

AR-6-'93

国立環境研究所 特別研究年報

平成 4 年 度

環境庁 国立環境研究所

平成4年度国立環境研究所特別研究年報 の発刊に当たって

研究所の組織改革によって“特別研究”が地域環境研究グループに集約されてから、今年で3年目を迎え、本書はその第2回目の研究成果年次報告書となります。この1年間に4つの地域環境に係る目的研究が終了し、これに代わる新たなテーマとして3つがスタートしています。

4つの終了課題のうち、「自動車交通公害の総合評価手法に関する研究」は都市環境保全対策研究としての新たな展開を図るために1年間の準備期間を置くこととしました。

残る3課題は基本的にはこれまでの研究内容を踏まえて、これに今日の新たな事象を取り入れる形で発展させたものです。

その1は「湖沼水質指標の開発と新たな湖沼環境問題の解明に関する研究」です。湖沼環境は近年急激な勢いで変化しており、特に藻類組成を含む生態系の変化が著しく、これまで流入負荷と植物プランクトンの量的関係はかなり明らかにされてきたが、質的な関係については不明な点が多く残されています。そこで本研究では、流域での各種対策や土地利用変化が負荷発生やN/P比にもたらしている変化が、湖沼水質や生態系に与える影響をとらえるとともに、最近の急激な湖沼生態系の変化を表現できる新たな指標の開発を行います。

その2は「都市型環境騒音・大気汚染による環境ストレスと健康影響に関する環境保健研究」ですが、大気汚染、騒音などの環境汚染状況は、超都市化の進行と相まってますます都市型汚染の傾向を強めており、健康影響・リスクの評価・管理システムを体系化していく作業は、環境保健研究として重要性を増してきています。そこで、本研究は環境行政におけるアメニティ政策の基礎的資料、あるいは都市型大気汚染と呼吸器系アレルギー疾患との関連について疫学的所見を得るほか、環境保健モニタリングシステムへの連携、上記の体系的な再評価・検討を試みます。

その3は「環境中の有機塩素化合物の暴露量評価と複合健康影響に関する研究」ですが、わが国の化学物質の種類は生産量の増加率の数倍の速さで増加しています。そして将来その種類はますます増加が予想されます。そこで本研究では、環境に存在する化学物質、特に有機塩素化合物の健康影響を体系的に評価するために、環境中の多種類の有機塩素化合物の暴露量影響評価に関する研究を行い、最終的には、人の健康に影響を与える可能性がある有機塩素化合物のプライオリティリストを作成することを目的としております。いずれも古くからの問題でありながら、社会状況の変化により環境の状況が一層複雑かつ深刻化している現象であることは周知のとおりであります。

現在、環境問題への対応が一つの大きな契機となって、社会全体のあらゆる仕組みが大きく変化しようとしているのではないのでしょうか。このような時期に、当研究所のプロジェクト研究も当然ある部分は大きく変わるべきであろうと思われます。したがって地域環境に係る目的研究の向かうべき方向についても模索しているところといえましょう。

地域環境研究グループとして、特別研究全体を一つの組織の下に集約し、課題相互の連繫を深めることで全体の体系的な発展を目指しているところでもあります。とはいえ、20年にわたる歴史をもって続けてきた特別研究のあり方を、直ちに变えることは難しく、また必ずしも望ましいことではないと思われますので、諸般の事情を配慮しつつ、徐々に新たな方向への展開を図っているところであります。

これからの毎年の報告書の中で、そのような新たな変革に向けた私共の努力の成果をご報告できるものと思います。忌憚なきご批判とご鞭撻をお願いする次第です。

平成5年8月

国立環境研究所

所長 市川 惇 信

目 次

1. 概 況	1
2. 特別研究	
2.1 粒子状物質を主体とした大気汚染物質の生体影響評価に関する実験的研究（最終年度）	3
2.2 トリクロロエチレン等の地下水汚染の防止に関する研究（最終年度）	13
2.3 有害廃棄物のモニタリングに関する研究（最終年度）	19
2.4 有用微生物を活用した小規模排水処理技術の開発と高度化に関する研究（最終年度）	25
2.5 都市域における冬期を中心とした高濃度大気汚染の予測と制御に関する研究（最終年度）	29
2.6 水環境における化学物質の長期暴露による相乗的生態系影響に関する研究	37
2.7 閉鎖性海域における水界生態系機構の解明および保全に関する研究	47
2.8 環境保全のためのバイオテクノロジーの活用とその環境影響評価に関する研究	53
2.9 湿原の環境変化に伴う生物群集の変遷と生態系の安定化維持機構に関する研究	59
2.10 環境中の有機塩素化合物の暴露量評価と複合健康影響に関する研究（初年度）	69
2.11 湖沼環境指標の開発と新たな湖沼環境問題の解明に関する研究（初年度）	73
2.12 都市型環境騒音・大気汚染による環境ストレスと健康影響に関する環境保健研究（初年度）	81

1. 概 況

地域環境研究グループは“保全対策”と“リスク評価”の2分野について以降に紹介する12課題の特別研究を実施した。それら成果の詳細は次章以下に紹介するが、要点のみを研究チームごとにまとめてみる。

まず、“保全対策”分野の5チーム(7課題)については以下のとおりである。海域保全研究チームは東京湾における貧酸素水塊の動態調査及び気象データを用いて青潮発生の予察手法を提供し、また、内湾の内部生産に重要なピコプランクトンの消長の定量化を試みた。湖沼保全研究チームは近年の急激な生態系の変化に鑑み、新たな湖沼環境指標の開発と湖沼問題の解決を目指した研究を開始し、本年度はアオコの増殖に及ばず窒素/リン比の関係を中心にいくつかの知見を得た。また、ピコプランクトンに関して、種の同定と共に毒性物質の検出を試みた。有害廃棄物対策研究チームは2課題からなる特別研究の最終年度を迎え、揮発性有機塩素化合物に汚染された土壌・地下水の浄化対策マニュアルの作成を目的として、汚染物質の挙動解明、表層土壌ガス調査法や浄化対策技術の開発・評価を行った。また、有害廃棄物によるリスクを適切に管理するために必要な廃棄物の処理・処分に伴うモニタリング手法の開発を行った。水改善手法研究チームは有用微生物を活用した生活系、事業場系の小規模排水処理法の高度化を目指した検討を行い、主として窒素を効率的に除去できる流量調整嫌気好気循環型の高度合併処理浄化槽の開発を行った。都市大気保全研究チームは、本年度は主に市街地における大気拡散推定のための風洞実験、都市域における広域大気汚染機構解明のためのフィールド観測、汚染予測のための計算機シミュレーション等の研究を行った。交通公害防止研究チームについては、次年度以降の新たな展開に向けてこれまでの成果を集大成し、フィージビリティ・スタディを行った。なお、地域の研究チームとしての組織はまだ存在しないが、特別研究として“湿原の環境変化に伴う生物群落の変遷と生態系の安定化維持機構に関する研究”を実施し、宮床湿原と赤井谷地湿原を対象に、湿原生態系の調査手法の検討と生態系構造の解明を行った。

環境リスク評価を対象としている分野では、5つの特別研究を実施した。研究内容は、健康リスク評価と生態

系リスク評価とに大別できる。健康リスク評価を対象とした研究は、3課題からなる。大気影響評価研究チームは、過去4年間にわたり硫酸ミストやディーゼル排気粒子と発ガンや気管支喘息等の慢性閉塞性肺疾患との関連性を動物実験により検討し有用な知見を得てきた。本年度は、さらにディーゼル排気との因果関係が必ずしも明確でない気管支喘息についてディーゼル排気微粒子を用いて検討し、気管支喘息の基本病態であるいくつかの症状が起こりうることを明らかにした。これらの研究成果を基にして平成5年度からディーゼル排気の吸入暴露実験を開始する。化学物質健康リスク評価研究チームは、環境中に存在する化学物質、特に有機塩素化合物の健康評価を体系的に評価する特別研究を開始した。初年度は、都市河川底質中の有機塩素化合物と地域による存在特性と毒性との関係を調べ、工業地域とその他の地域で存在する化合物の種類が異なるなど有用な知見を得ることができた。都市環境影響評価研究チームも新規に特別研究を開始した。都市環境による環境ストレスや健康影響を、都市活動のあり方とともに総合的に評価していくことを目指している。初年度は、都市環境騒音の“不快さ”を規定する要因について実験的研究と共に、都市型大気汚染と呼吸器系アレルギー疾患との関連性や“反アメニティ要因”としての複合的環境ストレス状況評価のための調査研究に着手した。生態リスク評価を主たる対象としているのは2課題である。化学物質生態影響評価研究チームは、水生小動物に対する農薬類の複合汚染の影響や除草剤複合汚染が河川の藻類生産に及ぼす影響について実験的研究とフィールド調査研究を進め多くの成果をあげてきた。本年度は、高感受性水生動物や人工水路などを用いた実験、河川の調査結果などを行い、農薬類複合汚染による生態影響の一面を明らかにすることができた。新生生物評価研究チームは、環境保全に有用な遺伝子の探索と遺伝子組換え生物の挙動についての研究を進展させ組換え微生物の挙動に対する温度の影響等に関して興味深い成果を得た。

新たな組織が発足してようやく3年が経ち、この間にいくつかの特別研究が終了し、新しいテーマに発展的に

改変し、再スタートしている。しかし特別研究のあり方の本質的な部分にまで大きな変革をみたということにはまだ至っていない。それは第1に研究の継続性を大切にするという点にある。しかし同時に、どのような方向に新たな展開を求めるべきか、または求め得るかという点に全所的な合意を得ることの困難性にもある。つまり環境問題という余りに多岐・多様な要因からなる対象にどう切り込むべきかという認識は、専門分野によっても、環境研究所というものの位置づけや各人の価値観によっても大いに異なり、合意形成は容易ではない。また急激

に変容しつつある今日の環境問題の新たなフェーズに対して、現在我々が持てるポテンシャルに限界があることも事実である。

能力と興味に基づいて継続的に行う基礎研究に対して、社会ニーズからくる研究目的をある期間内に達成することに使命を持つプロジェクト研究では、ニーズとポテンシャルの間の乖離をどう克服するかが常に問われる。これについては、いくつかの側面から全所的なレベルで検討が進んでいるので、その結果を待って新たな発展を改めて追求していきたい。

2. 特別研究

2.1 粒子状物質を主体とした大気汚染物質の生体影響評価 に関する実験的研究（最終年度）

昭和 63 年度～平成 4 年度（1988～1992 年度）

〔研究組織〕

地域環境研究グループ

上席研究官 三浦 卓

大気影響評価研究チーム ○嵯峨井勝・安藤 満・市瀬孝道・熊谷嘉人

環境健康部

生体機能研究室 小林隆弘・高橋勇二

病態機構研究室 藤巻秀和・河越昭子

環境疫学研究室 田村憲治

化学環境部

化学毒性研究室 白石不二雄

〔研究概要〕

近年の都市部における大気汚染は幹線道路沿道付近を中心とした窒素酸化物（NO_x）及び粒子状物質（SPM）を主体とする汚染であり、これらの環境基準値達成率は極めて低く、ヒトの健康に及ぼす影響が危惧されている。このような状況にあって、呼吸器疾患の発症と大気汚染物質、特に粒子状物質や NO₂ 等との間の因果関係を明らかにし、大気汚染物質の健康への影響を総合的に評価することが必要となっている。

このため、本特別研究においては大気中粒子状物質と呼吸器障害との因果関係を実験的に明らかにすると同時に、両者間の量-反応関係ならびに複合影響等を解析し、ヒトの健康維持にかかわる科学的知見の蓄積に努め、併せて行政施策等に役立てることを目的としている。この目的のために以下の 5 つの課題についての研究を行う。

（1）粒子状物質と NO₂ 等の複合暴露装置の作製と暴露条件の検討

1) 動物暴露チャンバーへのディーゼルエンジン排気導入系および濃度制御系の作製

ディーゼルエンジン排気（以下、ディーゼル排気と略す）の動物暴露チャンバーへの導入にあたり、排気導入系（パイプライン等）の形状によって排気粒子の粒径や

粒子濃度が著しく異なる。このため、現実の大気環境中の粒子特性を持った粒子を得るに必要な予備的検討を行い、排気導入系および濃度制御系の建設に必要な基礎データを得る。

2) ディーゼルエンジンの運転条件の検討

ディーゼル排気の導入・濃度制御系の建設完了後、粒子状物質中の有機成分あるいは金属成分の比率や粒子成分とガス成分の比率等現実大気環境に最も近い排気条件を得るためのエンジンの運転特性（走行回転数、負荷量）の検討を行う。

（2）粒子状物質と NO₂ 等の呼吸器疾患との関連に関する研究

1) 気道過敏性に関する研究

硫酸エアロゾルやディーゼル排気がぜん息の典型症状の一つである気道過敏性を誘起するかどうかを生理、生化学的に検討する。また、抗原抗体反応によるアナフィラキシー反応の気道過敏性に及ぼす影響に関しても同様に検討する。さらに、粘液分泌過多、気道狭窄あるいは気道抵抗性変化等を生化学的および形態学的に検討し、気道過敏性を亢進させる機構を解析するとともに、影響評価手法の開発に努める。

2) アレルギー反応に関する研究

IgE 抗体産生や各組織中の肥満細胞、血液中の好塩基球からの脱顆粒反応はアレルギー反応の誘導過程に重要な反応であるので、モルモットおよびマウス等に硫酸エアロゾルやディーゼル排気を暴露し、その後の IgE 抗体産生能と肥満細胞への影響を検索し、アレルギー反応に及ぼす粒子状物質の影響を明らかにする。さらに、鼻アレルギー反応に及ぼす影響についても生理学的に検討する。

3) 呼吸器系腫瘍発生に関する研究

都市部と農村部の肺ガンによる死亡率の相違、およびディーゼル排気暴露による発ガン実験等から、大気汚染と呼吸器腫瘍との関連が示唆されている。一方近年、肺ガン死亡率が増加してきており、そのうち喫煙リスクの最も低い腺ガンによる死亡率が増加していること等から、大気汚染だけでなく、食生活に伴う生体の内的因子のかかわりも重視されている。

このようなことから、ディーゼル排気の出発リスク評価を行うと同時に、日本人の食生活の変化の指標としての高脂肪食摂取を例として、呼吸器腫瘍の発生に及ぼす高脂肪食のリスクを解析し、両者の影響を比較する。さらに、抗酸化性食品の摂取が、ディーゼル排気あるいはディーゼル排気と高脂肪食摂取とによる呼吸器腫瘍のリスクを軽減しうるかどうかを調べ、高脂肪食の呼吸器系腫瘍発生に関するリスク評価を行う。

(3) 粒子状物質と NO₂ 等の生体影響評価手法に関する研究

1) 末梢リンパ球の DNA 傷害を指標とした影響評価手法の開発

ディーゼル排気粒子中には、*in vitro* で細胞内 DNA に傷害を起こす化合物が多数含まれている。しかしながら、それらがどの程度の暴露量で生体内 DNA に傷害を起こすかは不明である。ディーゼル排気粒子中に含まれる化合物単体あるいは排気粒子そのものをウサギに短期あるいは長期間投与し、末梢リンパ球の姉妹染色分体交換 (SCE) 頻度を経時的に分析することにより、ディーゼル排気暴露による *in vivo* での細胞遺伝学的影響を評価する手法の開発を試みる。

2) 指標酵素 (GGT) 誘導による影響評価手法の開発
現在、ディーゼル排気微粒子の影響を鋭敏かつ特異的に検出する指標は開発されていない。GGT (γ -glutamyl transpeptidase) は NO₂ によって誘導されることが知られている。本研究では、GGT 酵素がディーゼル排気粒子の影響指標酵素として利用可能かどうかを、気管内投与実験条件下で検討する。

3) フリーラジカル産生能による影響評価手法の開発
フリーラジカルは生体に極めて有害な作用を示し、ガン化をはじめとする様々な疾病を引き起こすことが知られている。また、我々はディーゼル排気微粒子 (DEP) が様々なフリーラジカルを生成することを見いだしている。

本研究では、DEP が産生するフリーラジカルが肺泡マクロファージやその他の培養細胞に対してどのようなメカニズムで細胞毒性を示すかを明らかにする。さらにこの細胞毒性の防止作用を有する物質を検索し、生体傷害作用を低減させる方法を考える。この研究を通じて、*in vitro* でディーゼル排気の出発生体傷害作用に及ぼすフリーラジカルの役割を明らかにする。これと同時に *in vitro* での生体影響の評価法として有効なシステムの開発に努める。

4) 肺傷害にかかわる感受性の動物種差の解析

大気汚染物質に対する感受性は動物の種によって著しく異なる。一方、ヒトの大気汚染物質に対する感受性も個人間で著しく異なることが知られている。しかし、その生理的な原因はほとんど不明のままである。

本研究では、大気汚染物質に対するヒトの感受性の違いにかかわる生理的因子を解析することを目的として、ウズラ、マウス、ハムスター、ラット、モルモットなどの大気汚染物質に対する感受性の相違を生理学的、病理学および生化学的に解析し、ヒトの感受性の違いの原因を明らかにする。

(4) 粒子状物質の個人暴露量の推定とリスク評価に関する研究

1) 都市大気 SPM 中有害成分 (PAH 等) に占めるディーゼル排気の寄与率の推定

ディーゼル排気成分の中で、ヒトの健康被害へのリスクが高いと考えられる粒子状物質 (SPM) とその中の発

ガン性を有する多環芳香族化合物 (PAH) 等の濃度を、大都市幹線道路周辺で継続的に調査すると共に、交通量、気象条件などによる濃度変動を把握する。

上記の粒子成分に対するディーゼル車の寄与に関しては、炭素成分や有機化合物や金属成分などの分析から、CMB 法などによりその寄与率を推定する。

2) 幹線道路周辺住民へのディーゼル排気粒子個人暴露量の推定

幹線道路周辺住民の SPM 吸入個人暴露量を推定するため、小型サンプラーにより家屋内外の環境濃度を測定すると共に、個人サンプラーによる個人暴露濃度の測定も行う。特に、個人暴露量調査においては、継続的な測定により生活パターンごとの推定法、タバコ煙等とのリスクの比較を行う。

(5) 大気汚染による生体影響の総合的評価に関する研究

(1) で作製した暴露装置で (2) ~ (3) の課題の吸入実験を行い、得られた結果と、(4) で得られた地域住民の現実の暴露量及び文献的研究結果とを合わせて、粒子状物質の生体影響を総合的に評価する。

[研究成果]

(1) 粒子状物質と NO₂ などの複合暴露装置の作製と暴露条件の検討

環境大気中粒子状物質のうち、最もその割合が高く、肺がんやぜん息、鼻炎などの生体影響が問題となっているディーゼル排気微粒子 (DEP) の研究のための排気暴露装置とその排気成分測定系ならびにデータ処理系等を完成させた。これに先立ち、粒子成分とガス成分の比率等現実大気環境に最も近い排気暴露条件を得るためのエンジン特性の解析等も行い、ディーゼル排気の吸入実験ができるようにした。

(2) 粒子状物質と NO₂ 等の呼吸器疾患との関連に関する研究

1) 気道過敏性に関する研究

気道過敏性とは、刺激物質、冷気などの刺激に対して気道が過敏に反応し、気管支が収縮し、呼吸困難になることであり、この気道過敏性はぜん息の典型的症状の一つである。大気汚染物質暴露により気道が過敏になるかどうかを検討することは両者間の因果関係の解明やリス

ク評価のためにも重要である。

そこで、粒子状物質として硫酸エアロゾルおよびディーゼル排気微粒子 (DEP) を取り上げ、モルモットを用いて気道過敏性について、以下の点について検討した。気道抵抗を気道過敏性の指標として、①硫酸エアロゾル暴露が吸入ヒスタミンエアロゾルに対する気道反応性に及ぼす影響、および②硫酸エアロゾルがアレルギー反応に及ぼす影響を検討した。

その結果、以下のことが明らかになった。③3.2mg/m³の硫酸エアロゾル暴露では3日暴露により気道の反応性は低下し、14日暴露で亢進し気道が過敏な状態になった。30日暴露では対照群 (清浄空気群) の値に戻り、一過性の気道過敏反応を示すことが分かった。1mg/m³の暴露群では対照群との間に有為な変化は見いだされなかった。

これらの結果は、これまでの報告よりも低い濃度でも長期間暴露により気道が一過性ながら過敏になることを示している。②0.32, 1.0および3.2mg/m³の硫酸エアロゾルをモルモットに4週間暴露した。その間、抗原 (卵白アルブミン) を2週間おきに3回吸入させ即時型アレルギー反応 (IAR) に及ぼす硫酸エアロゾルの影響を検討した。硫酸エアロゾル暴露下での抗原の吸入はアレルギー反応を起こしやすくすることが明らかになった。

また、アレルギー性鼻炎も鼻粘膜の浮腫 (鼻づまり)、鼻水の放出などが起きやすい状態のことであり、鼻粘膜が過敏になれば鼻づまり、鼻水といった花粉症の症状が出やすくなる。これらのことから、大気汚染物質とぜん息あるいは花粉症との関連を検討するうえで気道過敏性の検討は重要な手段と考えられる。そこで、アレルギー性鼻炎の研究として、モルモットを用いて鼻腔抵抗および鼻水量等を指標として、DEPが鼻粘膜の反応性に及ぼす影響を調べた。

その結果、③DEPの鼻腔内投与により、アレルギー反応時に放出されるヒスタミンの吸入による鼻粘膜の浮腫 (図1) および鼻水の放出を増加させることが明らかになった。また、卵白アルブミン感作マウスを用いたアレルギー性鼻炎に対するDEPの影響を鼻閉、鼻汁分泌、鼻腔洗浄液および鼻粘膜組織中の色素漏出量のほか、粘液細胞からの粘液成分分泌の指標として鼻腔洗浄液中のシアル酸濃度およびヒスタミン濃度等を測定した実験でもDEPは鼻炎症状を増強指せることが示された。これらモルモットやマウスでの結果より、DEPは花粉症症状を悪

