

## 研究課題名 環境リスク研究プログラム

### 実施体制

代表者： 環境リスク研究センター センター長 白石寛明

分担者：

環境リスク研究センター

副センター長 米元純三

曝露評価研究室 鈴木規之 (室長)、桜井健郎 (主任研究員)、今泉圭隆 (研究員)、小林淳 (NIES ポスドクフェロー)

健康リスク評価研究室 米元純三 (副センター長、室長兼務)、西村典子、松本理、曾根秀子 (主任研究員)、河原純子 (NIES 特別研究員)

生態リスク評価研究室 田中嘉成 (室長)、菅谷芳雄、立田晴記 (主任研究員)、中嶋美冬 (NIES ポスドクフェロー)

環境曝露計測研究室 白石不二雄 (室長)、鏑迫典久 (主任研究員)、中島大介 (研究員)、鎌田亮、平井滋恵、小田重人 (NIES ポスドクフェロー)

高感受性影響研究室 藤巻秀和 (室長)、石堂正美、黒河佳香、山元昭二、塚原伸治 (主任研究員)

環境ナノ生体影響研究室 平野 靖史郎 (室長)、鈴木明、古山昭子 (主任研究員)、菅野さな枝、種田晋二 (NIES ポスドクフェロー)

生態系影響評価研究室 高村典子 (室長)、西川潮 (研究員)、赤坂宗光 (NIES ポスドクフェロー)、松崎慎一郎 (学術振興会 DC1)

主席研究員 後藤純雄<sup>\*</sup>

主席研究員 堀口敏宏、児玉圭太 (NIES ポスドクフェロー)

主席研究員 五箇公一、今藤夏子 (NIES ポスドクフェロー)、国武陽子 (NIES ポスドクフェロー)、郡麻里 (NIES ポスドクフェロー)

研究調整主幹 山崎邦彦

環境健康研究領域

領域長 高野裕久

生体影響評価研究室 井上健一郎 (主任研究員)、柳澤利枝 (研究員)、藤谷雄二 (NIES ポスドクフェロー)

※所属・役職は年度終了時点のもの。また、\*)印は過去に所属していた研究者を示す。

## 研究の目的と今年度の実施概要

4つの中核プロジェクト以下のように実施するとともに、その他の活動としてを環境政策における活用を視野に入れた基盤的な調査研究、「知的基盤の整備」およびリスク評価にかかわる環境省受託による調査・研究を実施した。

### 中核 PJ1 「化学物質曝露に関する複合的要因の総合解析による曝露評価」

化学物質の曝露を考える上では、多数の物質による多重的な曝露、一つの物質の持つ複雑な影響スペクトル、排出から個人あるいは生態系への曝露に至る過程で関連する自然的、時間的また社会的な因子などを考慮した評価・解析が重要である。これらは、最終的なリスク評価における複合影響の評価において特に不可欠な解析となるが、まず当面は、可能な範囲の複合的要因の総合解析による、化学物質の曝露のより包括的な評価を目指すことが必要と考えられる。本プロジェクトでは、(1)地域 GIS 詳細モデルおよび地球規模など複数の空間規模階層を持つ動態モデル群の総合的構築、(2)バイオアッセイと包括的測定との総合による環境曝露の監視手法の検討と曝露評価への適用、(3)モデル推定、観測データ、曝露の時間的変動や社会的要因などの検討と総合解析による曝露評価手法と基盤の構築と整備、の3つの課題を設定し、それらの有機的な連携を通じて化学物質曝露に関する複合的要因の総合解析を達成し、新たな知見を与えることを目指す。

平成 18 年度は、課題(1)については、既存の GIS 多媒体モデルや種々のモデルの階層的総合化のための基盤データ構造およびシステムの設計を行い、地点個別推定精度の向上のため、フィールド調査等の結果を用いたモデルの改良に着手し、あわせて、地球規模動態モデルについても同様に GIS 多媒体モデルを基盤とする拡張開発を行った。GIS 多媒体モデルの基盤として新たなデータを構築し、流域動態再現の検討を実施した。また、PCB の地球規模動態の予備的解析結果を得た。

課題(2)については、河川水成分や大気中の粒子状成分及びセミボラタイル成分について化学分析法とバイオアッセイを併用したモニタリング手法に関する検討を行った。具体的には、河川水や空気汚染の多面的評価に適した試料採取法・調製法の検討、また、メダカの初期生活段階試験などを行うために水質汚濁発生源からの試料採取法、前処理法、また毒性検出指標等の検討を行い、環境水および環境大気の *in vitro* 試験のための濃縮・分画法と試料への適用、また、各種の水生生物試験法を用いた包括的影響把握のための予備的試験を実施した。

課題(3)については、不検出値を含むモニタリングデータによる統計解析手法の新たな提案を行い、東京湾における PCB、PFOS 等のフィールド調査と、PCB の底質から水環境への移行に関する室内実験を実施した。

### 中核 PJ2 「感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価」

化学物質過敏症、シックハウス症候群や内分泌かく乱物質の環境影響研究や大気汚染に関する疫学研究からもうかがえるように、ある種の環境汚染物質に対し影響を受けやすい集団（高感受性集団）が存在する可能性が指摘されてきた。しかし、現在、どのような環境要因の下にある集団、あるいは生物的素因を保持している集団が、環境中の種々の化学物質に対し感受性が高いのかは、不明のままである。脳神経・行動、免疫・アレルギー、内分泌を軸とする高次機能に関する変調の出現が若年者を中心に報告され、化学物質汚染との関連を含め、その原因解明が強く望まれている。また、高感受性集団を対象とした比較的低濃度の化学物質の長期的曝露による健康影響を評価する必要性が強く求められている。

本プロジェクトでは、環境化学物質に対し感受性の高い集団の候補、環境化学物質に対し感受性の高い高次機能指標、高感度・高精度に影響評価することが可能な評価法について、これまでの疫学研究、臨床研究、実験動物研究から割り出し、動物モデルを用いて実際の化学物質曝露を行い想定される高感受性要因を同定・検出する。同定・検出された因子を、ヒトにおける高感受性集団曝露による影響評価に適用できる指標として応用し、適切な評価法の確立をめざす。さらに、評価期間の短期化や簡便化を図れる高次機能影響評価モデルを開発し、高次機能への影響評価の効率化・高精度化とともに感受性要因を考慮した化学物質の健康

影響評価手法を提案する。これにより健康影響評価の体系化、網羅化、簡便化に寄与することを目的とする。本プロジェクトでは、以下の3つの課題を実施する。(1) 遺伝的感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価において低用量の環境化学物質曝露により引き起こされる神経系、免疫系等の生体高次機能への新たな有害性を同定し評価するモデルを開発する。(2) 時間的感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価において、胎児、小児、高齢者等感受性の時間的変動の程度を把握し、発達段階に応じた影響を包含したリスク評価、環境リスク管理対策の検討に必要な科学的知見を提供する。(3) 複合的感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価において、高感受性を呈する集団への化学物質を含めた様々な要因の複合した影響を評価するスクリーニングシステムを開発する。

H18年度は、①低用量の環境化学物質曝露により引き起こされる神経系、免疫系、およびその相互作用における有害性を嗅覚閾値の検出、シナプスでの情報伝達遺伝子の発現について検討した。具体的には、神経系では、認知可能なレベルの嗅覚刺激にともなう生体反応を動物実験で検証を試みた。今年度は、まず嗅覚閾値を調べるための実験系を作製し、それを用いて実験対象の生物学的属性(性、年齢、など)を変えて計測をくり返し、嗅覚閾値を左右する生物学的要因を探索した。免疫系では、トルエンの曝露を行い、系統間での免疫情報処理の違いを検討することにより、感受性に関する因子の解明を行った。さらに、トルエン曝露と抗原感作による神経-免疫のクロストークについて神経伝達物質の遺伝子発現での変化を追跡した。②胎児、小児、高齢者等感受性の時間的変動の程度を把握し、発達段階に応じた影響解明のため、脳形成におけるアポトーシスの変動、感染低抗性獲得における細菌クリアランスと Toll 様受容体の発現、甲状腺ホルモン受容体応答の変化に関する検討を行った。また、環境化学物質による脳の発達障害を検索するための神経変性疾患モデル動物の作成を行った。具体的には、雌雄ラット・マウスを用い、発達段階にある大脳辺縁領域を採取して、各種アポトーシス制御分子の mRNA およびタンパク発現を解析した。感染低抗性獲得における細菌クリアランスと Toll 様受容体の発現についてグラム陽性細菌(又はその細胞壁成分)を用いて検討した。核内受容体の研究では、出産後1日目の母獣マウスに TCDD の単回経口投与を行い、母乳経路で TCDD 曝露した新生仔マウスの臓器における核内レセプターの遺伝子発現に対するダイオキシンの影響を検討した。核内レセプターを介する生体影響の病理組織学的検索を併せておこない、時間的感受性要因を追及した。環境化学物質による神経変性疾患モデル動物の開発と病態解析では、環境化学物質の曝露により神経変性疾患モデルラットを作製し、その影響を遺伝子レベル及び蛋白質レベルで検討した。③ 化学物質曝露に脆弱な集団の高感受性を呈する要因の解明のため、*in vivo* アトピー性皮膚炎モデルによる化学物質のアレルギー増悪影響の有無を検討した。また、アレルギー増悪影響のより簡易なスクリーニング手法の開発を行った。さらに、水環境中での変異原性のアッセイを可能にし、発生過程での感受性の違いを評価した。

具体的に、*In vivo* スクリーニングによる化学物質のアレルギー増悪影響評価として、アトピー性皮膚炎モデルを用いた *in vivo* スクリーニング系を用い、DINP、MEHP、TBIC が皮膚炎に及ぼす影響について評価した。また、DNA マイクロアレイを用いた短期スクリーニング手法の開発では、平成16年度終了特別研究において確立した *in vivo* スクリーニングモデルにおける遺伝子発現の変化を、病態の進行とともに、経時的、網羅的に解析した。変異原性の研究では、発癌性があり、かつ水環境中に存在する物質の変異原性を、Tg 魚(「24時間胚(未孵化)」と「成魚(whole fish、エラ、腭肝臓)」)を用いて検出可能か検証した。また、発生・成長途上で特に感受性の高いと考えられる孵化直後の稚魚(孵化稚魚)の時期での変異原性のアッセイを可能にし、発生過程での感受性の違いを評価した。

### 中核 PJ3「環境中におけるナノ粒子等の体内動態と健康影響評価」

粒径が 50nm 以下で細胞や組織透過性が高く、これまでの粒子状物質とは異なる影響を与えるのではないかと危惧されている自動車排ガス由来の環境ナノ粒子や、化学物質としてよりは粒子としての毒性研究が必要であると考えられているナノスケールの構造をもつナノマテリアルについて、呼吸器を中心とした生体影響

と健康影響評価に関する研究を行う。また、繊維径がナノスケールであるがゆえに組織を透過し、胸膜中皮腫を起こすと考えられるアスベストの体内動態と生体影響、ならびに廃棄物として熱処理されたアスベストの毒性評価に関する研究を行う。これらの研究をとおして、超微細構造を持つ粒子状物質や環境ナノ粒子の体内挙動と生体影響の関係を明らかにすることにより、これまでの化学物質の影響評価に加えて、ナノ粒子に対する新たな健康影響手法を確立する。

本プロジェクトでは、(1) 環境ナノ粒子の生体影響に関する研究、(2) ナノマテリアルの健康リスク評価に関する研究 (3) アスベストの呼吸器内動態と毒性に関する研究の課題を実施しており、平成18年度は、課題1では、アイドリング時におけるディーゼルエンジンから排出するナノ粒子の主成分は軽油由来であり重量の約55%を占めていること、ナノ粒子を暴露した実験動物において好中球の浸潤を伴う肺の炎症を起こすこと、ストレス蛋白が誘導されること、不整脈を誘発すること等が明らかとなった。課題2では、カーボンナノチューブの細胞毒性は極めて高く、その細胞障害性は細胞膜との反応にあることを明らかにした。また、ナノファイバーの吸入暴露装置の開発に着手した。課題3では、400度から100度単位で1000度近くまで熱処理したクリソタイルとクロシドライトを用いてマクロファージと肺胞上皮細胞に対する細胞毒性試験を実施し、加熱により水和しなくなったアスベストは繊維構造が残っていても細胞毒性が低下することを明らかにした。

