計算方法：分子軌道計算 GAUSSIAN 88 で実行し、基底には STO-3G を用いた。各化合物について、考えられる構造異性体すべてについて構造最適化を完全に行った。塩素イオンが取れたときのアリルカチオンについては平面構造の範囲で構造最適化を行った。

結果：基本骨格は図 16 に示した。結合距離、原子価角、電荷分布、HOMO と LUMO の軌道エネルギー等の構造異性体間の差は分子間の差に比べて小さかった。安定構造の特徴として、 $\text{C}^1=\text{C}^2$, C^2-C^3 の結合距離は置換塩素数が多くなるほど長くなっていて、平均はそれぞれ 1.318, 1.528 Å である。また、 $\text{C}-\text{Cl}$ の結合距離は炭素が C^1 , C^2 , C^3 となるにつれて長くなっていて、1.769 Å から 1.825 Å まで変化している。 C^3 に結合している塩素原子の安定配向は3つの炭素原子の作る平面にはなく、(1) から (4) では $\text{C}^1=\text{C}^2-\text{C}^3-\text{Cl}$ の二面体角が約 120° であり、(5) と (6) では 60° であった。表 11 に炭素原子の電荷の計算結果を示した。 $\text{C}^1=\text{C}^2$ がエポキシ化される過程で変異原性を示すと考えられる (2), (4), (5), (6) では、 Q^2 が正であり、エポキシ化されやすいことを示している。また、定量性はないが変異原活性の強いものほど大きな値となっている。一方、 $>\text{C}^3-\text{C}^1$ が加水分解され、 $>\text{C}^3-\text{OH}$ となり、さらに $>\text{C}^3=0$ になる過程で変異原性を示すと考えられる (1), (3), (5) に共通している電荷分布は見あたらなかった。また、後者の過程に関与するアルコールやアルデヒドの構造最適化を行って、エネルギー変化を調べて見たが、実験事実を説明できるような結果は得られなかった。アリルクロライド類では、 C^3 に結合している塩素原子が取れてできるアリルカチオンが直接核酸塩基を攻撃するという説もあるので、アリルカチオンの計算を行った。表 12 に結果の一部を示す。塩基と求電子的

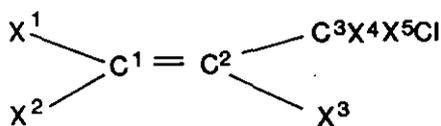


図16 クロロプロペンの基本骨格

表11 クロロプロペン類の炭素原子の電荷

	Q ¹ * ¹	Q ²	Q ³
(1)* ²	-0.120	-0.048	-0.058
(2)	-0.110	0.060	-0.058
(3)	-0.012	-0.039	-0.061
(4)	0.001	0.061	0.043
(5)	-0.007	0.065	-0.061
(6)	0.094	0.057	0.140

*¹: 基本骨格は図16

*²: クロロプロペン異性体の番号は本文参照

表12 クロロプロペンのアリルカチオンの電荷分布と LUMO

	Q1* ¹	Q2	Q3	E(LUMO, eV)
(1)* ²	0.107	-0.081	0.107	-0.167
(2)	0.113	0.010	0.113	-0.186
(3)	0.164	-0.074	0.089	-0.175
(4)	0.148	0.019	0.148	-0.195
(5)	0.165	0.015	0.091	-0.190

*¹: 基本骨格は図16

*²: クロロプロペン異性体の番号は本文参照

に反応すると、Q³の値はむしろ反対の傾向にあり、LUMOのエネルギーも一貫性が見られない。クロロプロペンとそれに対応するカチオンのエネルギー差からは、カチオンが不安定なほど変異原活性が強いという傾向が見られた。今後、さらに反応機構を細かく検討する必要がある。

2.3 有機スズ

有機スズ化合物のうち、トリフェニルスズとトリブチルスズが船底塗料や漁網防汚剤などに添加され、フジツボ、貝、海藻などの付着を防ぐ目的に広く使用されてきた。なかでもトリブチルスズによる海域の汚染が世界各地で問題となり、我が国周辺海域でも同様の汚染が進行していると同時にトリフェニルスズの汚染も存在していることが明らかにされている。トリブチルスズは毒性の強い化合物で、水中濃度が数 ppt 程度でも生態系に影響を及ぼすといわれている。例えば、ある種の海産巻貝類では、1 ppt 程度のトリブチルスズの影響で雌が不妊化することが知られている。自然状態では、これら巻貝類の繁殖に重大な影響を及ぼし、例えば、イギリスの南西部沿岸では、トリブチルスズによる海域の汚染により、ヨーロッパチジミボラの生息量の減少が報告された。日本においても、東京湾などでバイの漁獲が極めて減少しており、この原因の一つに、有機スズによる影響を指摘する声もある。

日本では、化審法により、有機スズ化合物のうち、トリブチルスズオキシド $[(C_4H_9)_3Sn_2O]$: TBTO] が第1種特定化学物質に指定され、製造、使用などが原則的に禁止された。さらに、トリブチルスズ基をその構造に持つ13種の化合物群が、第2種特定化学物質としての規制（製造、輸入量の届出等）を受けている。また、トリフェニルスズ化合物も使用量はトリブチルスズ化合物に比べ少ないものの、船底塗料や漁網防汚剤などに使用され、天然の魚介類から1 ppmを超える濃度で検出され問題となり、第2種特定化学物質に指定された。特に、トリフェニルスズに関しては、1989年6月までに船底塗料などの用途には、国内向けの出荷は自主的に停止されているという。また、その水酸化物を含む農薬については、1990年に農薬としての登録が失効し、現在その製造、販売は行われていない。これらのことから、トリフェニルスズ化合物の海域への負荷は現在では相当減少していると考えられる。また、日本でのトリブチルスズ化合物の製造、輸入数量は、1989年度時点で減少傾向は見られていない。

有機金属化合物である有機スズは、海水中では塩化物、ヒドロキシドなど様々に形を変えて溶解している。また環境中で比較的容易にブチル基、フェニル基が一部取れ、ジブチルスズ、ブチルスズ、ジフェニルスズ、フェニルスズといった分解物が生じる。そのため研究課題として分解物、代謝物までを分離して分析でき、かつ、どのような形態でも分析できる方法の開発をした。また、十分な知見の得られていない溶解度、底質への吸着といった基礎データの収集、沿岸生物を用いた環境濃度の経年変化、貝類や培養細胞を用いた毒性影響について検討を加えた。

2.3.1 ブチルスズ、フェニルスズの分析法の開発と代謝産物の同定

化学形態に関する情報が得られる高感度高精度な分析法の開発を行った。魚介の試料は抽出脱水した後、表13に示すような5つの方法の検討を行った。分離法としてガスクロマトグラフ（GC）と高速液体クロマトグラフ（HPLC）の検討を行ったが、現在のところGCのほうが代謝物や分解物まで完全に分離でき、また検出器としては質量分析計（MS）、炎光光度検出器（FPD）

表13 有機スズ化合物の分析法

分析法/検出法	誘導体	検出限界
ガスクロマトグラフ		
FPD	イソプロピル化物	50pg*
MS(SIM)	同上	1pg
MS(SIM)	水素化物	5pg
高速液体クロマトグラフ		
AA(long tube)	塩化物/トロポロン	5ng**
ICP-AES	同上	10ng
ICP-MS	同上	50pg

* : pg=10⁻¹²g

** : ng=10⁻⁹g

が有効であることが分かった。また、質量分析計で検出する場合には重水素で標識した有機スズ化合物を、FPDで検出する場合にはトリベンチルスズを内部標準として用いることにより分析精度を高めることができた。さらに、分析精度を保証するために、東京湾で捕れたスズキを使ってスズ分析のための魚肉の標準試料を作製した。この標準試料は、全スズとして2.4 ppm、塩化トリフェニルスズ6.3 ppm、塩化トリブチルスズ1.3 ppmの値が得られている。

環境試料の分析を進めるにつれて、ジブチルスズやブチルスズといった、単に有機スズの炭素とスズの結合が切れた分解物以外に、いくつかの有機スズ化合物が見いだされた。この有機スズ化合物の構造をGC/MSを用いて検討した結果、これらの化合物は、トリブチルスズのブチル基が水酸化、あるいはケト化されたトリブチルスズの代謝産物であることが分かった。これらの代謝産物のうちムラサキイガイ中で最も含有量が多かったのは、ジブチル(3-オキシブチル)スズであった。そのほか、ジブチル(3-ヒドロキシブチル)スズ、ブチル(3-ヒドロキシブチル)スズ、ブチル(3-オキシブチル)スズなどが同定された。ムラサキイガイでは、これらの代謝産物の濃度がトリブチルスズ濃度を超える場合もあった。そこで、標準品を合成し、代謝産物を含めた有機スズの測定を可能とした。

2.3.2 トリブチルスズ、トリフェニルスズ化合物の溶解度と海水-底質間の分配

(1) 塩化トリブチルスズと塩化トリフェニルスズの溶解度

船底の防塗料として用いられている有機スズ化合物による水域の汚染を評価するためには、この化合物の船底塗料からの供給量とその後の挙動を把握する必要がある。しかし、この化合物の溶液中における物理化学的性質については詳しい検討はなされていない。そこで本研究では、代表的な有機スズ化合物である塩化トリブチルスズ(TBTCl)及び塩化トリフェニルスズ(TPTCl)について、その供給、挙動いずれにも関与すると考えられる飽和溶解度を25℃において正確に測定し、さらに塩分濃度、水素イオン濃度の影響について詳しく検討した。

図17に示すようにTBTClの純水への溶解度は水素イオン濃度に大きく依存し、pH8付近で最小値を示し、50 mg/lとなったが、これより低いpH領域では非常に高い値を示した。これは塩素イオンの共存がない場合には塩素イオン(Cl⁻)が解離してTBT⁺イオンを生じており、このイオン性化学種が水に溶解しやすいことによると考えられた。NaClを共存させた場合、濃度が0.1 M、0.5 Mと上昇するとTBTClからCl⁻の解離が起こり難くなり水素イオン濃度の影響は小さくなる。またNaClが0.1 Mの場合には中性付近における溶解度は20 mg/l程度、0.5 Mでは5 mg/l程度であった。塩分濃度の違いによるこの中性付近の溶解度の違いはCl⁻の存在によりTBTClの解離が平衡的に抑えられ、この解離化学種から生成する炭酸塩や水酸化物の濃度も減少するためと考えられる。一方、TPTClの場合には純水、0.5 M NaClいずれの溶液でも溶解度は3~5 mg/lでほぼ等しく、水素イオン濃度に対する依存性も小さかった。これはTPTClはTBTClに較べて塩化物イオンの解離が起こり難いためと考えられる。ASTMの組成による合

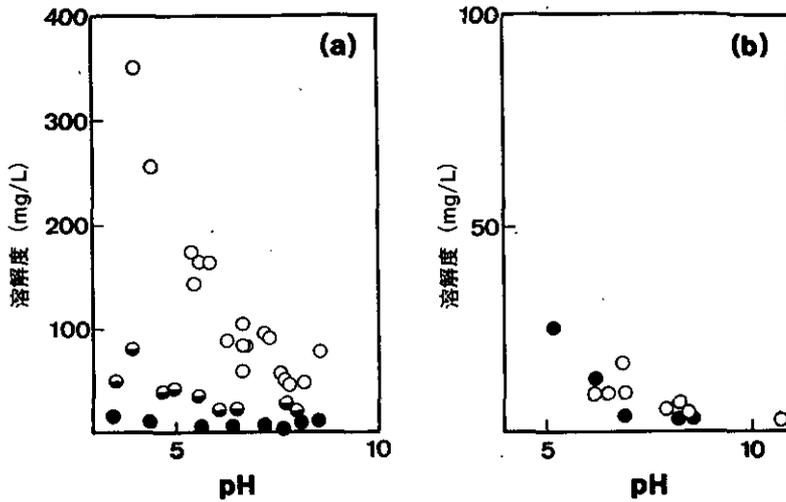


図17 塩化トリブチルスズ(TBTCI)(a)及び塩化トリフェニルスズ(TPTCI)(b)の飽和溶解度
○：純水，◐：0.1 M NaCl水溶液，●：0.5 M NaCl水溶液