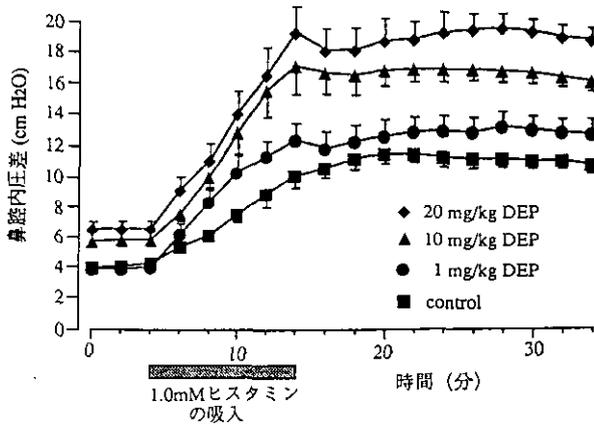


図1 DEPを鼻腔内投与したモルモットのヒスタミンエアロゾル吸入により誘起される鼻閉（鼻腔内圧増加，鼻づまり）の亢進

化させる可能性が示された。

2) アレルギー反応に関する研究

A. 免疫グロブリン E (IgE) 産生に及ぼす DEP の影響

アレルギー反応は，ハウスダストやスギ花粉のようなアレルゲン(抗原)を吸入し，その抗原刺激により IgE 抗体産生系が活性化することにより起こり，この反応が鼻腔で起こればアレルギー性鼻炎となり，気管支等で起これば気管支ぜん息等の発症につながる。最近，その機構について，IgE 抗体産生はインターロイキン 4 (IL-4) やインターフェロン- γ (INF- γ) 等のリンフォカインにより制御されていることがヒトやマウスで報告されている。

これまでに，フライアッシュを抗原と同時に，あるいは別々の経路で投与すると，抗原特異的な IgE 抗体産生の亢進がみられることを報告してきたが，硫酸エアロゾルや DEP 等の粒子状物質の IgE 抗体産生機構への作用，アジュバント効果についてはいまだ不明な点が多く残されている。そこで，これら粒子状物質による IgE 抗体産生機構への作用と，ヒスタミン等の化学伝達物質を放出する肥満細胞活性への作用について検討した。

その結果，以下のことが明らかになった。①マウスへの硫酸エアロゾルの暴露は抗原特異的 IgG 抗体産生を抑制するが，IgE 抗体産生には影響がなかった。②硫酸エアロゾルと NO₂ との複合暴露においても抗原特異的 IgE 抗体産生の亢進はみられなかった。③硫酸エアロゾル暴露されたモルモットの肺から分離した肥満細胞では

抗原刺激あるいはカルシウムイオノホア A 23187 刺激によるヒスタミン遊離の増加が認められた。④ NO₂ 暴露モルモットの肺の肥満細胞の A 23187 刺激によるヒスタミン遊離の亢進がみられたが，硫酸エアロゾルと NO₂ との複合暴露においてはヒスタミン遊離の亢進はみられなかった。⑤あるいは火山灰を抗原とともにマウスに気管内投与すると抗原特異的 IgE 抗体産生の増強がみられた。⑥ DEP によるアジュバント活性の機構を解明するために，DEP を抗原と共に気管内投与したマウスの肺のリンパ節を取り出し，細胞増殖，リンフォカイン産生を検索したところ，抗原のみの投与群に比べ有意に高い IL-4 産生がみられた (図 2)。

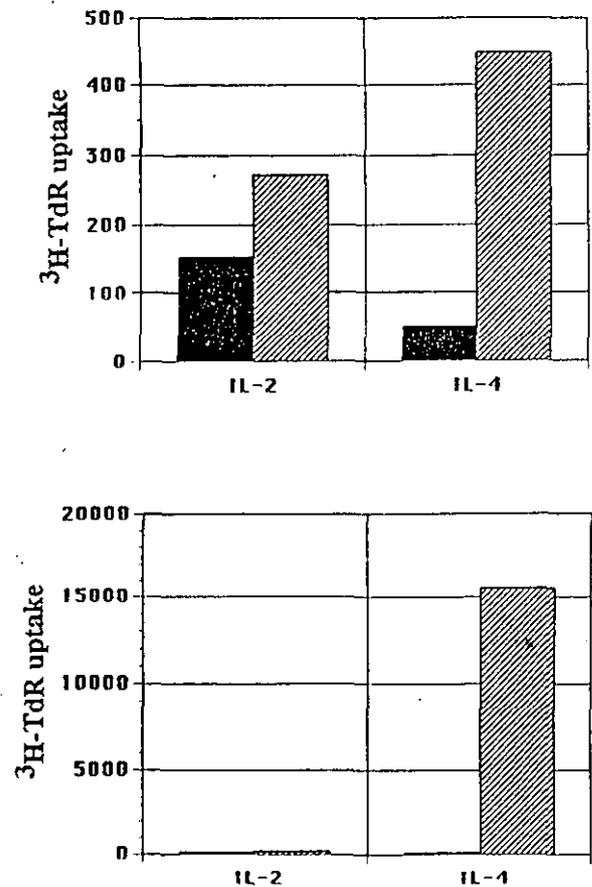


図2 卵白アルブミン (OA) あるいは OA+DEP を気管内投与したマウスのリンパ節細胞の 1 次応答 (上図) および 2 次応答 (下図) におけるインターロイキン 2 (IL-2) とインターロイキン 4 (IL-4) の産生

1 次応答，2 次応答とも DEP の存在下で IL-2，IL-4 の産生が増加し，特に IL-4 でその効果が著しく，IgE 産生に IL-4 が密接に関与していることが示された。

これらの結果から、硫酸エアロゾルは抗原感作を増強するより肥満細胞などからの化学伝達物質の遊離を促進する働きのあることが示唆された。また、DEPにはTリンパ球を刺激することにより、すなわちリンフォカイン産生を亢進させることにより、IgE抗体産生を増強させる働きのあることが示唆された。

B. DEPの繰り返し投与によるぜん息様病態の発症について

気管支ぜん息の基本病態として、①血管透過性の亢進、②粘液質の過剰分泌、③気道粘膜での炎症、および④気道過敏性の亢進の4つがあげられる。これらのうち①は、上記のように、DEPが発生する活性酸素によって起こり、あらかじめSOD(PEG結合型SOD)を尾静脈から投与しておく、血管内皮細胞の傷害、すなわち血管透過性亢進は抑制されることを先に報告した。本年度は②と③の結果について報告する。

○ディーゼル排気微粒子の繰り返し投与による気管支上皮(粘膜)細胞層の変化と粘液質分泌の増加

肺に0.2mgのDEPを毎週1回ずつ16週間にわたって繰り返し投与すると、4~5週目ころから気管支の上皮を覆っている線毛細胞は消失して、粘液質(いわゆる痰になる物質)を合成、分泌する杯細胞と呼ばれる線毛を持たない細胞が増え、10週目ころでピークレベルに達した。また、この粘液質が充満した杯細胞の増加はSOD投与で抑制され、粘液質の過剰分泌は O_2^- 等のフリーラジカルの作用によることが明らかになった。



図3 DEPの繰り返し投与による気管支粘膜下組織への炎症細胞の浸潤を示す電子顕微鏡写真
N:好中球, E:好酸球, Lym:リンパ球, M:肥満細胞, F:線維芽細胞

○気管支粘膜下組織における炎症の発生

同じ実験で、DEPの繰り返し投与マウスの気道の粘膜下組織に炎症性細胞の好中球、好酸球、リンパ球あるいは単球などが著しく浸潤しているのが認められた(図3)。このような気道粘膜下組織に炎症細胞が浸潤するのは気管支ぜん息の重要な病態の一つであり、特に好酸球の浸潤は重要である。このマウスの肺の病理標本をディフクイック染色液で染め、気管支粘膜下組織の炎症細胞数を数え、その結果を図4に示した。図から分かるように、DEP投与初期から7週目ころに、まず好中球が増えた。その後、好中球数は減り、逆に好酸球数が増加しはじめて10週目でピークレベルに達し、その後もそのレベルを維持し、典型的な慢性的炎症症状を示した。

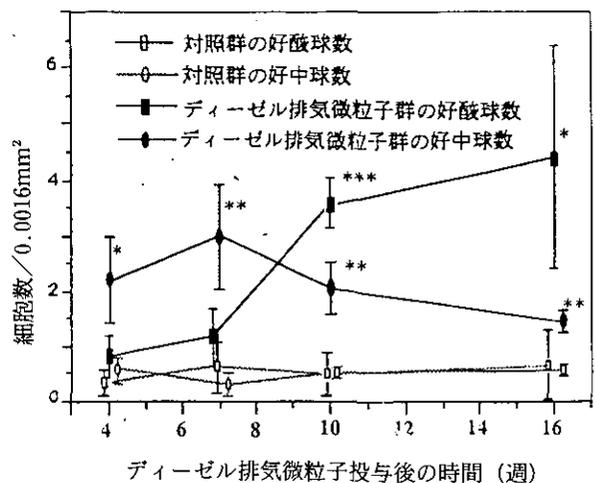


図4 DEPの繰り返し投与による気管支粘膜下組織の好中球数と好酸球数の経時変化

3) 呼吸器系腫瘍発生に関する研究

本研究では、ラットを用いて、 NO_2 単独、 NO_2+O_3 、 NO_2 +硫酸エアロゾル、および NO_2+O_3 +硫酸エアロゾルの12~17カ月暴露による肺腫瘍の発生に関する実験を行った。その結果、 NO_2 と硫酸エアロゾルには発ガン作用はないが、弱い発ガン促進作用が認められた。これに対して、 O_3 は発ガン性も発ガン促進作用も認められた。これらのリスク評価は現在解析中である。

一方、ディーゼル排気による肺腫瘍の発生のリスク上昇因子の一つとして、ヒトのライフスタイルの面から、現在注目を浴びている食事因子として生体内フリーラジカル反応を高める高脂肪食摂取およびフリーラジカル反応を抑制する食事性 β -カロチンの影響を調べた。

実験は普通脂肪食(4%の脂肪含有)と高脂肪食(16%

脂肪含有)ならびにそれぞれ β -カロチンを加えた4種類の食事を与えている6週齢マウスに0.05, 0.1, 0.2 mgのDEPを1週間に1回ずつ、合計10週間連続投与し、その後1年間4種類の食事を与え続け、肺腫瘍の発生率を比較した。その結果、DEP投与による腫瘍発生率はどの投与量の群でも高脂肪食群では普通脂肪食群より高い値を示した。なお、0.05 mgおよび0.1 mg DEP投与群での腫瘍発生率は濃度に依存して増加したが、0.2 mg DEP投与では0.1 mg DEP投与群より低下した。また、 β -カロチン投与群についてみると、0.05 mg DEP投与の普通脂肪食群では有意に腫瘍発生率を低下させていたが、0.1 mgあるいは0.2 mg DEP投与群や高脂肪食摂取群では β -カロチンの腫瘍抑制効果は認められなかった。これらの結果から、近年の日本人の高脂肪・高カロリー食が環境汚染物質の影響を増強している可能性が示唆されたが、高濃度のDEP暴露や高濃度脂肪食等の異常な条件下では β -カロチンの予防効果もそれほど期待できないことが示され、人の健康保持に環境保全がいかに重要であるかが示唆された。

(3) 粒子状物質とNO₂等の生体影響評価手法に関する研究

1) 抹消リンパ球のDNA傷害を指標とした影響評価手法の開発

本年度は、チャイニーズ・ハムスターの胎児肺由来の培養細胞(V79細胞)にディーゼル排気粒子(DEP)を加えて培養し、細胞内のDNAに及ぼす損傷を姉妹染色分体交換(SCE)頻度法で調べた。その結果、DEP投与でSCE頻度はDEP濃度に依存して対照群より有意に増加した。一方、培地1 mlあたり40 ug以上のDEPは細胞毒性が強くなり、SCEの測定は不可能であった。

2) 指標酵素(GGT)誘導による影響評価手法の開発

10 ppm NO₂の2週間暴露したラットの肺胞洗浄液中のGGT活性は5~6倍に上昇し、GGTは酸化的ストレスの指標として極めて有効であることが判明した。一方、ラット1匹あたり1 mgのDEPを投与し、その後4日間のGGT活性の誘導状況を調べたところ、DEP投与後1日目では対照群の1.6倍に増加していたが、その後活性は低下し、3日目には対照レベルに戻っていた。これらの結果から、ディーゼル排気の吸入実験ではGGTは有効な指標になり得る可能性があり、今後より詳しい活性誘

導機構を検討する予定である。

3) フリーラジカル産生能による影響評価手法の開発

これまでは、DEPによる呼吸器の傷害メカニズムを解析する一環として、DEPが肺の中でフリーラジカルを発生させ、肺傷害を起こすかどうかを調べるため、1.0 mgのDEPを1回気管内投与すると、ICR系マウスは肺水腫を起こして100%死亡した。このとき予め、尾静脈からスーパーオキシド(O₂⁻)を代謝する酵素(SOD)を投与しておくことで死亡率は著しく低下することを見いだした。このことから、DEPは肺に入ってから、O₂⁻を産生し、このO₂⁻が血管内皮細胞を傷害して血管透過性を亢進させ、その結果血液水分が肺に漏れ出て、肺水腫を起こしていることを示す結果を得た。

さらに、このO₂⁻産生のメカニズムについても検討したところ、このO₂⁻産生能はDEPのエタノール抽出画分に存在し、ポリフェノールやキノン系化合物の自動酸化反応が関与する可能性を示唆する結果を得た。DEP毒性に重要な位置を占めているO₂⁻の産生メカニズムの解明はディーゼル排気低減対策の上からも、生体影響の予防対策のうえからも重要である。

4) 感受性の動物種差に関する研究

大気汚染物質によってぜん息等の呼吸器疾患が起こることは四日市ぜん息の例に加えて、実験的にも明らかにされている。しかし、これらの疾患は汚染地域に住むすべての人に現れるわけではなく、個人差が大きいのが特徴である。これまで多くの研究がなされてきたにもかかわらず、その個人差の生理的因子は不明のままである。

本研究では、大気汚染物質に対する感受性の個人差の原因を探る研究の一環として、8種類の系統マウスを用いてDEPに対する感受性の違いを死亡率(LD₅₀、半分の動物が死亡する量)から調べた。DEPを気管内投与した時のICR, ddy, DBF1, CDF1, BALB/c, C57 BL/6, DBA/2およびC3H/HeマウスのLD₅₀はそれぞれ0.6, 0.54, 0.43, 0.4, 0.3, 0.2, 0.17 mgおよび0.15 mgであった。

また、この感受性の違いの原因を調べた結果、C57 BL/6やC3H/Heのように死亡率が高いマウスほどDEP投与群に肺の抗酸化性防御系酵素活性が対照レベルより低下する割合が高く、ICRやddyのように死亡率が低いほどその低下割合が低かった。このことから、抗

酸化性防御系酵素が感受性の重要な因子であることが示唆された。

また、あらかじめ少量の DEP を気管内投与したマウスでは致死量の DEP 投与によっても死亡しない耐性獲得現象を見いだした。この耐性のメカニズムには肺の細胞内ミトコンドリアの Mn-SOD の誘導減少が関与していることが示唆され、より詳しい毒性機序の解明が望まれている。

(4) 粒子状物質の個人暴露量の推定とリスク評価に関する研究

本研究では、沿道住民の生活環境における SPM 個人暴露量を推定するための基礎的な資料を得る一環として、東京都板橋区及び大阪市内において、家屋内外の SPM 濃度、NO₂ 濃度と各個人暴露濃度を測定し、道路と住宅の距離による濃度の差、各濃度間の関連、大気監視局データとの対応等について検討した。

1) 家屋内外の SPM と NO₂ との間の相関について

調査は板橋区内の中山道周辺の高層住宅を除く 18 世帯を対象として、1990 年 8 月の 6 日間に実施した。我々の開発した小型 SPM サンプラー (2~10 μm と 2 μm 以下に分級) を屋内 (居間)、屋外 (軒下) に設置して 48 時間ごとに環境濃度を測定し、個人暴露濃度は同じ構造でさらに小型化したサンプラーを携帯させて 1 回測定した。同時に簡易サンプラーで NO₂ 濃度も測定した。

沿道家屋外の SPM 濃度は、中間地、後背地より有意に高く、NO₂ 濃度も沿道が有意に高く、屋内の SPM 濃度、NO₂ 濃度沿道、中間、後背の順に高かった (ただし、SPM 濃度は喫煙、線香など、家屋内粉じん発生を除く)。また、SPM 濃度は、測定日による濃度変動が家の位置による変動よりも大きく、屋外濃度は広い範囲に分布していた。屋内と屋外の SPM 濃度の相関係数は 0.68 で、2 μm 以下の粒子濃度の相関が、2~10 μm より相関が高かった。また 10 μm 以上の粒子濃度には全く相関はなかった (r=0.155)。

個人暴露調査の対象者は主婦や老人が多く、外出時間が短いため、屋内 (居間) の濃度との相関は非常に高かった (r=0.91)。また、屋外 SPM 濃度との相関も夏期のため高かった (r=0.86)。NO₂ も SPM 同様、屋外と居間の NO₂ 濃度の相関係数も 0.75 と高かった。夏期の SPM と NO₂ の屋外濃度の相関は r=0.83 と高く、屋内で粉じん発生のある家を除いた居間の濃度の相関も r=0.74 と高く、自動車由来の共通性を示唆した (図 5)。

次に、比較的長期間の SPM 暴露量を推定するための基礎データを得ることを目的とし、板橋区の沿道 7 世帯 (喫煙者のいない一般住宅) で、長期継続調査 (1992 年 1~12 月、環境濃度測定 16 週間、個人暴露濃度測定 11 回) を実施した。また、タイマーにより昼間と夜間のサンプルを分け、家屋ごとの家屋内外 SPM 濃度変動の特性、SPM 個人暴露濃度と環境濃度の対応に関する検討を行った。屋外 SPM 濃度は、主要な発生源と考えられる

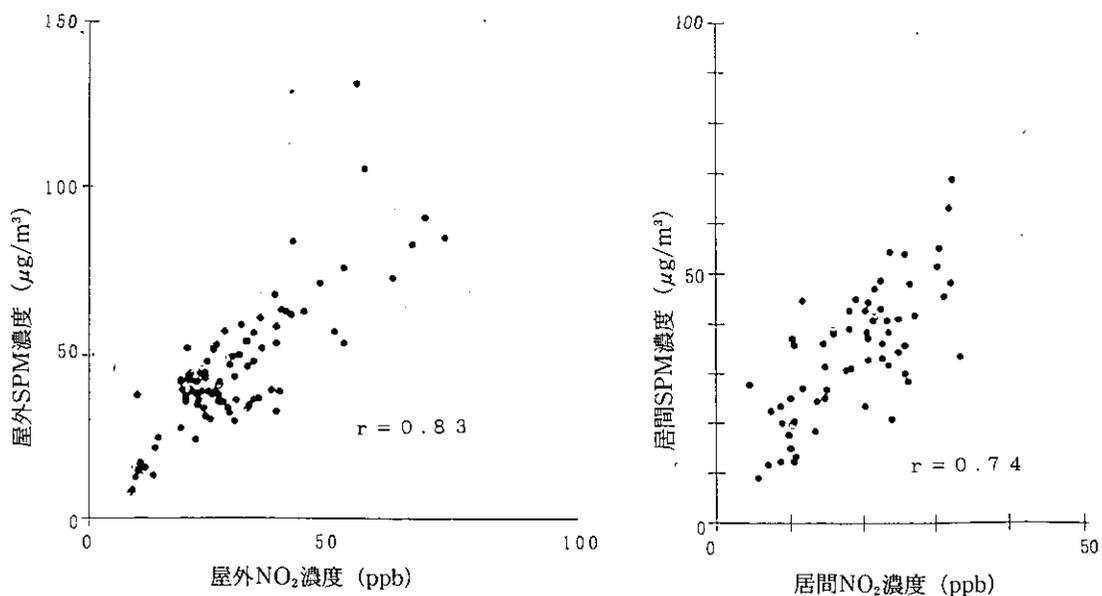


図 5 屋外および屋内 (居間) における NO₂ 濃度と SPM 濃度
(1990 年 8 月; 板橋, 1989 年 8 月; 世田谷)

中山道の交通量を反映して、昼間>夜間、週日>週末の傾向が現れており、この変動の方が沿道と後背の濃度差 ($16 \mu\text{g}/\text{m}^3$)より大きかった。屋内SPM濃度についても同様の変動がみられた。この調査でも、家屋内外のSPM濃度には全体で有意な正の相関がみられたが、各家ごとにみても高い相関を示し、屋外濃度から屋内濃度への回帰直線の傾きは昼間で0.73~0.99、夜間で0.46~0.79であった。

SPM濃度とNO₂濃度には、今回も高い相関がみられた。なお、暖房期は開放型ストーブ使用世帯が多かったため、屋内での相関はみられなかった。また、調査地域内の常時監視局のSPM濃度測定値と、屋外、屋内のSPM濃度との相関は高く、対象とした家屋ごとに係数を決めれば、監視局データからの屋内SPM濃度の推定も充分可能であると考えられた。

SPM個人暴露濃度と屋内濃度の関係も、個人別の相関係数は0.74~0.99と高いが、回帰直線の傾きや切片に個人差があるため、全体の相関係数はやや低くなった。また測定期間中は家屋内外のSPM濃度にも0.88の高い相関がみられたので、個人暴露濃度と屋外濃度にも有意な相関がみられた($r=0.73$, 図6; 図中の1~7は対象番号)。