#### 課題1 環境ナノ粒子の生体影響に関する研究：

- 1) 模擬ナノ粒子発生装置の開発として、炭素電極間の放電による炭素粒子、不完全燃焼による炭素粒子の発生の条件、粒径、個数について検討を加えた。輸送過程における粒子成長に関する検討、定常運転の際に排出される粒子やガスの試験、一次希釈、二次希釈倍率の検討を行なった。また、常運転の曝露を開始し、おおむね安定した運用ができていることを確認した。
- 2) 環境ナノ粒子と模擬ナノ粒子を用いて、粒子の細胞内への取込み機構と細胞膜・細胞層における粒子の透過性に関する研究を行った。In vitro 研究として、共培養系細胞層における不溶性模擬ナノ粒子の細胞層における透過性とその後の組織リモデリングを調べた。また、原子間力顕微鏡を用いて、細胞膜表面上のナノ粒子の取込み過程を調べた。In vivo 研究としては、形態的にも20nm金粒子が肺胞上皮細胞を通過して血管内皮細胞内腔表面観察されることを電子顕微鏡を用いて明らかにするとともに、実車ナノ炭素粒子の観察を行った。
- 3) 炭素系模擬ナノ粒子や実車ナノ粒子を用いて、ナノ粒子を多く含む運転条件下で捕集した実車ディーゼル排気粒子の酸化能と肺胞上皮細胞の遺伝子発現に及ぼす影響に関する解析、細菌毒素と吸入したナノ粒子との炎症反応に関する相乗作用に関する研究、吸入したナノ粒子が自然免疫系や循環系に及ぼす影響に関する研究を行った。

#### 課題2：ナノマテリアルの健康リスク評価に関する研究：

- 1) マクロファージを用いて、in vitro でカーボンナノチューブの細胞毒性評価、細胞膜との反応性を調べた。また、in vivo の毒性試験においてカーボンナノチューブの投与を行った。in vivo 研究の一環として、ナノファイバー粒子の吸入暴露装置の開発に着手したが、カーボンナノチューブの毒性が高いため作業者の安全性について検討中である。

#### 課題3：アスベストの呼吸器内動態と毒性に関する研究：

- 1) 廃棄物研究プログラムと協力して、溶融あるいは溶融過程にある熱処アスベスト（クリソタイルとクロシドライト）の毒性評価を行った。また、腹腔内投与を行うことにより、in vivo で各種処理後のアスベストの生体影響を評価するための研究に着手した。

### 中核PJ4「生物多様性と生態系機能の視点に基づく環境影響評価手法の開発」

開発や社会変化による地球規模での生態系サービスの低下はミレニアムエコシステムアセスメントで明確

に示されたところである。その中でも、生物多様性を含む生物資源の劣化は将来の人類の福利に重大な影響を及ぼすと懸念されている。自然生態系に対する人為的な環境ストレス因子は、化学物質や富栄養化による環境汚染、開発による生息地の喪失・分断化、消費的資源利用のための乱獲、外来種の侵入など複数にわたり、かつ、質が異なる。そのため、これらの要因の相対的な大きさを正しく評価して、合理的かつ有効な環境政策に資するためには、質的に異なる要因の生態影響を共通の尺度で評価する包括的な環境リスク分析手法が必要である。特に、近年、環境ストレス要因の多様化によって、このような環境リスク分析手法の開発が急務となっている。本プロジェクトでは、人為的開発に最も晒されている生態系の事例として東京湾、社会変化から管理されなくなってきた里地・里山の事例として兵庫県南西部のため池地域をモデル地区とし、具体的に様々な環境リスク要因の評価を実施する(課題1, 2)。さらに、特定外来生物法において未判定外来生物および要注意外来生物に指定されており生態リスク評価が急がれる種を選定し、生態学的特性データ収集するとともに実験検証に基づき、進化生物学的概念を導入した生態リスク評価を行う(課題3)。最終的には、環境リスクの評価尺度を生物多様性消失と生態系機能低下に統一することによって、包括的な生態影響評価手法を開発し、実際の野外フィールドデータと数理モデルによる評価方法との統合化を図る(課題4)ことを目指す。

平成18年度は、人為的開発に最も晒されている生態系の事例として東京湾、および社会変化から管理されなくなってきた里地・里山の事例として兵庫県南西部のため池地域の双方をモデルフィールドとして、前者では生態系サービスの財としての底棲魚介類の質的・量的変化、代表種の生活史特性、後者では生物多様性、生態系機能、生態系のカタストロの指標となるトンボ、水生植物、アオコ発生などに着目をして、環境リスク要因の特定ならびに環境影響評価のための野外調査を実施した。侵入種の生態リスク評価に関しては、在来種と外来種の交雑実態をヒラタクワガタやオオマルハナバチで明確に評価した。さらに、輸入昆虫・は虫類とともに国内に移入されるダニや寄生虫の遺伝子解析も加え、種分化プロセス、生殖隔離機構、共進化の機構解明を行なった。生物群集を対象とした環境影響評価のために、生物群集モデルの基礎的な定式化を完成させ、生態影響への応用のために、 관련된複数形質への解析をおこなった。具体的な野外フィールド(沿岸域・淡水域)において、質の異なる複数の環境リスク要因が生物個体群や生物群集に及ぼす影響を評価するための現場調査を実施した。また、検証のための実験についても検討した。侵略的外来種については、在来種と外来種の交雑の実態と規制の網から外れる寄生生物の侵入の実態を明確にした。汎用性の高い生態リスクの数理的解析法の基礎的な定式化を行ない、あわせて東京湾の具体的な野外データを用いた評価手法の試行を実施した。

#### 課題1) 東京湾における底棲魚介類の個体群動態の解明と生態影響評価

1) 東京湾 20 定点調査: 20 の定点での四季調査(5月、8月、11月及び2月)、2) マコガレイ(仔魚・稚魚・成魚) 調査: 25 の定点での千葉県水産総合研究センターと共同の毎月調査(但し、産卵期の頃に成魚の性成熟(横須賀及び船橋沖)と仔魚の分布(湾内全域の10の定点)に関する調査を追加して実施)、3) シャコ幼生調査: 4月~9月にかけて17の定点での神奈川県水産技術センターと共同の毎月調査、及び4) ハタタテヌメリ(仔魚・稚魚・成魚) 調査: 10の定点での毎月調査として、それぞれ、実施した。このうち、3)のシャコ幼生調査を除き、小型底曳き網漁船を備船して実施した。3)のシャコ幼生調査は、神奈川県水産技術センター所属の研究調査船「うしお」または「さがみ」で実施した。なお、1) 東京湾 20 定点調査で採集されたマコガレイ、2) マコガレイ(稚魚) 調査で採集されたシャコとハタタテヌメリ、4) ハタタテヌメリ(仔魚・稚魚・成魚) 調査で採集されたマコガレイとシャコ及びベントスも、それぞれ、試料として用い、生物学的解析と化学分析を進めた。

#### 課題2) 淡水生態系における環境リスク要因と生態系影響評価

1) 兵庫県南西部のため池 31 池を選び、トンボ、水生植物種、環境変数として水質、周辺の土地被覆や標高などの地理的変数、魚などの捕食者変数、農家によるため池の管理方法などの調査・分析を実施した。2) 霞ヶ浦の実験池(木原)に、隔離水界(2m×2m×水深 60~80cm)を設置し、生態系エンジニア種と言われて

いるコイの生態系機能として、底泥の攪乱もしくは栄養塩の排出のどちらかが湖・沼・池のカタストロフレジーム・シフトを引き起こすかについて明らかにした。3) 日本に移植され、各地で生態系被害をもたらしている2種の外来ザリガニ(シグナルザリガニ、アメリカザリガニ)を対象として、分子生物学的手法を用いて分散経路と由来の推定を行った。シグナルザリガニは在来の生息域(米国 オレゴン州)と侵入先でサンプリングを行い、米国8地点から111個体、国内11地点(北海道8地点、福島、長野、滋賀)から493個体を採集した。また、アメリカザリガニについては国内4地点(函館、茨城、兵庫、沖縄)から200個体のサンプルを採集した。

#### 課題3) 侵入種生態リスク評価手法の開発に関する研究

侵入種生態リスク評価手法の開発についてはセイヨウオオマルハナバチおよび外国産クワガタムシを研究対象とし、侵入圧としての輸入数量の推移および流通ルートの把握を行った。在来種に対する競合リスクおよび種間交雑リスクについて、室内および野外レベルで検証した。侵入種防除システムの開発については、国内および国外(特にアジア地域)における侵入種防除研究に関する情報収集を行うとともに、実施機関との間でネットワークを構築して情報流通の促進を図った。外来寄生生物の侵入リスク評価については、輸入昆虫類・両生類・爬虫類を対象として、随伴寄生生物の侵入実態を明らかにするとともに、それら寄生生物の分類・同定を進め、生態リスクに関する研究データを収集した。

#### 課題4) 数理的手法を用いた生態リスク評価手法の開発

生物群集モデルの基礎的な定式化を完成させた。生態影響への応用のために、関連した複数形質への解析をおこなった。浸透交雑の解析的研究を「ランダム配偶子モデル」に基づいておこない、近縁種間の浸透交雑の起こりやすさと、交配後隔離を支配する遺伝子数や組み換え率との関係を研究した。東京湾底生魚類の解析では、シャコの個体数変動を予測するために個体群マトリクスモデルを作成し、生活史感度解析をおこなった。環境汚染物質の生態リスク研究の一環として、野外のミジンコ個体群における抵抗性遺伝子の個体群間変異解析について、今年度は、予備的調査として、カプトミジンコ(*Daphnia galeata*)の野外個体群の遺伝的解析をおこない、マイクロサテライト遺伝子座の多型解析に関する基礎的なデータを収集した。

### その他の活動

その他の活動として、環境政策における活用を視野に入れた基盤的な調査研究、「知的基盤の整備」とともに、リスク評価に係わる実践的取り組みとして、環境リスク初期評価の取りまとめ、化審法への技術的支援などを請負調査として実施した。

#### 「環境政策における活用を視野に入れた基盤的な調査研究」

環境施策への活用を視野にいれ、既存知見の活用のための基盤整備および新たなリスク評価手法の開発を目指して、以下の7課題を実施した。

##### (1) 化学物質リスク総合解析手法と基盤の開発

気象・水文関連データ、環境観測データ、排出関連情報、社会基盤・地理情報などのデータを収集し、気象・地理関連情報(①アメダス、②メッシュ気候値、③土地利用データ、④USGS Global Land Cover Characteristics Data Base及びUSGS SRTM30\_PLUSのデータをSQL Serverのデータベースに格納した。

##### (2) 化学物質環境調査による曝露評価の高度化に関する研究

化学物質(トルエン)曝露量評価の手法開発として、血中濃度の測定法開発を行った。特に妊娠後期におけるトルエン曝露時の胎仔血中濃度の測定法をラットを用いて作成した。ラット胎仔から採取できる血液量は限られているため、5 $\mu$ Lの血液で測定可能なように、ヘッドスペース-SPME法を検討した。定量的な捕集率が得られ、且つバックグラウンド値が低くなるような条件を求め、0.02  $\mu$ g/mLでの胎仔血液の測定が可能となった。

##### (3) 生態影響試験法の開発及び動向把握

B OECD化学物質テストガイドライン 207（ミミズ急性毒性試験；以下 TG208）と 222（ミミズ繁殖試験；以下 TG222）の標準試験手順の検討、およびデンマーク提案のドラフトガイドライン（トビムシ繁殖試験；以下 TG トビムシ）に関する国際リングテストの実施、ウキクサ生長阻害試験 TG221 の国内の 3 カ所の GLP 試験機関との共同試験結果を受けて標準試験手順書をまとめた。甲殻類の内分泌攪乱に関する試験法のリード・ラボラトリーとしてバリデーションリングテストを企画し、試験物質としてピリプロキシフェン（陽性対照物質）と 3,5-ジクロロフェノール、それから試験に使用するオオミジンコとして当研究所で累代飼育している系統「NIES 系統」を参加ラボに配布し、当研究所を含めて 12 研究機関の参加のもと試験を行った。

#### （4）構造活性相関等による生態毒性予測手法の開発

魚類致死毒性についての構造活性相関モデルの公開に向けては、フラグメントの取扱方法、システムの改善、および他の要修正点について検討が進められ、公開に向けた準備を整えた。OECD 会合、第一回（定量的）構造活性相関についてのアドホックグループ会合（2006 年 6 月、於イタリア、ストレーザ）に参加し、当センターで開発を進めている生態毒性予測システムの開発状況について報告した。