成標準海水への溶解度はTBTCIとTPTCIのいずれの化合物においても5 ppm程度であった。

以上のようにTBTCIでは塩分濃度や水素イオン濃度の変化により溶解度が著しく変化することが分かった。河口や汽水域においてはこれらの値が大きく変化するため、この化合物のモニタリングを行い汚染状況を推定する場合には、調査地点等に注意を要すると考えられる。

(2) トリフェニルスズ、トチブチルスズ化合物の海水-底質間の分配

有機スズ化合物のうち、トリフェニルスズ(TPT)の環境中の挙動はトリブチルスズ(TBT)に比べ十分には研究されていない。TBTについては底質が蓄積の場になっていることが明らかになっているので、貝類などの生物への有機スズ化合物の蓄積の調査研究のフィールドの1つであった東京湾の底質を対象として、海水と底質間のTPTの分配をTBTの場合と比較した。また底質を構成している有機物質、鉛成分などがこの分配にどのように寄与しているかを明らかにするために、海水と各成分間の分配についても調べた。

東京湾中部で採取した表層底質を遠心分離により脱水して試料として、これに塩化物として約 $1 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ のTBT、TPT化合物を添加した海水を加え振とうした。海水と底質を遠心分離後、各相の有機スズをトロポロンを加えたベンゼンで抽出、グリニヤール試薬でペンチル化してガスクロマトグラフ-炎光光度法(GC-FPD)、またはガスクロマトグラフ-質量分析法(GC-MS)によって定量分析した。得られた各相の濃度から海水単位容量当たり、底質単位乾燥重量当たりの分配係数($\mu\text{g}/\text{g}$) / ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)を求めた。海水中の濃度 $0.1 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ の領域における分配係数は、TBTでは 1×10^3 、TPTではその1/2程度の値となった。TBTの値はより低濃度域で

求められた文献値の範囲にほぼ一致する。TBTの底質への吸着量は、海水中の濃度に比例したのに対し、TPTでは海水中濃度当たりの吸着量は濃度とともに減少する傾向があり、吸着機構における相違が示唆された。

海水から底質への移行における底質中の有機物質の役割を評価する目的で、底質試料を600℃で空气中で加熱処理し、有機成分を酸化除去した残渣試料で分配の実験を行った。強熱減量は乾燥重量当たり約14%で、加熱処理によりX線回折法で検出される鉱物成分では、硫化鉄(FeS₂、黄鉄鉱)の酸化鉄(Fe₂O₃、赤鉄鉱)への変化が認められた。窒素分子の吸着により求めた比表面積は乾燥底質で27.4 m²/g、強熱残渣で28.2 m²/gであって、物理的な吸着容量にはほとんど変化がないが、強熱残渣を用いて有機スズ化合物の海水との分配を調べると、底質自身に比べて、TBTで約1/10、TPTで約1/30に減少した。これは強熱により失われた底質中の有機物が分配に主要な役割を果たしていること、強熱残渣中の鉱物成分による吸着量は小さいことを示している。

粘土鉱物カオリナイトの比表面積は東京湾底質の強熱残渣より小さいが、TBT、TPTの分配係数は、強熱残渣より大きく、TBT、TPTの分配における挙動の差も底質の場合と同様な傾向が認められる。このように底質中の各成分が、有機スズ化合物の分配(吸着)に対し、特異的な性質を示し、それらの総和が、海水-底質間の分配を支配していると考えられる。

有機スズ化合物の水-底質間の分配機構のうち、イオン交換機構によるものについては、イオン交換性の陽イオンを保持している層状粘土鉱物モンモリロナイトを例として調べた。モンモリロナイト層間の交換性Na⁺イオンは、TPT飽和水溶液中でTPT陽イオンと容易に交換する。TPTの水中濃度は低い(溶解度は~1 μg/cm³の程度)にもかかわらず交換が十分に起こることは、分配(交換)の推進力が、有機化合物の水-有機相間の分配の場合と同様に、溶液相のTPT濃度自体ではなく、飽和モル分率との比で定義されるその活量であることを示している。一方、海水中のTPTのモンモリロナイトとの交換量は水溶液の場合の1/10以下に抑えられ、モンモリロナイト層間の主陽イオンは、海水中のTPTの有無によらず、海水から取り込まれるMg²⁺イオンが80%以上を占める。海水からのイオン交換による有機スズ化合物の底質への分配は著しく阻害されていると考えられる。

2.3.3 アサリ、ムラサキイガイ中の経年変化

沿岸域の環境汚染のモニタリング手法の1つにムラサキイガイを指標生物に用いる方法がある。ムラサキイガイは足糸により他のものに付着し、ろ過摂餌により生活する二枚貝であり、生息地点が明確であること、試料の採取が容易であることなどの理由により全世界的に盛んに利用されている。トリブチルスズのモニタリングにも、ムラサキイガイがよく使用されている。上記の分析法を用い、1989年の夏に東京湾岸各地で採取したムラサキイガイ中の有機スズ濃度を測定した結果を図18に示した。すべての地点からスズ化合物が検出されたが、その濃度は場所に

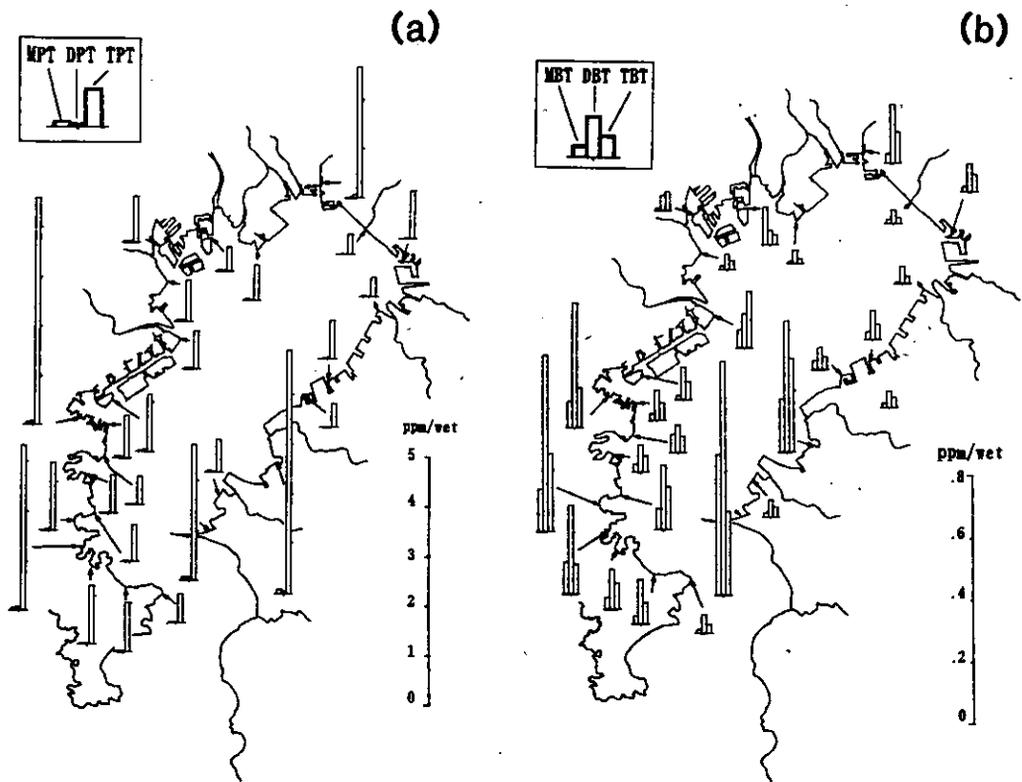


図18 東京湾のムラサキイガイ中のブチルスズ (a), フェニルスズ (b) 濃度

よって大きく異なった。例えば、富津港内（千葉）ではフェニルスズもブチルスズ濃度も高いが、数 km 離れた富津岬では低いというように、その汚染はかなり局所的なのが見られる。図 18 を比較してみると、ブチルスズ化合物のほうは分解代謝産物のジブチルスズやブチルスズがトリブチルスズより多く検出されているのに対し、フェニルスズ化合物はほとんどがトリフェニルスズである。これは、トリブチルスズのほうがムラサキイガイでは代謝が速いためと考えられる。また、トリフェニルスズとトリブチルスズを比較すると、ムラサキイガイではトリフェニルスズの蓄積が多く、一桁近く多い場合があった。

規制後の有機スズ濃度が環境中でどのように変化するかを知るために、引き続き、東京湾岸のムラサキイガイを用い有機スズ化合物の調査を継続した。汚染地域として横浜港、比較的汚染の少ない地点として浦安（千葉）を選んだ。両地点ともムラサキイガイ中のトリブチルスズの濃度は、冬に高く夏に低い、また逆に代謝産物は冬に低く夏に高いという季節変化や、小さな貝ほどトリブチルスズ化合物の体内濃度が高い傾向が認められたが、1989 年から 1991 年にかけてトリブチルスズ濃度の経時的な減少傾向は見いだせなかった。季節やムラサキイガイの大きさによる濃度の違いの原因について検討を加えた結果、ムラサキイガイのブチルスズ化合物に対する代謝

活性の変化が主要要因であり、小さな貝ほど濃縮部位であるエラや腎臓の占める割合が大きく、代謝が行われる内臓部分の割合が小さいことで説明することができた。したがって、ムラサキイガイを用い、環境濃度の経年的変化を知るためには同季節、同サイズの個体の測定値を比較する必要がある。

一方、トリフェニルスズの場合は、同物質を含む船底塗料が1989年に国内では販売されなくなって以来、ムラサキイガイ中の濃度は指数関数的（図19）に減少しており、その半減期は4か月と見積もられた。この間、ムラサキイガイ中のトリフェニルスズに対するトリフェニルスズ分解産物の組成には変化が見られないことから、溶出源のフェニルスズ化合物の組成にも変化がなく、単に量のみが減少していると推測された。これは、トリフェニルスズを含む塗料からの溶出が減少したためであると考えると容易に説明できる。ただし、東京湾央の底質中のトリフェニルスズ濃度はあまり変化しておらず、底質中での半減期はムラサキイガイのそれより長いと思わ