2) SPMの個人暴露濃度の推定について

対象者の行動時間調査記録から求めた家屋内外滞在時間に、家屋内外の各濃度を掛けてSPM個人暴露濃度を求めたが、対象者の屋内の滞在時間が長かったため、この推定値は屋内(居間)濃度に近いものになった。

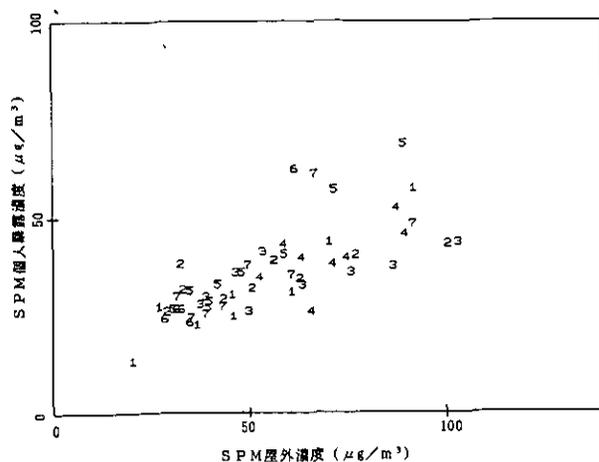


図6 SPM屋外濃度と個人暴露濃度(1992年2月, 板橋)
注1~7の数字は同一対象者を示す。

この推定値と個人サンプラーによる測定値との対応を図7に示す。相関係数は0.79, 95%の推定誤差は $\pm 16 \sim 18 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。

板橋で用いたものと同様の方法で大阪市内3地区の幹線道路周辺10世帯について、48時間ごとのSPM濃度、NO₂濃度を11月中旬(非暖房期間)の連続4日~6日間測定し、SPM個人暴露(48時間)の測定を行った。東京の調査結果を補強する観点から、大阪市環境科学研究所との共同研究として実施したものである。

対象世帯の屋外濃度は、SPM、NO₂濃度とも道路端から20m以内で、急激な濃度減衰がみられていた。SPMの屋外、屋内、個人暴露濃度の相互の間には、有意な相関がみられたが($r=0.8$ 前後)、同様のNO₂濃度間の相関についてみると、屋外濃度と居間、個人濃度との相関は低く、居間と個人の濃度の相関は高かった。また、同一地点におけるSPM濃度とNO₂濃度の関連をみると、東京の沿道家屋と同様、屋外では0.86と高い相関があったが、居間や個人暴露では関連はみられなかった。

1990年2月の調査時に大気常時監視局、幹線道路交差点内でアンダーセンサンプラーにより粒径別に採取した粒子中のB(a)P濃度は、 $2 \mu\text{m}$ 以下の微小粒子中に高かった。また、粒子重量に対するB(a)P濃度は、対照として同時期に環境研で採取したサンプルと大きな差はなかった。したがって、大気中の微粒子濃度が大気中B(a)P濃度を直接反映していたことになる。また、Amesテストによる変異原活性も微小粒子成分が高く、多環芳香族化合物の濃度分布と類似した結果を示していた。SPMの個人暴露濃度から生体への暴露量を求めるとき、平均濃度×総吸気量=総吸引SPM量と見なすのが

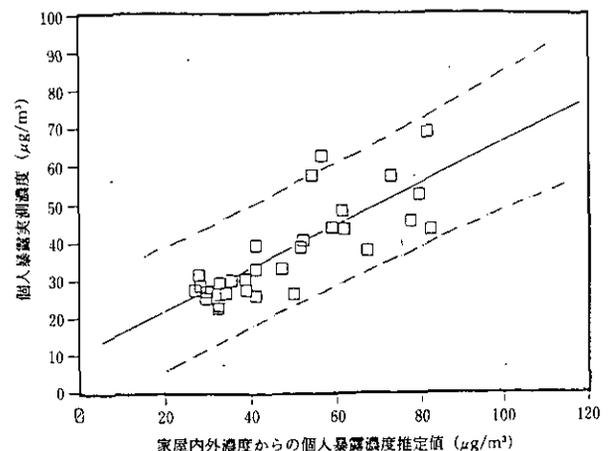


図7 屋内および屋外SPM濃度から推定した個人暴露濃度と実測濃度

簡便な方法であるが、粒径による沈着率や有害性の違いを考慮し、より正確に健康影響を評価するためにも、SPMの粒径を分けて測定する必要があることも確認された。

(5) 大気汚染による生体影響の総合的評価に関する研究

1) 気管支ぜん息の発症に関して

本研究において、ディーゼル排気微粒子 (DEP) をマウスに繰り返し気管内投与すると、気管支ぜん息で見られる4つの基本病態のうちの3つが起こることを証明し得た。すなわち、①血管透過性の亢進、②粘液質が過剰に分泌すること、③気管支粘膜下組織に炎症が起こること (炎症細胞、特に好酸球の遊走)、等がある。しかし、ぜん息と言うには、これらに加えて、④気道が過敏になることが認められなければならない。ただ最近、気管支ぜん息の定義は大きく変わってきており、ぜん息とは「気道過敏性の亢進であり、可逆的な気道狭窄である」としてきたこれまでの定義はある意味では根本的に覆されようとしている。気管支ぜん息の新しい定義によると、気道の過敏性とか気道の可逆的狭窄というのは結果であり、ぜん息の本体は好酸球の浸潤を伴う炎症、すなわち慢性剥落性好酸球性気管支炎 (炎症) であると言う。本研究で示したように、DEPは活性酸素・フリーラジカルの産生を介して、気管支の粘膜に炎症を起こし、その際に集まってくる好酸球や好中球のような炎症細胞が気管支炎をさらに悪化させると考えられる結果を得た。

このような考えと結果に照らすと、今回はまだ④の気道過敏性を証明できていないが、③の好酸球のような炎症細胞の遊走が起こることは炎症そのものであり、これによって気管支炎をさらに悪化させ、ぜん息につながる可能性が考えられる。

以上のような理由から、ディーゼル排気微粒子はぜん息を引き起こす可能性があるのではないかと考えられる。しかし、最終的には、今回のような人工的な投与方法ではなく、自動車の排気そのものを吸わせる、いわゆる吸入実験で同じことが起こることを証明する必要がある。これについては、平成5年度から5カ年計画で「特別研究」を行う。

一方、ハウスダスト等のアレルゲンの吸入によってアレルギー反応が起こると共にDEPが共存するとアレルギー反応が増強されることが知られている。しかし、そ

のメカニズムについては不明な点が残されている。本研究では、アレルゲンとDEPを気管内投与したマウスのリンパ節細胞を用いて検討した結果、IL-4というサイトカインが著しく産生されることを見いだした。このIL-4はI型アレルギー反応で重要な役割を果たすIgEの産生に関与する物質であることが知られているので、DEPがIL-4産生を介してIgE産生を増強していることを明らかにした。なお、大気汚染地域に住むぜん息患者のIgEは決して高くはないことから、実際のヒトのぜん息発症に及ぼす影響についてはより多面的な検討が必要になっている。

2) アレルギー性鼻炎に関して

本研究においてモルモットを用いて、DEPがそれ自身で鼻炎を引き起こすことを示した。これは前記のように、DEPが活性酸素の産生を介して血管の透過性を亢進させたり、粘液質の過剰分泌あるいは炎症を起こすことを肺で認めていることから、DEPの鼻腔内投与では鼻炎を引き起こすことは極めて妥当な結果と考えられる。

3) 大気汚染と気管支ぜん息との因果関係について

大気汚染と気管支ぜん息との因果関係についてみると、大気汚染地域に居住しているぜん息患者のIgE値が高くはないことから、少なくとも「もともと遺伝的にアレルギー素因が高いからぜん息になるのだ、ということ」は言えない。一方、それとは反対の立場から、[IgE抗体産生の増加を伴わないぜん息の発症機序が有るのだろう]と考える人もいる。この考えは推測であり、それを支持する事実は疫学的研究によるものだけであり、実験的に証明したものはいまだにない。

本特別研究の結果はまさにこの「IgE抗体産生増加を伴わないぜん息様病態の発症」の存在を示したことになる。これまでは、IgE産生を介したアレルギー反応のみが気管支ぜん息等の発症を説明し得る唯一の機序 (メカニズム) であったが、今回IgE産生を介さない非アトピー性のメカニズムで気管支ぜん息が発症する可能性があることを示したものとイえる。そして、その発症機序の中心にディーゼル排気微粒子 (DEP) から発生する O_2^- や $\cdot OH$ をはじめとする活性酸素が関与していることも分かった。この活性酸素の関与は SO_2 による四日市ぜん息、あるいは薬品や無機物等による非アトピー性ぜん息の説明にもきわめて有効である。なぜなら、それらの物

質も生体内で活性酸素を生成することが知られているからである。

以上述べたような、 O_2^- をはじめとする活性酸素によるぜん息様病態の発症は比較的最近になって分かってきたことである。一方、我々は今回ディーゼル排気微粒子 (DEP) が O_2^- を発生し、かつこのディーゼル排気微粒子由来の O_2^- が①血管透過性の亢進、②気管支粘膜下組織における炎症細胞の浸潤、③痰の原因の粘液質の過剰分泌、等を起こすことを見いだした。

なお、この研究はマウスの気管内投与方法によって、ディーゼル排気微粒子 (DEP) がぜん息様の病態を起こ

し得ることを示し、ディーゼル排気も気管支ぜん息等の慢性閉塞性肺疾患を起こし得る可能性を示唆したものと考えられる。しかし、本研究では、ぜん息における重要な要件の④気道過敏性についての証明を得るに至っていないことと、本研究は気管内投与という人工的な手法を用いた実験であるという限界を持ったものである。それでも、これまでほとんど手がつけられていなかった現象のいくつかを証明し得たという点で価値があるものと考えている。今後は吸入実験で、これらの現象が起こり得るのかどうかという研究を進めて行く予定である。

2.2 トリクロロエチレン等の地下水汚染の防止 に関する研究（最終年度）

平成2～4年度（1990～1992年度）

〔研究組織〕	地域環境研究グループ	
	統括研究官	内藤正明
	有害廃棄物対策研究チーム	○中杉修身・平田健正・西川雅高
	化学環境部	
	計測管理研究室	安原昭夫
	水圏環境部	
	水環境質研究室	矢木修身・小沢秀明
	土壌環境研究室	細見正明
	客員研究員 8名、共同研究員 2名	

〔研究概要〕

トリクロロエチレンなどの揮発性有機塩素化合物による地下水汚染が全国的な広がりを持つことが環境庁調査によって明らかにされて以来、汚染原因や汚染機構を解明するための調査が実施され、化審法、水質汚濁防止法や廃棄物処理法の改正によって汚染を未然に防止するための制度は一応整えられた。しかし、地下水は流れが遅く、汚染物質が水に溶けにくいいため、地上からの汚染物質の侵入を防ぐだけではなかなかきれいにならない。地下水は有用な資源であって、生活用水を地下水に依存している地域も多く、汚染された地下水の浄化は緊急の課題となっている。一般に、地下水の浄化は多額の経費を必要とすることから、効率的な対策を実施する必要がある。

本特別研究では、現地調査とその結果の解析を中心として土壌・地下水圏での汚染物質の挙動を解明し、表層土壌ガス成分のモニタリングを中心とした汚染物質の把握手法を開発した。さらに、汚染土壌や地下水の浄化手法について、既存実施事例からのデータ収集・解析や現地実証実験に基づいて、個別技術の評価を行い、これらの結果を総合して、地下水汚染浄化対策を効率よく実施するための手順を明らかにした。

以上の研究目的を達成するために、以下の課題を設定して研究を進めた。

（1）土壌・地下水圏における汚染物質の挙動解明

地下水浄化対策を実施するに当たって、まず土壌・地下水圏での汚染物質の挙動を解明し、汚染の将来動向を把握することが必要となる。本サブテーマでは、現地調査結果の解析を行い、土壌・地下水圏での汚染物質の存在形態と分解挙動を明らかにし、パソコンを用いた数値モデルを開発した。

（2）汚染物質の存在状況把握手法の確立

浄化対策を効率的に実施するには、汚染物質の存在状況を的確に把握することが重要である。本サブテーマでは、表層土壌ガス成分を指標としたモニタリング手法を開発するとともに、この手法を含めて土壌・地下水圏における汚染物質の存在状況を効率的に把握する手順を検討した。

（3）地下水浄化対策技術の評価

既に多くの地下水浄化が行われている海外から様々な浄化技術が導入され、また国内でも多くの技術が開発されているが、土壌・地下水の汚染状況や地域の社会的な状況等によって適切かつ実施可能な対策が異なる。本サブテーマでは、既存文献や浄化対策事例から入手したデータを解析し、また現場での実証実験を行って、各種浄化対策技術の特性を明らかにした。

（4）地下水浄化対策手順の確立

土壌・地下水の浄化には多額の経費がかかるため、適

切に対策を組み合わせ実施していく必要がある。本サブテーマでは、発見された地下水汚染に対して汚染源を特定し、汚染浄化対策を実施するまでの手順の確立を目的としている。サブテーマ(1)～(3)の成果を基に、土壤ガス調査とボーリング調査による汚染物質の存在状況の把握と浄化対策技術の選定・実施からなる浄化対策手順を明らかにし、状況の異なる汚染現地に適用した。

〔研究成果〕

(1) 土壤・地下水圏における汚染物質の挙動解明

土壤・地下水圏における汚染物質の挙動を解明するには、①土壤・地下水圏での存在状態、②地下水流れに沿った移動、及び③土壤・地下水での分解について知る必要がある。このために、各地の汚染事例で土壤・地下水質や流動に関する調査結果の解析を行った。

浅い土壤汚染では、土壤濃度として10万 mg/kg を超える高濃度汚染が見いだされることもあるが、こうした極端な汚染は数 m のごく狭い範囲に限られ、その周囲では2～3桁以上濃度が低下している。また、浅い部分に粘

土層が十分に発達していないところでは、50 m 以上も汚染物質の浸透している場合があるが、この場合でも10 mg/kg を超える高濃度土壤汚染は半径20 m 程度の広がりしか持たず(図1)、トリクロロエチレンなどはあまり横方向に広がらずかなりの深層にまで侵入することが分かった。さらに、最高濃度を示す深さはまちまちであるが、帯水層の底に当たるれき層と粘土層の間に高濃度で溜まっていることが多い。ガラスビーズを模擬土壤に見立てた室内実験では、揮発性有機塩素化合物は帯水層の上に溜まったり、帯水層の底にまで落ち込むことが明らかにされており、こうした現象が実際の土壤中でも生じていることが実証された。

また、高濃度土壤汚染の見られるところでは、地下水は水溶解度に近い汚染を示し、土壤ガスも飽和ガス濃度に近い値を示すことから、高濃度汚染土壤には原液状態で汚染物質が存在し、土壤に吸着しているもの、地下水に溶解しているもの、及び土壤ガス中に気化しているものとの間で分配されていることを示した。

汚染された土壤・地下水からトリクロロエチレンやテ

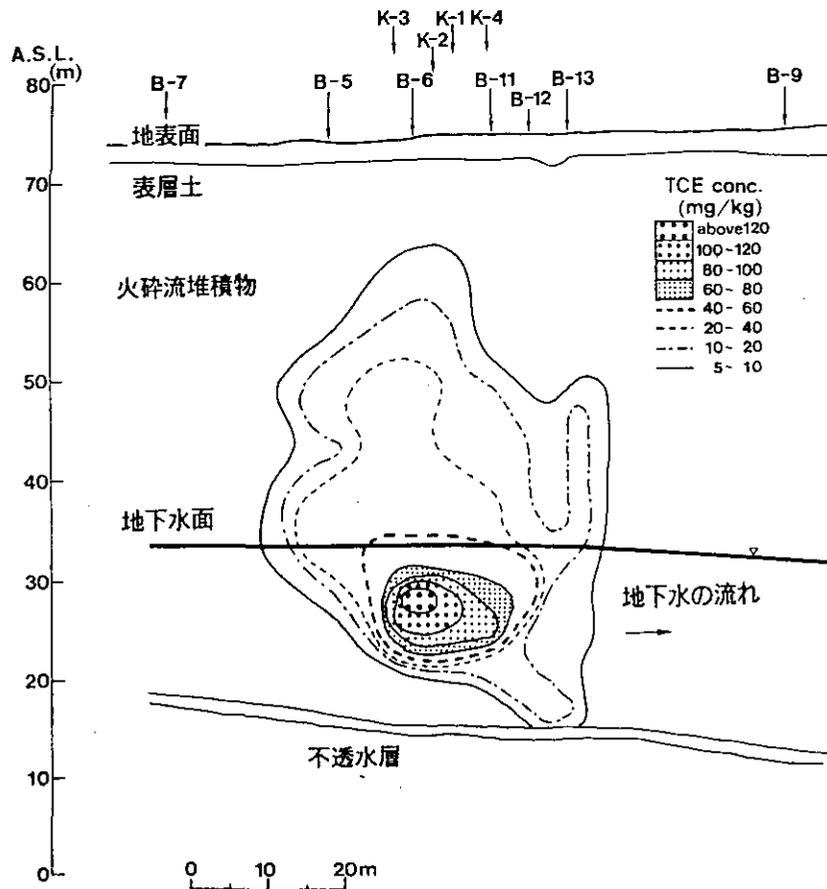


図1 土壤中のトリクロロエチレン濃度の分布

トクロロエチレンとともに、ジクロロエチレン類が検出される。ジクロロエチレン類は、浅井戸と深井戸のいずれからも検出されるが、cis-1,2-ジクロロエチレン濃度は、深い井戸水ほど高くなる傾向にあり、汚染源から下流に遠ざかるに伴い、相対的にトリクロロエチレン濃度より高くなる傾向にあることも分かった。また、浅層地下水中ではトリクロロエチレンと cis-1,2-ジクロロエチレンの濃度比は季節的に変動し(図2)、こうした汚染分布や季節変動の解析から、実際の土壌・地下水中でもトリクロロエチレン等の分解が生じていることを明らかにした。

従来から、ジクロロエチレン類は嫌気的条件下でトリクロロエチレンの微生物分解によって生成するといわれてきた。ところが、汚染物質相互の同時検出状況や濃度相関から、土壌・地下水圏でのジクロロエチレンの起源を調べたところ、1,1-ジクロロエチレンはトリクロロエチレンやテトラクロロエチレンなどより1,1,1-トリクロロエタンとの相関が高く、室内実験で見いだされている1,1,1-トリクロロエタンの化学的分解が土壌・地下水中でも起こっていることを指摘した。

また、浄化対策として汚染土壌を除去したS市を対象に、浄化対策後の地下水濃度の将来予測を行うためにパソコンで実行可能な数値モデルを作り、シミュレーションを行った。その結果、汚染源付近の土壌をすべて除去した場合、汚染源付近では10年程度で元の状態に修復されるが、地下水の流れは遅いことから、20年経過しても

1 kmの領域に汚染のプルームの残ることが明らかになった。

(2) 汚染物質の存在状況把握手法の開発

効率的に汚染物質を除去するには、地下での汚染物質の存在状況を正確に把握することが必要である。最終的にはボーリングを行って土壌・地下水試料を採取し、分析しなければならないが、ボーリングには多額の費用がかかるので、本研究では表層土壌ガスモニタリングによる高濃度地点の絞り込みとその近くでのボーリング調査を提案している。

土壌や地下水中の汚染物質の存在状況を調べる方法として、さまざまな土壌ガス調査法が開発されている。経費はかかるが検出感度のよい手法にフィンガープリント法やモービルラボ法、検出感度は低いが経費はかからないものに検知管法がある。また、これらの中間的な手法としてn-ヘキサン固定や吸着剤固定などのガス採取・ガスクロ分析法などがある。こうした土壌ガス調査法を汚染現地に適用し、それぞれの特性や適用限界を評価した(表1)。

地下水汚染の発見された初期の段階で、汚染源を特定するにはかなり広い範囲で土壌ガス調査を実施する必要があり、濃度の低い地域も調査対象となる。K市の汚染事例で検知管法で土壌ガス調査を行ったところ、汚染源を特定するには至らなかった。その後、フィンガープリント法で土壌ガス調査を実施しているが、この調査では

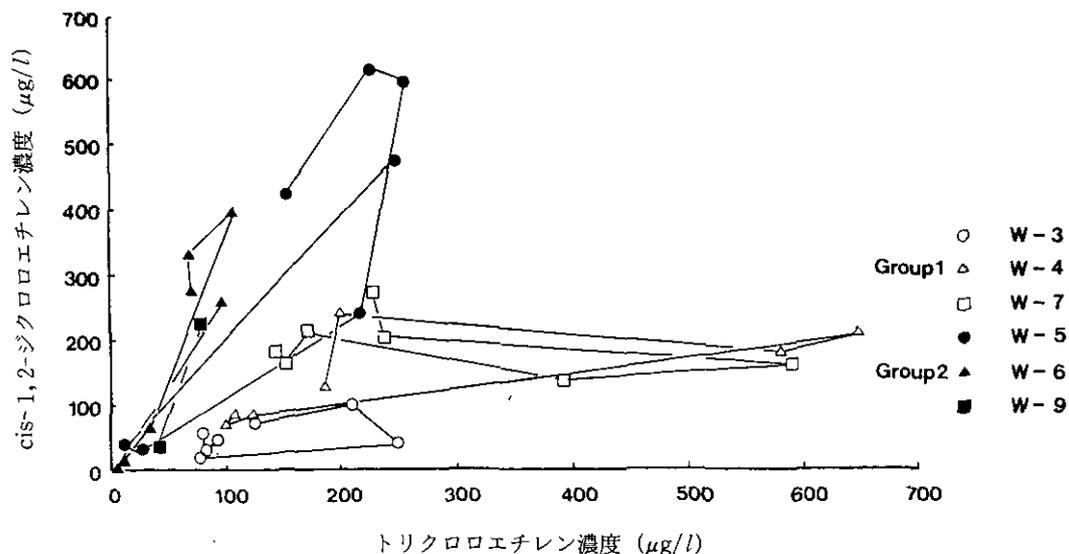


図2 地下水中のトリクロロエチレン濃度とcis-1,2-ジクロロエチレン濃度の季節変化

表1 土壤ガス調査法の特徴比較

	感 度	定 量	同 定	時 間 代表性	現 場 熟練度	経 費	現 場 電 源	調 査 時 間
フィンガ-フリップ法	高	不	可	大	低	高	不 要	長
採取・カスク法 溶液注入 バッグ採取 Tenax吸着	中	可	可	小	低 高 高	中	不 要 要 要	中
現場カスク法	中	可	可	中	高	高	要	短
モービル-ラホ法	高	可	可	小	高	高	(要)	短
検知管法 (ハッパチューブ)	低 中	可 中	難 難	小 大	低 低	安 安	不 要 不 要	短 長