#### （5）発がん性評価と予測のための手法の開発

代表的な発がん関連物質群であるいくつかの多環芳香族炭化水素について比較的簡便な *in vitro* assay 法（Bhas 試験）によるピレン、ベンズ[a]アントラセン及びベンゾ[a]ピレンの発癌プロモーション活性の測定を実施した結果、ピレン及びベンズ[a]アントラセンについては、有意なフォーカス数の増大が認められた。

#### （6）インフォーマティクス手法を活用した化学物質の影響評価と類型化手法の開発

遺伝子発現情報及び毒性情報の類型を搭載する化学物質の類型化システム（仮称 eCA）を構築した。本システムは、minimum spanning tree アルゴリズム、競合学習にもとづくニューラルネットワークを用いたクラス分けアルゴリズムである self-organizing maps によって、遺伝子発現変動の特徴づけ、毒性情報の類型化を行う。このシステムに適合する化学物質の毒性影響と遺伝子発現データの整備を行った。

#### （7）化学物質の環境リスク評価のための基盤整備

化学物質の環境リスク初期評価、水生生物保全環境基準の検討に向けた有害性評価、農薬取締法に基づく水産動植物登録保留基準の設定に向けた有害性評価等に関する作業を進めるとともに、総合的な評価の実施に向けた検討を行った。環境基本法に基づき設定された環境基準の総合的かつ横断的な把握に向けて、水生生物保全環境基準の現状と課題について整理した。

### 「知的基盤の整備」

知的基盤の整備として以下の 3 課題を実施した。

#### （1）化学物質データベースの構築と提供

化学物質データベースシステムのオラクルへの移行を実施し、法制度、リスク評価、曝露情報などのカテゴリより検索が可能とした。PRTR データ、モニタリングデータの整備を進めた。また、各種規制値のデータの更新を行い、農薬 ADI 値の追加を行った。

#### （2）生態系評価・管理のための流域詳細情報の整備

兵庫県南西部（加東市、加西市、小野市、三木市、加古川市、明石市、神戸市、加古郡稲美町）を対象に、土地被覆、標高、植生、人口、土壌等の情報のほか、過去の衛生画像や、詳細な地形図等、約 15 項目 40 件の環境情報を収集するとともに、生物の分布データとしては、327 箇所のため池において生育する水生植物の出現種を 8 月から 10 月にかけて現地調査した。

#### （3）侵入生物データベースの管理

2004 年から 2006 年度現在までに新たに問題となった外来生物についての生態データを集積・整理を行い、特に影響の大きい種については、昆虫類から 1 種、維管束植物 5 種について新たに追加を行った。

## 研究予算

(実績額、単位：百万円)

	平成18年度	平成19年度	平成20年度	平成21年度	平成22年度	累計
運営交付金	230					
原子力試験研究費	2					
地球環境研究総合 推進費	52					
地球環境保全等 試験研究費	11					
農林水産省	47					
環境保全調査等 委託費	72					
環境保全調査等 請負	302					
環境技術開発等 推進費	27					
民間受託費	54					
科学研究費	34					
寄付金	7					
助成金	0					
総額	839					

平成18年度研究成果の概要

化学物質曝露に関する複合的要因の総合解析による曝露評価

サブテーマ	平成18年度の研究成果目標	平成18年度の研究成果（成果の活用状況を含む）
<p>(1)地域 GIS 詳細モデル および複数の空間規模階層を持つ動態モデル群の総合的構築</p>	<p>(a) 既存のGIS多媒体モデルや種々のモデルの階層的総合化のための基盤データ構造およびシステムの設計を行う。                      (b) 地点個別推定精度の向上のため、フィールド調査等の結果を用いたモデルの改良を実施する。                      (c) 地球規模動態モデルについて、GIS多媒体モデルを基盤とする拡張開発を行う。</p>	<p><u>研究のアウトプット</u></p> <p>(a) GIS（地理情報システム）に基づく動態計算においては、利用可能なGISオブジェクトとこれに付帯する属性データの系統的整理が必要であると考え、これまでの研究経験も踏まえて検討を行った。本年度は多摩川、大和川、日光川他数地域の都市地域における下水道処理区域、処理場および放流地点等をGIS多媒体モデルG-CIEMSにおいて利用可能なデータオブジェクトとして構築し、以下に述べる流域動態のケーススタディーの基礎として利用した。</p> <p>(b) 上記において構築した下水道オブジェクトを利用しつつ、多摩川、大和川、日光川等の流域動態の計算を行い、環境および下水処理における分解速度、PRTRの排出推定値、物質変換の状況、また、揮発-沈着速度など主要な動態関連要素が計算結果に及ぼす影響を検討した。同時に、この3流域において実施された詳細な物質動態の観測に基づく流域内各地点での河川断面負荷量・濃度とモデル推定値の比較を通じて、モデルの検証を実施した。モデル予測は地点精度としてほぼ全て観測値に対して10倍以内の幅に収まり、信頼性の高いモデル予測手法が確立された。また、下水道オブジェクトを通じた負荷量の集水機能を用いることで、主流部における観測精度は向上した。</p> <p>(c) 全球2.5度分解能での地理データセットを構築し、PCB#153の地球規模動態を、グローバル化されたG-CIEMS多媒体モデルによる予測計算を行った。結果については今後さらに改良が必要であるが、まず、基本的な動態計算が可能であること、また、地域固有の寄与割合の推定などを試みた結果を学会において提示した。</p> <p><u>研究のアウトカム</u></p> <p>本年度はデータ構築やモデルの検証段階であり、直接的なアウトカムはまだ得られていない。しかし、本年度の成果目標はほぼ達しているため、次年度以降順次研究成果のアウトカムとしての貢献に進むことが出来るものと考えている。</p>

<p>(2) バイオアッセイと包括的測定の総合による環境曝露の監視手法の検討と曝露評価</p>	<p>(a) 河川水成分や大気中の粒子状成分及びセミボラタイル成分について化学分析法とバイオアッセイを併用したモニタリング手法に関する検討を実施する。</p> <p>(b) 河川水や空気汚染の多面的評価に適した試料採取法・調整法の検討を実施し、手法の予備的な確立を行う。</p> <p>(c) メダカの初期生活段階試験などを行うために水質汚濁発生源からの試料採取法、前処理法、また毒性検出指標等の検討を行う。</p>	<p><u>研究のアウトプット</u></p> <p>(a) 環境水の <i>in vitro</i> バイオアッセイによる曝露モニタリングを実施するための予備的検討として、C-18 FF 固相ディスク/メタノール溶出からフロリジルカラム分画を用いる新たな濃縮法を開発した。この予備的開発の成果を用い、地方環境研究所との共同研究により得られた全国 8 都道府県の環境水試料に対し、hER, medER, hRAR, hAhR の各レセプター結合性試験、および発光 <i>umu</i> 試験を適用し、これらの包括的曝露モニタリングによって環境水の特性を曝露モニタリングの観点から考察可能であることを示した。また、ウズラ卵内投与による <i>in vivo</i> 試験法により、<i>in vitro</i> の曝露モニタリングの結果から生体内への影響へ結びつける可能性を検討した。</p> <p>(b) 大気中の <i>in vitro</i> バイオアッセイによる曝露モニタリングの予備的検討として半揮発性物質の濃縮法を検討し、指標物質の十分な回収率を得られる大気試料の濃縮法を開発した。この手法を用いて実大気数試料を濃縮し変異原性試験（マイクロサスペンション法）に供する予備的検討を実施した。この結果、従来はデータの少ない半揮発性画分から、粒子状成分の数分の一程度の変異原性が観測され、また、これらは季節により異なることが明らかとなった。</p> <p>(c) 水生生物を用いた環境毒性の多面的評価、監視手法の確立のため、セリオダフニア繁殖阻害試験、ゼブラフィッシュ初期生活段階試験、緑藻増殖阻害試験、発光バクテリア発光阻害試験等を新たに導入するための予備的検討を行った。また、底質等の共存成分の生物試験への影響、魚類胚・子魚を用いる試験法、ケージングによる環境水の直接監視手法、ニセネコゼミジンコを用いる試験法などいくつかの新たな試験法確立の可能性について検討を行った。</p> <p><u>研究のアウトカム</u></p> <p>今年度は、各試験法、試料調整、濃縮方法などそれぞれの手法確立と、これらの環境水・環境大気への予備的適用に関する予備的検討を実施した。このため、現時点で直接的な社会・政策等へのアウトカムにはまだ至っていないが、各試験の検討は計画通り進行しており、次年度以降順次アウトカムとして提供できる計画である。</p>
<p>(3) モデル推定、観測データ、曝露の時間的変動や社会的要因</p>	<p>(a) 不検出値を含むモニタリングデータに対する評価手法の開発および実測結果への適用につ</p>	<p><u>研究のアウトプット</u></p> <p>(a) 不検出値を含むモニタリングデータから 95 パーセンタイル値等の統計的代表値の統計的推定を行う手法を、ブートストラップ法を用いて構築した。既存のモニタリングデータの例を用い、実際に不検出値を含むデータから真の統計的代表値の推定が可能であることを示した。</p> <p>(b) 水環境における、特に底質を含む水環境における化学物質の動態解析と将来の定量的把握のため、PCB および PFOS</p>

<p>などの検討とこれらの総合解析による曝露評価手法と基盤の整備</p>	<p>いて検討を行う。 (b) 残留性物質を例として東京湾におけるフィールド調査および室内実験の予備的検討を、PCB、PFOS 等いくつかの物質群を対象として実施する。</p>	<p>等の残留性物質の東京湾における水、底質および生物を含むフィールド観測、および底質から水生生物への移行に関する室内実験の予備的検討を平行して行った。この結果、東京湾内での PCB および PFOS の水平および垂直分布と各物質間の相関などの特性が明らかとなった。また、底質から水生生物への PCB の移行特性についての予備的知見が得られた。</p> <p><u>研究のアウトカム</u></p> <p>不検出値を含むモニタリングデータから統計的代表値を推定する手法は、実際のデータを取り扱う環境行政の現場で必要な手法であり、今後、モニタリングデータを用いた曝露解析の行政あるいは研究的解析において広く適用する貢献になると考えている。</p> <p>東京湾における PCB、PFOS 等の観測結果については、まだ結果の解析を実施している段階であり直接の社会・行政へのアウトカムには至っていないが、東京湾におけるこれまでにない詳細な観測結果と解析として、環境汚染状況の的確な把握に貢献すると考えられる。また、底質から水生生物への移行実験の結果もまだ直接の成果には至っていないが、今後、残留性物質の長期にわたる生物濃縮の可能性について具体的な予測手法を与えるものと期待している。</p>
--------------------------------------	--	--

### 感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価

サブテーマ	平成18年度の研究成果目標	平成18年度の研究成果（成果の活用状況を含む）
1. 遺伝的感受性要因	<p>低用量の化学物質曝露により引き起こされる神経系、免疫系、及びその相互作用における有害性を嗅覚閾値の検出、免疫過敏、神経過敏にかかわる情報伝達遺伝子の発現について検討する</p>	<p>a) ヒトの生活環境中で身近に存在し、健康に悪影響を及ぼしうると考えられる VOC に関して、その嗅覚検知閾値をマウスにおいて求めるため、その実験計測系を作製した。一般的なオペラント箱に、におい嗅ぎ用鼻先挿入ポート、および2種類のガスをポートに送り込むためのハードウェア（電磁バルブ、流量計、エアポンプ）を増設し、それらを一括制御するためのプログラムを作成した。マウスでトルエン・ガスを用いて調べた結果、ヒトでは数百 ppb と報告されているトルエンの検知閾値が、マウスにおいては 5 ppb 以下であることがわかった。実験系の作成、および嗅覚閾値の決定に近づけた。</p> <p>b) 免疫過敏モデル作成のため、C3H と BALB/c マウスを用いて低濃度トルエンの6週間曝露を行ったところ、抗原感作したマウスでは免疫担当細胞分画及び Th2 サイトカインである IL-4、IL-5、IL-13 の産生が両系統で認められたが、トルエンによる修飾作用は認められなかった。一方、抗原感作がない状態では、C3H マ</p>