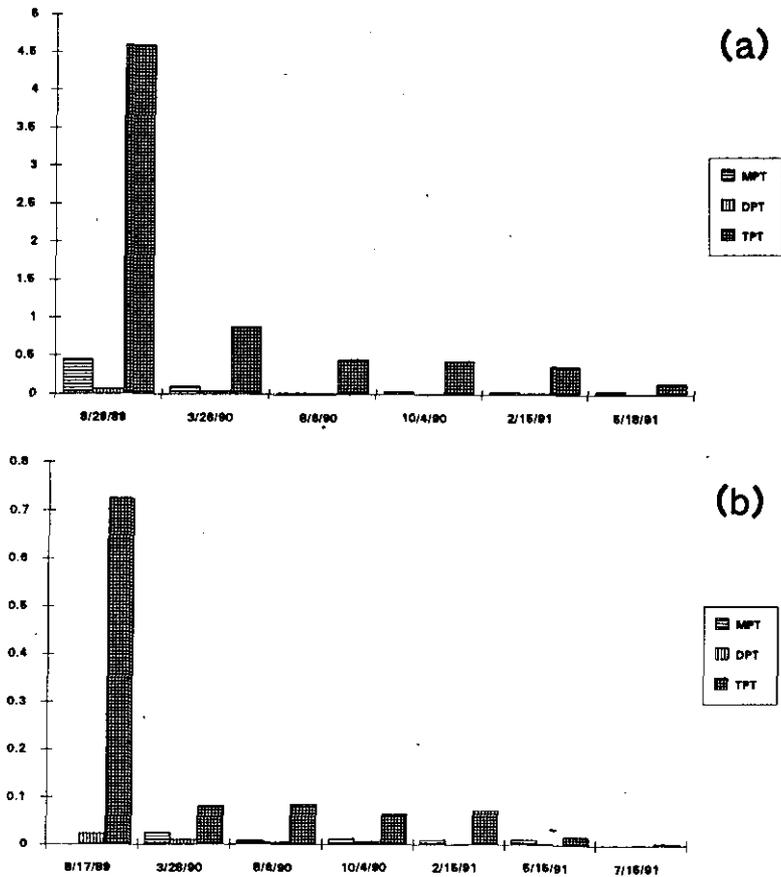


図19 横浜港 (a)、浦安 (b) のムラサキイガイ中のフェニルスズ濃度の経年変化

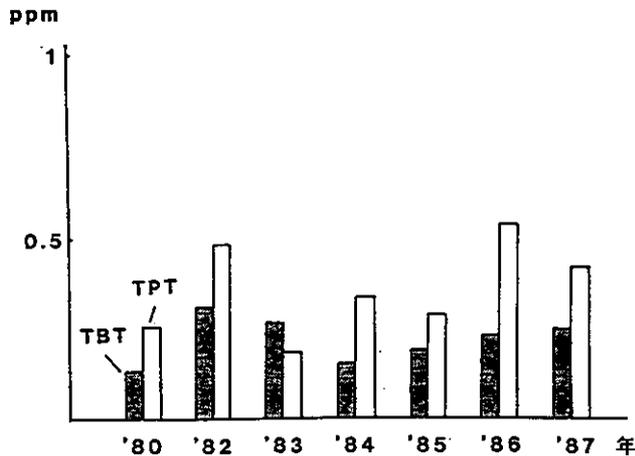


図20 東京湾のアサリの中のトリブチルスズ (TBT) とトリフェニルスズ (TPT) の経年変化

れることから、底質に吸着された有機スズの海水への再溶出に関しては、注意しておく必要がある。

有機スズの貝類への濃縮はいつごろから始まっているかを知る目的で、1980年から1987年に東京湾で採取したアサリを冷凍しておいた保存試料のトリブチルスズとトリフェニルスズ濃度を調べた。図20に示したように、1980年ですでに汚染は始まっており、それが横ばいで続いていることが示された。

2.3.4 海産生物への濃縮

化審法による法的規制や自主的な使用規制の効果もあり、特に、トリフェニルスズの環境中濃度は減少傾向にあることが示された。TPT化合物の船底塗料としての使用量は、トリブチル化合物 (TBT) と比較してその1/10程度と考えられているが、今までに報告された海産生物中のTPT濃度は、TBT濃度以上である場合もあり、両者の環境中での挙動の違いが指摘されていた。また、ムラサキイガイを部位別に測定した結果、TPTの濃縮部位は腎臓であり、TBTと異なりエラ中の濃度は他の組織と同程度でしかなく、経鰓とともに経餌の取込みも重要であることが示唆された。そこで、食物連鎖の観点から、各種の潮間帯生物を同時期、同一地点で採取し、生体中の濃度の測定を行った。下田 (静岡)、油壺 (神奈川)、平磯 (茨城) より二枚貝、巻き貝、海藻などの磯生物を同時期に採取し、それぞれホモジェナイズしたものを試料とした。図21に測定結果の一例を示す。ブチルスズの体内濃度は、生物種によって大きく異なった。例えば、二枚貝ではムラサキイガイ<アコヤガイ<カキの順にトリブチルスズ濃度が増す。また、トリブチルスズ濃度が低い生物ほどトリブチルスズに対する代謝産物の相対濃度が高いことから、この原因

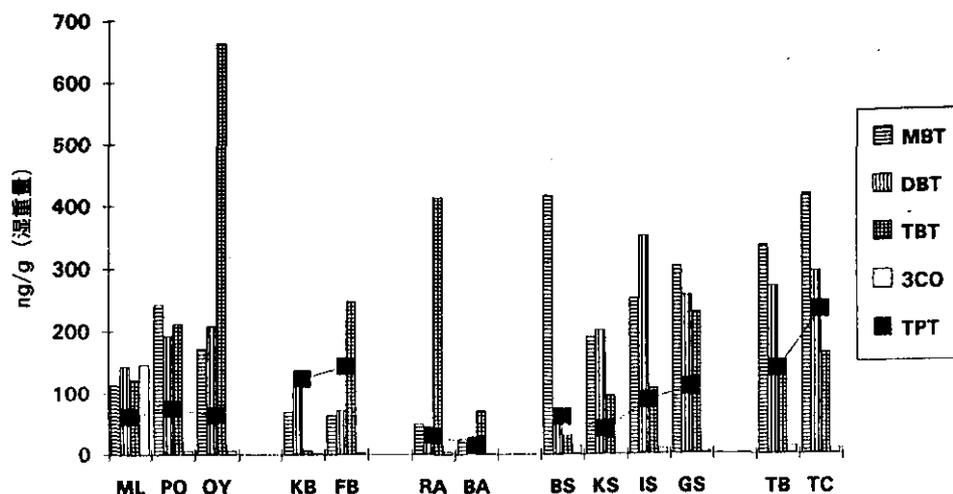


図21 潮間帯生物中の有機スズ濃度
 DBT：ジブチルスズ，MBT：ブチルスズ，TBT：トリブチルスズ，3-CO
 ：3-オクソブチルジブチルスズ，TPT：トリフェニルスズ，ML：ムラサキ
 イガイ，PO：アコヤガイ，OY：カキ，KB：カメノテ，FB：フジツボ，
 RA：紅藻，BA：褐藻，BS：カサガイ，KS：クボガイ，IS：イシダタミ，
 GS：コシダカガンガラ，TB：レイシ，TC：イボニシ

は生物種による代謝活性の相違によるためであることが推測された。一方，トリフェニルスズの濃度は，海藻<草食動物<肉食動物の順となり，同じ栄養段階に位置する生物はほぼ同じ濃度を示した。これは，これら海産生物によるTPTの代謝は起こりにくく，食物連鎖の上位の生物に濃縮される傾向のあることを示唆している。

2.3.5 巻貝での毒性評価

イギリスではヨーロッパチヂミボラの雌が，本来，雄のみが有するペニスを持つようになり，輸精管の発達に伴い輸卵管の圧迫，閉塞され，最終的には産卵不能となる個体が出現する。この一連の症状はimposexと呼ばれ，その後の調査により，原因物質はトリブチルスズであり，その水中濃度が1 ng/l程度で発症し，7.5~12.5 ng/lでほとんどすべての未成熟雌の輸卵管が閉塞し産卵不能となり，25 ng/l以上では卵形成が完全に阻害され精子を産生するようになることが示された。さらに，この種に限らず，様々な巻貝が同様の症状を呈していることが明らかになってきた。我が国沿岸の汚染レベルから考えると，巻貝にimposexが起きている可能性が高かったが，これまでのところ詳細な調査がほとんどなされてこなかった。そこで日本沿岸で代表的な巻貝であるイボニシとレイシガイに対する実態調査を行った。

1990年と1991年の5~8月にかけて全国16か所でイボニシとレイシガイを採集し，imposexの発症やその程度と体内有機スズ含有量を調べた。imposexの発生率は調査地点ではほ

100%で、ペニスを持たない雌（すなわち imposex でないと見られるもの）は、レイシガイについて平磯（茨城）で2個体、小湊（千葉・外房）で1個体、そしてイボニシでは泊（鳥取）で2個体見られたただけだった。これらの imposex の程度を見ると、外房域や日本海側の海水の交換の良いところで比較的軽症であるのに対して、レジャーボートその他の船舶が特に多いと見られる地点で症状が重く、ある地点では事実上産卵できなくなっていると見られる個体の存在比率が60~75%であった。調査地点のうち、相川（新潟・佐渡）ではイボニシの imposex は見いだされず、すべて正常な個体が採取された唯一の地点となった。図 22 に imposex の指標としてよく使われる各地点の RPS 値 [注：RPS = (雌のペニス長さ)³ / (雄のペニス長さ)³ × 100%] を示した。

体内中の有機スズ含有量は、ブチルスズではトリブチルスズよりもジブチルスズの方が多い傾

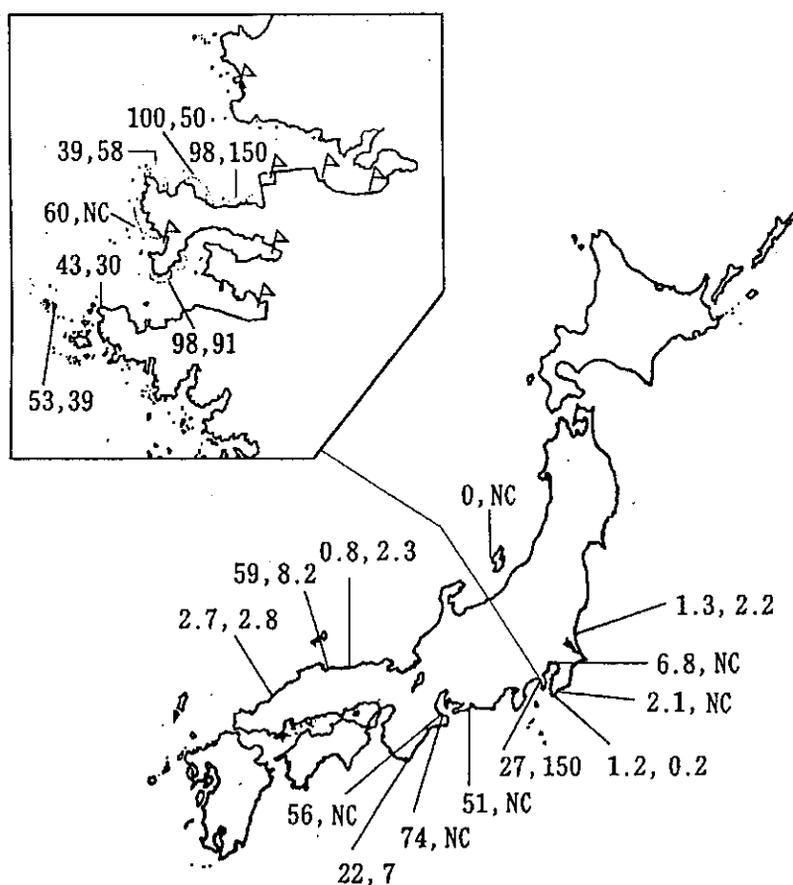


図22 イボニシ（左）とレイシガイ（右）のRPS値
 $RPS = (\text{雌のペニス長さ})^3 / (\text{雄のペニス長さ})^3 \times 100\%$
 NC：未採取