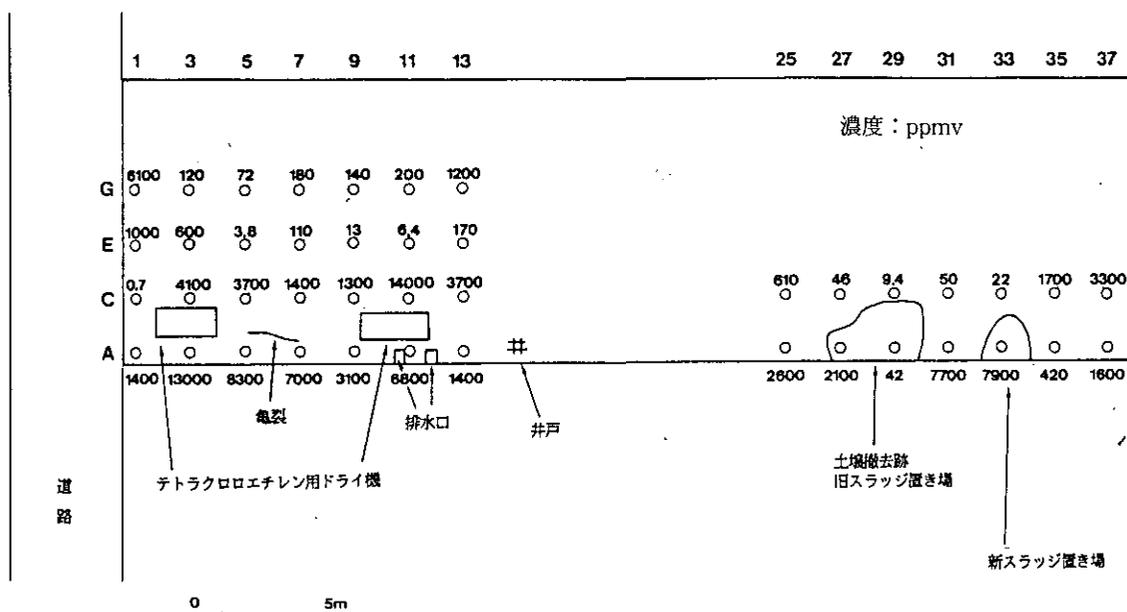


図3 表層土壤ガス中のテトラクロロエチレン濃度の分布 (n-ヘキサン固定法)

地下での汚染物質の存在状況を反映する結果が得られたことから、汚染源の特定には検出感度の高い手法を用いる必要のあることを指摘した。汚染源が特定されると、ボーリング地点を決めるための土壤ガス調査に入る。汚染源付近では土壤ガス濃度も高く、調査地点数もかなりの数に上る。そのため、検出感度が低くとも現地で濃度の読み取れる簡便な調査法が必要となり、この段階では検知管法が役立つ。

現場ガスクロ、n-ヘキサン固定や検知管法など、調査手法間にはかなり高い濃度相関が認められる。ところが、浅い土壤・地下水の汚染されているF市での調査では、

n-ヘキサン固定で14000 ppmvのテトラクロロエチレンが土壤ガス中で検出されるのに対し(図3)、検知管法では4000 ppmv程度にしかならず、高濃度地点では検知管法は低めの値に出る傾向のあることも分かった。検知管法は簡便で汚染源近くの高濃度地点の絞り込みに利用できても、土壤ガス吸引など浄化対策には濃度の絶対値が必要となることから、こうした場合には検知管法は使用できないことが明らかになった。また、汚染物質が深層に入り込んでいる場合や発達した粘土層の下に入り込んでいるときは、事業場内でも検知管法では検出することができず、感度の高い方法を用いる必要があることを明

らかにした。

一方、土壤・地下水中の汚染物質の存在状況については、土壤ガス濃度の空間分布を参考にボーリングを実施し、土壤・地下水を採取・分析する必要がある。

(3) 地下水浄化対策技術の評価

わが国で用いられている浄化対策技術は、汚染土壤の除去、地下水の揚水と土壤ガス吸引の物理的な汚染物質除去技術である。これらの浄化対策技術をいくつかの汚染現地に適用し、個々の技術の浄化効率を評価した。

汚染土壤の除去は、浅い土壤汚染に有効であるが、深い土壤や地下水面下の土壤までは除去できないから、汚染土壤除去後には地下水の汲み上げも実施される。T町では汚染土壤除去後に継続して地下水を汲み上げて利用しているが、浅層地下水については最近になってようやく飲料水基準近くまできれいになり始めた(図4)。このように、時間はかかっても地下水の汲み上げは確実に汚染物質を除去できる技術であることが実証された。しかし、汚染土壤の除去できなかった深層地下水については、浄化対策の効果は全く見られず、依然として高濃度汚染が続いている。

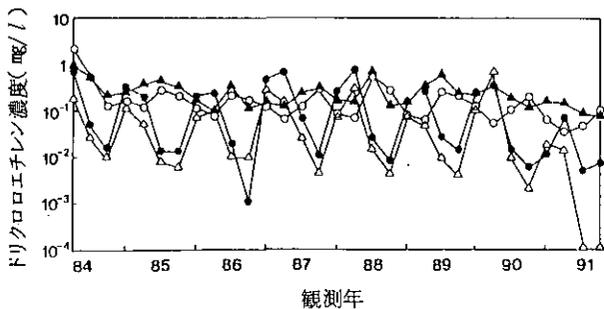


図4 汚染土壤除去と地下水揚水による地下水質の回復状況(汚染土壤の除去は1984年5月)

一方、T市やK市では土壤ガスの吸引と地下水の揚水を実施した。T市では土壤ガス吸引除去対策の前後でボーリング調査を行い、土壤ガス吸引の除去効率を評価した。これによると、吸引井付近では90%近くの汚染物質が除去されているが、吸引井から遠ざかるに従って、除去効率の落ちることが明らかになった。K市では土壤ガス吸引と地下水の揚水によるトリクロロエチレンの除去効率を比較した。浄化対策が始まった初期には浄化効率も高く、土壤ガス吸引によって1 kg/hrの除去率で汚染物質が回収されており、これは地下水揚水による除去

率を1桁上回っている(図5)。ところが、浄化対策が進むにつれて除去率は落ち、土壤ガス吸引による除去率の低下は地下水の揚水より大きいため、そのうちに両者の除去効率は逆転する。このように、浄化対策が進むにつれて、地下での汚染物質の存在状況が変わるから、その変化に対応した浄化技術やより低コストの浄化技術に切り替える必要のあることも明らかにした。

また、経費のかからない浄化技術の開発を目的に、浅い土壤・地下水が汚染されたF市で鉄パイプの打ち込みによる土壤ガス吸引を試み、こうした簡単な方法でも土壤ガス吸引のできることを実証した。

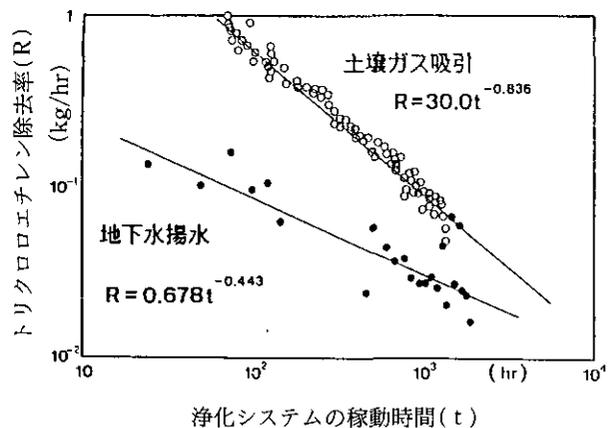


図5 地下水揚水と土壤ガス吸引によるトリクロロエチレン除去率の比較

(4) 地下水浄化対策手順の確立

土壤や地下水汚染の浄化には多額の経費がかかるため、効率よい調査手法と適切な浄化技術を選定して実施することが重要である。(1)～(3)までの成果に基づき、この手順を検討し、K市では土壤ガス調査による汚染源特定から浄化対策実施まで、F市やT市などでは汚染物質の存在状況に応じた適切な浄化技術の選定と対策実施に適用し、問題点の抽出を行った。これまで、各段階での問題点を解決しながら、おおむね順調に対策が進んでいると考えられるが、いずれの事例でも最大の問題は経費がかかりすぎていることである。

揮発性有機塩素化合物によって汚染された地下水の浄化対策を積極的に推進するには、地下水汚染調査に始まる一連の浄化対策システムの確立が緊急の課題である。先端的な技術の導入は、浄化対策を効率よく進められるし、新たな技術革新にもつながる。多額の経費と時間をかければ、確かに地下水は修復でき、大規模事業場にお

いては浄化対策が実施されるようになってきた。しかし、多くの汚染事例は経費負担能力の低い小規模事業所であることを考えると、既存の技術であっても、より効率的、低コストな技術に改良する必要がある。こうした視点か

ら、本研究では鉄パイプ打ち込みによる簡便な土壌ガス吸引、吸引土壌ガスの処理など、経費軽減のための手順も検討した。

2.3 有害廃棄物のモニタリングに関する研究（最終年度）

平成2～4年度（1990～1992年度）

〔研究組織〕	地域環境研究グループ	
	統括研究官	内藤正明
	有害廃棄物対策研究チーム	○中杉修身・平田健正・西川雅高
	社会環境システム部	
	部長	後藤典弘
	資源管理研究室	天野耕二
	化学環境部	
	計測管理研究室	安原昭夫
	環境健康部	
	保健指標研究室	国本 学
	客員研究員 4名, 共同研究員 2名	

〔研究概要〕

有害化学物質による環境汚染が社会的な関心を集めているが、その排出規制が強化され、排ガスや排水の処理が進められるに伴い、難分解性の有害化学物質が廃棄物中に集積されることになり、また、その処理・処分の過程で新たに有害化学物質が生成することが考えられ、有害化学物質の環境汚染源として廃棄物の処理・処分が重要な位置を占めてくると考えられる。米国等では有害廃棄物の不適正な処分による環境汚染が数多く見いだされ、ばく大な費用をかけて修復されている。また、有害廃棄物の越境移動が国際的な問題となり、その規制に関して条約が採択されるなど、有害廃棄物の処理・処分が国際的にも国内的にも社会的な関心を集めるようになってきた。

我が国においては、これまで廃棄物の処理・処分に伴う大規模な環境汚染は顕在化していないが、焼却灰中のダイオキシン、廃乾電池中の水銀など、一般廃棄物の処理・処分に伴う汚染の可能性が議論されたり、廃油などの有害化学物質を含む恐れのある産業廃棄物の不法投棄が数多く見られるなど、有害廃棄物に起因する環境汚染が潜在化していることが予想される。また、国際条約の中では我が国での規制対象をはるかに上回る廃棄物が有害廃棄物とされており、国内的にも特別な管理が求められる有害廃棄物が増えていくものと予想される。

このように、有害廃棄物の処理・処分に伴う環境汚染

のリスクを管理するためのシステムを確立していくことは、今後の環境行政の重要な課題の一つである。有害廃棄物のリスク管理を行っていくためには、まずその発生から処理・処分に至るまでのリスクを正確にモニタリングすることが不可欠であるが、そのための手法はほとんど確立されていない。

そこで、本特別研究では、廃棄物の流れに沿って有害廃棄物のリスクを管理するためのモニタリング手法の開発を行った。まず、有害廃棄物の処理・処分に伴うリスク評価・管理の考え方を明らかにし、焼却処理と埋立処分にかかわる環境汚染の可能性を検討し、これらの結果を合わせて、有害廃棄物のリスク評価を実施するためのモニタリング手法を開発することを目的として、以下の研究課題を実施した。

(1) 有害廃棄物のリスク評価に関する研究

有害廃棄物の処理・処分による環境汚染は、その発生が廃棄物の輸送・処理・処分の各過程で考えられること、汚染物質も排出時に廃棄物に含まれているものだけでなく、廃棄物の処理によって非意図的な有害化学物質の発生が考えられることなど、多種多様な形態の汚染が考えられる。それゆえ、有害廃棄物の環境汚染に伴うリスクを管理するには、多様な形態の汚染リスクを総合的に評価する必要がある。本研究では、有害廃棄物の発生動向を把握するとともに、課題(2)及び(3)の結果を合わ

せて、有害廃棄物のリスク管理の考え方を明らかにした。

(2) 焼却処理による有害化学物質の挙動に関する研究

焼却処理では、廃棄物を高温で処理するため、有害化学物質の一部は分解されるが、一方で非意図的に有害化学物質が生成することが考えられる。有害廃棄物のリスクを評価する上で、焼却処理にかかわる有害化学物質の挙動を把握することが必要となる。そこで、本研究では、熱分解実験や実施設を用いた焼却実験によって、廃棄物中の有害化学物質の分解と非意図的な有害化学物質の生成を解明した。また、これらの実験と併せて、産業廃棄物処理施設周辺における大気や土壌などの汚染状況を調査・解析することにより、産業廃棄物の焼却処理にかかわる有害化学物質の挙動を解明した。

(3) 埋立処分に伴う有害化学物質汚染に関する研究

埋立処分地はその跡地を含めて、有害廃棄物による環境汚染源として重要な位置を占めており、その汚染可能性の把握は、有害廃棄物のリスク評価を行う上で不可欠であるが、我が国では有害化学物質による埋立処分地や

跡地周辺環境の汚染状況はほとんど把握されていない。そこで、本研究では、廃棄物の埋立処分地や不法投棄場所の周辺における浸出水や地下水などの汚染状況を調査することにより、有害廃棄物の処分にかかわる環境汚染の可能性を解明した。

(4) 有害廃棄物のモニタリング手法に関する研究

有害廃棄物の処理・処分に伴うリスクを管理していくために、有害廃棄物及びその処理・処分に伴う環境汚染を監視していくことが必要となる。廃棄物の有害性を判定するためには、有害廃棄物そのものの監視を行うことが必要であり、また、汚染可能性の動向を把握するためには、廃棄物処理・処分施設周辺の汚染状況を監視する必要がある。しかし、有害廃棄物の処理・処分に関しては多様な汚染物質が考えられ、それらのリスクを総合的に監視する必要がある。そこで、本研究では、廃棄物の有害性とその処理・処分にかかわる環境汚染を総合的にモニタリングする手法を開発した。

各研究課題の相互の関係および年次計画を図1に示す。

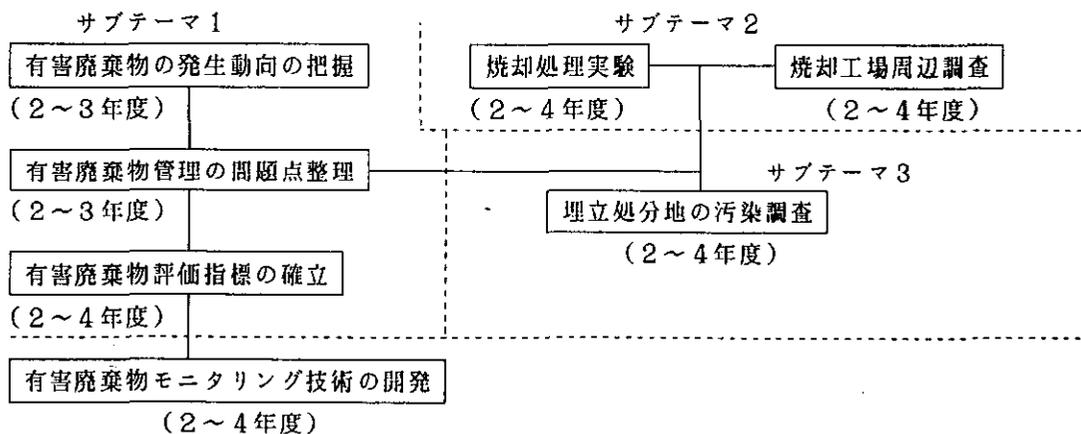


図1 本特別研究の全体構成

〔研究成果〕

(1) 有害廃棄物のリスク評価に関する研究

有害廃棄物による環境汚染経路の一つである不法投棄と事故について、新聞記事の収集やアンケート調査を行った。有害化学物質を含む可能性がある廃油や汚泥等の不法投棄は年数件報告されているが、実際はこれよりも多いと考えられる。また、化学物質事故の調査でも、廃棄物処理にかかわるものが多く見られる。しかし、こ

れらは有害化学物質の汚染源となる可能性を有しているにもかかわらず、汚染調査は必ずしも十分に行われておらず、汚染が潜在化している可能性がある。

一方、有害廃棄物によるリスク管理を行っていくためのリスク評価の体系を検討した。まず、処理の流れに沿って処理に伴うリスクとそれを引き起こす要因を整理し、リスクを管理するには、①廃棄物そのもののリスク評価に基づく処理・処分方法の指定と、②廃棄物処理・処分

施設のモニタリングに基づく適正な運転管理が必要であることを示した。

(2) 焼却処理による有害化学物質の挙動に関する研究

実施設と室内実験により、塩素系溶剤やプラスチックの燃焼実験を行い、非意図的な有害化学物質の生成状況を調べた。

塩素系溶剤については、室内実験ではトリクロロエチレンが600°Cで、テトラクロロエチレンは800°C以上ではほぼ完全に分解されたが、トリクロロエチレンの分解からは四塩化炭素やテトラクロロエチレンなど、多様な塩素系化合物が多量に生成した(図2)。しかし、A施設におけるクリーニング業廃棄物の焼却実験では、排ガスから検出された塩素系化合物は低濃度であり、B施設でのトリクロロエチレンと塩化メチレンを含む廃溶剤の焼却実験でも塩素系化合物の生成は少なかった。このことから、塩素系溶剤は十分な温度で焼却すれば、塩素系化合物の非意図的な生成も少なく、完全に分解することができると判断される。

一方、塩素系プラスチックについては、塩化ビニル樹脂の室内実験では塩化ダイオキシンが生成するものの、塩化ビニリデン樹脂に比べると、塩素系化合物の生成は少なかった。A、B両施設の廃プラスチックの焼却実験では、四塩化炭素、テトラクロロエチレン、クロロベンゼン類、クロロフェノール類などの塩素系化合物、脂肪族炭化水素、芳香族炭化水素、さらにはプラスチック添加剤由来と考えられるものが排ガスから検出された(表

1)。これらの濃度は、焼却温度を上げて減少しないが、全体として低く、都市大気汚染に対する寄与は高くないと考えられる。

A施設周辺で環境大気調査を行ったところ、焼却施設付近に濃度のピークが見られた。一方、C施設周辺大気中のガス状水銀、ヘキサクロロベンゼン、ベンゼン、トルエンの調査では、施設の方向から風が吹いているときに濃度が高くなる傾向が見られた。

これらの結果を総括すると、塩素系溶剤や廃プラスチックの焼却では、塩素系化合物をはじめとして有害化学物質が生成するが、施設が適正に管理されていれば、排出量は少なく、都市大気汚染に対する寄与は必ずしも高くないと考えられる。

(3) 埋立処分に伴う有害化学物質汚染に関する研究

廃棄物埋立処分地からの浸出水中に含まれる化学成分を分析した。産業廃棄物が不法投棄された場所、産業廃棄物及び/あるいは一般廃棄物の管理型埋立処分地4ヶ所と廃プラスチックを処分している安定型処分地1ヶ所の浸出水を分析した。まずろ過してから、ろ液と懸濁物の双方について無機元素をICPで測定した。有機成分については浸出水全体を凍結真空蒸留にかけて揮発性成分だけを分離し、GC、GC/MSで同定定量した。一部のサンプルについては、蒸留残渣の抽出液も分析した。結果を表2に示す。