		<p>ウスにおいてトルエン曝露による Th2 へシフトする傾向が観察された。脾臓細胞の細胞増殖反応においては ConA 応答に対してトルエンによる修飾作用が観察された。IL-2 の産生及び T 細胞の活性化を示唆する STAT5 の活性化が、ゲルシフト法により観察された。低濃度トルエン曝露は種々の指標に影響を及ぼす事が示唆された。特にゲルシフト法の結果からトルエンは細胞レベルで作用する事が示されたが、系統差により全ての指標において同傾向を示すというわけではなかった。</p> <p>c) 低濃度化学物質曝露と抗原刺激による神経-免疫相互作用における海馬での記憶関連および炎症関連遺伝子発現について 2 系統のマウスで比較検討した。その結果、低濃度トルエン曝露した C3H マウス海馬におけるドーパミン受容体や CREBmRNA、及び TNF<math>\cdot</math> の遺伝子発現は増強した。BALB/c マウスでは、CREB1mRNA と CaMKIVmRNA の抑制、及びカプサイシン受容体遺伝子発現の増加がみられるなど、2 系統におけるトルエン及び抗原刺激に対するシナプスを介する反応に明らかな違いのあることが検証できた。</p> <p>a. の課題は性、年齢などの要因での検討までいかなかったが、b. c. の課題は目標をほぼ達成できた。</p>
<p>2. 時間的感受性要因</p>	<p>胎児、小児等感受性の時間的変動の程度を把握し、発達段階に応じた影響解明のため、脳形成、Toll 様受容体発現、核内受容体遺伝子発現、神経変性疾患モデルに関する検討を行う。</p>	<p>a) 妊娠 Long-Evans ラットにトルエンを鼻部吸入曝露し、トルエンを代謝する CYP2E1 の肝臓における発現を解析した結果、母体では発現を確認したが、胎子の発現量は極めて少なかった。胎子の血中テストステロン (T) 濃度は雌よりも雄において高く、明瞭な性差がみられた。雄の T 濃度はトルエンの曝露量依存的に低下し、0.9, 9, 90 ppm 曝露によって T 濃度の性差が消失した。雌の T 濃度に対するトルエンの影響はなかった。発達期のアポトーシスは脳形成および性分化に重要な現象である。そこで、性分化する脳領域である SDN-POA に着目し、SDN-POA の形成に関わるアポトーシス制御分子を検索した。生後 8 日齢では、アポトーシス実行分子である活性型カスパーゼ 3 の発現が雄に比べて雌において高かった。さらに、カスパーゼ 3 を制御する Bcl-2 および Bax の発現にも性差がみられた。以上のことから、トルエンの代謝能力が低く、代謝を母体に依存する胎子では、低濃度でトルエン曝露による影響が認められた。</p> <p>b) グラム陽性菌細胞壁成分ペプチドグリカン (PGN) による経気道刺激が Th1 機能の発達またはアレルギーの抑制へと導くか否かを明らかにするために、離乳直後 (3 週齢) の BALB/c マウスに PGN 4<math>\mu</math>g/50<math>\mu</math>l を 3 日おきに計 5 回点鼻投与した後、卵白アルブミン (OVA) をアジュバントである水酸化アルミニウムゲルと共に 2 週間おきに計 4 回腹腔内投与し、Toll 様受容体 TLR2<math>\cdot</math>TLR4 の遺伝子発現レベルなどへの PGN 刺激の効果について解析した。その結果、離乳直後からの PGN 経気道刺激は、Th1 機能発達やアレルギー抑制へと導かなかった。PGN の感作時期、感作濃度の詳細な検討の必要性が示唆された。</p> <p>c) 活性ビタミン D (1, 25-dihydroxyvitamin D3) はビタミン D 受容体 (VDR) のリガンドとして多くの遺伝子の発現を制御しており、ビタミン D 代謝ならば Ca 再吸収に関与する遺伝子発現に及ぼす TCDD の影響を発</p>

		<p>育期のマウス腎臓で調べた。その結果、TCDDが活性ビタミンD合成と分解に関与する酵素の遺伝子発現を顕著に誘導することが分かった。またTCDDにより血清中活性ビタミンD濃度も上昇した。TCDDはCaの細胞内の輸送と排出に関与しているCalbindinおよびNCX-1遺伝子発現を生後7日目に抑制した。さらに生後5週齢マウスでCaおよびリンの尿中排泄増加が認められた。以上の結果からTCDDがビタミンD代謝およびCa代謝の異常を惹起する結果、骨毒性をもたらす可能性が示唆された。</p> <p>d) これまでに新生期のラット脳がビスフェノールAに曝露すると、運動を司るドーパミン神経の発達障害をきたし、多動性障害をおこすことを明らかにしている。こうした新生期の曝露の影響が、成熟期にも残存しているどうかを調べてみると、明らかなカテコールアミン合成酵素（ドーパミン神経の指標）の免疫交叉性が消失していた。更に、ドーパミン神経変性疾患であるパーキンソン病の病理像の1つであるアルファ・シヌクレインの凝集像も観察された。次に、1成熟期のドーパミン神経が、ビスフェノールAの曝露影響を受けるか否かを微量注入法により検討した。その結果、ビスフェノールAを微量注入した左黒質側の投射先である線条体のカテコールアミン合成酵素の免疫交叉性が消失し、退行変性が観察された。これは、ビスフェノールAによりパーキンソンモデルラットを作製できることを示している。</p> <p>a. c. dの課題は、ほぼ当初目標を達成できたが、bは発達時期と免疫系の機能成熟との関係で不明な点があり化学物質の曝露までは到達できなかった。</p>
<p>3. 複合的感受性要因</p>	<p>化学物質曝露に脆弱な集団の高感受性要因解明のため、in vivoアトピー性皮膚炎モデルでの検証、及びアレルギー増悪影響のより簡易なスクリーニング手法の開発を行う。また、変異原性のアッセイを用いて、発生過程での感受性の違いを評価する。</p>	<p>a) <i>In vivo</i>スクリーニングモデル(アトピー性皮膚炎様病態を発症するマウスモデル)を用い環境化学物質のアレルギー増悪影響を検討した。今年度の対象物質は、フタル酸ジイソノニル(DINP)、アジピン酸ジイソノニル(DINA)、トリメリット酸トリス(2-エチルヘキシル)(TOTM)、フタル酸モノエチルヘキシル(MEHP)、ビスフェノールA(BPA)、ペルフルオロオクタン酸(PFOA)、ペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)、塩化トリブチルスズ(TBT)とした。その結果、DINP、BPAにおいて、対照群、あるいはダニアレルゲン(Dp)単独投与群に比し、化学物質の濃度、あるいは病態の形成段階によって有意な皮膚炎症状の増悪、および耳介腫脹を認めた。MEHPは濃度によって増悪傾向を示した。一方、PFOAは、投与濃度によってDp単独群に比し、有意な耳介腫脹の抑制を認めた(表1)。</p> <p>b) トランスジェニック魚を用いたBaPの変異原性の検出について検討し、エラと腭肝臓において突然変異頻度の上昇が見られた。</p>

## 環境中におけるナノ粒子等の体内動態と健康影響評価

サブテーマ	平成18年度の研究成果目標	平成18年度の研究成果（成果の活用状況を含む）
<p>課題1：環境ナノ粒子の生体影響に関する研究</p> <p><u>1.1 環境ナノ粒子曝露装置</u></p>	<p>曝露実験で用いる曝露空気質の物理的・化学的性状把握する。</p>	<p>a) 8 Lの長期規制対応のエンジンを用いて回転数 2000 rpm、トルク 0 Nmの条件で5時間定常運転をした。トンネルの希釈流量は <math>73 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1}</math>、希釈空気温度 <math>25 \text{ }^\circ\text{C}</math>、露点温度 <math>14.2 \text{ }^\circ\text{C}</math>、排気の一次希釈倍率は 16.5 倍となった。チャンバーの換気流量は約 <math>1.0 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1}</math> とし、CH11 へのディーゼル排気の二次希釈倍率は約 7 倍、CH 13 については約 2 倍とした。粒径分布の測定には Scanning Mobility Particle Sizer (SMPS 3936、DMA ; 3081、CPC ; 3025A ; TSI 社製) を二台用いて、エンジン直後配管内、トンネル内、各チャンバー内において並行・順に測定し、概ね良好な曝露条件を見いだした。</p> <p>b) エンジン直後とトンネルにおける個数モード径、時間あたりの粒子数（流量×濃度）、同様に粒子体積を比較した。モード径は変化しておらず、個数、体積のロス割合が認められ、粒子数の減少は配管壁面への沈着が原因と考えられる。トンネルとチャンバー内の粒子を比較したところ、個数モード径が増大しており、体積のロスはなく、粒子個数のロスがみられたことより、チャンバー内で粒子の凝集成長が起こることを明らかにした。</p> <p>c) アイドリング時にディーゼルエンジンから発生するナノ粒子の発生と成分を調べ、ナノ粒子は軽油が主成分であり推定で重量の 55%を占めている事が分かった。また、元素状炭素やイオン、金属の割合についても定量した。</p>
<p>課題1：環境ナノ粒子の生体影響に関する研究</p> <p><u>1.2 呼吸器内沈着及び体内動態</u></p>	<p>模擬ナノ粒子や実車排気ナノ粒子の細胞内への取込みと体内挙動を明らかにする。</p>	<p>a) 肺胞壁培養系において、20nmの不溶性ナノ粒子は肺胞上皮細胞に endocytosis により取り込まれ、基底膜を通過し、air-blood barrier である肺胞壁を通過して一部血管に移行することを明らかにした。</p> <p>b) 肺に沈着した不溶性ナノ粒子は、微小粒子・粗大粒子と同様に肺胞マクロファージに貪食され、一部のマクロファージは血液循環に乗って肺以外の臓器に体内移行していた。ナノ粒子は細胞の endocytosis 等の物質輸送機構を介して肺胞壁を通過して血管に移行する。</p> <p>c) マクロファージによるナノ粒子の取り込みにスカベンジャーレセプターが関与していることを明らかにした。また、肺表面被覆層に沈着したアルカンナノ粒子は、pai-A 曲線を変化させ、低い表面張力においてサーファクタントのコラスプが起こることが示唆された。</p>

<p>課題1：環境ナノ粒子の生体影響に関する研究</p> <p>1.3 吸入暴露の影響</p>	<p>ナノ粒子を多く含むディーゼル排気を動物に暴露して、遺伝子の変化、炎症応答、循環器影響を調べる。</p>	<p>a) 環境ナノ粒子成分を曝露した肺上皮細胞において、薬物代謝系酵素、あるいはストレス蛋白の遺伝子発現を誘導した。</p> <p>b) マウスに環境ナノ粒子を5時間曝露しても明らかな気道炎症及び肺水腫は惹起されなかった。アイドリングで発生したナノ粒子を含むディーゼル排気の曝露は肺に好中球の浸潤を主とする軽度の炎症性変化を生じさせるが、炎症惹起能としてはごく弱い。しかし、グラム陰性菌由来の細菌毒素による引き起こされた肺傷害はナノ粒子曝露により濃度依存的に増悪した。グラム陽性菌の細菌毒素に対する増強作用は有意には観察されなかった。</p> <p>c) 環境ナノ粒子を多く含むディーゼル排気暴露したラットにおいて、体重の減少と異常心電図の出現率の増加が認められることなどを明らかにした。特に、心室性期外収縮様の変化が見られた。</p>
<p>課題2：ナノマテリアルの健康リスク評価に関する研究</p>	<p>ナノマテリアルの細胞毒性を明らかにし、また、吸入暴露装置の制作を行う。</p>	<p>a) F68を用いることにより水溶液中で凝集しやすいMWCNTの分散性を高め、in vitro試験を行ったが、100 mg/mL以上では細胞毒性がむしろ減少する傾向を示し、依然として凝集の問題があることを示した。</p> <p>b) MWCNTのLC<sub>50</sub>は、24時間曝露で26・g/mLと算出されたが、クロシドライトに比べても細胞毒性が高い。また、細胞毒性がNACやBSOの影響を受けなかったことから、MWCNTの細胞毒性にグルタチオンなどのチオール化合物が大きく関与していないものと推測される。</p> <p>c) cDNAマイクロアレーの結果では、幾つかのサイトカイン関係の遺伝子発現が昂進していたものの、低下した遺伝子はなかったことから、遺伝子発現の低下が、直接細胞毒性に影響は与えたとはいえない。ウェスタンブロットでは、MAP kinase系やCaspase-3に大きな変化は見られなかったが、MWCNTの曝露によりPARPが低下していることが認められた。</p> <p>d) 電顕の観察などにより、MWCNTがマクロファージの細胞膜に対して強い親和性を持ち、細胞膜を傷害させることが分かった。</p> <p>e) カーボンナノチューブを標的としたナノファイバーの吸入暴露装置の開発に着手した。</p>
<p>課題3：アスベストの呼吸器内動態と毒性に関する研究</p>	<p>In vitroにおける溶融アスベストの毒性評価を行う。</p>	<p>a) 400度から100度単位で1000度近くまで熱処理したクリソタイルとクロシドライトを用いてマクロファージと肺上皮細胞に対する細胞毒性試験を実施し、加熱により水和しなくなったアスベストは繊維構造が残っていても細胞毒性が低下することを明らかにした。</p> <p>b) 熱処理したクリソタイルの細胞毒性試験の結果は、250&gt;400&gt;500&gt;&gt;600&gt;700&gt;800(処理温度)となった。一方、熱処理したクロシドライトの細胞毒性は、250&gt;400&gt;500&gt;&gt;600&gt;700&gt;&gt;&gt;800であることを明らかにした。</p> <p>c) 感受性の高い、安定した細胞評価系としてはマウス肺泡マクロファージ細胞株(J774.1)が、肺上皮細胞</p>