向にあり、ある程度代謝が進んでいるようにみられたのに対し、フェニルスズではトリフェニルスズからジフェニルスズへの代謝が特に進みにくいことが示唆された。トリブチルスズの体内含有量は汚染がひどいと考えられる地点のもので高く、また雄よりも雌の方が、さらに imposex 症状の重いものほど高くなる傾向が見られた。例外として、佐田浜港（三重・鳥羽）のイボニシではその imposex 症状の重さの割にトリブチルスズ含有量が比較的少なかったが、これは局所的に汚染が軽減しているためかもしれない。トリブチルスズとトリフェニルスズの体内含有量の間には広く正の相関が認められた。これは、これまでに報告されてきた魚介類の有機スズ含有量データにはなかった傾向であり、その意味については今後の検討課題である。imposex はトリブチルスズによって特異的に引き起こされるとして、体内のトリブチルスズ含有量と imposex の程度との関係をプロットしたところ、imposex が発症するとみられる体内のトリブチルスズ濃度レベルは両種とも 10~20 ng/g と推定された。これはヨーロッパチヂミボラと同レベルであった。トリフェニルスズとの複合影響については、今後の検討課題となった。

淡水の巻貝として、サカマキガイを用いて有機スズ6種の毒性を比較した。サカマキガイに対しては、2置換体（ジブチルスズ、ジフェニルスズ）より3置換体（トリブチルスズ、トリフェニルスズ）の毒性が高く、特にトリフェニルスズの影響が大きく LC₅₀（半数致死濃度）値は < 8.4 ppb（48時間）、< 6.6 ppb（96時間）であった。またトリフェニルスズとジフェニルスズのサカマキガイへの慢性影響（成長阻害、増殖抑制、殻形成）を調べたところ、10 ppb で成長阻害、親貝の死亡が見られたが、増殖抑制や殻の変形の兆候は見られなかった。

2.3.6 有機スズ化合物の細胞毒性影響

細胞毒性評価法に関する研究では、有機スズ化合物を対象として、*in vitro* 系を用いたスクリーニング法の開発、応用を（1）培養神経細胞を用いた神経毒性の評価、（2）ラット胎仔肢芽培養法を用いた胎仔毒性の評価、（3）肺胞マクロファージ機能を指標とした毒性評価について行った。

培養神経細胞を用いた神経毒性の評価では神経系細胞としてラットクロム親和性細胞腫細胞 PC 12h、ヒト神経芽細胞腫細胞 NB-1、ラット小脳初代培養細胞、非神経細胞としてラット正常腎上皮細胞 NRK-52、及びラット初代培養肝実質細胞を用いた。ラット小脳初代培養細胞を用いることにより NGF 処理の有無による PC 12h 細胞への毒性と合わせ、神経細胞の成熟段階での毒物に対する感受性の差異を評価する系を開発した。陽性対照として用いたメチル水銀、トリメチルスズ（TMT）、トリエチルスズ（TET）の神経細胞に対する LC₅₀ 値（50%致死濃度）は非神経細胞に対するものより低く、特にメチル水銀で顕著であった。トリブチルスズ（TBT）、トリフェニルスズ（TPT）の LC₅₀ 値も神経系細胞に対して低い傾向が見られた。神経細胞の成熟段階での毒物に対する感受性の差を見た結果では、メチル水銀に対し、未成熟神経細胞が著しく高い感受性を示した。有機スズ化合物も未成熟神経細胞に対する LC₅₀ が低い傾向は見られた

が差は小さかった。この系は、メチル水銀のような発生段階の脳神経系に対する特異的毒性を検出するのに有用と考えられた(表 14)。

(2) で用いたラット胎仔肢芽培養法は、間葉細胞が軟骨細胞へと分化する分化の過程を含み、細胞増殖への影響と、分化への影響とを同時に定量的に評価できることから、胎仔毒性のスクリーニング法として有用と考えられている。この方法を用いて TBT 及びその代謝産物と考えられる 3-ヒドロキシブチルジブチルスズ ((3-OH-Bu)DBT)、ジブチルスズ (DBT)、モノブチルスズ (MBT) 及び TMT, TET, ビストリブチルスズオキシド (TBTO), TPT を対象として IP_{50} (細胞増殖を対照の 50% 阻害する濃度) ID_{50} (軟骨細胞への分化を対照の 50% 阻害する濃度)、及びそれらの比, P/D を求めた。その結果, MBT の毒性は他の有機スズ化合物に比べて著しく低かった。有機スズ化合物の ID_{50} は $0.13\sim 1.71\mu M$, P/D 比は $0.89\sim 1.65$ であった。P/D 比は低い ID_{50} が低いことから胎仔への毒性の可能性が示唆された。特に DBT は TBT の代謝産物でもあるが、低い ID_{50} を示すことから注意すべき物質と考えられた(図 23)。

肺胞マクロファージ機能を指標とした毒性評価では、肺胞マクロファージへの毒性と肺胞マクロファージ機能への影響とを区別するために細胞質酵素 (LDH) 及びリソゾーム酵素 (β -glucuronidase) の漏出を指標とした肺胞マクロファージへの毒性を検討した。その結果, TPT, TBT, DBT, TBTO のいずれの化合物でも $0.1\sim 20\mu M$ の範囲で影響が見られなかった。そこで肺胞マクロファージの貧食能への影響を検討した。肺胞マクロファージを有機スズ化合物 (DBT, TBT, TBTO, TPT) で $37^{\circ}C$, 16 時間処理した場合、カーボン粒子の貧食能に対して影響が見られた。 ED_{50} (貧食能を 50% 低下させる濃度) は DBT 0.24, TBT 1.2, TBTO 2.9, 及び TPT $0.44\mu M$ であった。貧食能の低下による殺菌活性の低下が予想された(図 24)。

以上の結果から、神経毒性、胎仔毒性、肺胞マクロファージ機能への影響をスクリーニングする有用な系が確立された。有機スズ化合物はこれらの系において比較的毒性を示し、特に TPT,

表14 有機金属化合物の神経細胞, 非神経細胞に対する50%致死濃度

細胞種	化 合 物				
	メチル水銀	TMT	TET	TBT	TPT
小脳細胞					
(培養1日)	0.21*	1.8	0.38	0.11	0.05
(培養15日)	1.6	2.6	0.67	0.16	0.07
PC12h(-NGF)	1.3	5.2	1.6	1.2	0.22
(+NGF)	4.8	7.3	1.9	1.6	0.34
NB-1	4.1	9.8	1.8	0.61	0.48
NRK-52E	6.6	10<	4.4	1.2	0.67
肝実質細胞	10<	10<	9.4	7.9	2.6

* 値は3回繰り返しを行った2つの実験の平均(μM)

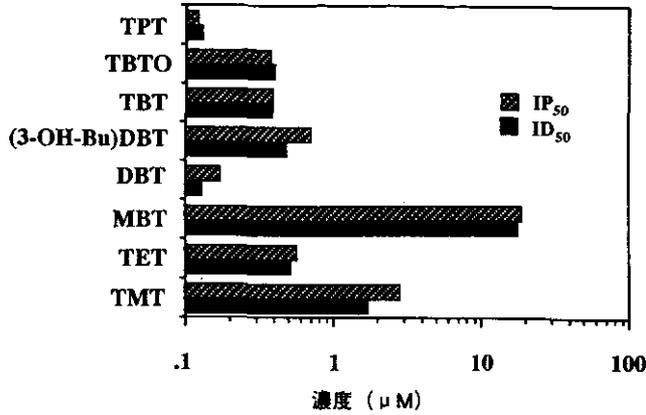


図23 培養胎仔肢芽への有機スズ化合物の影響

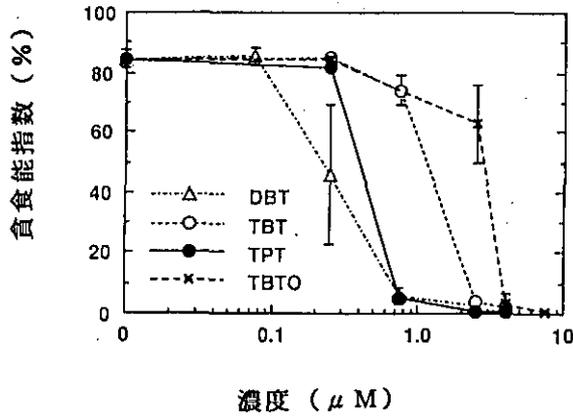


図24 肺胞マクロファージ貪食能(2時間)に及ぼす有機スズ化合物の影響

DBTの影響が注目された。

2.4 金属元素

エレクトロニクス産業の成長と共にシリコン、化合物半導体など半導体材料の生産の増加、また超電導材料、ファインセラミックス、形状記憶合金などの新素材の開発が行われ、新金属といわれるシリコン、タンタル、希土類金属(イットリウム、ランタン、サマリウム)、ゲルマニウム、チタンの使用が増加している。また公害防止用触媒、特に自動車排ガス浄化用触媒は、白金、パラジウム、ロジウムといった貴金属が使用されている。このような金属元素に関しては環境にどのように放出され、どのような毒性を示すか知られていないものが多い。この特別研究では、環境中の超微量金属元素の新しい分析法、経気道投与による生体影響が研究された。

2.4.1 フローインジェクション法を用いた ICP-MS による大気粉じん中の白金の分析

近年、自動車に白金族の触媒が用いられるようになって、これらの金属の環境中への放出が懸念されることに鑑み、大気粉じん中の白金の分析法の確立を検討した。環境中の白金の従来の測定法では、大気粉じん試料のような少量のサンプルしか得られない場合は、白金の分析は不可能であった。ここでは誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) をベースとし、これにフローインジェクションシステムと妨害元素除去カラムを導入することによって、迅速でかつ高感度な分析法を実現した。これによって石英ろ紙に採取された試料中に含まれるハフニウムの妨害等が除去され、実サンプルとしてほとんど前処理なしに $0.005 \mu\text{g/g}$ の検出感度が得られることが分かった (図 25)。この方法を用いた結果、自動車排ガス粒子中や大気粉じん中に、地殻の 10~20 倍程度の濃度の白金が存在することが初めて示された。したがって、これまで報告のなかった大気中の白金も人為起源の汚染が存在することが強く示唆された。

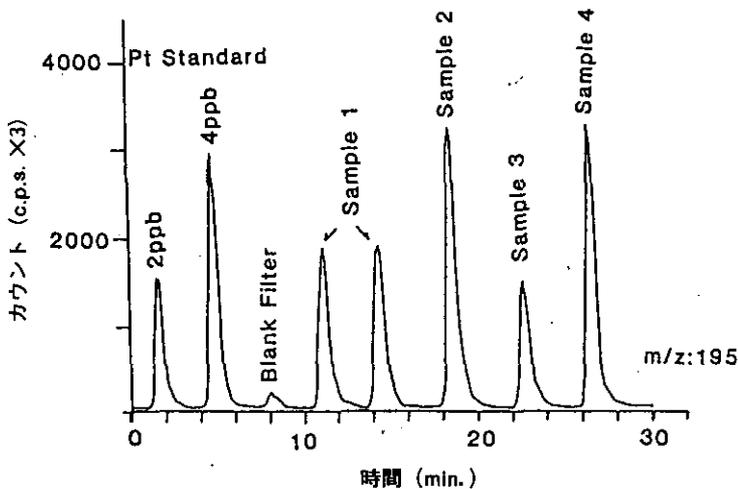


図25 大気粉じん試料の分析例 ($m/z=195$ のマスのモニター)

2.4.2 レーザーアブレーション法による葉の上に沈着した大気粉じんの多元素同時分析

先端技術産業活動や廃棄物処理などに伴って環境中に放出される有害無機物質を簡便に検出定量するスクリーニング法を開発した。大気粉じんをサンプリングする装置をサンプリングサイトに持ちこまずとも、葉の上に沈着した試料を分析することにより、サンプリングサイトの大気汚染状況を把握できる可能性を追求した。研究所のツゲの葉の上に沈着した試料を、大気圧のもとで高出力 Nd-YAG レーザー (最大 500mJ) によってアブレートさせアルゴンガスにより誘導結合プラズマ (ICP) 中に導入し、生成したイオンを質量分析計 (MS) によって測定した。図 26 の(a)と(b)は、それぞれ底質試料と大気粉じんをディスク状にして、レーザーを照射して得た