無機成分は分析した浸出水のいずれからも多様な金属元素が検出されたが、海外での報告に比べ低濃度であつ

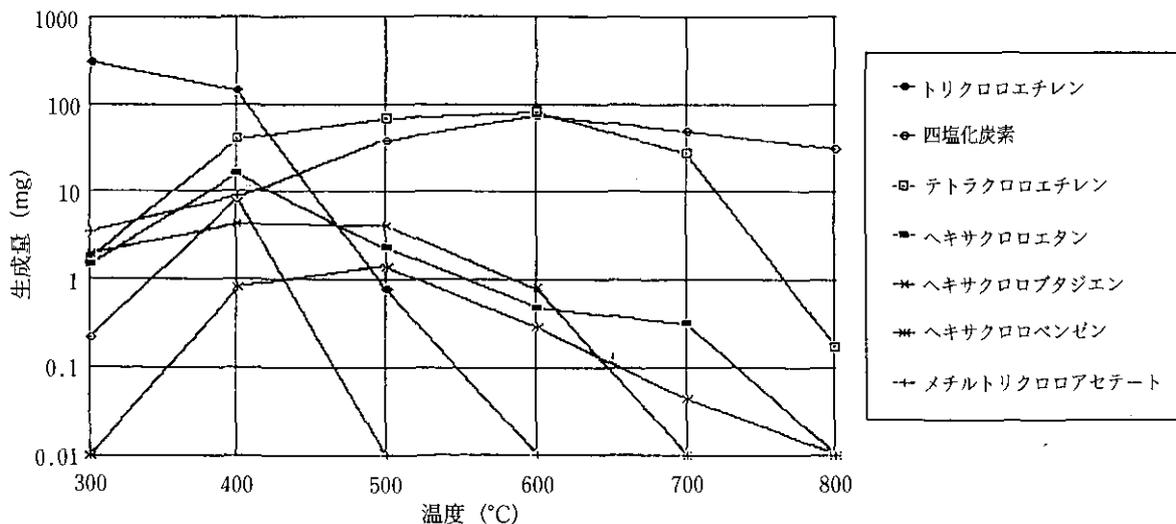


図2 トリクロロエチレンの主な熱分解生成物
(461mgのトリクロロエチレンの熱分解での生成量)

た。有機成分は、図3に示すように、ガスクロマトグラムには多くのピークが見られたが、同定できたものはその一部である。埋立処分地ごとに検出物質の種類も濃度も異なったが、共通して検出されるものもあった。同定できたものの中では、有機酸やアルコールなどの含酸素化合物が、数多く、また高濃度で検出された。これらの化合物は有機物の分解で生成されることが知られている物質である。

同定できたものの中で起源が明らかかなものは多くないが、フタル酸エステルやリン酸エステルなどのプラスチック添加物が広く検出された。安定型処分地で検出されたフタル酸ジエチルヘキシルは水環境基準の要監視項

目である。浸出水中の濃度は指針値に比べて十分に低い濃度であるが周辺の地下水からも検出されている。フタル酸ジブチルやリン酸トリス-(2-クロロエチル) はほとんどのサンプルから検出されており、廃プラスチックを埋立処分すれば、プラスチック添加剤が浸出水中に溶出するものと考えられる。

一方、指定化学物質である1,4-ジオキサンが1ppmを超える高濃度でみつかっており、その起源を明らかにし、適切な管理方策を検討する必要があると考えられる。

(4) 有害廃棄物モニタリング手法に関する研究

焼却工場などからの排ガスについては、活性炭に排ガ

表1 廃プラスチック焼却炉煙道排ガス中の有機化合物濃度 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

化合物	二次燃焼温度 (°C)	
	654~682	905~940
脂肪族炭化水素		
エチレン	20	<5
プロピレン	<5	14
i-ブタン	95	<5
i-ブテン	60	28
i-ブテン	360	250
n-ヘキサリン	57	8
2-メチルプロパン	15	<5
メチルブタン	8	68
メチルペンタン	<5	21
芳香族炭化水素		
ベンゼン	83	17
トルエン	130	240
エチルベンゼン	38	95
キシレン	42	84
塩素系有機物		
1,1,1-トリクロロエタン	210	140
1,1,2-トリクロロエタン	82	47
1,1,2,2-テトラクロロエタン	170	22
その他		
2-エチルヘキサンール	11	43
安息香酸	28	<5
フタル酸ジブチル	260	120

表2 浸出水から検出される主な未規制化学物質

	検出濃度範囲(mg/l)	毒性評価(mg/l)
2-ヘキサノール	0.042~0.625	0.07(10 ⁻⁵ 発がんリスク)
1-フェニルエタノール	0.018~0.052	
フェノール	0.015~1.1	
2-tert-ブトキシエタノール	0.0008~0.344	
1,4-ジオキサン	0.02~1.37	
プロピオン酸	0.303~6.93	
酪酸	0.180~10.1	
イソ酪酸	0.180~5.28	
吉草酸	0.105~14.4	
イソ吉草酸	1.02~14.2	
イソカブロン酸	0.387~5.96	0.06(水環境基準要監視項目)
フタル酸ジエチルヘキシル	0.002	
フタル酸ジブチル	0.0085~0.02	
N, N'-ジメチルアセトアミド	0.0012~0.024	
1,3-ジクロロ-2-プロパノール	0.014~0.078	
リン酸トリス-(2-クロロエチル)	0.0004~0.0041	

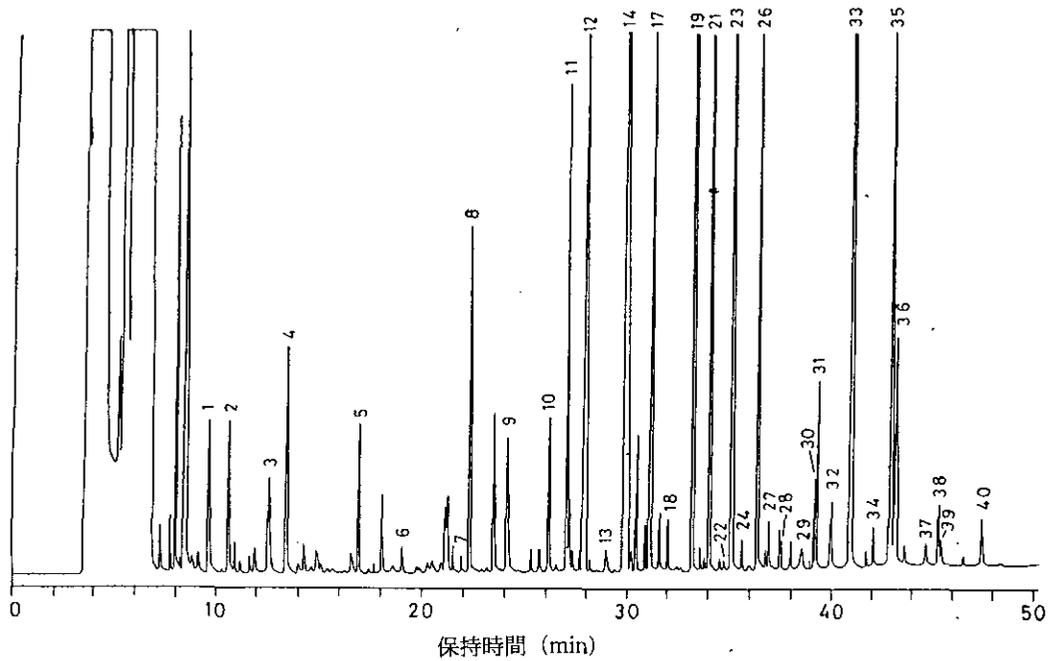


図3 管理型処分地浸出水のガスクロマトグラム
(番号のついているピークが同定された)

スを通して有機成分を吸着させ、次に塩化メチレンやベンゼンなどで超音波抽出する方法を検討した。実験室でのテストでは、90%以上の回収率で再現よく抽出できた。周辺大気については濃度も低いことから、採取ガス量を多くしていく必要があり、今後の検討課題である。

浸出水については、マスキンググラフィーによる測定を想定して、分析精度のチェックを行った。相対標準誤差で20~30%程度の精度で、およそ100 pgレベルのモニタリングが可能であった。最終的には易揮発性物質とその他の揮発性物質の2種類に分けて分析法を系統化

し、さらに液クロ等により不揮発性物質を分析する方法が望ましい。

バイオアッセイによる浸出水の毒性モニタリングとして、発光バクテリアの発光量の変化を見るマイクロトックス、動物細胞を利用した試験とAmes試験による有害廃棄物リスク評価の可能性を検討した。多種類の廃棄物溶出液にマイクロトックス試験を適用したところ、金属濃度に応じて毒性を検出することができた(表3)。また、管理型処分地の浸出水についても、浸出液の希釈に対応して発光量の変化が見られた。3種類の動物細胞を利用

表3 埋立処分地浸出水中のマイクロトックス試験EC₅₀と化学成分濃度 (mg/l)

試料番号	EC ₅₀	TOC	Na	Mg	Ca	V	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Sr	Be	Pb
1	>1	29	460	34	93	ND	ND	0.6	0.1	<0.1	0.6	0.6	0.3	<0.1
2	>1	42	420	150	69	ND	ND	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
3	>1	94	1030	290	72	ND	ND	0.1	0.2	0.4	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
4	>1	150	2100	180	30	ND	ND	<0.1	0.3	0.5	0.1	<0.1	0.1	<0.1
5	>1	89	3150	150	17	0.5	ND	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.2	0.1	<0.1
6	>1	130	3260	75	12	0.9	ND	<0.1	0.4	0.3	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
7	>1	160	3300	370	100	0.4	ND	<0.1	0.3	<0.1	<0.1	0.7	0.2	<0.1
8	1/50	5200	7000	<1	8600	0.2	0.03	0.1	0.7	33	5.1	19	2.9	7.1
9	1/50	3800	4800	<1	6800	0.2	0.03	0.4	1.8	7.6	5.7	15	2.7	2.6
10	1/60	6000	7800	<1	10800	0.2	0.03	0.1	0.9	33	6.9	24	3.5	8.0

した試験では、管理型処分地の浸出水を15~25%含むサンプルで、いずれの細胞も生存率が50%以下に低下した。一方、変異原性を調べる Ames 試験を管理型処分地

浸出水に適用したところ、揮発性成分と不揮発性の極性成分に変異原性が確認された (表4)。

表4 埋立処分地浸出水のAmes 試験結果

画分	濃度	S9添加				S9無添加			
		T A	カウント数	補正	平均	T A	カウント数	補正	平均
I	0.0	98	29	39	38	98	18	23	23
	0.5		35	46	46		34	44	44
	1.0		45	59	59		52	68	68
	0.0	100	126	166	166	100	105	138	138
	0.5		125	164	164		121	159	159
	1.0		151	199	199		115	151	151
II	0.0	98	23	30	30	98	17	22	22
	0.5		26	35	34		16	21	20
	1.0		28	37	36		24	31	31
	0.0	100	149	196	195	100	123	161	161
	0.5		145	191	191		115	152	151
	1.0		138	181	181		136	179	179
III	0.0	98	23	30	30	98	17	22	22
	0.5		33	43	43		27	36	36
	1.0		29	38	38		17	23	22
	0.0	100	149	196	195	100	123	161	161
	0.5		160	211	211		120	157	157
	1.0		165	217	217		144	189	189
IV	0.0	98	29	39	38	98	18	23	23
	0.5		69	91	91		26	34	34
	1.0		83	110	109		31	41	41
	0.0	100	126	166	166	100	105	138	138
	0.5		300	395	394		107	141	141
	1.0		230	302	302		75	99	99
V	0.0	98	29	39	38	98	18	23	23
	0.5		49	65	65		21	27	27
	1.0		61	80	80		11	15	14
	0.0	100	126	166	166	100	105	138	138
	0.5		132	173	173		113	149	149
	1.0		176	232	232		104	137	137

濃度：0.0, 純水；0.5, 純水とサンプルの1：1混合物；1.0, サンプル溶液

2.4 有用微生物を活用した小規模排水処理技術の開発と高度化に関する研究（最終年度）

平成2～4年度（1990～1992年度）

〔研究組織〕

地域環境研究グループ	
統括研究官	内藤証明
水改善手法研究チーム	○稲森悠平・松重一夫・今井章雄
湖沼保全研究チーム	高木博夫
新生物評価研究チーム	近藤矩朗・岩崎一弘
水圏環境部	
上席研究官	相崎守弘
地球環境研究センター	
研究管理官	原沢英夫
客員研究員 7名、共同研究員 20名	

〔研究概要〕

我が国の中小都市河川、湖沼、内湾等の公共用水域においては、水質汚濁、富栄養化が依然として進行している。この大きな原因としてあげられるのが、水質汚濁防止法において有害物質を除いて未規制の日平均排水量50 m³/日未満の小規模事業場排水及び同じく未規制の個別家庭から排出される生活雑排水である。これらの排水は小規模排水と呼ばれており、公共用水域の汚濁負荷源の70%近くを占めるに至っている。それゆえ、公共用水域の水質改善を図る上で小規模排水対策は必須かつ、緊急の課題である。

小規模排水のほとんどは有機物を含むため、処理対策の手法として微生物の浄化力の活用が期待される。本特別研究ではこのような背景のもとで、バイオテクノロジー等を活用し、有用微生物を用いた排水の高度処理技術の開発を行い、水質改善に資することを目的として行うこととしている。

本特別研究を達成するために、以下の課題について研究を実施した。

（1）小規模排水の特性及び生物処理適用性の調査

飲食店、酒類製造業、畜産食料品製造業、みそ・醤油製造業、旅館業等の事業場及び個別家庭の浄化槽に流入する多量に有機物を含む排水の性状、負荷変動を調査し、それらの排水の生物学的分解性を調べ生物処理、物理化

学処理の適用の可能性について検討し、課題（2）および（3）を遂行するのに必要な基礎的知見を集積する。

（2）有用微生物を用いた栄養塩類等の除去システムの開発

小規模排水中に含まれる有機物および窒素等の栄養塩類を分解除去し発生汚泥の減量化に貢献する水改善に有用な細菌、原生動物、微小後生動物などの微生物を組み込んだ小規模排水処理システムの開発を主として行うと同時に遺伝子操作技術等で得られた有用微生物の培養法、定着化法の開発を行う。

（3）有用微生物を用いた処理プロセスの技術及びシステム評価

課題（2）で得られた有用微生物の組み込まれた小規模排水処理プロセスの有効性及び効果についての地域性、費用負担、水質基準等を考慮にいたった評価を行うと同時に、組換え等有用微生物については、その活用の可能性を含めマイクロコスモ試験等による評価を行い、最適な水改善の高度化システムを提言する。

各研究課題の相互関係および年次計画を図1に示す。

〔研究成果〕

（1）小規模排水の特性及び生物処理適用性の調査

各種小規模事業場からの排水について排水特性を調査

研究フローチャート

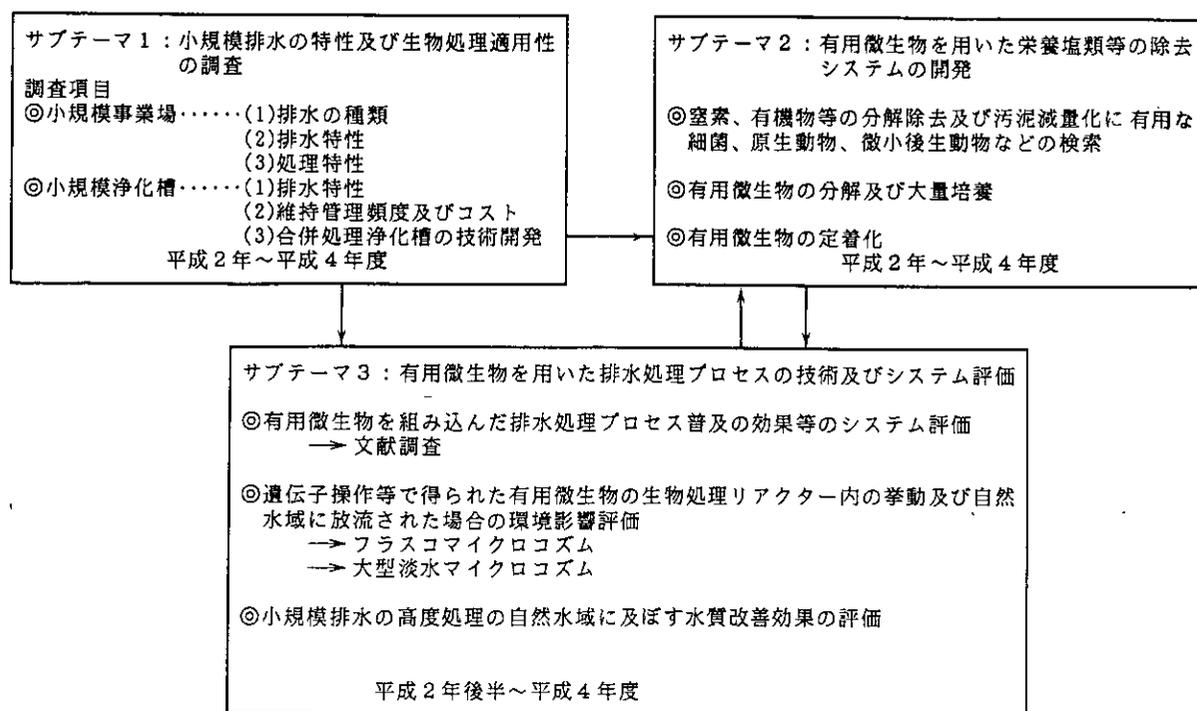


図1 本特別研究の全体構成

し、BODを従属変数とし透視度、pH、懸濁物質、油分、窒素およびリンの各項目を説明変数として重回帰分析を行ったところ、BODへの影響度の高いのは、みそ・醤油排水では無機性窒素、畜産食料品排水では無機性窒素と油分、酒類排水では懸濁物質、窒素、リン、飲食店ならびに旅館業からの排水では油分；透視度、リンであり、排水特性に応じて適正な処理方法を活用することが必要なこと並びに油分処理を効果的に行うことが重要であることが明らかとなった。

(2) 有用微生物を用いた栄養塩類等の除去システムの開発

1) 小規模合併処理浄化槽の現状のものは一過式であるが、従来方式を嫌気・好気循環方式とした場合の大きな効果が何かについて生物相、硝化速度、処理水の透明性、流入原水のC/N比等に注目して検討を加え、循環を組み込むことでC/N比の変動があっても硝化脱窒に及ぼす影響を小さくできること、適正C/N比の範囲内では安定した生物相が形成され汚泥の減量化が促進され、アンモニア酸化細菌の活性が高く維持され硝化率が高まり透明な水質が得られ、処理の安定化・効率化が行われる等を明らかにできた。

2) 1) で述べた循環の効果を基に、高度小規模合併処理浄化槽として開発した5人槽から10人槽の流量調整・循環式嫌気・好気処理方式を個別家庭に設置して特にBOD、T-Nに着目して処理性能の調査を行ったが、従来方式に比べて流量調整することにより有機物・栄養塩類除去の向上および安定化が可能となり、また循環することにより硝化におけるpHの酸性化を脱窒におけるアルカリ度の補給による中性化で微生物の凝集力を向上でき、かつ浄化反応が適正化することによりBOD、T-Nともに10 mg/l以下の高度な水質の得られることを実証できた(図2, 3)。

3) 高濃度の有機物含有排水の高度処理法として循環式嫌気・好気自己造粒生物膜固定化法に着目し、従来の嫌気・好気活性汚泥法を比較の対照として細菌相と脱窒活性から本法の効果の評価を行ったが、本法の脱窒細菌数は、グラニューール化して菌の高密度化が達成されることから嫌気・好気活性汚泥法に比べて、反応槽容積あたりで約20倍高まること、また脱窒活性も約40倍高まることから反応槽のコンパクト化と効率化の達成可能なことを明らかにできた(表1)。

4) 小規模事業場難分解性排水の高度処理法として微生物活性炭流動床プロセスを適用し処理性能を調査した

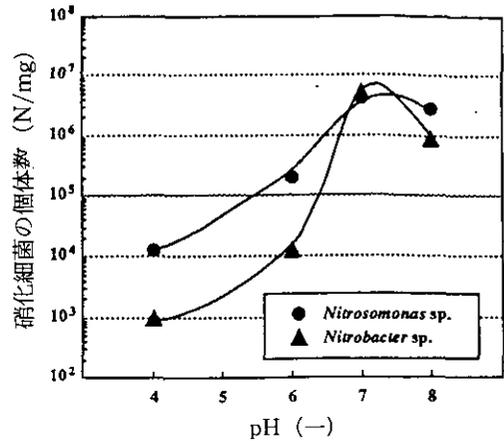
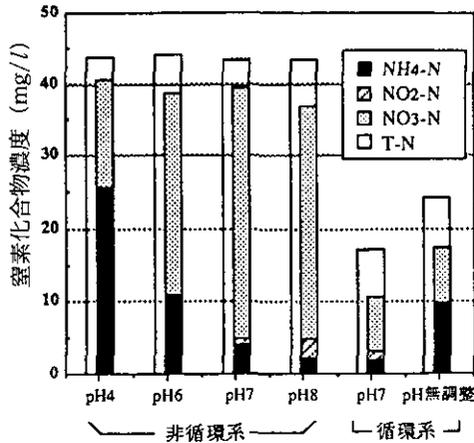


図2 処理水中の形態別窒素化合物濃度の循環およびpHとの関係

図3 生物膜中の硝化細菌の個体数とpHとの関係

表1 循環式嫌気自己造粒・好気生物膜法と嫌気好気活性汚泥法における微生物相、脱窒菌数と活性の比較

項目		循環UASB・生物膜法 ①	嫌気好気活性汚泥法 ②	①/②
微生物構成		メタン発酵に関与する短、長桿菌と脱窒に関与する節状桿菌等3種類	12種類以上の原生動物と異なる形態の細菌数種類	
反応タンクの脱窒菌数	容積当たり	8.9×10 ¹⁰ 個/m ³	4.8×10 ⁹ 個/m ³	18.5倍
	MLVSS当たり	1.4×10 ¹² 個/gグラニュール	1.1×10 ¹² 個/g活性汚泥	1.27倍
脱窒活性	容積当たり	0.33mgNO ₃ -N/m ³	0.0083mgNO ₃ -N/m ³	39.8倍
	MLVSS当たり	5.01mgNO ₃ -N/gグラニュール	1.94mgNO ₃ -N/g活性汚泥	2.58倍
MLVSS		約65,000mg/l	約4,320mg/l	15.0倍