		<p>や肺胞マクロファージより有効であることを示した。</p> <p>d) 熱処理クリソタイルを腹腔内投与したところ、400℃で処理したクリソタイルは未処理のクリソタイルより若干弱い、同程度の炎症誘導性を示した。600℃処理、800℃処理のクリソタイルは未処理の1/3程度に炎症誘導性は減少したが、無害化はしていないことを明らかにした。</p>
--	--	--

### 生物多様性と生態系機能の視点に基づく環境影響評価手法の開発

サブテーマ	平成18年度の研究成果目標	平成18年度の研究成果（成果の活用状況を含む）
サブテーマ1) 東京湾における底棲魚介類の個体群動態の解明と生態影響評価	東京湾において野外調査を実施し、底棲魚介類の代表種及びベントスの個体群動態の解析を行う。	<p>a) 東京湾20定点調査では、2006年も、1曳網当りの魚介類の個体数が依然低水準である一方、サメ・エイ類とスズキが多いために1曳網当りの魚介類（とりわけ、魚類）の重量が大きかった。種別の経年推移の解析の結果、イッカククモガニとムラサキイガイが顕著に増大し、サメ・エイ類とスズキを除くその他の種で減少が顕著であった。</p> <p>b) マコガレイ（2006年級群）の浮遊仔魚期の分布を明らかにし、稚魚の着底とその後の移動、成長を追跡した。マコガレイの着底稚魚の体内ダイオキシン類濃度が着底・生息場の底泥中濃度を反映するとの分析結果が得られた。</p> <p>c) シャコ調査の結果、着底個体は貧酸素水塊が解消する11月以降に出現した。これらは夏（8月前後）に孵化したものと推測される。夏以前に孵化した個体の着底がみられない現象については、貧酸素水塊の存在が着底を妨げた可能性と、2006年には春（4、5月）産卵由来の幼生がみられず、春の産卵資源量が著しく低いことも大きな要因と考えられた。なお、2006年級群の着底個体数密度は2005年級群のそれよりもやや大きい（高生残率）可能性が示された。今後、シャコ資源への加入状況を見守る必要がある。2004～2006年の調査結果から、稚シャコの着底は貧酸素水塊が解消した水域でみられ、稚シャコの着底場所および時期は年によって異なることが明らかとなった。また、着底した稚シャコの個体数密度が高い水域は年によって異なっていた。親の資源量と幼生の発生量には正の関係がみられるが、稚シャコの個体数密度は親資源量・幼生発生量のいずれとも関係がなかったことから、浮遊幼生期から着底期までの間に、生残率を大きく左右する因子の存在が示唆された。</p> <p>d) ハタタテヌメリ調査の結果、以下の知見が得られた。①2006年には、貧酸素水塊は主として湾奥～中央部において5～11月の期間に継続的に発生していた。②マクロベントスの種数・豊度は湾南部で調査期間を</p>

		<p>通して高かった。一方、湾奥～中央部では種数が少なく、豊度は貧酸素水塊の発生に伴い激減した。特に8月と9月には湾奥～中央部は無生物域となった。③ハタタテヌメリの湾内における空間分布を明らかにし、貧酸素水塊がこれらの分布を制限するだけでなく、大量斃死をもたらしている可能性が示唆された。④ハタタテヌメリの成長及び成熟について調べ、資源量水準が高かった時と比較した結果、資源量水準が低い近年において平均体長の低下と初回成熟体長の低下が生じていることが明らかとなった。⑤ハタタテヌメリの着底個体は貧酸素水塊が縮小・解消する11月以降に出現した。これらは夏（8月前後）に孵化したものと推測される。夏以前に孵化した個体の着底がみられない現象について、貧酸素水塊の存在が着底を妨げていた可能性もあるが、2006年には春（4、5月）産卵由来の浮遊仔魚がみられず、春の産卵資源量が著しく低いことも大きな要因と考えられる。</p> <p>e) 東京湾産ホシザメについて、資源量水準が高い近年の生活史パラメータを、資源量水準が低かった1990年代の研究報告のものとは比較した結果、近年、栄養状態の指標である肝重量指数の低下が生じていることが明らかとなった。資源量増加と栄養状態低下という矛盾した現象について、他の底棲魚介類との種間関係や環境要因との関連から検討する。</p>
<p>サブテーマ2) 淡水生態系における環境リスク要因と生態系影響評価</p>	<p>淡水生態系を対象として、生物多様性の減少、生態系機能の劣化、カタストロフ・レジームシフトの指標となるトンボ・水生植物・アオコなどと環境リスク要因との関係解析のため、野外調査を実施する。</p> <p>キーストーン種などの生物間相互作用を介した生態系影響を明らかにするため隔離水界等を実施する。</p>	<p>a) 本年度整備した兵庫県南西部の地理情報システム（GIS）データを用いて、ため池の種多様性に影響を与える空間スケールと環境要因の解明を行った。注目した生物種は、ため池の象徴種であるトンボ成虫と生物多様性と生態系機能の基盤となる水生植物種である。双方ともに、種多様度は、概ねため池の周囲1000mの土地利用が影響を与えており、市街地が負の効果を、ため池周囲の淡水域面積（他のため池）が正の効果を与えていた。そのため、ため池の生物多様性の保全には、ため池群を考慮する必要があることが示唆された。さらに、ため池の水深と面積は水生植物の種数に負の影響を与えていた。トンボの種数には水深が負の影響を与えていた。これは、従来、生態学の理論で一般的な「面積—種数の正の関係」と反対である。そのため、池の生物多様性の保全については、深水化・大型化がマイナスになることを示した。</p> <p>b) コイの有無、底泥へのアクセスの可否の2要因からなる4処理区の合計16隔離水界実験の結果、底泥へのアクセスの可否（ネットの有無）にかかわらず、コイがいるだけで水草は著しく減少した。植物プランクトン量と懸濁物量は、コイがいる場合に増加したが、その応答はネットの有無によって異なった。植物プランクトンについては優占種が変化した。コイのいない処理区ではクリプト藻がみられたのに対し、コイ導入区ではシアノバクテリア（アオコ）が優占した。また、底泥へのアクセスの可否にかかわらず、コイ導入両区で、動物プランクトン（主にワムシ類）が増加したが、ユスリカやイトミミズなどの底生無脊椎動物は減少した。沈水植物の減少は、懸濁物量と植物プランクトン量の増加による透明度の低下（光の減少）</p>

		<p>が要因として考えられた。底泥へのアクセスをネットで遮断しても効果がみられたことから、底泥攪乱を介した影響よりも栄養塩排出を介した影響が顕著であることが示された。すなわち、コイの栄養塩の排出は栄養塩循環や一次生産者の競争関係を改変する効果が顕著であることが示唆された。以上より、コイの導入は沈水植物の系から植物プランクトンの系へカタストロフィック・シフトを引き起こすことが示唆された。</p> <p>c) 2種の外来ザリガニ（侵入個体群および在来個体群）を対象として、ミトコンドリア DNA（16S、CO1）と核 DNA（ITS）の部分塩基配列を分子遺伝マーカーに用いシーケンシング（塩基配列の読み取り）を行ったところ、これらのザリガニ類では 16S 領域もしくは CO1 領域に多型があることが確認されたが ITS では多型は認められなかった。これまでの 16S に基づく解析結果からは、シグナルザリガニ侵入個体群間ではミトコンドリア・ハプロタイプの多様性や構成に地域変異があり、1) 長野の個体群は他の地域と明瞭にハプロタイプが異なること、2) 滋賀県の個体群はハプロタイプが多様であり、一部固有のハプロタイプを持つこと、また、3) 北海道の個体群では創始者効果の影響を受け、新しい侵入先ではハプロタイプが祖先型（摩周湖）の一部からのみ構成されていることが明らかとなった。これらのことから、シグナルザリガニについては侵入個体群の移入経路と遺伝的構造が地域ごとに明瞭に異なることが示唆された。</p>
<p>サブテーマ3) 侵入種生態リスク評価手法の開発に関する研究</p>	<p>在来種に対する競合リスクおよび種間交雑リスクについて、室内および野外レベルで検証する。</p>	<p>a) セイヨウオオマルハナバチの分布拡大に伴い、在来種の個体群密度が低下している実態をとらえた。</p> <p>b) セイヨウオオマルハナバチの分布規定要因について、侵入源となる商品コロニーの使用量および広域スケールでの植生環境から解析した。</p> <p>c) 野生の在来種女王蜂より受精嚢を摘出し、貯蔵精子 DNA を分析した結果、北海道において在来種エゾオオマルハナバチ女王の約 30%がセイヨウオオマルハナバチの雄と交尾していることが明らかとなった。</p> <p>d) 外国産クワガタムシについては、室内交雑実験により、外国産クワガタムシと日本産クワガタムシの間には高い交雑和合性があり、種間交雑リスクが高いことを示した。</p> <p>e) 交雑和合性が個体群間の遺伝的・地理的距離とは負相関の関係にあることが示唆された。</p> <p>f) 種間交雑の成果は、種分化プロセスと生殖隔離機構の進化の関係に関する貴重な実証例であり、進化生態学的にも重要な知見である。（学術的貢献）</p> <p>g) これらの成果をもって、環境省はセイヨウオオマルハナバチを外来生物法・特定外来生物に指定するとともに、防除事業に乗り出した。（政策的貢献）</p> <p>h) これらの成果をもって、環境省は外国産クワガタムシ逃亡防止のキャンペーンを展開し、一般への普及啓発に貢献した。（政策的貢献）</p>

	<p>侵入種防除システムの開発については、国内および国外(特にアジア地域)における侵入種防除研究に関する情報収集を行うとともに、実施機関との間でネットワークを構築して情報流通の促進を図る。</p> <p>外来寄生生物の侵入リスク評価については、輸入昆虫類・両生類・爬虫類を対象として、随伴寄生生物の侵入実態を明らかにするとともに、それら寄生生物の分類・同定を進め、生態リスクに関する研究データを収集する。</p>	<p>a) 特定外来生物であるアライグマ、マングース、オオクチバス、輸入両生類・爬虫類、セイヨウオオマルハナバチ、アルゼンチンアリの防除に係る研究機関と連携を図り、情報ネットワークの構築を行った。</p> <p>b) 特にマングースについて、琉球大学、森林総合研究所、環境省やんばる野生生物保護センターとの共同で開発した防除ネットが実用化され、2007年1月沖縄県FSラインに設置された。(政策的貢献)</p> <p>a) 外国産クワガタムシに寄生するダニ類を材料として、外来寄生生物の多様性を明らかにするとともに、新種を発見して記載を行った。</p> <p>b) クワガタムシと寄生性ダニの共種分化関係をDNA分析により明らかにした。</p> <p>c) 輸入爬虫類から多数の新型寄生性マダニを検出するとともに、その体内から新型病原微生物を検出した。</p> <p>d) 防除ネットワークを通じて、アジア地域初のカエルツボカビ症の侵入を確認し、緊急検査体制を構築した。</p> <p>e) 以上の結果より、寄生生物にも進化的重要単位が存在することを実証した。(学術的貢献)</p> <p>f) 爬虫類・両生類・昆虫類など、現行法上、検疫規制のない生物群の輸入による病原体生物侵入のリスクを明らかとし、新しい検疫システムの必要性を提言した。(政策的貢献)</p> <p>g) 特にカエルツボカビ症の侵入をいち早く検出し、PCR検査体制を構築したことにより、流通段階における感染状況の把握を可能とした。(政策的貢献)</p>
<p>サブテーマ4) 数理的手法を用いた生態リスク評価手法の開発</p>	<p>生態リスク評価の基盤となる数理モデルの研究を進展させる。環境ストレスによる群集攪乱の予測モデルの基礎となる、生物群集の種構成変化を予測する形</p>	<p>a) 生物の適応形質の群集内分布に基づくモデル(形質ベース群集モデル)の基礎的な属性(形質動態の種数や種間競争に対する依存性など)を研究した。環境変化による群集の平均形質の反応は、構成種の形質値と内的自然増加率との共分散に等しいこと、さらに、形質の群集内分散と、内的自然増加率の形質値への回帰係数(反応勾配)との積によって近似できることが示された。また、群集内の平均形質値は、群集の構成種数や種間の競争係数にはほとんど依存せず、形質の多様性(群集内のレンジ)にのみ依存するという結果を得た。これらの知見は、研究論文として国際一流誌に投稿した。</p> <p>b) 東京湾底棲魚介類の解析では、シャコの個体数変動を予測するために個体群マトリックスモデルを作成し、</p>