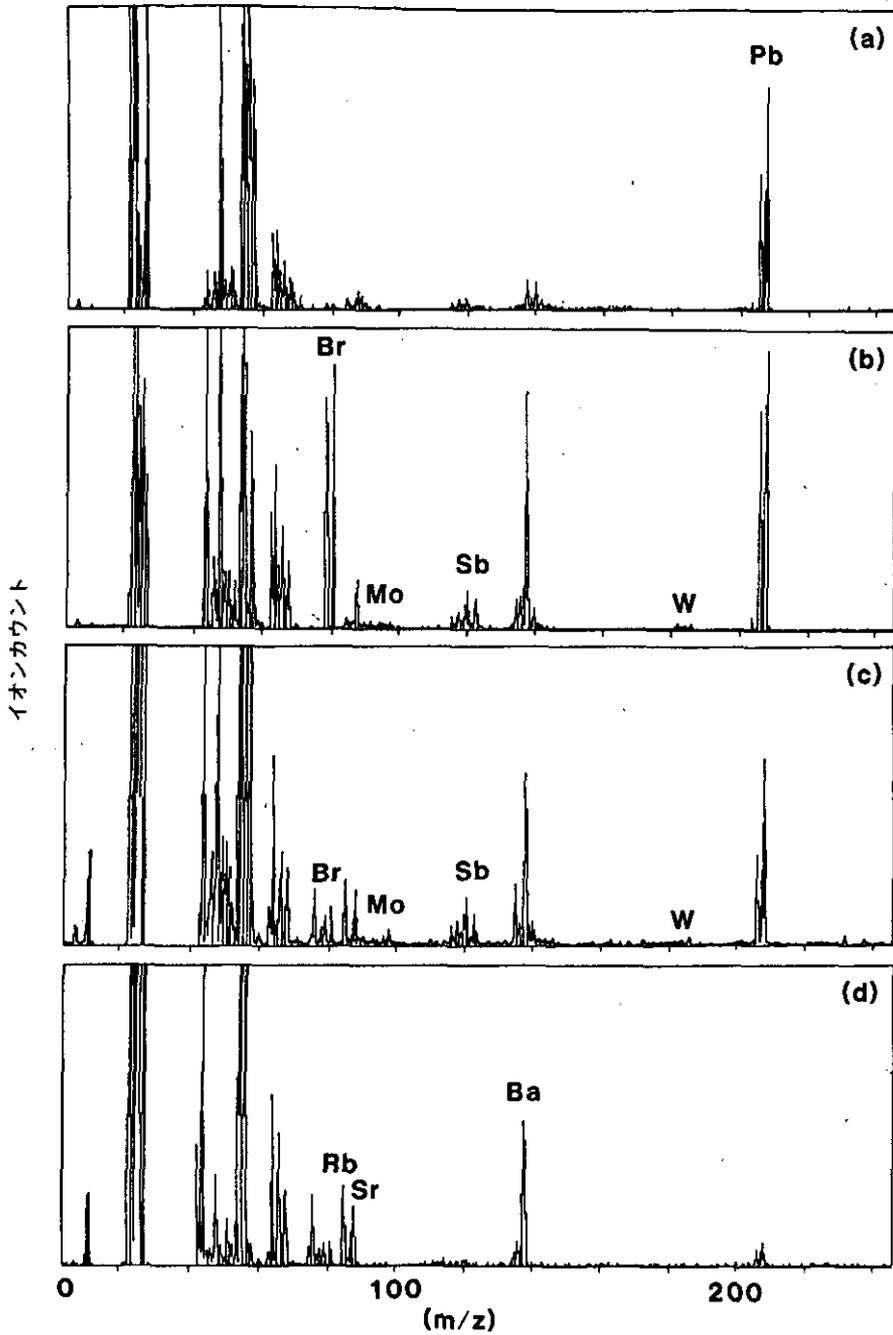


図26 (a) 底質試料の ICP-MS スペクトル
 (b) 大気粉じんの ICP-MS スペクトル
 (c) 汚れた葉の上に沈着した試料の ICP-MS スペクトル
 (d) きれいな葉の上に沈着した試料の ICP-MS スペクトル

ICP-MS スペクトルである。大気粉じんのスペクトル中には、Br, Mo, Sb, それに W による信号が大きく観測されているのが特徴的である。図 26 の(c)と(d)は、汚れた葉ときれいな葉の ICP-MS スペクトルである。汚れた葉の ICP-MS スペクトル中には、大気粉じんに起因すると思われる信号が大きく観測されており、スペクトルパターンを比較してみると、葉の上に沈着した試料は、大気粉じんの汚染状況を反映していることが明らかになった。沈着した試料中の 1 元素の正確な濃度と質量数に対する装置関数が求められれば、多元素の半定量分析が可能になる。

2.4.3 FAB-SIMS による固体試料表面の分析

高速原子衝撃二次イオン質量分析法 (FAB-SIMS) を応用して、環境中に放出された粉じんを特別なサンプリングや複雑な試料前処理なしに分析する方法を確立した。二次イオン質量分析装置として、FAB-SIMS 法を利用できるように改良した CAMECA IMS4F を使用し、中性の O_2 ビーム (15 keV) を一次ビームとして用いた。FAB-SIMS による分析は、植物の葉の上に付着した粉じん粒子と土壌や粉じんの標準試料について行い、得られた測定結果を比較検討した。

粉じんのモデル試料として池底質標準試料 (NIES SRM No.2)、ビル粉じん試料 (昭和 62 年度環境測定分析統一精度管理調査用大気粉じん)、自動車排出粒子標準試料 (NIES SRM No.8) を分析した。これら粉末試料を直径約 1 cm、厚さ約 1 mm のペレットに加圧成形し、その表面に銅のグリッド (500×700 μ m) を置いたものを測定試料とした。

FAB-SIMS 法による二次陽イオンの測定はいずれの試料でも容易であったが、これらの試料は様々な金属元素、ハロゲン元素、有機物などを含んでおり、得られる質量スペクトルは複雑で、単原子イオン (M^+) を正確 (定量的) に検出するためには、多原子イオンの妨害を除いた測定 (高分解能測定) が必要であった。その例としてバナジウム ($^{51}V^+$) とクロム ($^{52}Cr^+$) の高分解能測定をすべての試料で試みた。その結果、妨害イオンを分離してバルク濃度 100 ppm 以下のバナジウム (V) とクロム (Cr) の検出が可能であった。

植物の葉の上に付着した粉じん試料として、道路に面した国立環境研究所の垣根のツゲの葉を用いた。ツゲの葉の採取は 1990 年 12 月 1 日 (汚れた葉) と 1991 年 12 月 16 日 (汚れた葉、きれいな葉) の 2 回行った。枝から切り取った葉をすぐ SIMS 測定用サンプルホルダーに装てんした後、真空乾燥器で乾燥 (50℃, 16 時間) したものを測定試料とした。なお、ペレット試料と同様に銅のグリッドをその表面に置いた。汚れた葉でも、粉じん粒子をペレット状に固めた試料に比べれば粉じんの密度はかなり低く、また、葉の表面から発生する二次イオンも同時に検出されるため、葉の上の粉じんの直接測定は容易でなく、汚れのないきれいな葉との比較が必要であった。また、二次陽イオンに比べ二次陰イオンの質量スペクトル強度はかなり弱かった。ペレット状の試料に比べツゲの葉の試料では表面が粗く銅グリッドの密着度が悪いため、二次陰イオン測定では強い正の帯電が試料表面に生じているのがその原因と推定される。

2 つの汚れた葉の二次陽イオンパターン (図 27) は相互に類似していた。汚れた葉に比べ

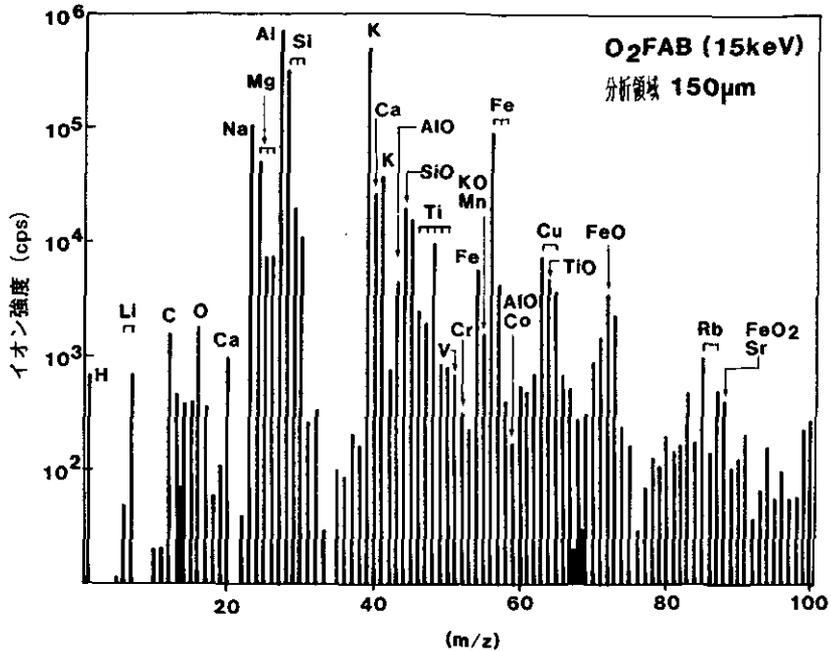


図27 ツゲの葉の上の粉じんの二次陽イオン質量スペクトル

きれいな葉では、主に粉じん（土壌、自動車排出粒子など）起源と推定される元素（けい素、アルミニウム、鉄、その他遷移金属元素など）のピークが弱かった。また、汚れた葉では鉛の同位体パターンが明瞭に確認できた。このように、汚れた葉ときれいな葉の測定の比較から、ツゲの葉に付着した粉じんをFAB-SIMS法により定性的に分析できることが分かった。

ツゲの葉の試料でも $^{51}\text{V}^+$ 、 $^{52}\text{Cr}^+$ の高分解能測定を試みた。汚れた葉ではいずれのイオンでも数10 cps（19～65 cps）のピーク強度が測定されたが、きれいな葉では $^{51}\text{V}^+$ も $^{52}\text{Cr}^+$ も1 cps以下で、はっきりとした差が観測された。 $^{51}\text{V}^+$ 、 $^{52}\text{Cr}^+$ の粉じん中の正しい感度が不明であるため、正確な定量分析は不可能であるが、 $^{28}\text{Si}^+$ イオンとの相対強度と池底質標準試料で求めた相対感度の値から、2つの汚れた葉に付着した粉じんのCr/Si重量比は $10^{-3}\sim 10^{-4}$ オーダー、V/Si重量比は 10^{-3} オーダーと推定された。

（まとめ）

中性の酸素ビーム（ O_2 FAB）を用いた二次イオン質量分析法は粉じんのような絶縁物試料中に含まれる100～10 ppmレベルの金属元素を検出するのに有効であることが明らかとなった。

FAB-SIMS法を用いることにより、植物の葉の上に付着した大気粉じんが簡単な前処理（葉の乾燥）だけで容易に測定でき、きれいな葉の測定結果と比較することにより、粉じんの定性分析が可能であった。