ところ、長時間にわたり有機物ならびに窒素を高度に除去することが可能であることと同時に、HRT(水理的滞留時間)を長くすることにより分解能がさらに高まることを明らかにできた。

5) 小規模事業場排水の中には有機塩素化合物等の難分解性物質を含有する排水が存在し、その対策が重要視されているが、ジベンゾフラン等の分解菌をポリエチレングリコールおよび活性炭と同時にポリビニルアルコール等で包括固定化することにより低濃度の難分解性物質が活性炭に吸着され、有用微生物により生分解が行われたことから有用微生物を包括固定化し、かつ活性炭と組み合わせるハイブリッド法は効果的の高度プロセスになることが明らかにできた(図4)。

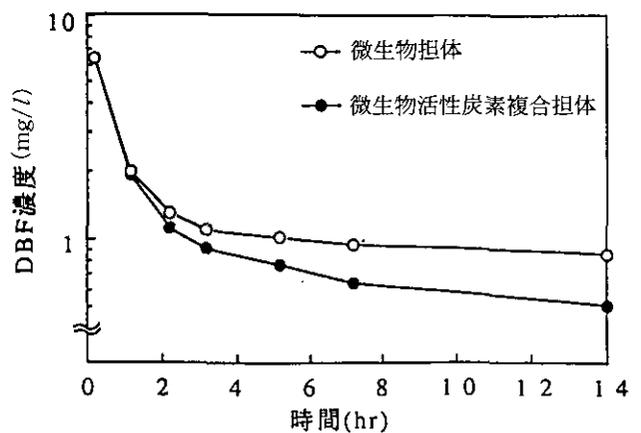


図4 微生物担体、微生物活性炭複合担体によるDBF除去特性

6) 小規模排水の処理の高度化と維持管理の容易化を図るために活性汚泥法を間欠ばつ気法とし、かつ DO 自動制御を組み込んで有機物、窒素の除去能の高度安定化・効率化について検討を行ったが、有機物負荷、窒素負荷が変動してもばつ気時間が自動制御され有用微生物としての硝化細菌、脱窒細菌のバイオマスと活性が高く保持されたことから硝化、脱窒にかかわる有用微生物の働きを高める上では自動制御が極めて重要なことを明らかにできた (図 5)。

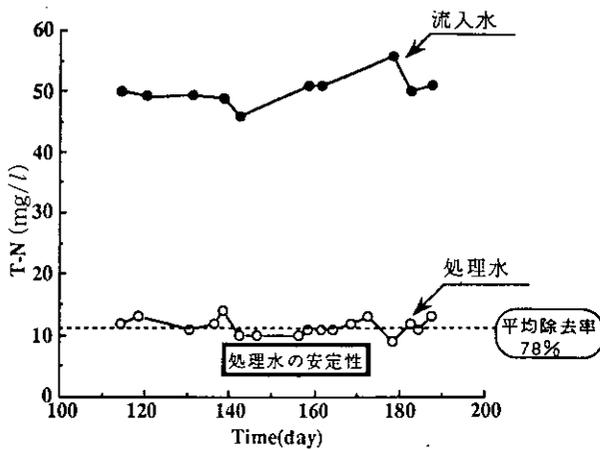


図 5 DO自動制御系における処理水T-Nの経日変化

(3) 有用微生物を用いた排水処理プロセスの技術及びシステム評価

1) 混合安定生態系マイクロコズムにおける有用微小動物輪虫類 *Philodina erythrophthalma* の大量定着化について検討し、洗米排水中の成分の存在により大量定着化と効果的な浄化が行われること、さらには増殖促進物質が油溶性の分画にあることから実際の生物処理の反応槽に有用微生物を人為的に増殖させる可能性の高いことを明らかにできた。

2) 小規模排水を高度処理した場合としない場合の処理水を安定生態系マイクロコズムに添加して構成生物に及ぼす影響を見たが、窒素、難分解性物質等の除去の程度により影響は異なり、より安定した生態系を維持する上では高度処理が必須なこと等を明らかにできた。

2.5 都市域における冬期を中心とした高濃度大気汚染の予測と 制御に関する研究（最終年度）

平成2～4年度（1990～1992年度）

〔研究組織〕	地域環境研究グループ	
	統括研究官	内藤正明
	都市大気保全研究チーム	○若松伸司・上原 清・鶴野伊津志
	交通公害防止研究チーム	森口祐一
	地球環境研究グループ	
	オゾン層研究チーム	笹野泰弘
	温暖化現象解明研究チーム	酒巻史郎・横内陽子
	酸性雨研究チーム	村野健太郎
	化学環境部	
	計測技術研究室	向井人史
	大気圏環境部	
高層大気研究室	杉本伸夫・松井一郎	
客員研究員 16名, 共同研究員 1名		

〔研究概要〕

東京, 神奈川, 大阪3地域の1991年度における二酸化窒素(NO_2)濃度は史上最悪を記録した。季節的には11月から12月にかけての冬期に高濃度が出現しているが、関西地域においては春期においても高濃度の出現がみられる。また環境基準が達成できなかった地域は広域化の傾向にある。

大都市域における高濃度大気汚染の主要な原因は自動車からの排出ガスであると考えられるが、自動車の種類や走行状態等については近年大きな変化がみられ、また地域による差も大きい。一方、気象、拡散、反応等の諸条件によって大気汚染物質が変化するメカニズムについても未知の点が多く、発生源、気象、反応等を含めた総合的な理解が必要である。

このような背景を踏まえて、都市域における冬期を中心とした高濃度大気汚染の予測と制御に関する研究を3年間にわたり実施した。この研究の目的は、都市スケールの窒素酸化物、炭化水素、硫黄酸化物、光化学オキシダント、粒子状物質等による大気汚染を物質間の反応も含めた一連の現象として取り扱い、発生源と環境濃度との因果関係を明らかにし、もって、その制御・保全の方法を明らかにすることにある。

本特別研究では以下の3つの研究課題に従って研究を実施した。

(1) 都市域における冬期を中心とした高濃度大気汚染の動態解明に関する研究

二酸化窒素(NO_2)汚染の生成機構を解明するために大気汚染と気象の観測を実施し立体分布の特徴を明らかにするとともに、一般環境大気測定局における測定データを整理し NO_2 濃度の時刻変化パターンを解析した。これらの研究の結果、冬期においても NO の酸化過程における光化学反応の寄与が重要であることが分かった。一方、風洞を用いた市街地における大気拡散実験を行い、市街地の空間的な構造と濃度分布との関係を明らかにした。

(2) 数値モデルを用いた冬期の NO_2 汚染の研究

光化学ボックスモデル、グリッドモデルを用いて数値計算予測を行い実測データとの比較を行った。シミュレーション結果は観測値の特徴をよく再現していた。数値計算の結果、冬期においても晴天時には光化学反応により日中に O_3 等の二次生成物質が生じ、これが日中から夕方にかけての NO_2 の生成に大きな影響を及ぼしていることが分かった。

(3) 発生源対策シナリオの検討

光化学大気汚染予測モデル等を用いて窒素酸化物や炭化水素成分の発生源強度の変化が環境濃度変化に及ぼす影響を、異なった条件の組み合わせに対して検討した。計算結果の解析にあたっては可視化の手法を用いた。発生源の強さと環境濃度との間には単純な比例関係が存在しないため、発生源対策シナリオの検討にあたっては様々な気象条件や発生源分布条件に対しての総合的な評価が必要であることが明らかとなった。

〔研究成果〕

1992年度においては、風洞を用いた市街地拡散実験並びに数値モデルを用いた環境濃度予測の研究を重点的に行った。

(1) 市街地における大気汚染予測に関する研究

大都市地域における自動車排ガスによる大気汚染問題は緊急を要する課題である。このため特別研究「広域都市圏における交通公害防止計画策定のための環境総合評価手法に関する研究」(1989～1991年度)においては、複雑な道路構造や密集した市街地が自動車排ガスの拡散にどのように影響を及ぼすのかについての事例研究を中心に、モデル計算、風洞実験を行った。本特別研究においては、都市大気汚染の中でも、局所的に汚染濃度が高い沿道および交差点周辺の大気汚染濃度の分布を、沿道周辺の市街地や道路の構造との関連において調べ、

- ①都市計画策定のための資料を得ること。
- ②沿道周辺の局所大気汚染の軽減方法に関する資料を得ること。
- ③実市街地での簡単な濃度の予測や、濃度測定的位置決定のための資料を得ること。

の3点を目的として市街地における排ガス拡散に関する風洞実験を行った。

1) 風洞実験の方法

実験は風洞の測定部に市街地模型を置き、模型の道路線源から自動車の排ガスの代わりにトレーサーガスとしてエタンガス(C_2H_6 , 20%, N_2 バランス)を一定量(400 cc/min/m)流した。市街地内部の高濃度が予想される交差点を中心とした位置のトレーサーガス濃度を測定し、道路や市街地の形状によって沿道の汚染濃度分布がどのように変わってくるのかを調べた。模型の風上側には縦

横10 cm, 高さ5 cmのブロックを敷き詰め、市街地の風速分布を再現している。模型を設置した場所はターンテーブルになっており、模型を回転させることによって風向を変えることができる。トレーサーガスを発生させるために小さな穴をあけたパイプを道路上に、市街地模型の中央で交差するように設置した。濃度の測定には9チャンネルの炭化水素分析計を用い、1チャンネルは風洞のバックグラウンドの測定用に、残りの8チャンネルをサンプル濃度測定に用いた。風洞内における模型設置状況の一例を図1に示す。

2) 交差点近傍の建物の影響

図2～4に交差点周辺市街地の濃度分布を示す。図中の C_n は基準化した無次元濃度である。図2はすべての街区の高さが同じ場合、図3は交差点の一角の建物の高さが周辺街区の8倍の高さに変化した場合、図4は交差点の四つ角の建物全部が8倍になった場合である。図より交差点周辺の建物の存在によって周辺市街地の汚染濃度は増加することが分かる。これには2つの理由が考えられる。第1には、大きな建物の前後に弱風領域ができ、そこへ汚染が排出されることによる濃度増加。第2には建物にせき止められた流れが左右にあふれることによって、交差点付近の高濃度が周辺街区に流れ出すことによる濃度増加である。

3) 周辺街区の高さによる濃度の変化、風向による濃度の差

市街地全体の高さが増すと交差点周辺の濃度は増加する。図5は街区高さが道路幅の1.5倍のときの分布であるが、街区高さが道路幅の0.5倍の図2と比べると明らか

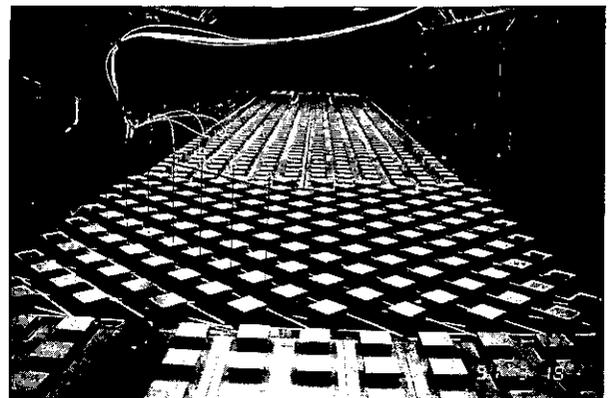


図1 風洞内における模型設置状況の一例

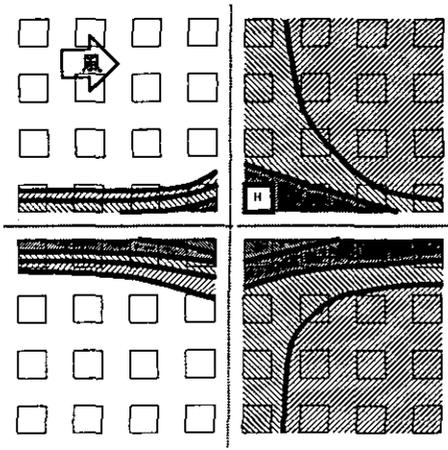


図2 一様な市街地，街区高さ H =道路巾 L \times 0.5

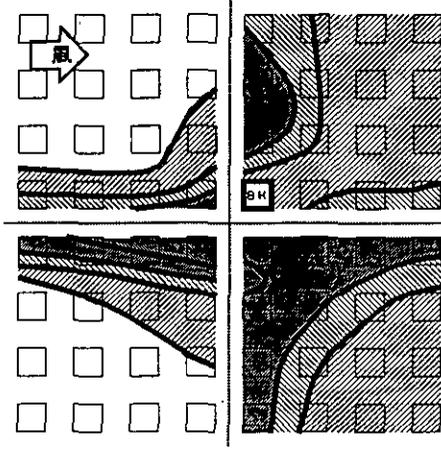


図3 高層建物1棟

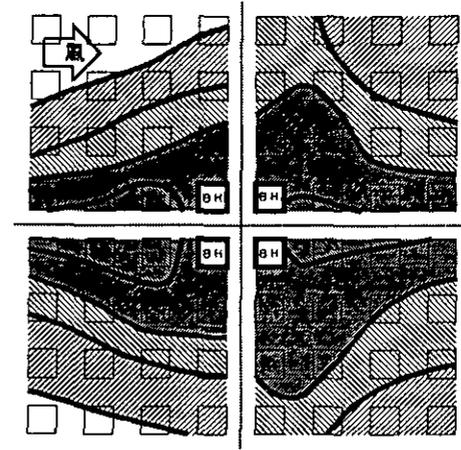
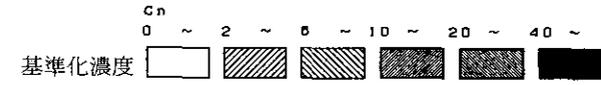
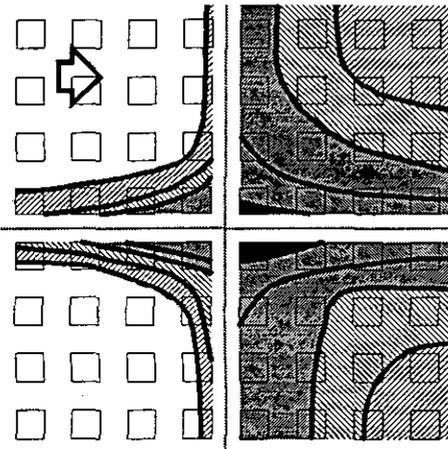
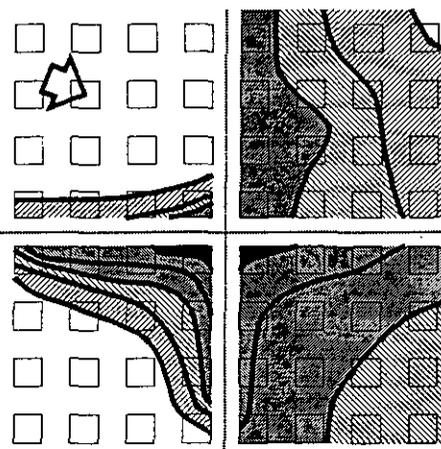


図4 高層建物4棟



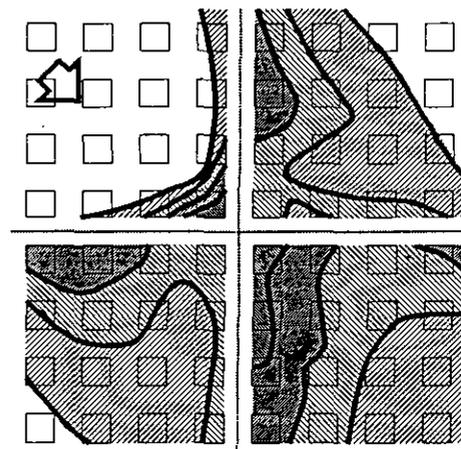
$H = 1.5L$ $WD = 0$

図5 街区高さ H =道路巾 L \times 1.5



$H = 1.5L$ $WD = 22.5^\circ$

図6 $H=1.5L$ ，風向 22.5°



$H = 1.5L$ $WD = 45^\circ$

図7 $H=1.5L$ ，風向 45°

かに濃度が高くなっていることが分かる。図6と図7は図5と同じ条件で風向がそれぞれ22.5°, 45°と変化した場合である。実験を行ったすべての街区高さや風向について得られた結果をまとめると図8のようになる。図より街区高さが増すにつれて濃度も上昇するがその度合いは風向0°の場合に最も高く、風向角が増すにつれて低下している。

4) 交差点内部の濃度の分布

交差点内部の汚染の分布を詳しく調べた結果を図9~13に示す。図9は風向0°の場合、図10は風向22.5°, 図11は風向45°の場合である。交差点の中で濃度が高くなるのは、どの風向のときにも交差点の中心部や風上側街区の背後である。そこでそれぞれの風向のときの高濃度域 ($C_n > 75$) をすべて重ね合わせて表示すると図12のようになる。図より風向が道路を中心として±45°と大きく振れても交差点内の高濃度域は比較的狭い範囲に限定されることが分かる。図13は図3と同じ状況のときの交差点内の分布である。前節で述べたのとは逆に高層建物の近傍では濃度が低下している。よく知られるビル風によって汚染が吹き払われるためである。

以上の結果をまとめると、①交差点近くに周辺よりも高い建物が存在する場合、一様な市街地のときと比べて周辺市街地の汚染濃度は上昇する。ただし、建物の近傍ではビル風のために濃度は逆に低下する。②周辺市街地の高さが増すと濃度も高くなるが、その度合いは一方の

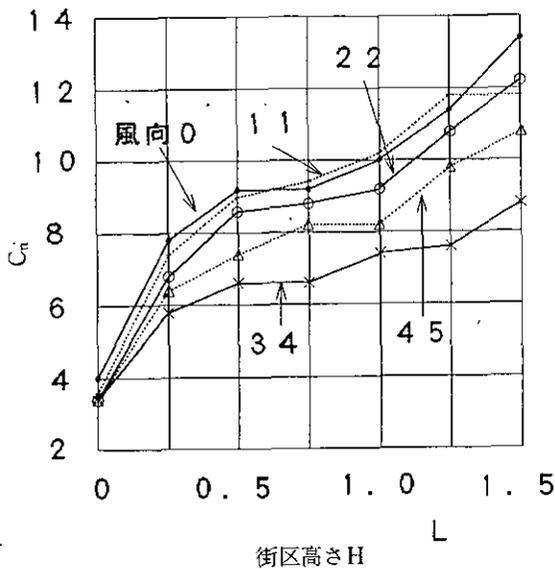


図8 街区高さHと基準化濃度 C_n の関係

道路に風向が一致する0°の場合に最も高く、道路に対する角度が増すと濃度上昇の度合いは小さい。③一様な市

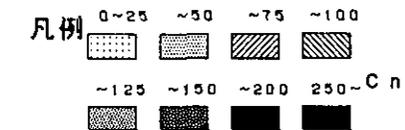
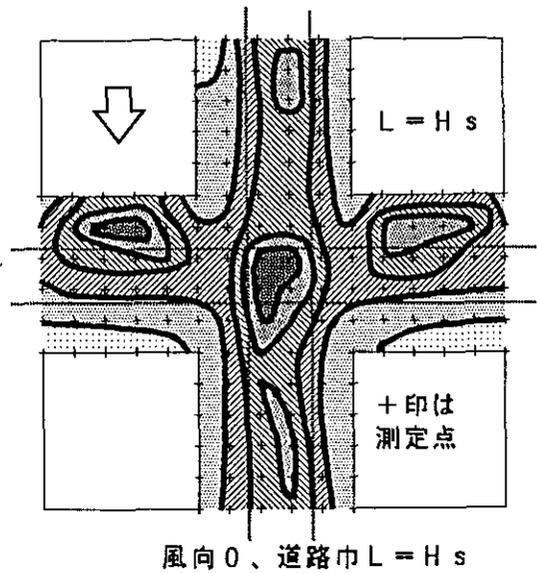


図9 一様な市街地 風向0°, H=L

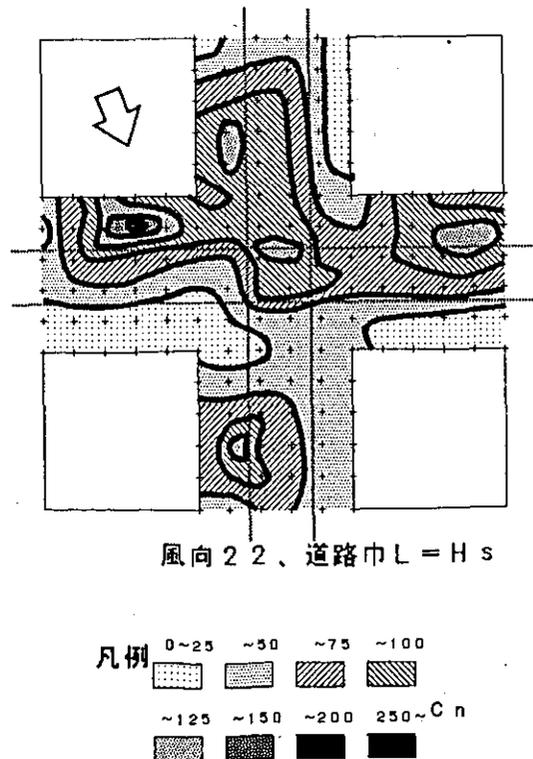
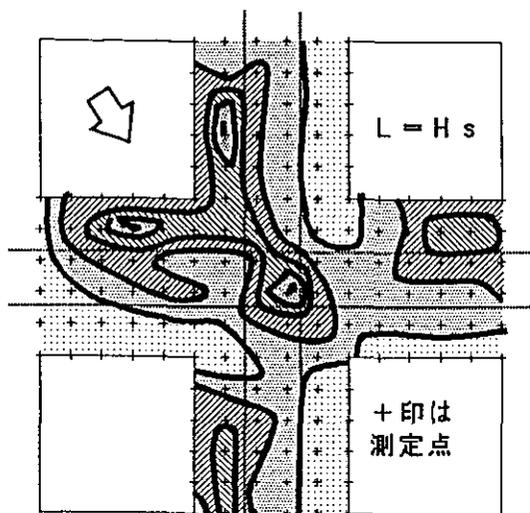
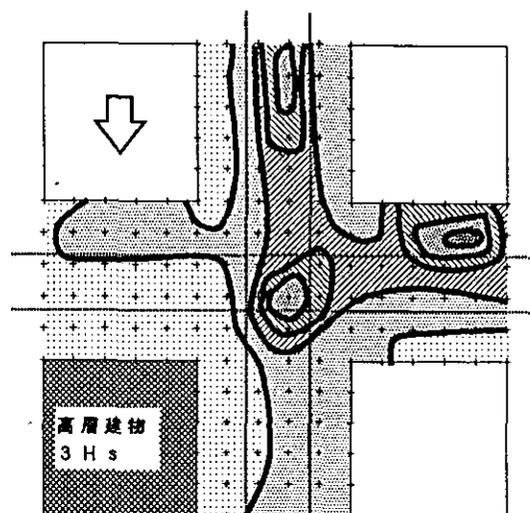