	<p>質ベース群集動態モデルの定式化を行う。</p> <p>浸透交雑のリスク予測手法の基礎のために、遺伝的交雑の過程を解析する集団遺伝学モデルを作成し解析する。</p>	<p>生活史感度解析をおこなった。その結果、幼生生残率、漁獲率、小型個体の投棄率などが個体群存続に影響することが示唆された。相対的な感度の大きさを推定する計算モデルは完成したが、実際の定量的評価のためには、パラメータの環境変動幅に関する検討が今後必要である。</p> <p>c) 浸透交雑の解析的研究を「ランダム配偶子モデル」に基づいておこない、近縁種間の浸透交雑の起こりやすさと、交配後隔離を支配する遺伝子数や組み換え率との関係を研究した。交配後隔離の破壊による浸透交雑の進行は、不和合遺伝子の遺伝子座間の組み換え率が高いほど促進され、座位数そのものには依存しないという結果を得た。</p> <p>d) 環境汚染物質の生態リスク研究の一環として、野外のミジンコ個体群における抵抗性遺伝子の個体群間変異の解析を開始した。今年度は、カブトミジンコ (<i>Daphnia galeata</i>) の野外における遺伝的変異と生息環境との関係を探るために、茨城県の霞ヶ浦、および大膳池から個体を採集し、核ゲノム上に存在するマイクロサテライト遺伝子計7座について PCR 反応条件の検討および個体変異情報を取得した。遺伝的距離に基づくクラスター解析を実施したところ、霞ヶ浦の異なる採集地点間で遺伝的組成が異なっていることが示された。</p>
--	--	---

## 重点研究プログラムにおけるその他の活動

### 1. 環境政策における活用を視野に入れた基盤的な調査研究の推進

サブテーマ	平成18年度の研究成果目標	平成18年度の研究成果（成果の活用状況を含む）
(1) 化学物質リスク総合解析手法と基盤の開発	環境リスク研究プログラムにおける各種プロジェクト間の情報交換、連携を図り、化学物質の環境リスクを総合的に把握することを目標として、本年度は、各	<p>a) 気象・水文関連データ、環境観測データ、排出関連情報、社会基盤・地理情報などのデータを収集し、GIS または必要な観点から適切に構造化されたデータとして収録する。H18年度では、収集したデータのうち、気象・地理関連情報（①アメダス、②メッシュ気候値、③土地利用データ、④USGS Global Land Cover Characteristics Data Base 及び USGS SRTM30_PLUS のデータを SQL Server のデータベースに格納した。</p> <p>b) 本課題で収録するデータと動態モデル等の統一的な運用・解析を目指した GIS システム基盤となるよう、テーブルを表示するためのインターフェイスやデータ抽出条件として時間や地理範囲を指定することができるようにした。地理単位の変換処理として、緯度経度から3次メッシュコードへの変換を実装し、他の</p>

<p>(2) 化学物質環境調査による曝露評価の高度化に関する研究</p>	<p>種の基礎データの蓄積とデータおよび GIS 基盤の予備的構築を行う。</p> <p>化学物質環境調査による曝露評価の高度化のため、生体試料中有機毒性物質の簡易分析法の開発を行い、体内動態解析に適用する。また環境分析法データベースの更新および追加を行う。</p>	<p>地理単位の変換処理を導入中である。</p> <p>c) 化学物質によるリスクの総合把握に関する検討を行うためのデータ活用および解析基盤として、データ蓄積の実施と解析インターフェースの開発を行う。パラメータと抽出条件の指定で選択されたデータの平均値、最大値、最低値を計算し、テキストファイルへのエクスポートと折れ線グラフなどでの表示ができるようにした。</p> <p>a) 化学物質（トルエン）曝露量評価の手法開発として、血中当該物質濃度の測定法開発を行った。特に妊娠後期におけるトルエン曝露時の胎仔血中濃度の測定法をラットを用いて作成した。ラット胎仔から採取できる血液量は限られているため、5<math>\mu</math>Lの血液で測定可能なように、ヘッドスペース-SPME法を検討した。定量的な捕集率が得られ、且つバックグラウンド値が低くなるような条件を求め、0.02 <math>\mu</math>g/mLでの胎仔血液の測定が可能となった。</p> <p>b) 母体および胎仔の血中トルエン濃度は曝露量依存的に増加し、母体のトルエン濃度は胎仔よりも高かった。吸入曝露したトルエンの生体内濃度は曝露直後より急速に低下するが、脂質含量が高い組織には蓄積され易い。胎仔は成体に比べて脂質量が少ないことが、母体と胎仔の血中トルエン濃度の違いの原因と考えられた。母体の肝臓ではCYP2E1のタンパク質発現が確認されたが、胎仔の発現量は極めて低レベルであり、母体との間に有意差がみとめられた曝露したトルエンを代謝する能力は胎仔では低く、その代謝は母体に依存していることが示唆された。</p>
<p>(3) 生態影響試験法の開発及び動向把握</p>	<p>生物個体群の絶滅モデルおよび藻類-ミジンコ-魚類の3種系モデルによって、生態毒性データに基づく生態リスク評価の高精度化を試みる。土壌・底生生物の生態毒性試験法に関する OECD テストガイドライン等の動向を把握するとと</p>	<p>a) OECD の生態毒性テストガイドラインにおいて、藻類、ミジンコ、魚類の生態毒性試験が求められている。本研究では、3種間の種間相互作用を組み込んだ数理生態学モデル（3栄養段階モデル）によって、生態系への影響をより高精度に予測する手法の開発を検討した。魚類のレスリー行列モデルに、下位の栄養段階の種（藻類およびミジンコ）を加え、さらに食うものと食われるものの種間相互作用をモデルに組み込むことにより、3種の個体数変動を予測するモデルを作成した。</p> <p>b) OECD 化学物質テストガイドライン 207（ミミズ急性毒性試験；以下TG208）と222（ミミズ繁殖試験；以下TG222）の標準試験手順の検討、およびデンマーク提案のドラフトガイドライン（トビムシ繁殖試験；以下TG トビムシ）に関する国際リングテストの実施と国内で使用されてきた種による試験可能性の検討を行った。</p> <p>c) 水生高等植物に対する化学物質の生態影響試験であるウキクサ生長阻害試験 TG221 の策定段階であった平</p>

	<p>もに、藻類、ミジンコ試験の技術開発を継続する。</p>	<p>成 16 年度において国内リングテストのための手引書をまとめ、平成 17 年度に国内の 3 カ所の GLP 試験機関が参加して試験を実施した。本年度、その結果を受けて標準試験手順書（案）をまとめた。</p> <p>d) 国際試験法提案国のリード・ラボラトリーとしてバリデーションリングテストを企画し、実施に向けた準備を進めてきた。バリデーションリングテストでは、試験物質としてピリプロキシフェン（陽性対照物質）と 3,5-ジクロロフェノール、それから試験に使用するオオミジンコとして当研究所で累代飼育している系統「NIES 系統」を参加ラボに配布し、当研究所を含めて 12 研究機関の参加のもと試験を行った。以上の結果は、2007 年 1 月に開催された VMG-eco に於いて OECD に報告された。（国際的貢献）</p>
<p>(4) 構造活性相関等による生態毒性予測手法の開発</p>	<p>魚類致死毒性についての構造活性相関モデルの公開に向けた検討を行うとともに、他の生物種に対する構造活性相関モデルの構築および適用可能な化学物質の拡張のための、手法の検討を行う。</p>	<p>a) ニューラルネットワーク手法による QSAR モデルを構築する手法を検討する際の、作業の枠組みと具体的な作業内容とを作成した。対象生物種は甲殻類および魚類とし、カテゴリー分類を行わないモデルの構築を試みたが、予測性の高いモデルを得ることは困難であり、分類のためのパラメーターの検討を開始した。</p> <p>b) OECD 会合、第一回（定量的）構造活性相関についてのアドホックグループ会合（2006 年 6 月、於イタリア、ストレーザ）に参加し、当センターで開発を進めている生態毒性予測システムの開発状況について報告するとともに、情報収集を行った。</p> <p>c) 魚類致死毒性についての構造活性相関モデルの公開に向けては、フラグメントの取扱方法、システムの改善、および他の要修正点について検討が進められた。</p>
<p>(5) 発がん性評価と予測のための手法の開発</p>	<p>化学物質曝露による発がん作用等の有害作用のリスクを把握するために、トランスジェニック動物、細菌、動物培養細胞等を用いた測定法を活用して、環境中の化学物質や混合汚染物質などの有害性</p>	<p>a) 代表的な発がん関連物質群であるいくつかの多環芳香族炭化水素について比較的簡便な <i>in vitro</i> assay 法（Bhas 試験）によるピレン、ベンズ[a]アントラセン及びベンゾ[a]ピレンの発癌プロモーション活性の測定を実施した結果、ピレン及びベンズ[a]アントラセンについては、有意なフォーカス数の増大が認められたが、ベンゾ[a]ピレンについては、10<math>\mu</math>g/mL においても有意な増大が認められなかった。</p> <p>b) トランスジェニックゼブラフィッシュを用いた変異原性試験と発がん活性の関連を、N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) と 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) を用いて検討した結果、10% 腫瘍発生を上昇させる濃度における突然変異発生頻度はいずれも約 10<sup>-5</sup>であった。</p>

<p>(6) インフォマテック手法を活用した化学物質の影響評価と類型化手法の開発</p>	<p>を簡便に評価するための基礎的研究を行う。</p> <p>化学物質の生体影響予測のため、ゲノム情報、化学物質の毒性情報、メカニズム分類、疾患情報等に基づき、バイオインフォマテック等の手法を活用して化学物質の生体影響に関する類型化を行う。</p>	<p>a) NCBI の TOXNET にリンクしている PubMed Tox[Sub] (2006. 11 のもの)の大量データなデータを取得し、化学物質と毒性の種類ごとに自動的に分類するシステム (<a href="http://idenshi.nies.go.jp/cgi-bin/mdcs/index.cgi">http://idenshi.nies.go.jp/cgi-bin/mdcs/index.cgi</a>)を構築した。キーワードと CAS 番号による検索に対応して GEO(Gene Expression Omnibus, <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/</a>)に搭載されている公開マイクロアレイデータと PubMed の毒性文献が自動で取得できるように構築した。</p> <p>b) 産業技術総合研究所との共同研究において、遺伝子発現情報及び毒性情報の類型を搭載する化学物質の類型化システム(仮称 eCA)を構築した。本システムは、minimum spanning tree アルゴリズム、競合学習にもとづくニューラルネットワークを用いたクラス分けアルゴリズムである self-organizing maps によって、遺伝子発現変動の特徴づけ、毒性情報の類型化を行う。このシステムに適合する化学物質の毒性影響と遺伝子発現データの整備を行った。</p> <p>c) ベイジアンネットワークによる遺伝子ネットワーク解析システム(仮称 NiesGeNet)を構築した。遺伝子のみならず、他の分子間関係の解析にも応用可能である。</p>
<p>(7) 化学物質の環境リスク評価のための基盤整備</p>	<p>環境リスク評価の実施に向けて、化学物質の毒性に関する知見の集積に着手するとともに、国内の生態影響試験結果をデータベース化する。内外のリスク評価等の動向を把握し、リスク評価手法の総合化のための検討に活用する。環境リスクに関するコミュニケーションの実施</p>	<p>a) 行政ニーズを受けたさまざまな場面で、それぞれのニーズに応じた形で化学物質の生態リスク評価に関する知見が活用されている。これらを統一的に捉える視点から、化学物質の環境リスク初期評価、水生生物保全環境基準の検討に向けた有害性評価、農薬取締法に基づく水産動植物登録保留基準の設定に向けた有害性評価等に関する作業を進めるとともに、総合的な評価の実施に向けた検討を行った。環境基本法に基づき設定された環境基準の総合的かつ横断的な把握に向けて、水生生物保全環境基準の現状と課題について整理した。</p> <p>b) 化学物質の環境リスク初期評価を始めとするリスク評価の実施に向けて、化学物質に関する基本的事項(物理化学的性状、環境運命に関する基礎的事項等)、環境中の存在状況及び生態毒性に関する情報を収集し、その知見の集積を進めた。</p> <p>c) 有害大気汚染物質のうち優先取組物質のうち今年度に指針値の設定を目指した 4 物質の健康リスク評価の中央環境審議会大気環境部会の小委員会、健康リスク総合専門委員会による検討及び 4 物質中 3 物質の指針値の設定に協力した。特にそのうちの 1,2-ジクロロエタンに関しては、動物を用いた発がん実験データ</p>