二次イオン質量スペクトル中の多原子イオンのピークパターンから、試料中の元素の状態に関する情報が得られる場合があることが示唆された。

2.4.4 重金属の経気道投与による生体影響

本研究は、重金属が人間の健康にどのような影響を及ぼすかを把握することを目的としている。特に予防医学的観点から、新規に利用され始めている金属や新たな用途が開発されている金属など、人への新たな暴露や暴露経路が予想される金属類の生体影響を明らかにし、健康への影響を未然に防止する方策を立てる一助とするためのデータを得ることを目的として、対象とする金属と暴露経路を選んだ。周期律表のIII-V族に属する元素は、半導体や超電導体の成分として使用量が増加しているものが多く、また、新たな使用も模索されている。このため、対象とする金属類にIII-V族も加えた。暴露経路としては、経口、経気道及び経皮のうち、経気道的に侵入した金属の毒性が特に高く、かつ、廃棄段階における焼却炉からの排気ガスへの暴露を想定して、経気道投与による生体影響を検討することとした。また、投与方法としては吸入法と気管内投与方法があるが、後者を前者の代替法として用いた。

これまでに検討を加えてきたカドミウムと亜鉛に加えて、超電導体の成分としても使用される銅に関するデータのとりまとめを行った。硫酸銅を雄性ウイスターラットに気管内投与し、肺における半減期が7.5時間であること、投与用量に従って、肺に銅を結合しているメタロチオネインが誘導されるが、その量は蓄積量を説明するには少なすぎることを明らかにした。また、生体影響の指標として、生化学的な炎症指標と考えられている肺胞洗浄液中の乳酸脱水素酵素(LDH)と β -グルクロニダーゼの活性、タンパク質量及び硫黄などの元素量の変化を調べた。炎症指標が投与12時間から3日目に最大値に達し、ラット1匹当たり5 μ gの銅投与で有意な炎症が観察されることを示した。

難溶性の酸化銅に関して実施した同様の実験結果について、特に水溶性の硫酸銅との代謝及び影響の比較を重点においたデータの比較を行った。気管内投与した酸化銅は、気管支肺胞腔内で可溶化され、半減期37時間で肺から消失することを示した。難溶性銅の半減期はこのように水溶性銅と比べ長いですが、その生体影響指標は両者間でほとんど差が認められなかった。例外としては、肺胞洗浄液中のリン含量が難溶性銅投与の方が高くなることを認めた。

超電導体の素材としてもその使用が見込まれるイットリウムの代謝と毒性を明らかにする実験も行った。肺における半減期が168日と非常に長く、肺胞洗浄液に回収されたマクロファージ中ではリソゾームに、また肺組織中ではマクロファージ中に顆粒性の封入体として、さらに基底膜に局限した状態で蓄積していることなど新規の知見を示した。生物学的指標から推定したイットリウムの生体影響は、カドミウムの1/3、または、亜鉛の3倍の用量で観察されるものと同じレベルであることが明らかとなった。

2.5 まとめ

近年、化学物質の生産及び使用の増加と共に、環境に放出される化学物質の数、量は増加し続けている。この特別研究では、これらの化学物質の環境中濃度を知るためのモニタリング、モニタリングのための分離分析手法の開発、そしてこれらの化学物質が環境中をどのように移動し変化するか、またその毒性はどのようなもので環境や人間にどのような影響を及ぼすかを調べることを目的とした。対象化学物質として研究が進められたのは、①「ダイオキシンと塩化ジベンゾフラン」；これらの物質は工業的には生産されておらず、不純物として、または燃焼などにより非意図的に合成され環境に放出されるが、毒性が非常に高いところに問題がある。②「揮発性有機塩素化合物」；工業的に溶剤などに多量に使用され、地下水汚染やオゾン層破壊などで大きな環境問題となっている。③「有機スズ化合物」；船底塗料や漁網に使用され海の生物に濃縮されていることから海汚染問題となっている。④「金属元素」；エレクトロニクス、新素材産業の発展と共に需要が増加している先端産業関連元素である。

本研究で得られた成果を要約すると以下のとおりである。

ダイオキシンと塩化ジベンゾフランに関しては

- (1) 異性体数が非常に多く、かつ超微量分析が必要なこれらの物質に、感度及び正確度の高いキャピラリガスクロマトグラフ/高分解能質量分析計を使って前処理法を含めて分析法を確立した。
- (2) この分析法を使用して、都市の大気粉じん、母乳、紙製品、湖底質中のダイオキシン(PCDD)及び塩化ジベンゾフラン(OCDF)濃度測定を行った。大気粉じん中のPCDD及びPCDF異性体パターンはゴミ焼却過程で発生するものと類似すること、紙製品の場合は塩素漂白によるもので異性体パターンが大気粉じんと異なることが示された。
- (3) 水道にクロロジベンゾフランが検出されたことと関連して、環境中における芳香族塩素化合物生成の可能性を見るために水道原水中の多環芳香族化合物のモニタリングを行った。塩化ビニリデン樹脂の熱分解生成物、クロロフェノールの粘土鉱物表面での化学反応により塩化ジベンゾフランの生成が調べられた。
- (4) ラットにおける2-クロロジベンゾフランの代謝が調べられた。2-クロロジベンゾフランはラット体内で速やかに代謝され体外に排せつされるが、一部は皮下脂肪に残る傾向がある。また胆汁中に排せつされる代謝産物として3種のクロロヒドロキシジベンゾフランを同定した。
- (5) モノクロロジベンゾフランの4異性体についての変異原性試験の結果、3-クロロジベンゾフランが強い変異原性を示した。
- (6) ラット肝初代培養細胞にPCB(多塩素化ビフェニル)を暴露したところ、コプラナー

な PCB (3,4,5,3',4'-PCB, 3,4,5,3',4',5'-PCB) に特異的に肝がん組織マーカーである分子量 25000 のタンパク質 GST-P の発現が見られた。

- (7) ニューラルネットワーク法を用い、ダイオキシン、塩化ジベンゾフラン異性体と毒性の構造活性相関を調べ、イオン化ポテンシャルと最高被占軌道 (LUMO) エネルギーが毒性に大きく関与することが分かった。

揮発性有機塩素化合物に関しては

- (1) 大気中の揮発性有機塩素化合物を自動測定する装置を開発し、研究所構内で2年間自動測定し、季節変動、時間変動を調べた。またこの測定結果と、つくばの一般家庭における室内濃度測定から、つくば市大人1日当たりの有機塩素化合物暴露量の推定を行った。
- (2) マウスを使ってトリクロロエチレンによる行動影響をブリッジテスト、正強化オペラント行動に対する影響等から調べ、トリクロロエチレン 500mg/kg 以上の腹腔内投与で行動作用に影響を及ぼすことが分かった。これは中枢神経抑制作用がトリクロロエチレンにあることを示唆している。
- (3) 直接汚染源のない地域の土壌中の有機塩素化合物は大気からの移入があるのが見られた。また土壌中では 1,1,1-トリクロロエタンから 1,1-ジクロロエチレンへの化学反応が速いことが分かった。

有機スズ化合物に関しては

- (1) 有機スズ化合物の代謝物や分解物まで完全に分離できる高感度高精度な分析法の開発を行った。貝類の主要な代謝産物は3-ヒドロキシジブチルスズと同定できた。また東京湾のスズキを使ってスズ分析のための魚肉の標準試料を作製した。
- (2) 塩化トリブチルスズと塩化トリフェニルスズの飽和溶解度を正確に測定し、塩分濃度、水素イオン濃度の影響について検討した。トリブチルスズ (TBT) とトリフェニルスズ (TPT) の海水と海底質間の分配係数は TBT で 1×10^3 , TPT でその約半分となった。また底質の有機物を除くと吸着量は 1/10 から 1/30 に減少し、底質中の有機物が分配に主要な役割を果たしていることが示された。
- (3) 有機スズ化合物の化審法による規制後の環境中濃度の変化を見るために、ムラサキガイを使用して東京湾で 1989~1991 年調査を継続した。ムラサキガイ中のトリフェニルスズは 1989 年以降指数関数的に減少したが、トリブチルスズの減少傾向は見いだせなかった。
- (4) 各種の潮間帯生物を同時期、同地点で採取し、生体中の有機スズ濃度測定を行うと、代謝の起こりにくい TPT は、食物連鎖の上位の生物に濃縮される傾向を示した。
- (5) 日本全国 16 か所の巻貝のイボニシとレイシガイを用いて imposex (雌がペニスを持ち

最終的に産卵不能となる症状)の発症と体内有機スズ濃度の関係を調べると、ほとんどの場所(15か所)でイボニシの imposex が見られた。imposex はトリブチルスズによって特異的に引き起こされるとすると、imposex が発症するイボニシの体内トリブチルスズ濃度レベルは 10~20 ng/g と推定された。

- (6) 有機スズ化合物に対する細胞毒性影響では、神経毒性、胎仔毒性、肺胞マクロファージ機能への影響をスクリーニングする有用な系が確立された。これらの系において、特にトリフェニルスズ、ジブチルスズの影響が注目された。

金属元素に関しては

- (1) 大気粉じん中の白金の分析法を開発し、自動車排ガス粒子中や大気粉じん中に地殻の 10~20 倍程度の人為起源の白金が存在することを示した。
- (2) レーザーアブレーション-ICP-MS 法、FAB-SIMS 法を使用して環境中に放出された粉じんを特別なサンプリングや複雑な前処理なしにスクリーニングする分析法を開発した。
- (3) 排気ガスへの暴露を想定して、ラットへの気管内投与法により、銅、イットリウムの生体影響を調べた。

[資料]

I 研究の組織と研究課題の構成

1 研究の組織 (当時)

[A 研究担当者]

計測技術部 部長	松下 秀鶴*1	(昭和62~63年度 特別研究責任者)
部長	森田 昌敏	(昭和62~63年度 研究幹事, 平成元年度 特別研究責任者)
生体化学計測研究室	安原 昭夫	
	岡本 研作*2	(昭和62~平成元年度)
	植弘 崇嗣	(昭和62~平成元年度)
	柴田 康行	(昭和62~平成元年度)
大気計測研究室	安部 喜也*3	(昭和62~63年度)
	藤井 敏博	(平成2~3年度)
	横内 陽子	(昭和62~平成元年度)
	向井 人史	(昭和62~平成元年度)
水質計測研究室	大槻 晃*4	(昭和62~63年度)
	河合 崇欣	(昭和62~63年度)
	古田 直紀	
	白石 寛明	
	野尻 幸宏	(昭和62~63年度)
底質土壌計測研究室	相馬 光之	
	相馬 悠子	(平成元年~3年度 研究幹事)
	瀬山 春彦	
	田中 敦	(昭和62~平成元年度)
分析室	溝口 次夫*5	(昭和62~平成元年度)
	伊藤 裕康	
	功刀 正行	(昭和62~平成元年度)
	西川 雅高	(平成元年~3年度)
	宇野由利子	(平成2~3年度)
環境生理部		
環境生理研究室	鈴木 明	(平成2~3年度)
環境病理研究室	彼谷 邦光	(平成2~3年度)
	白石不二雄	

環境生化学研究室	米元 純三	
	三浦 卓	
	持立 克身	(平成2～3年度)
	国本 学	
	高橋 勇二	(昭和62～63年度)
	梅津 豊司	(平成2～3年度)
生物環境部		
水生生物生態研究室	安野 正之	(昭和62～平成元年度)
	畠山 成久	(昭和62～平成元年度)
	宮下 衛	(昭和62～平成元年度)
環境保健部		
環境保健研究室	安藤 満	(昭和62～平成元年度)
	松本 理	(昭和62～平成元年度)
環境疫学研究室	平野靖史郎	
	田村 憲治	(昭和62～平成元年度)
人類生態研究室	鈴木 和夫*6	
	遠山 千春	(昭和62～平成元年度)
	青木 康展	(平成2年度)
総合解析部		
情報管理研究室	甲斐沼美紀子	(昭和62～63年度)
資源循環研究室	中杉 修身	(昭和62～平成元年度)
	乙間 末広	(昭和62～63年度)
大気環境部		
大気化学研究室	鷺田 伸明	(昭和62～平成元年度)
	畠山 史郎	(昭和62～平成元年度)
	井上 元	(昭和62～63年度)
水質土壌環境部		
陸水環境研究室	矢木 修身	(昭和62～63年度)
	内山 裕夫	(昭和62～63年度)
	稲葉 一穂	(平成2～3年度)
技術部		
動物実験施設管理室	高橋 弘	(昭和62～平成元年度)
	高橋 慎司	
	伊藤 勇三	(昭和62～平成元年度)