図10 一様な市街地 風向22.5°, H=L



風向45°、道路巾L = H s

図11 一様な市街地 風向45°, H=L



風向0度
道路巾L = H s
風下側に高層建物

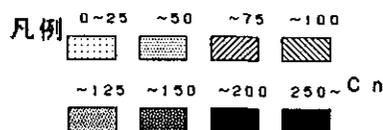
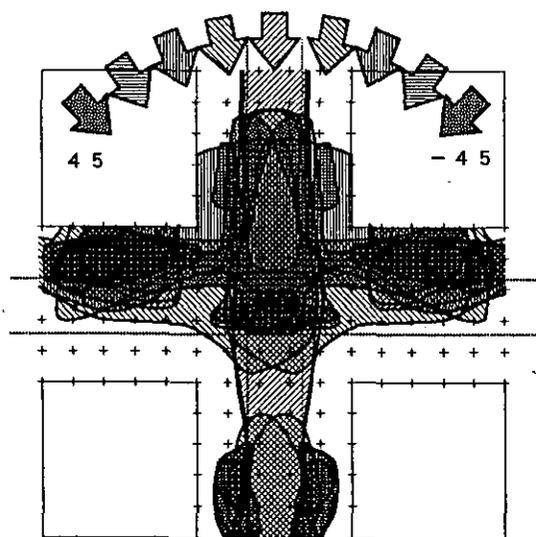


図13 高層建物がある場合



常に濃度の高いところ
±45度以内 (Cn > 75)

図12 高濃度を示す頻度の高い位置

街地の場合、交差点内部における高濃度域は比較的狭い範囲に限定されるといったことが分かった。

実際の市街地における汚染物の拡散は複雑多様で、個々のケースについては今のところ実市街地のモデルによる事例研究が最も有力な方法である。しかし、取り扱うすべての事例について風洞実験を行うことは不可能なことであるから、ある程度の市街地の空間的構造から、大まかな濃度分布を予測できるような資料を整備することを考えモデル化した交差点周辺市街地における汚染濃度

の分布を風洞実験によって調査したが、道路の立体的構造や大気安定度、交通流特性による排出強度の変化など未検討の課題が多く残されている。今後これらの課題を取り扱いながら、さらに普遍化した予測結果を蓄積していくことが重要であろうと考える。

(2) 数値モデルを用いた環境濃度予測に関する研究

1990年度並びに1991年度においては、冬期に実施したフィールド観測の結果を詳細に解析し、大気汚染の立体分布の特徴を解明するとともに、一般環境大気測定局のデータを用いてNO₂濃度の時刻変化パターンを気象との関連で解析した。その結果、冬期においてもNOの酸化過程における光化学反応の寄与が重要であることが明らかとなった。このことをより定量化するために、光化学ボックスモデル(PBM)を用いた研究を行った。計算結果によれば、典型的な条件設定の場合、晴天日には冬期においても午前中で10%以上、午後には40%以上の光化学反応寄与によるNOからNO₂への酸化が認められた。しかしPBMは垂直方向の濃度分布の取り扱いが簡略化されているため、人間が生活する地上付近の濃度予測を行うためにはグリッドモデルを用いる必要があ

る。このため1992年度においては、PBMで用いた光化学反応モデルを局地気流モデルに組み込み、大気汚染物質濃度の垂直分布の時刻変化の解析を行うとともに、このモデルを用いて数種の発生源対策シナリオの検討を行った。

1) NO₂濃度の垂直分布と局地気流

窒素酸化物による高濃度汚染は冬期に多く出現するため、冬期における典型的な気象条件や地域的な局地気象と大気汚染物質濃度の挙動を同時に解析することが重要である。都市域における冬期のNO₂汚染の特徴の一つは、発生源からの一次排出の寄与よりも大気中の反応によるNOからNO₂の酸化の効果が支配的なことである。また、東京新宿御苑での係留気球を用いた汚染物質濃度の鉛直分布観測と地上の大気汚染測定局データから、首都圏では夜間の陸風前線の通過と高濃度大気汚染の発現には相関が高い。しかし、局地風循環と大気汚染濃度の関係の研究は、従来、夏期の光化学オキシダントに関して主に行われており、数値モデルによる冬期のNO₂汚染に関する研究は十分にはなされていない。

冬期に東京新宿御苑で測定された、NO_xとNO₂の夕方から夜間にかけての高さ分布を図14に示す。この図から明らかなように、NO₂はNO_xと異なり明確な鉛直勾配がみられない。このようなNO₂濃度の鉛直分布の特長は札幌市での観測結果にもみられる。これは、PBMでの議論で指摘されたような大気反応によるものと、乱流拡散による鉛直混合によるものである。この点をモデル化するためには2次元（または3次元）のグリッドモデル

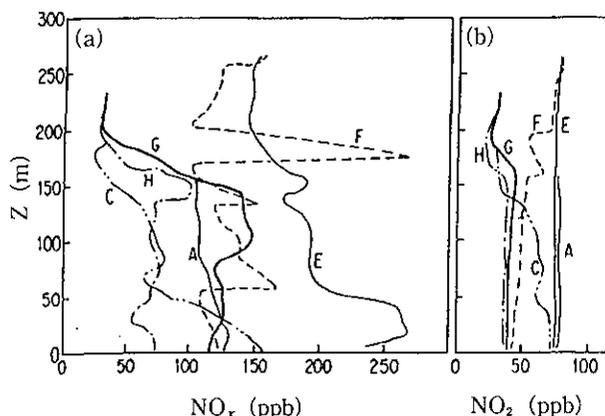


図14 東京新宿御苑でのNO_x、NO₂の鉛直分布(1983年1月23日の観測結果)
図中のAからHにかけて夕刻から深夜に向かう。

を用いた輸送反応シミュレーションを行うことが必要となる。ここでは、局地気象数値モデルと光化学反応を含む汚染質の輸送・反応シミュレーションモデルを組み合わせ、冬期の高濃度汚染の基本的な動態解明の結果を示す。

2) グリッドモデルによる解析

PBMは現象を単純化しているため、汚染質の鉛直プロファイルや海陸風などの局地循環による汚染物質の輸送を正確に表現することができない。本研究では局地気象数値モデルと汚染物質の輸送反応モデルを組み合わせ、冬期の気象要素と汚染質の挙動をシミュレートした。局地気象数値モデルとしては、コロラド州立大学メソスケールモデル(CSUMM)を用いて気流の計算を行った。CSUMMによって計算された結果をもとに、次に、汚染物質の輸送反応の計算を行う。反応モデルとしてはPBMと同一のものを利用した。モデル計算は、東京周辺のスケーラを想定した2次元の簡略地形を用い、PBMの条件に合わせた気象条件を初期値として用いた。

NO_xと炭化水素の発生源の強度と時間変動は、東京の中心部15 kmメッシュの1983年度ベースの発生量を用いた。炭化水素は発生源からの排出組成分布を化学反応モデル(CBM-4)に準拠した炭化水素組成に基づいて算出し、時間変動パターンを与えた。NO、NO₂については、固定発生源と移動発生源の時間別排出量をもとに与えた。計算の初期濃度は実測値をもとに設定した。光化学解離定数は実測の日射量と晴天時の理論値との比をもとに与えた。また、気温、湿度、風速は実測値を利用した。

海岸部に水平スケール30 kmの都市をおき、都市域での発生源の排出組成と強度はPBMのそれと同一、初期濃度はO₃以外はゼロとした。また、PBMでは考慮されなかった乾性沈着は最新の知見をもとに沈着速度を設定した。計算は96時間行い、3、4日目の計算結果を議論の対象とした。

モデル計算で設定した海、陸(都市)、山地の配置と、計算開始3日目の16時の気流分布及びそこでのNO、NO₂、O₃の濃度変化を図15に示す。数値モデルによる計算からは、冬期でも海陸風、山谷風による局地循環が形成されること、海水面温度が陸上の気温より高いことにより陸風時には海上には混合層が発達すること、陸上の日中の混合層高度は概ね800~1000 m程度であること、などが再現されている。

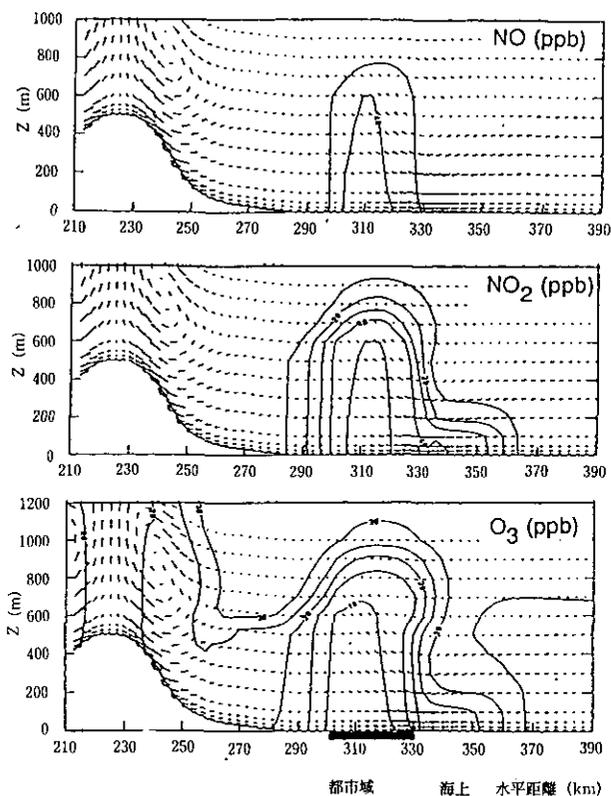


図15 局地気象モデルで計算された気流分布とNO, NO₂, O₃の濃度(計算開始3日目の16時の結果) 都市域は图中的x=300~330km。x=330kmより右は海水面。

都市域でのNO, NO₂, O₃濃度の時間空間変化(3日目と4日目)を図16に示す。これらの図から明らかなように、都市域での日中のO₃濃度は20 ppb程度であり、夜間は上空700~800 mまで濃度ゼロの分布となる。日中のO₃濃度は夏期の光化学オキシダントのレベルと比較して極めて低い。NO₂は、O₃と対照的に夜間上空700~800 m程度まで50 ppb程度の均一な分布となる。これは図14のNO₂の鉛直分布によく対応している。また、汚染物質が夜間の陸風で海上に輸送されるため、海上にNO₂の高濃度域が形成される。NO濃度は地上付近で午前中に高濃度となるが、日中の混合層の発達と発生源強度の変化のために濃度は減少する。

3) 発生源強度と環境濃度の関係

発生源強度の変化が地上付近のNO₂濃度に及ぼす影響を評価することは、発生源対策シナリオの検討にあたっては有用である。そこでグリッドモデルを用いてNO_xの発生源が、一率に10, 30, 40, 50%減少したときの地上濃度を検討した。NO_xは発生現時には90%が

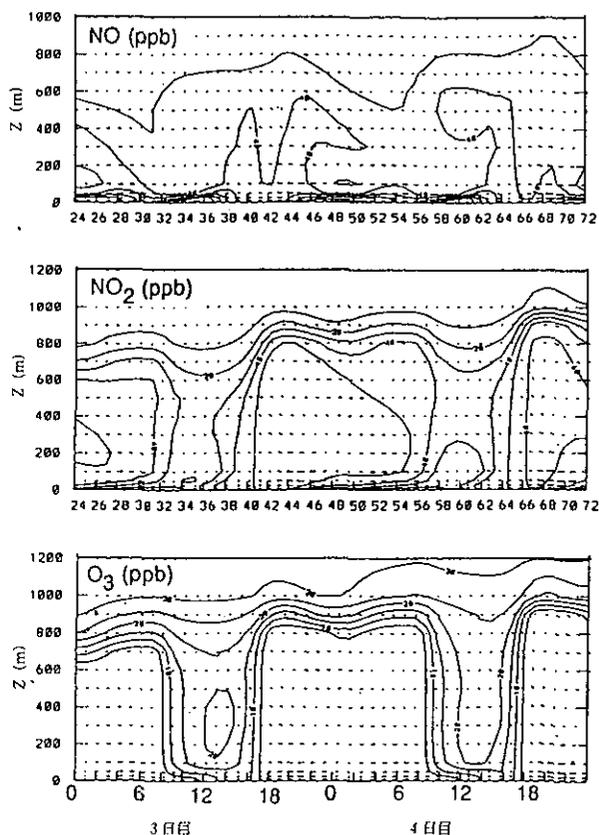


図16 都市域でのNO, NO₂, O₃濃度の時間空間変化(計算開始後3日目と4日目の結果)

NO, 10%がNO₂であるとした。また、比較のために全く大気中での反応がない場合についても求めた。計算された大気汚染物質の中からNO₂とO₃濃度の都市域における地上付近での時間変化の一例を図17に示す。この結果はNO₂環境濃度に占める大気反応の寄与の重要性を示すとともに、大気中での反応を伴う拡散現象の非線型性のために、NO_xの排出削減量と環境中のNO₂濃度には直線的な関係がないことを現している。これは、NO_x排出量を削減することでO₃濃度が上昇することからも理解される。

ここで示した局地気象数値モデルと汚染物質の輸送反応モデルを組み合わせた冬期のNO₂高濃度汚染のシミュレーション結果は観測値の特徴をよく再現しているが、詳細に比較検討するには鉛直分布を含めて観測データが極めて限定されているため、今後はこのような観測データの蓄積を計るとともに、数値モデルの計算をより現実にそった条件で行うことが必要である。

具体的な発生源制御シナリオの策定にあたっては、NO_xとともに炭化水素成分の発生源調査を行うことが

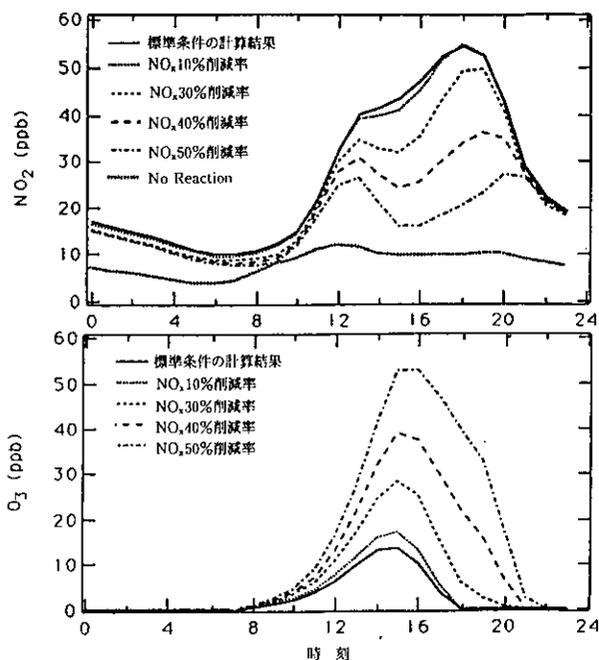


図17 NO_xの発生源強度を削減した場合の都市域の地上付近のNO₂、O₃濃度の感度解析(時間変化)

重要である。また発生源と環境濃度の間には単純な比例関係が存在しないため、各種の気象条件に対して予測計算を蓄積し、対象とする地域ごとに独自の検討を行っていくことが必要であろう。今回は冬期の場合のみを扱ったが、例えば関西地域においては春期に高濃度のNO₂が出現することが問題となっているため、年間を通しての予測モデルの確立を目指すことが今後に残された課題である。

都市域における冬期を中心とした二酸化窒素による高濃度大気汚染の生成機構解明とその予測、制御に関する研究を、野外観測、一般環境大気汚染測定データ解析、風洞を用いた市街地拡散実験、数値モデルを用いた大気汚染濃度の予測、等により総合的に実施した。

3年間にわたる研究の結果、大気汚染物質の拡散の挙動を市街地の空間的構造から明らかにすることができたとともに、環境大気中における大気汚染物質の移流、拡散、反応過程を定量的に予測、評価するモデルを確立することができた。冬期における予測モデルの研究はこれまではほとんど行われていなかったため、今回の研究成果は、二酸化窒素による大気汚染対策を進めるにあたっての極めて有用な基礎的知見を提供するものである。

都市大気汚染の形態は都市構造や産業構造の変化、並びに生活スタイルや生活の質の変化に対応して大気汚染の発生源が変化することにより特に最近の10年間で大きく変わりつつある。エネルギー消費の統計結果によれば民生部門や、運輸部門でのエネルギー消費の伸びは産業部門における伸びを大きく上回っている。1991年度における我が国全体の二酸化炭素排出総量のうち運輸部門の寄与率は19%程度でこの中の自動車の排出量のシェアは約87%である。1990年から1991年の間の二酸化炭素の対前年増加率は我が国全体で1.9%であったのに対して運輸部門の増加率は4.3%、民生部門の増加率は3.5%であった。これに対して産業部門は0.3%減となっている。このような傾向は今後も続くものと予想されている。今回の研究で主に解析の対象とした二酸化窒素による都市大気汚染の問題は今後とも極めて重要な課題として残るであろう。

都市大気汚染の問題は、窒素酸化物、炭化水素、光化学オキシダント、粒子状物質などによる大気汚染物質を相互に関連するものとして把握し、その対策を検討していくことが極めて重要であるとともに、都市気象、都市気候の変化との関連で理解していく必要がある。このような観点から今後は、「環境負荷の構造変化から見た都市の大気と水質問題の把握とその対応策に関する研究」の一部としてこの研究を継続的に進めていきたい。

2.6 水環境における化学物質の長期暴露による相乗的生態系影響に関する研究

平成元年～5年度 (1989～1993年度)

〔研究組織〕

地域環境研究グループ

上席研究官

三浦 卓

化学物質生態影響評価研究チーム

○島山成久・笠井文絵・菅谷芳雄・花里孝幸

化学物質健康リスク評価研究チーム

白石寛明

大気影響評価研究チーム

安藤 満

地球環境研究グループ

野生生物保全研究チーム

高村健二

生物圏環境部

部長

安野正之

生態機構研究室

岩熊敏夫・宮下 衛・野原精一・上野隆平・多田 満

分子生物学研究室

田中 浄

客員研究員 8名, 共同研究員 1名

〔研究概要〕

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

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

(2次的影響)の解析も、生態系影響評価には不可欠のデータである。野外調査では河川の農薬汚染状況と水生生物相の相互関係を明らかにする。これらのデータや知見を総合して、化学物質の生態影響評価のクライテリア

の確立をめざし、化学物質の影響から水界生態系を保全または回復させることを目的とする。

本研究は以下の4つのサブテーマを以て行われる。それぞれは相互に関連し明確に区分できない面もあるが、各テーマごとに年次計画での研究段階を記す。

(1) 生態系レベルにおける化学物質の相乗的影響に関する研究

農薬類の水生生物に対する暴露量を明らかにするため、河川・池沼の農薬類を高頻度で分析し、それら濃度の季節的変動パターンを明らかにした。これら農薬類の潜在的生態毒性を評価する手法として、緑藻(セレナストルム)やヌカエビを用いた生物試験を行い、除草剤や殺虫剤が水生生物に及ぼす生態毒性の季節変動を明らかにした。さらに、環境中に検出された各種薬剤の毒性試験データなどから、河川水中のセレナストルム増殖阻害やヌカエビの死亡がいかなる薬剤がどの程度関与して引き起こされたかを推定できることが分かった。今後、さらに他の水生生物、実験生態系に対する農薬類の複合影響の評価を行う。河川の生物相に及ぼす農薬類の影響に関しては、水生昆虫に関して多くの知見が得られた。

(2) 生物の化学物質に対する種特異的感受性に関する研究

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

(3) 生物種間の相互作用に及ぼす化学物質の影響評価に関する研究

動植物プランクトン群集からなる実験生態系（構成種は霞ヶ浦底泥由来）を屋外実験水槽に作製し、生物間の相互作用を介した化学物質の影響評価を行ってきた。動物プランクトンやその捕食者間の相互関係に基づく化学物質の2次的影響に関してはかなり予測できる段階に達した。

一方、1次生産者である藻類、あるいは藻類と動物プランクトン群集の両者が影響を受けた場合の影響評価に関しても、屋外の実験生態系を用いて検討を行った。殺虫剤によるミジンコの形態変化や行動異常に関しては多くの知見が得られ、それらが動物プランクトンの代謝や捕食者との関係を介し、いかなる生態影響を及ぼすかの考察がなされた。

(4) 生態系レベルでの化学物質のリスクアセスメントに関する研究

実際の河川において、水生生物が化学物質（農薬類を対象）によっていかなる影響を受けているかを実証するための調査を行ってきた。河川の生態系は農薬以外にも様々な要因で影響を受けるので評価が難しい。そのため、対照として低農薬または無農薬水田地帯を流れる河川の