	<p>に向けた予備的検討を行う。</p>	<p>からの初めての指針値算出の方法について、ベンチマークドース法を中心に詳細に検討し、設定に大きく貢献した。(政策貢献)</p> <p>d) 都道府県等の地方公共団体の環境行政担当者、化学物質排出事業所等の環境保全担当者等を想定し、これら対象者に利用しやすいリスク評価に関する解説情報の作成方策についての検討に着手した。</p>
--	----------------------	---

## 2. 環境リスクに関するデータベース等の作成

サブテーマ	当年度の研究成果目標	当年度の研究成果（成果の活用状況を含む）
<p>(1) 化学物質データベースの構築と提供</p>	<p>化学物質の環境リスクに関するコミュニケーションの推進に向けた基盤整備のため、環境リスクに着目した化学物質データベースの構築、リスク情報を平易に伝える方法の検討等を行う。本年度は、データベースの更新・追加および Web ページの改良を行う。</p>	<p>a) 化学物質データベースシステムのオラクルへの移行を実施し、法制度、リスク評価、曝露情報などのカテゴリより検索が可能とした。PRTR データ、モニタリングデータの整備を進めた。また、各種規制値のデータの更新を行い、農薬 ADI 値の追加を行った。</p> <p>b) 環境濃度予測プログラム (MuSEM) を公表するにあたり、バグを修正し、日本語-英語対応のインターフェイスに変更した。連動して動作するデータベースファイルとして、MuSEM 本体で使用するデータのみから構成されたデータベースを新たに作成した。</p>
<p>(2) 生態系評価・管理のための流域詳細情報の整備</p>	<p>生態系の現状把握、これに影響を及ぼすリスク要因の解明及びその総合管理に資するため、多数のため池を有する流域を対象として土地被覆、標高、植生など</p>	<p>兵庫県南西部（加東市、加西市、小野市、三木市、加古川市、明石市、神戸市、加古郡稲美町）を対象に、以下のように流域詳細情報の整備を実施した。</p> <p>a) &lt;情報収集&gt; 対象となる紙媒体およびデジタルデータの収集は、公共機関等からの借用・購入や市販データの購入 web からのダウンロードによって実施した。情報収集の対象とした公共機関は、兵庫県庁、各市町村、土地改良事務所、兵庫県立人と自然の博物館である。これらの機関に対しては個別訪問による保有データの聞き取りおよび、必要なデータの収集を行った。国土院発行の地形図（1/25000 縮尺以上）、標高等の元データは市販されているためこれ購入した。土地被覆、過去の衛星画像情報 (Landsat) は国内外</p>

<p>(3) 侵入生物データベースの管理</p>	<p>に関する詳細情報をGIS データ基盤として整備する。</p> <p>侵入種の生息環境状況、個体群動態、生態系影響(被害)、駆除事業の実態などの情報の集約化のため、侵入種対策を実施している機関・団体の情報ネットワーク構築を行う。侵入種の分布域情報について、緯度、経度、標高、植生、侵入年などの地理的情報をデータベースに登録するとともに、既存データについても更新を行う。</p>	<p>の web site で元データが公開されているため、これを個別にダウンロードした。これらにより土地被覆、標高、植生、人口、土壌等の情報のほか、過去の衛生画像や、詳細な地形図等、約 15 項目 40 件の環境情報を収集した。生物の分布データとしては、327 箇所のため池において生育する水生植物の出現種を 8 月から 10 月にかけて現地調査した。</p> <p>b) &lt;情報の整備&gt; 得られた情報は、必要に応じてデジタル化および GIS 情報化した。GIS 情報に対しては利用する GIS ソフトウェアである ArcGIS で利用できる形式に変換した後、投影座標系・測地系を統一した。なお本流域詳細情報で利用する投影座標系・測地系は、整備効率および将来的な解析のための利便性を考慮に入れて、日本測地系および公共座標系を採用した。</p> <p>a) 法適用の項目についての改定を優先的に行った。動物 236 種中 28 種、植物 100 種中 9 種についての情報を変更し、最新の分布状況も記載した。なお、これら指定種のうち分布地図については、情報の精度と根拠を明確にする必要性から、十分検討した上で順次 HP に公開することとした。</p> <p>b) 2004 年から 2006 年度現在までに新たに問題となった外来生物についての生態データを集積・整理を行い、特に影響の大きい種については、昆虫類から 1 種、維管束植物 5 種について新たに追加を行った。</p> <p>c) 哺乳類 1 種、昆虫類 4 種、維管束植物 7 種についての生態写真の補充を行った。NORNAC(自然系調査研究機関連絡会議)、および千葉県立自然史博物館・国立科学博物館・大阪市立自然史博物館・徳島県立自然史博物館などの自然史系博物館学芸員等のネットワーク構築を行ったことで、情報の信頼性と品質のレベルアップに留意できた。</p> <p>d) 布拡大予測図作成候補種リストを作成し、侵入種、および影響を受ける在来種の分布域情報について、地質、緯度、経度、標高、植生、流域区分情報、侵入年などの地理的情報をデータベース化し、空間位置関係に基づく分布域予測アルゴリズムを定量化した。これをもとに、特定外来生物のアルゼンチンアリの分布拡大予測・防除対策マップの作成、外来ヒラタクワガタの分布拡大危険地域マップ、カエルツボカビ症対策用の在来種分布地図作成等、各種の政策用に適用した。(政策貢献)</p>
--------------------------	--	--

## 平成 19 年度の研究展望

### 中核 PJ1 「化学物質曝露に関する複合的要因の総合解析による曝露評価」

本年度は多くの検討が予備的検討にとどまり、特にアウトカムとしての成果には至らなかった場合が多かった。来年度はアウトカムにつながるよう具体的な成果を提案していきたい。

*in vitro* 及び *in vivo* のバイオアッセイを用いる曝露あるいは影響の包括的把握については、本年度いくつかの新たな実験的成果を提示しているが、今後は更にこれらを包括的把握あるいは影響の類型化という観点で整理を進める戦略が必要であると考えている。

また、これらバイオアッセイの成果とモデル解析の結果を併せた曝露の包括的把握という点についてはなお完全な展望を示すことが出来ていない点が問題と認識している。しかし、本年度、この解析のための諸データ、システムの整備を進めてきており、来年度以降、研究終了までの期間に、曝露に関する諸要因の解析と包括的把握の具体的な成果を示すよう努力したい。

### 中核 PJ2 「感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価」

#### 課題 1：遺伝的感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価

- 1) 計測システムにおけるマウスへのガス呈示の方法を変え、トルエンにおいて本年度に求めた検知閾値（5 p p b 以下）を、さらに精査してゆく。マウスの性・系統を変えて実施する。
- 2) 増加の見られた STAT5、及び Th1/Th2 バランスにかかわる T-bet や GATA3 などの転写因子の動きをトルエン曝露に対する系統間差について検討する。
- 3) 海馬における記憶関連遺伝子の局在の違いや発現の違いをより詳細に明らかにするとともに、情報伝達にかかわる嗅球、視床下部での遺伝子発現の違いを異なる系統のマウスで解析する。

#### 課題 2：時間的感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価

- 1) 胎仔期トルエン曝露モデルを用いて、アポトーシス制御分子の発現を指標にした影響解析をすすめる。
- 2) マウス妊娠 14 日目から出生後 3 週目にかけて PGN を 3 日おきに計 12 回吸入曝露し、Th1 機能発達やアレルギー抑制等への PGN 刺激の効果について解析する。
- 3) TCDD の授乳期曝露が核内受容体の VDR および RXR を介するビタミン D 代謝およびカルシウム代謝を攪乱する毒性メカニズムを追及し、生体影響を明らかにする。さらに、AhR 欠損マウスを用いてこの作用が AhR を介するかどうかを検討するとともに、他の環境化学物質においても核内受容体を介するホルモン攪乱作用を検討する。
- 4) 神経変性疾患モデルの化学物質による検証を行う。本年の結果は、ビスフェノール A の曝露時期により異なる疾患をもたらすことを示唆しているのか、或いは両者の疾患に何らかの関係があるのか検討する。

#### 課題 3：複合的感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価

皮膚炎症状の増悪が認められた化学物質については、その増悪メカニズムについてさらに検討をする。次年度の対象物質としては、他の可塑剤、樹脂原料、界面活性剤、防腐剤、難燃剤などの中から、重要性、緊急性を鑑みた上で物質を選択し、優先的に評価を進める。さらに、アレルギー増悪のより簡易なスクリーニング手法の開発、(①DNA マイクロアレイを用いた短期スクリーニング手法の開発、②培養細胞系を用いた簡易スクリーニング手法の開発) についても併せて検討する。

## 中核 PJ3 「環境中におけるナノ粒子等の体内動態と健康影響評価」

### 課題 1：環境ナノ粒子の生体影響に関する研究

- 1) アイドリング時に発生するナノ粒子は主に軽油由来であることが分かったので、次年度以降に行われる過渡運転での曝露条件として、オイル由来のナノ粒子が排出される条件を検討する。また、アイドリング走行時の実車排気粒子曝露実験の再現性確認実験、ディーゼル排ガス中のガス状成分と粒子状成分が生体に影響を与える割合の把握を行う。
- 2) 実車排出ナノ粒子の呼吸器以外の組織への移行の検討と影響を検討するとともに、吸入模擬ナノ粒子の体内動態を検討する。
- 3) マウスと培養細胞にディーゼル排気ナノ粒子を曝露し、曝露した動物の組織（肺、脳、肝臓、心臓）の形態観察をおこなうと共に、組織の免疫組織化学的検討と炎症マーカー・薬物代謝酵素の変化の検出を併用することにより、曝露影響評価と体内動態を検討する。
- 4) マウスに金ナノ粒子、アルカンを付けた金ナノ粒子等の標識が可能である模擬ナノ粒子を曝露して肺への影響を検討するとともに、鼻腔から脳への体内移行や肺からのクリアランスを定量的・定性的に検討する。
- 5) 実車ナノ粒子が感染に関連する肺傷害の増悪に関して、肺傷害に随伴する凝固・線溶異常に与える影響を検討する。また、増悪メカニズムの解明として、肺及び血中における接着分子発現の検討や、ナノ粒子曝露された肺胞マクロファージの細菌毒素に対する感受性を *ex vivo* にて検討する。
- 6) 環境ナノ粒子を多く含むディーゼル排気暴露したラットにおいて、出現する異常心電図の解明を行うとともに、呼吸器や循環器以外の臓器への影響についても調べる。

### 課題 2：ナノマテリアルの健康リスク評価に関する研究

- 1) 細胞障害性に関してカーボンナノチューブと細胞膜との反応性についてさらに詳細に調べるほか、*in vivo* での生体影響アッセイ系を確立する。
- 2) CNT を投与されたマウスの亜慢性・慢性的影響について順次調べ、長期にナノファイバーに暴露した場合の安全性評価に資する。
- 3) カーボンナノチューブの吸入実験を行うための安全性指針を確立し、また吸入暴露装置を用いて、急性吸入実験に着手する。