環境情報部 部長 後藤 典弘 (昭和62～63年度)
 情報システム室 春山 暁美*7 (昭和62～63年度)

*1 静岡県立大学, *2 徳島大学薬学部, *3 東京農工大学農学部, *4 東京水産大学, *5 国立公衆衛生院地域環境衛生学部, *6 千葉大学薬学部, *7 愛知淑徳大学文学部

[B 客員研究員]

青木 繁伸 (群馬大学医学部) (昭和63～平成2年度)
 朝見 行弘 (福岡大学法学部) (昭和63年度)
 石橋純一郎 (東京大学理学部) (平成元年度)
 市川 紘 (星薬科大学) (平成2～3年度)
 鶴山 治 (兵庫医科大学附属病院第5内科) (平成元年～2年度)
 大槻 晃 (東京水産大学) (平成元年度)
 岡本 拓 (広島県環境センター調査部) (昭和63～平成2年度)
 小田 淳子 (岡山県環境保健センター) (昭和63～平成元年度)
 金森 悟 (名古屋大学水圏科学研究所) (昭和63年度)
 蒲生 俊敏 (東京大学海洋研究所) (昭和63年度)
 喜多 悦子 (奈良県立医科大学) (昭和62年度)
 小泉 淳一 (鳥根大学農学部) (平成元年～2年度)
 後藤 純夫 (国立公衆衛生院) (昭和62～63年度)
 小林 悦子 (千葉大学医学部) (平成2年～3年度)
 権田 金治 (東京電機大学理工学部) (昭和63年度)
 酒井 均 (東京大学海洋研究所) (昭和63年度)
 坂本 和彦 (埼玉大学工学部) (平成元年度)
 篠田 裕之 (富山医科薬科大学) (平成2～3年度)
 白根 義治 (広島県環境センター) (昭和63年度)
 神 和夫 (北海道道立衛生研究所) (昭和62～平成2年度)
 新村 哲夫 (富山県衛生研究所) (昭和63年度)
 鈴木 勝士 (日本獣医畜産大学) (昭和63～平成2年度)
 鈴木 和夫 (千葉大学薬学部) (平成3年度)
 高尾 真一 (福岡県衛生公害センター) (平成3年度)
 高橋久仁子 (福岡大学教育学部) (平成2年度)
 田中 慶一 (神戸学院大学栄養学部) (平成2～3年度)
 田辺 潔 (国立公衆衛生院) (昭和62～63年度)

局 博一	(東京大学農学部)	(平成2～3年度)
土器屋由紀子	(気象大学校)	(平成元年度)
内藤 周式	(東京大学理学部)	(平成元年～2年度)
中川 友夫	(横浜市衛生研究所)	(昭和62年度)
服部 幸和	(大阪府公害監視センター)	(平成3年度)
原口 紘丞	(名古屋大学工学部)	(平成2年度)
春山 暁美	(愛知淑徳大学文学部)	(平成元年～3年度)
溝田 真司	(鳥根県西郷保健所)	(平成元年度)
山岸 皓彦	(北海道大学理学部)	(平成3年度)
鷺見 和	(聖マリアンナ医科大学)	(平成2～3年度)

2 研究課題と担当者

(1) 環境中の化学物質の物性評価と分離分析手法に関する研究

森田昌敏・相馬光之・植弘崇嗣・柴田康行・古田直紀・白石寛明・瀬山春彦・稲葉一穂

(2) 環境中の化学物質の毒性スクリーニング法の開発、応用に関する研究

三浦 卓・持立克身・国本 学・高橋勇二・梅津豊司・安野正之・畠山成久・
宮下 衛・安藤 満・松本 理・平野靖史郎・田村憲治・鈴木和夫・遠山千春・
青木康展・鈴木 明・彼谷邦光・白石不二雄・米元純三・宇野由利子・矢木修身・
内山裕夫・高橋 弘・高橋慎司・伊藤勇三

(3) 化学物質の環境中における変化と移行過程に関する研究

森田昌敏・安原昭夫・岡本研作・安部喜也・横内陽子・向井人史・大槻 晃・
河合崇欣・白石寛明・野尻幸宏・相馬悠子・田中 敦・溝口次夫・伊藤裕康・
刃刀正行・西川雅高・鷺田伸明・畠山史郎・井上 元

(4) 化学物質のリスク評価のための方法論に関する研究

後藤典弘・藤井敏博・甲斐沼美紀子・中杉修身・乙間末広・春山暁美

II 研究成果発表一覧

1 誌上発表

発表者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
[昭和62年度]					
後藤典弘	クロスメディアアプローチ	昭和61年度環境庁委託業務結果報告書「有害科学物質対策基礎情報調査」(199p.)		62-74	1987
中杉修身	地下水への汚染物質侵入の機序	公害と対策	23	941-946	1987
中杉修身	化学物質管理のためのリスクアセスメントにおける暴露解析手法	化学物質の環境汚染に関する総合的研究(日本公衆衛生協会, 20p.)		33-50	1987
中杉修身	環境暴露評価手法	有害化学物質対策基礎情報調査(日本水質汚濁協会, 199p.)		37-61	1987
中杉修身	化学物質の環境における安全性	環境の安全性—その評価をめぐって—(恒星社厚生閣, 141p.)		97-123	1987
中杉修身	一般廃棄物処理の課題と解決の方向	月刊廃棄物	14(1)	90-94	1987
中杉修身	トリクロロエチレン等による地下水汚染機構解明の現状と課題	かんきょう	13(2)	13-16	1988
溝口次夫	化学物質検索のためのデータベース	産業公害	23(8)	16-21	1987
M. Morita, A. Yasuhara, H. Seki, G. Ohi	Chlorodibenzo- <i>p</i> -dioxins in the feralpigeon	Chemosphere	16	1749-1752	1987
S. Asada, H. Matsushita, M. Morita, Y. Hamada	Determination of chlorodibenzo-dioxins and chlorodibenzofurans discharged from several municipal incinerators in Japan	Chemosphere	16	1907-1910	1987
M. Morita, A. Yasuhara, H. Ito	Isomer specific determination of polychlorinated dibenzo- <i>p</i> -dioxins and dibenzofurans in incinerator related samples in Japan	Chemosphere	16	1959-1964	1987
森田昌敏	ダイオキシンの汚染と毒性	保健の科学	29(4)	216-219	1987

発表者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
M. Matsumoto, M. Ando, Y. Ohta	Mutagenicity of monochloro- dibenzofurans detected in the en- vironment	Toxicol. Lett.	40	21-28	1988
[昭和63年度]					
Y. Shibata, M. Morita	Speciation of arsenic by re- versedphase high performance liq- uid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry	Anal. Sci.	5	107-109	1989
剣持堅志, 小田淳子, 岡本泰明, 杉山広和, 溝口次夫, 伊藤裕康, 松永和義, 石井邦彦	GC/MS インターフェースプログラ ムの変更と未知物質検索に対する マススペクトルパターン補正の効 果	岡山県環境保健セン ター年報	12	108-112	1987 1988
森田昌敏	ダイオキシンおよびその関連物質 と発癌	BIOmedica	3	791-796	1988
高橋保雄, 森田昌敏	水中の有機化合物に関する研究 (第2報) 水道水中の非低沸点ヘキサン可溶 中性有機ハロゲン化合物	水質汚濁研究	11(2)	93-99	1988
高橋保雄, 森田昌敏	水中の有機化合物に関する研究 (第3報) 水道水および水道原水中の有機塩 素農薬, 有機リン農薬および有機 リン酸トリエステル	水質汚濁研究	11(3)	161-168	1988
A. Yasuhara, H. Ito, M. morita	Isomer-specific determination of polychlorinated dibenzo- <i>p</i> -dioxins and dibenzofurans in incinerator- related environmental samples	Environ. Sci. Technol.	21	971-979	1987
安原昭夫	有害化学物質の分析法	大気汚染防止の技術 と機器(産業調査会 事典出版センター, 337p.)		250-266	1988
A. Yasuhara, M. Morita	Formation of chlorinated aromatic hydrocarbons by thermal decom- position of vinylidene chloride polymer	Environ. Sci. Technol.	22	646-650	1988
横内陽子, 安部喜也	大気中1,1,1-トリクロロエタン, トリクロロエチレン, テトラクロ ロエチレンの低温濃縮/キャピラ リーガスクロマトグラフィー/水 素フレームイオン化検出法による 連続自動測定	分析化学	38(1)	40-45	1989

発 表 者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
松本 理, 安藤 満, 太田庸起子	一塩化ジベンゾフラン4異性体の 変異原性	衛生化学	34	184-187	1988
[平成元年度]					
中杉修身	環境中の有害化学物質の挙動と環 境汚染の実態	環境情報科学	18(2)	2-9	1989
中杉修身	揮発性有機塩素化合物の環境中で の挙動	環境科学会誌	2(2)	136-137	1989
小田純子, 剣持堅志, 前田 泉, 市川省吾, 石井邦彦, 伊藤裕康, 横内陽子, 溝口次夫	マススペクトルの機種差と未知物 質検索に与える影響	全国公害研究会誌	14(4)	191-195	1989
伊藤裕康, 安原昭夫, 溝口次夫, 森田昌敏, 権田金治	NIES 法によるマススペクトル検 索システムの開発と評価	環境情報科学	19(1)	96-100	1990
Y. Soma, M. Soma	Formation of hydroxydibenzofu- rans from chlorophenols adsorbed on Fe-ion exchanged montmorillo- nite	Chemosphere	18	1895-1902	1989
向井人史, 安部喜也	誘導結合プラズマ質量分析法を用 いた大気粉じん中の鉛の安定同位 体比の測定	分析化学	39(3)	177-182	1990
森田昌敏	こんなにもある化学汚染物質	フロンー世界の対 応・技術の対応(日 刊工業新聞社, 256p.)		183-256	1989
森田昌敏	有機スズ化合物と環境問題	環境科学会誌	2(2)	159-161	1989
森田昌敏	土壌中のダイオキシン類の浸出特 性と分析方法	PPM	21(3)	17-24	1990
A. Yasuhara, M. Morita	Formation of chlorodibenzofurans by thermal decomposition of viny- lidene chloride polymer	Chemosphere	18	1737-1740	1989
Y. Aoki, E.K. Silbergeld, B.A. Fowler	Induction of protein synthesis by exposure to 2,3,7,8- tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin in <i>primary cultured rat liver paren- chymal cells and rat livers</i>	Eisei Kagaku	36	22p.	1990

発 表 者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
[平成2年度]					
佐野政文, 横内陽子, 中杉修身	加熱気化方式を用いるキャピラリーガスクロマトグラフ/質量分析法による土壤中の揮発性有機塩素化合物の定量	分析化学	39	217-222	1990
佐野政文, 横内陽子, 中杉修身, 河村 武	土壤中の揮発性有機塩素化合物の測定	環境科学会誌	4(1)	27-32	1991
服部幸和, 山本仁史, 永井寛治, 野中和代, 橋本浩一, 中村 智, 中本雅雄, 安念 清, 坂森重治, 白石寛明, 森田昌敏	ガスクロマトグラフィーによる排水中のトリブチルスズ及びトリフェニルスズ化合物の定量	分析化学	40	25-31	1991
Y. Uno, H. Matsushita, T. Uehiro, A. Yasuhara, M. Morita	Mutagenicity of 3-nitrodibenzofuran and 3-aminodibenzofuran	Toxicol. Lett.	55	31-37	1991
森田昌敏	海洋汚染—有機スズにおける海洋汚染—	公衆衛生	54(8)	46-49	1990
森田昌敏	土壤中のダイオキシン類の浸出特性と分析方法	PPM	(3)	17-24	1990
S. Hirano, C. Thoyama, F. Mitsumori, H. Ito, K.T. Suzuki	Identification of metabolites of 2-chlorodibenzofuran in the rat	Arch. Environ. Contam. Toxicol.	20	67-72	1991
森田昌敏, 伊藤裕康, 安原昭夫	大気粉じん中のポリクロロジベンゾ-p-ジオキシン及びポリクロロジベンゾフラン	国立環境研究所研究報告	129	9-19	1991
森田昌敏, 伊藤裕康, 安原昭夫	母乳及びミルク中のクロロジベンゾ-p-ジオキシン	国立環境研究所研究報告	129	21-26	1991
田中 敦, 伊藤裕康, 相馬光之, 森田昌敏	湖沼底質中のクロロジベンゾ-p-ジオキシン, ジベンゾフランの分析	国立環境研究所研究報告	129	27-38	1991
白石寛明	霞ヶ浦における湖水中の多環芳香族化合物濃度とその年変動	国立環境研究所研究報告	129	39-48	1991
安原昭夫	塩化ピリリデン樹脂の熱分解による芳香族塩素化合物の生成	国立環境研究所研究報告	129	49-64	1991

発 表 者	題 目	掲 載 誌	巻(号)	ページ	刊年
相馬悠子, 相馬光之, 伊藤裕康	粘土鉱物表面でのクロロフェノールの反応-ヒドロキシジベンゾフラン化合物の生成-	国立環境研究所研究報告	129	65-74	1991
白石寛明, 大槻 晃	モノクロロジベンゾフランの合成	国立環境研究所研究報告	129	75-87	1991
遠山千春, 平野靖史郎, 鈴木和夫	ラットにおける2-クロロジベンゾフランの代謝 I. 生体内における動態	国立環境研究所研究報告	129	89-101	1991
平野靖史郎, 遠山千春, 三森文行, 伊藤裕康, 鈴木和夫	ラットにおける2-クロロジベンゾフランの代謝 II. 代謝産物の同定	国立環境研究所研究報告	129	103-114	1991
松本 理, 安藤 満	3-クロロジベンゾフランの変異原性とその代謝活性化	国立環境研究所研究報告	129	115-126	1991
高橋慎司, 森田昌敏	ウズラ発育卵でのクロロジベンゾフランの毒性評価	国立環境研究所研究報告	129	127-132	1991
宇野由利子, 植弘崇嗣, 安原昭夫, 森田昌敏	3-ニトロジベンゾフランと3-アミノジベンゾフランの変異原性	国立環境研究所研究報告	129	133-139	1991
[平成3年度]					
H. Shiraishi, Y. Soma	Organotin compounds in coastal biota, Japan	国立環境研究所資料 F-40-'92/NIES		59-63	1992
T. Miura, K. Tanabe, Y. Soma	Estimation of toxic dose of atmospheric compounds in Japan	国立環境研究所資料 F-40-'92/NIES		86-92	1992
J. Yonemoto	Limb bud cell culture for <i>in vitro</i> teratogen prescreening	国立環境研究所資料 F-40-'92/NIES		131-136	1992
Y. Yokouchi, M. Sano	Trace determination of volatile organic compounds in soil based on thermal vaporization followed by Tenex-GC trapping and capillary gas chromatography-massspectrometry	J. Chromatogr.	555	297-301	1991
H. Ito, M. Morita	Determination of polychloro-dibenzo- <i>p</i> -dioxins and polychloro-dibenzofurans in paper products by high resolution GC/MS	Anal. Sci.	7 (Suppl.)	1005-1008	1991
前田恒昭, 岡本恵美子, 市岡耕二, 森田昌敏	吸着濃縮及び電気伝導度検出を用いたガスクロマトグラフィーによる大気中揮発性有機ハロゲン化合物類の自動モニタリングシステム	分析化学	40	331-336	1991

発 表 者	題 目	掲 載 誌	卷(号)	ページ	刊年
Y. Hattori, E. Yamamoto, K. Hagai, K. Nonaka, H. Hashimoto, S. Nakamura, M. Nakamoto, H. Shiraishi, M. Morita	Determination of tributyltin and triphenyltin compounds in environmental and industrial waste waters by gas chromatography	Anal. Sci.	7	1081-1084	1991
K.T. Suzuki, S. Kawahara, H. Sunaga, E. Kobayashi	Determinative uptake of cadmium, copper and zinc by the liver	Metallothionein Biol. & Med. (CRS Press. 414p.)		197-208	1991
相馬悠子	海の中の有機スズ	国立環境研究所資料 F-31-'91/NIES		7-12	1991

2 口頭発表

発表者	題 目	学会等名称	開催都市名	年月
[平成元年度]				
森田昌敏	塩化ダイオキシンおよび塩化ジベンゾフランについて	国立公害研究所研究発表会	つくば	1. 6
植弘崇嗣	高度計測手法と環境汚染物質の化学計測	国立公害研究所研究発表会	つくば	1. 6
伊藤裕康, 安原昭夫, 溝口次夫, 森田昌敏, 権田金治	NIES法によるマススペクトル検索システムの開発と評価	第3回環境研究発表会	東京	1.11
宇野由利子, 松下秀鶴, 植弘崇嗣, 安原昭夫, 森田昌敏	3-ニトロジベンゾフラン(3-NDBF)と3-アミノジベンゾフラン(3-ADBF)の変異原性	日本環境変異原学会第18回大会	東京	1.11
Y. Soma, M. Soma	Adsorption and reaction of organic chlorocompounds on allophane	The 9th Int. Clay Conf.	Strasbourg	1. 8
古田直紀	レーザーアブレーションによるICP光源への試料導入に関する基礎的知見	日本分析化学会第38年会	仙台	1.10
安原昭夫	ダイオキシン関連物質の生成機構	第16回日本水質汚濁研究協会セミナー	東京	1.12
向井人史, 安部喜也	鉛の安定同位体比の変動から見た隠岐島における大気中の鉛	第30回大気汚染学会	川崎	1.11
佐野政文, 横内陽子, 中杉修身, 河村 武	加熱気化方式による土壤中揮発性ハロゲン化炭化水素のキャピラリーGC/MS分析	日本分析化学会第38年会	仙台	1.10
Y. Aoki, E.K. Silbergeld, B.A. Fowler	Alteration in hepatic gene expression patterns following <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioxin (TCDD)	The 5th Int. Congr. Toxicol.	Brighton	1. 7
青木康展 E.K. Silbergeld, B.A. Fowler	2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ- <i>g</i> -ダイオキシンの暴露によるラット初代培養肝実質細胞及び肝臓中のタンパク質の誘導	第15回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウム	仙台	1.11
[平成2年度]				
Y. Yokouchi, M. Sano	Trace analysis of volatile organic compounds in soil based on thermal vaporization followed by Tenax-GC trapping and capillary GC/MS	12th Int. Symp. Capillary Chromatogr.	Kobe	2. 9

発表者	題 目	学会等名称	開催都市名	年月
白石寛明, 東山拓雄, 大槻 晃	東京湾岸に着生するムラサキガイ中の有機スズ濃度とその代謝物に関する研究	日本地球化学会年会	新 潟	2.10
東山拓雄, 白石寛明, 大槻 晃, 橋本伸哉	東京湾岸壁に着生するムラサキガイの有機スズ含有量	環境化学会1990年会	東 京	2.11
Y. Soma, M. Soma	Chemical reactions of the atmospheric halogenated aliphatic compounds on soils	Proc. 9th Sov.-Jpn. Sem. Catal.	Yuzhno-Sakhalinsk	2. 9
相馬悠子, 相馬光之	大気中の有機塩素化合物の土壌表面での反応	第66回触媒討論会	広 島	2.10
青木康展, 鈴木和夫	PCB誘導体によるラット肝実質細胞中における胎盤型 glutathione-S-transferase の誘導	第63回日本生化学会大会	吹 田	2. 9
青木康展, 鈴木和夫	PCBとデキサメサゾンによる初代培養ラット肝実質細胞中の胎盤型グルタチオン-S-トランスフェラーゼの誘導の調節	日本薬学会第111年会	東 京	3. 3
[平成3年度]				
相馬悠子	海の中の有機スズ	国立環境研究所研究発表会	つくば	3. 6
白石寛明	イガイ中有機スズ濃度の変動要因に関する研究	1991年度日本地球化学会年会	松 山	3.10
堀口敏宏, 白石寛明, 森田昌敏, 清水 誠	イボニシとレイシガイにおける有機スズ汚染の環境化学的研究-II	平成3年度日本水産学会秋季大会	盛 岡	3.10
三浦 卓, 田辺 潔, 相馬悠子	大気中有機化学物質のリスク評価	日本リスク研究学会第4回研究発表会	東 京	3.11
米元純三	ラット胚芽間葉細胞のマイクロマスカルチャーによる催奇形性物質のプレスクリーニング	第31回日本先天異常学会学術集会	出 雲	3. 7
米元純三	有機錫化合物の胎仔毒性スクリーニング-in vitro の系を用いて-(第2報)	第62回日本衛生学会総会	松 山	4. 3
伊藤裕康, 森田昌敏	高分解能SIMによる紙製品中のPCDDs及びPCDFsの分析	日本化学会第61春季年会	横 浜	3. 4
相馬光之, 高崎 裕, 田中 敦	有機スズ化合物と粘土鉱物の相互作用	第35回粘土科学討論会	つくば	3.10
古田直紀	レーザーアブレーション試料導入法の環境試料への応用	日本分光学会ICP質量分析法セミナー	つくば	3.10

発 表 者	題 目	学会等名称	開催都市名	年月
Y. Aoki, K. Satoh, K. Sato, K.T. Suzuki	Induction of placental glutathione S-transferase in rat hepatocyte by coplanar polychlorinated biphenyl (PCB) congeners	Soc. Toxicol., 1992 Annu. Meet.	Seattle	4. 2
国 本 学	メチル水銀及び有機スズ化合物の細胞毒性-神経系, 非神経系細胞での毒性の差異-	第17回環境汚染物質とそのトキシコロジーシンポジウム	札幌	3.10
M. Kunimoto, T. Miura	Differential cytotoxic effects of methylmercury and organotin compounds on mature and immature neuronal cells and nonneuronal cells <i>in vitro</i>	Soc. Toxicol., 1992 Annu. Meet.	Seattle	4. 2

平成3年度編集小委員会

委員長	相馬光之	委員	須賀伸介
副委員長	高松武次郎	〃	彼谷邦光
委員	柳橋泰生	〃	鈴木明記
〃	伊東喜司男	〃	光本茂子
〃	中根英昭	〃	高村典子
〃	高村健二	〃	植弘崇嗣
〃	松本幸雄	事務局	松井文子
〃	兜真徳		

REPORT OF SPECIAL RESEARCH FROM
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, JAPAN

国立環境研究所特別研究報告

SR-10-'93

平成5年3月31日発行

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 株式会社 イセブ

〒305 茨城県つくば市天久保2-11-20

Published by the National Institute for Environmental Studies
16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305 Japan
March 1993

本報告書は再生紙を使用しています。