### 課題 3：アスベストの呼吸器内動態と毒性に関する研究

- 1) サブ課題 1 で得られた結果を基に、結晶構造が大きく変化した、または細胞毒性が大きく変化した熱処理アスベストサンプルを数試料選択して、アスベストの毒性発現機構について考察する。
- 2) 形態的に SEM, TEM, アスベスト顕微鏡、共焦点顕微鏡を用いてさらに詳細な細胞毒性のメカニズムを検討する。
- 3) 細胞生化学的に、細胞膜電位、ミトコンドリア膜電位、DNA 損傷、アポトーシス、繊維化、細胞増殖、Syk, PKC zeta, CamK(IV), HO-1, Smad7, CTGF, FGFR, Caspase, ERK, TGF, IL-1, TNF, NGF について検討を加える。
- 4) クリソタイル、クロシドライトの熱処理物の繊維状と破砕条件下での細胞毒性影響の違い調べ、繊維形状と細胞障害性との関連を調べる。
- 5) 浮遊状態での *in vitro* アッセイ法としての赤血球を用いた膜傷害性試験の有用性を検討する。
- 6) アモサイト等の熱処理物の細胞毒性試験による毒性評価を行う。

7) クロシドライト、およびクリソタイル（日測協）の熱処理物のマウスへの気管投与実験による毒性評価を行う。

## 中核PJ4「生物多様性と生態系機能の視点に基づく環境影響評価手法の開発」

### 課題1) 東京湾における底棲魚介類の個体群動態の解明と生態影響評価

- 1) 東京湾 20 定点調査（四季調査：5月、8月、11月及び2月）の実施と底棲魚介類群集の質的及び量的変化の解析
- 2) 東京湾全域に設定した調査定点においてマコガレイ（仔稚魚と成魚）、ハタタテヌメリ（仔稚魚と成魚）とシャコ幼生の採集、およびCTDによる水質測定を毎月実施し（千葉県水産総合研究センター及び神奈川県水産技術センターと共同実施）、CTDデータの解析により、貧酸素水塊の消長を明らかにする。
- 3) マコガレイ（仔魚・稚魚・成魚）調査の実施と解析（2007年級群の浮遊仔魚期の分布、着底後の移動、仔稚魚の耳石の日輪による成長履歴と食性の解析、成魚の性成熟に関する組織学的解析等）。
- 4) シャコ幼生調査の実施と解析（2007年級群の分布、豊度、生活史特性、貧酸素水塊の影響解析等）。
- 5) 平成18年度ハタタテヌメリ（仔魚・稚魚・成魚）調査で得られた各種試料（ベントス試料を含む）の処理と生活史特性の解析—ハタタテヌメリの生活史パラメータ（成魚と仔魚の分布、年齢と成長、食性、雌雄の成熟時期、1個体当たり産卵数、肝重量指数、肥満度、産卵場、着底場）を明らかにする。仔魚の耳石解析により、孵化日の違いによる成長速度及び死亡率の差を明らかにする。貧酸素水塊がハタタテヌメリの分布、食性、成長、成熟及び仔稚魚の生残と着底に及ぼす影響を多変量解析により評価する。
- 6) ベントスの種査定、個体数計数と重量測定を行う。貧酸素水塊がベントス群集豊度の時空間的変動に及ぼす影響を明らかにする。
- 7) ホシザメを中心とするサメ類の定期採集調査と生活史特性（分布、年齢と成長、食性、性成熟）の解析—過去に報告されているホシザメの生活史特性と比較し、変化した生活史特性を明らかにし、他種の資源動態や環境因子との関連について解析する。
- 8) 貧酸素・有害化学物質の流水式連続曝露試験システム（平成18年度に試作）を用いシャコ、ハタタテヌメリ、マコガレイに対する溶存酸素（DO）の致死濃度と忌避行動開始濃度の推定を行う。平成20年度以降に、貧酸素水塊が摂餌や成長、仔魚の着底に及ぼす影響、並びに貧酸素ストレスと有害化学物質の複合影響（生残率低下、成長速度低下、成熟異常等）を検証するための長期曝露実験を計画しているため、平成19年度には、次の予備実験も実施する：低DO濃度を長期に一定に保持する手法の開発、及び化学物質を含む貧酸素海水の長期曝露を可能にする飼育方法の開発（換水率別の（実験水槽における供試生物の）最大収容密度の検討と、供試生物の収容密度が個体の摂餌や成長、成熟に及ぼす影響の評価）

### 課題2) 淡水生態系における環境リスク要因と生態系影響評価

- 1) 平成18年8月から1年の予定で実施している兵庫県南西部のため池31池について、①生物多様性の指標となるトンボ（成虫と幼虫）、ベントス、水生植物種、②生態系機能の指標となる池の中とその周辺の植生群落やベントスの生活型、③カタストロフレジーム・シフトを現すアオコ、④環境変数として水質、周辺の土地被覆や標高などの地理的変数、魚などの捕食者変数、農家によるため池の管理方法、農薬等の化学物質の使用、などの調査と分析を完了する。さらに、平成19年から新たな30余のため池

の調査地選定を行ない、同様の調査と化学分析の実施を行う。

2) 平成 18 年 7 月から 10 月にかけてため池 327 池での水生植物の種組成や種数および水質の現地調査を実施した。さらに、土地被覆などの地理的変数・ため池の管理方法の違い等の調査と分析を進めることで、水生植物の種類と環境リスク要因の関係解析を実施する。

3) 平成 19 年夏季に、ため池が多く存在する 30 x 40 km の地域の空中撮影を実施する。空撮情報を流域情報基盤として整備する。一方で、空撮情報から植生群落の定量やアオコの発生の量的把握を試みる。

4) 農林水産省は平成 19 年度から農地・水・環境の良好な保全とその質の向上を図る新たな対策「農地・水・環境保全向上対策」を導入する。この施策は、農業者だけでなく、地域住民や自治会が幅広く参加する活動組織を新しく作ることや化学肥料と化学合成農薬の 5 割低減等の環境配慮を盛り込んでいる。こうした施策の浸透状況と地域コミュニティの関係についての調査を始める。

5) 引き続き、池のカタストロフレジーム・シフトを引き起こす生態系のキーストーン種による生態系プロセスを、隔離水界実験を用いて検証する。淡水生態系の中でキーストーン種となりうる外来種を生物間相互作用に基づいて判定する目的で、環境研の基盤整備にて生態園に隔離水界を建設することを提案する予定である。隔離水界実験では、主に、物理化学的要因（水温）の変化、生物群集の組成、ならびに侵入個体群の遺伝的変異に伴って生態系影響がどのように変化するかを明らかにする。第一目的である水温と生態系影響の関係を調べるために、ヒーター付の隔離水界を設置予定である。今年度の予備試験からは十分実施が可能と思われる。

6) 引き続きミトコンドリア DNA の部分塩基配列（COI、16S）をマーカーとして、外来ザリガニ類の分散経路と地域個体群の遺伝的変異を明らかにする。来年度はアメリカ、ニューオーリンズ近辺でアメリカザリガニとその近縁種（外群）を採集し、昨年度の結果と併せて、外来ザリガニ 2 種の由来ならびに国内外での分散経路を明らかにする。一般に、人為的手段によって何度も移植が行われている場合、侵入個体群の遺伝的多様性は高くなるが、自然拡散の場合、侵入元からの地理的距離と遺伝的距離に正の相関が認められることが予想される。したがって分散経路の違いによって侵入個体群の遺伝的変異が生じることが予想される。遺伝的研究によって分散経路を明らかにした後は、隔離水界やメソコスムを用いてミトコンドリア・ハプロタイプの分布と生態系影響の関係を明らかにしたい。

### 課題 3) 侵入種生態リスク評価手法の開発に関する研究

1) 侵入生物の生態リスク評価手法の開発については、交雑リスク評価を発展させ、在来種および侵入種の個体群動態に及ぼす影響、および遺伝的固有性の喪失確率の算出を試みる。

2) 侵入種防除システムの開発については、今年度構築されたネットワークを通じてさらに情報収集を進めるとともに、環境省とも連携を図り、具体的防除計画の立案・実施を行う。

3) 外来寄生生物の侵入リスク評価については、宿主-寄生生物の共種分化関係の解明実証例を蓄積するとともに、寄生生物の進化的重要単位を設定する。

4) カエルツボカビ症の検査を実施し、国内における侵入状況を把握するとともに、アジア地域における侵入実態に関する情報収集を進める。

### 課題 4) 数理的手法を用いた生態リスク評価手法の開発

1) 形質ベース群集モデルを、多形質に一般化し、基礎的なモデルを完成させる。さらに、生態影響評価のために形質を、生態系モデルなどで特定する。目下のところ、生産性、循環性、分解性に関する形質を解析する予定である。数理モデルを、実際の野外生態系に適用し、生態系評価を試みる。具体的に

は、ため池を含む湖沼生態系、草地生態系を対象とする。

2) ミジンコ (*Daphnia galeata*) を用いた、化学物質の集団遺伝モニタリングの研究では、今年度に引き続き、マイクロサテライト DNA のマーカー座位を確立し、農薬 (殺虫剤) に対する耐性の個体群間変異および空間変異を解析する。

## 重点研究プログラムにおけるその他の活動

### 1. 環境政策における活用を視野に入れた基盤的な調査研究の推進

#### (1) 化学物質リスク総合解析手法と基盤の開発

化学物質環境調査等の測定データ、また、モデル解析結果や排出源情報などリスク解析において必要とされる情報蓄積とシステム構築、解析手法の検討を行う。平成19年度は、各種の基礎データの蓄積とデータ及び GIS 基盤の設計と構築を継続する。

#### (2) 化学物質環境調査による曝露評価の高度化に関する研究

化学物質環境調査による曝露評価の高度化のため、各種毒性物質の代謝物など、曝露マーカーの一斉分析法の開発を行う。ヒト曝露評価への適用を視野に入れ、実験動物を用いて曝露濃度と曝露マーカーとの相関性を検証する。

#### (3) 生態影響試験法の開発及び動向把握

生物個体群の絶滅モデル及び藻類-ミジンコ-魚類の3種系モデルによって、生態毒性データに基づく生態リスク評価の高精度化を試みる。土壌・底生生物の生態毒性試験法に関する OECD テストガイドライン等の動向を把握するとともに、藻類、魚類、ミジンコ試験の技術開発を継続する。

#### (4) 構造活性相関等による生態毒性予測手法の開発

魚類致死毒性についての構造活性相関モデルの公開に向けた検討を行うとともに、他の生物種に対する構造活性相関モデルの構築及び適用可能な化学物質の拡張のための手法の検討を行う。

#### (5) 発がん性評価と予測のための手法の開発

化学物質曝露による発がん作用等の有害作用のリスクを、トランスジェニック動物、バクテリア、動物培養細胞等を用いた変異原性試験やプロモーション活性測定などの簡便な測定法を活用することにより予測できるかどうかについて、代表的な汚染物質を例に検討する。環境試料中の混合汚染物質の有害性を簡便に評価するための基礎的研究を行う。

#### (6) インフォマティクス手法を活用した化学物質の影響評価と類型化手法の開発

化学物質の生体影響予測のため、ゲノム情報、化学物質の毒性情報、メカニズム分類、疾患情報の情報等に基づき、バイオインフォマティクス等の手法を活用して生体影響に関する化学物質の類型化を行う。平成19年度は、生体影響を軸とした化学物質の類型化システムを構築する。さらに、マルチプロファイリング技術による化学物質の胎生期に及ぼす影響の新たな評価手法の開発を行う。

#### (7) 化学物質の環境リスク評価のための基盤整備

環境リスク評価の実施に向けて、化学物質の毒性及び生態毒性に関する知見の集積を進めるに着手するとともに、国内の生態影響試験結果をデータベース化する。内外のリスク評価等の動向を把握し、リスク評価手法の総合化のための検討を行うに活用する。環境リスクに関するコミュニケーションの実施に向けてリスク評価結果の解説情報を作成する。

## 2. 環境リスクに関するデータベース等の作成

### (1) 化学物質データベースの構築と提供

化学物質の環境リスクに関するコミュニケーションの推進に向けた基盤整備のため、環境リスクに着目した化学物質データベースの構築、リスク情報を平易に伝える方法の検討を行う。データベースの更新・追加に加え、関連するデータベースの統合とともに Web ページの改良を進める。

### (2) 生態系評価・管理のための流域詳細情報の整備

生態系の現状把握、これに影響を及ぼすリスク要因の解明及びその総合管理に資するため、多数のため池を有する流域を対象として土地被覆、標高、植生などに関する詳細情報を GIS データ基盤として整備する。

### (3) 侵入生物データベースの管理

侵入種の生息環境状況、個体群動態、生態系影響（被害）、駆除事業の実態などの情報の集約化のため、侵入種対策を実施している機関・団体の情報ネットワーク構築を行う。侵入種の分布域情報について、緯度、経度、標高、植生、侵入年などの地理的情報をデータベースに登録するとともに、既存データについても更新を行う。