生物相を下流の農薬散布地帯のそれと比較し、農薬類の総合的影響評価を行ってきた。さらに、農薬汚染の河川水を導入した人工水路を用いた調査からも、これらの生態影響評価に関する実験を行っている。実験生態系（湖沼モデル）を用いた生物間相互関係を介した化学物質の生態影響評価に関しては、多くの知見が集積されたが、今後は実生態系における影響評価への適用を検討する。

〔研究成果〕

(1) 生態系レベルにおける化学物質の相乗的影響に関する研究

1) 河川の藻類生産に及ぼす除草剤の複合影響を検討するため、小貝川に隣接して人工水路を2本設置し4月から8月まで河川水を流し各種の実験を行った。前年度分析しなかった除草剤メフェナセットやクロロニトロフェンを加えても、河川水中でのセテナストルム（緑藻）生長阻害の原因物質は5月はブタクロールとプレチラクロールの相乗的影響、6月はシメトリンの影響が主因であった。水路には人工照明区を設置し、一定の環境条件で除草剤が藻類生産に及ぼす影響を評価した。河川水中のクロロフィル-*a*量、人工基物（素焼タイル）に発生する藻類量の間には高い相関があり、5月中旬にかけこれらの値は低いレベルにあり、6月上旬に回復の傾向を示したが、その後藻類を摂食する底生動物数種類が発生しタイル上の藻類発生量が低レベルに留まった（図1）。しかし7月中旬からこれらの生物を除去する操作を続けた結果、タイル上の藻類発生量は著しく上昇した。これらの結果や各種栄養塩の測定データなどから、5月中旬の藻類生産の低下は除草剤の複合影響と考えられる。6~7月の場合など、除草剤の藻類生産に及ぼす全過程を評価するにはさらに底生生物の侵入防除・除去操作が必要とされる。

2) 他の水路にはシジミを導入し、水中の農薬濃度の変動とシジミのそれとの相関、シジミの生長に及ぼす農薬類の複合影響を調べた。過半数の農薬では水中とシジミの濃度変動がほぼ一致したが、3種の除草剤（ベンチオカーブ、オキサジアゾン、クロロニトロフェン）の残留性は高く、クロロニトロフェンの生物濃縮が最も顕著であった。水路に導入したシジミの生長は6月上旬まではほとんど認められなかったが、各種の除草剤（一部殺虫剤）の濃度減少とともに6月中旬から安定した生長が続

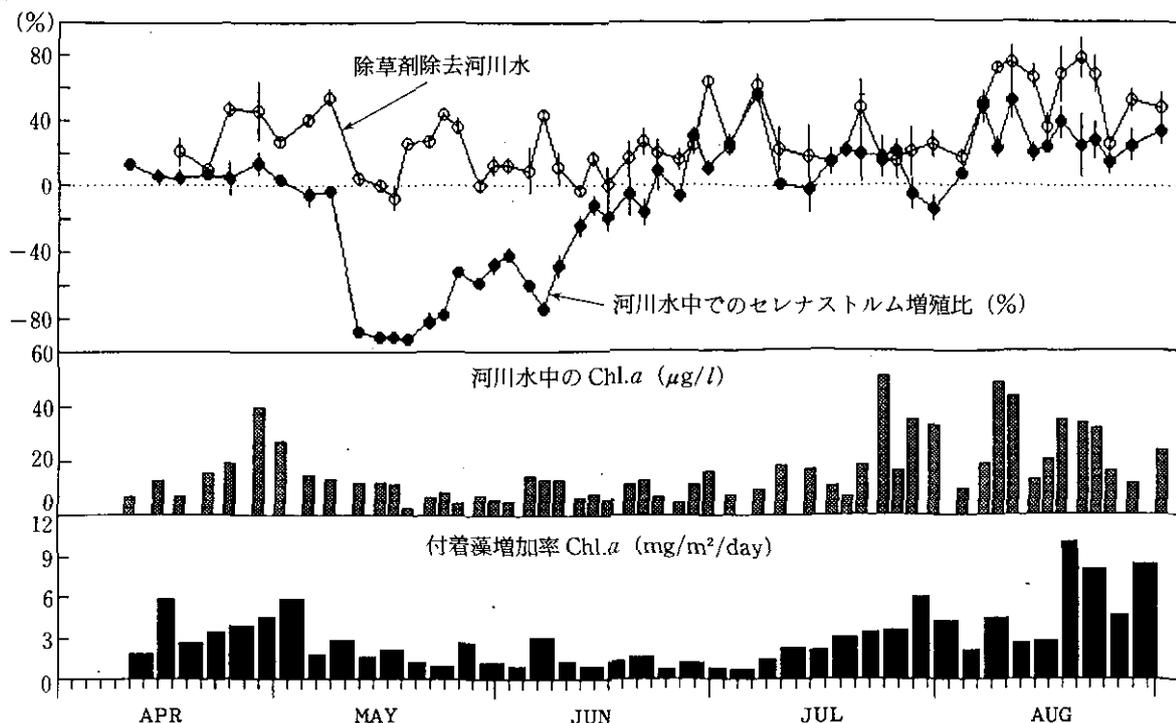


図1 河川水中の除草剤複合汚染が藻類生産に及ぼす影響評価
 河川水中（小貝川）でのセテナストルム増殖比（●，対照C培地，3日後），および薬剤除去河川水中での値（○）。河川水中および人工河川（人工照明，18L-6D）の基物上での付着藻類増加率。

いた。一方、タニシは小貝川岸辺でよく観察される生物であるが、農薬類濃度はシジミに比較し極めて低いレベルであった。

3) 殺虫剤複合影響評価では6月上旬BPMCとピリダフエンチオンの影響で調査河川水中でヌカエビの死亡が顕著になり、タガメでも5月中旬など死亡率の増加が認められた。

4) 東北地方4河川（北上川，迫川，江合川，鳴瀬川）の定点において，除草剤の藻類生産に及ぼす影響の調査を行った。その中で北上川と鳴瀬川では週2回河川水を採取し農薬分析とセテナストルム増殖テスト等を行った。北上川でも5月にブタクロールとプレチラクロールの相対的影響により，セテナストルムの増殖阻害ポテンシャル（各薬剤増殖阻害率の積算値）が高まり，水中のクロロフィル量に低下が認められた（図2）。他の河川でも上記2種の除草剤がセテナストルムの増殖阻害の主因であったが，小貝川と異なりシメトリンの関与は軽微であった。鳴瀬川では5月にセテナストルム増殖阻害率は下流になるほど高まる傾向を示し河口域で最大となり，

河川によっては河口域での農薬類の複合汚染による生態系影響が予測される。

(2) 生物の化学物質に対する種特異的的感受性に関する研究

1) 水生昆虫全般の有機燐系殺虫剤フェントロチオンに対する感受性の種間差を調べる目的で水生昆虫の種類が多い山地河川に隣接して人工水路（循環式）を設置し，急性毒性試験を行った。マダラカゲロウ，トビケラ類の中に比較的耐性の高い種があったが，ヒラタカゲロウやカワゲラ類では試験したすべての種で耐性種が認められなかった。コガタシマトビケラの著しい薬剤耐性は小貝川水系でも認められ，この種は小貝川（下流域）で検出された水生昆虫ではユスリカ類に次ぐものであった。農薬汚染河川に優占する2種のトビケラに対し，3種の有機燐系殺虫剤の複合影響を検討した。ウルマーシマトビケラは環境中でも検出される濃度（5 ppb）の相対的影響で巢の放棄反応が見られるが，コガタシマトビケラではこの反応は全く認められなかった（図3）。通常，巢の中に生息している生物が化学物質の影響で巢外に追い出された場合，魚類などの捕食を受けやすくなるなどその種

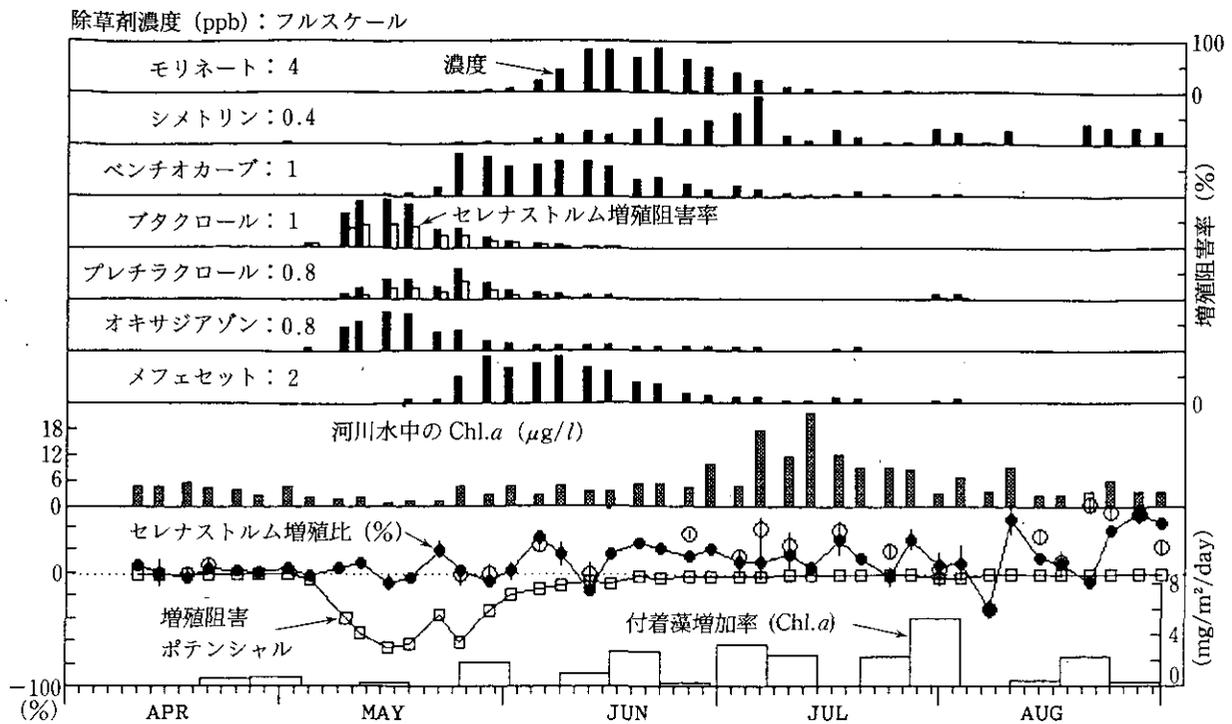


図2 北上川河川水中での除草剤濃度変動, 河川水中クロロフィル-a, および除草剤によるセレナストルム増殖阻害ポテンシャル

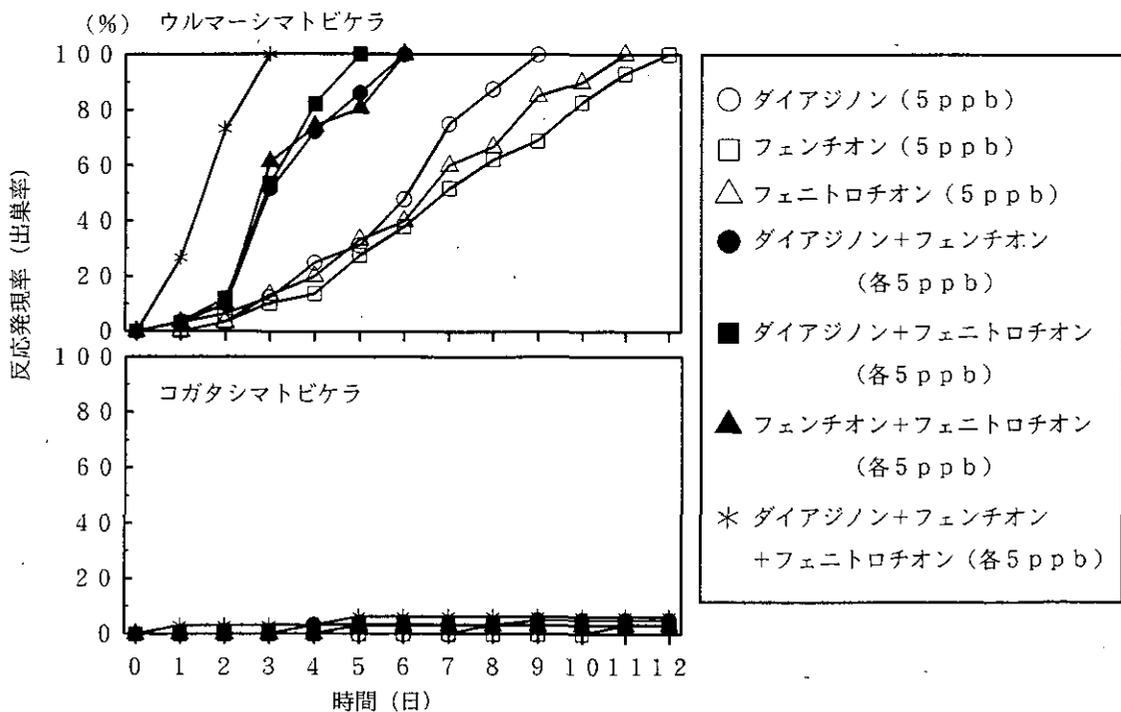


図3 農業環境河川に優占するトビケラ2種の出巢反応に対する有機磷系殺虫剤の複合影響 (回転流水式暴露による)

の生存に取って大きな影響となるため, 薬剤の間接的影響評価として重要であることが示唆された。

2) 殺虫剤汚染 (履歴を含む) とユスリカ類の薬剤耐性種 (または系統) の分布の関係を見るため全国的に分

布するセスジユスリカ *Chironomus yoshimatsui* をつくば市周辺、日光湯元など各地から採取し有機燐殺虫剤フェニトロチオンに対する感受性を比較した。48時間半数致死濃度(48 h-LC₅₀)で比較すると松山市産が8 ppm以上で最大、日光湯元産が0.008 ppmで最小の値を示し、他は1~数 ppmと日光湯元産以外はどれも著しい耐性を示した。フェンチオン(有機燐系)、BPMC(カーバメイト系)でも前者ほどではないが同様の傾向が認められた(表1)。

セスジユスリカのフェニトロチオン耐性機構を明らかにする目的でアセチルコリンエステラーゼ活性(AchE)、同活性半阻害濃度(I₅₀)、薬剤結合タンパク活性及び薬剤加水分解活性を測定した。つくば市5系統は対照(日光湯元)に比しI₅₀値では4倍以上、薬剤加水分解活性は同程度~5倍であり、AchEの薬剤感受性低下とその分解活性の増加が主な耐性機構と判断される(表2)。一方、耐性を獲得した系統は対照に比してAchE活性に低下が認められた。

3) 小貝川からは多種の農薬が検出されるが、ユスリカ類の殺虫剤感受性を *Glyptotendipes tokunagai*, *Chir-*

onomus circumdatus, *Polypedilum nubifer*, *Dicrotendipes nerbosus* などについて調べた。*P. nubifer* を除く3種はいずれも有機燐系殺虫剤に対し、セスジユスリカと同等かそれ以上の高い耐性を示したが、*P. nubifer* は農薬汚染がほとんど消失した9月に薬剤耐性種と入れ替わるように出現した。一方、霞ヶ浦のオオユスリカ *Chironomus plumosus* やアカムシユスリカ *Tokunagayusurika akamusi* の1齢幼虫の fenitrothion 48 h-LC₅₀ は0.004 ppmであった。霞ヶ浦産 *G. tokunagai* のフェニトロチオンとフェンチオン感受性は高く小貝川産とはそれぞれ約60倍と7倍の開きがあった。また、*Cricotopus bicinctus* は水田などに生息する種であるが、つくば市水田と松山市(宮前川)産で比較した結果、有機リン系殺虫剤およびエトフェプロックスに対しては松山産が、BPMCに対してはつくば市産が高い耐性を示した(表1)。試験を実施した種、系統すべてにおいてふ化直後の1齢幼虫の薬剤感受性は4齢(終齢)幼虫の数~10倍程度を示した。

表1 4種の殺虫剤に対するユスリカ類幼虫のLC₅₀値の産地間格差

種名	採取地	フェニトロチオン	フェンチオン	エトフェプロックス	BPMC
<i>Chironomus yoshimatsui</i>	日光市湯元	7.7	9.9	37.7	637
	土浦市荒川沖	2,150	207	82.8	6,198
	牛久市乙戸川	1,637	805	20.1	2,743
	つくば市栗原	992	515	6.8	1,975
	石岡市山王川	3,990	26.4	57.0	4,061
	八郷小桜川	1,557	78.8	49.3	5,723
	松山市宮前川	>8,000	1000~5000	42.0	>10,000
<i>Glyptotendipes tokunagai</i>	霞ヶ浦	59.9	8.6	32.7	95.0
	谷和原村小貝川	4,849	56.2	247	161
<i>Cricotopus bicinctus</i>	谷和原村小貝川	139	<62.5	15.5	1,300
	松山市宮前川	2,377	394	438	474
<i>Psectrotanypus varius</i>	環境研究所内水槽	3.2	0.7	7.6	<125
<i>Polypedilum nubifer</i>	谷和原村小貝川	23.8	3.6	43.1	604
<i>Chironomus circumdatus</i>	谷和原村小貝川	4,849	1,353	2.6	239
<i>Dicrotendipes nerbosus</i>	谷和原村小貝川	6,305	<32	80.9	—

単位はppb

表2 セスジュスリカ (*Chironomus yoshimatsui*) の有機リン殺虫剤フェニトロチオン耐性機構

採取地	LC ₅₀ ¹⁾ (ppm)	AchE ²⁾ 活性	I ₅₀ (×10 ⁻⁷ M)	結合タンパク ³⁾ 活性	加水分解 ³⁾ 活性
日光市湯本	0.008	18.0	4 (1.0)	70.5 (1.00)	5.2 (1.00)
土浦市荒川沖	2.15 (270)	17.0	25 (6.3)	45.4 (0.64)	8.7 (1.67)
牛久市乙戸川	1.64 (212)	10.0	16 (4.0)	57.7 (0.82)	25.5 (4.89)
つくば市栗原	0.99 (128)	9.6	280 (70.0)	327.0 (4.64)	59.7 (11.4)
石岡市山王川	3.39 (440)	6.2	28 (7.0)	58.0 (0.82)	15.7 (3.01)
八郷町小桜川	1.56 (202)	8.3	20 (5.0)	69.9 (0.99)	4.83 (0.93)

¹⁾フェニトロチオン48時間半数致死濃度, ²⁾n mole/min/mg protein,
³⁾p mole/hr/mg protein, ()は日光市湯元産に対する相対値。

(3) 生物種間の相互作用に及ぼす化学物質の影響評価に関する研究

1) 実験水槽に除草剤シメトリン, 殺虫剤フェンチオン及び除草剤と殺虫剤複合投与を行い, 動植物プランクトンに及ぼす影響を調べた。対照水槽では実験開始後すぐに中心ケイ藻類や多種のクロロコックム目緑藻が大発生したが(図4 a), 引き続き動物プランクトンの増殖により藻類量は急速に減少し, その後は低レベルで推移した。実験後半には大型のミジンコがワムシ類やゾウミジンコに入れ替わって増殖し藻類現存量の低下に関与した。除草剤処理区でも植物プランクトン量は低レベルで推移し, 現存量を見る限り無処理と顕著な差は見られなかったが(図4 b), 動物プランクトンは餌(藻類)不足のために低密度に抑えられていた。殺虫剤処理水槽ではクロロコックム目緑藻の *Ankyra* sp.と *Monoraphidium* sp.が処理後急激に増加した(図4 c)。その原因として, これらを効率的に摂食していたミジンコ類の増殖が殺虫剤の影響により阻害されたために対照区や除草剤区と異なりこれらの藻類が増加したものと考えられる。除草剤+殺虫剤処理水槽では *Monoraphidium* sp.や *Ankyra* sp.の増加は殺虫剤単独処理の場合よりもかなり低く抑えられた(図4 d)。これは除草剤単独処理では動物プランクトンの摂食のために評価ができなかった除草剤の植物プランクトン増殖に及ぼす影響を明瞭に示したものである。これらの結果は, 植物プランクトンに対する除草剤の影響が動物プランクトンの摂食によっても影響されることを示唆している。

2) 実験水槽に除草剤シメトリンを1週間ごとに投入し続け, そこに形成される藻類群集の除草剤感受性を調べた。除草剤処理区では実験開始後40日目頃にクロロコックム目緑藻が繁茂した。これらを分離培養しシメトリンに対する感受性を調べた。種組成には大きな違いはみられなかった。無処理水槽から分離した株の100 µg/lシメトリン存在下の増殖は対照(シメトリン無添加)の0~15%に阻害されたが, 除草剤処理水槽から分離した株の増殖率は84~106%であり全くあるいはほとんど阻害されなかった。つまり, 除草剤に暴露されていない環境では除草剤に感受性の藻類群集が形成されるが, 除草剤に暴露された環境では除草剤耐性の群集が形成されることが示された。表3に緑藻 *Scenedesmus* の一種のシメトリンに対するEC₅₀値を示した。この種は両処理水槽に出現したが, このことは除草剤暴露環境ではシメトリン耐性の系統がシメトリン感受性の系統と入れ替わったことを示している。

3) 動物プランクトンの捕食者であるフサカ幼虫は, 水中に化学物質(カイロモン)を放出し, これがミジンコの形態や行動, さらには成長速度にまで影響を及ぼすことが分かっている。カイロモンと殺虫剤カルバリルを同時にミジンコ(*Daphnia pulex*)に暴露し, これらの化学物質のミジンコに及ぼす複合影響を調べた。5あるいは10 µg/lといった致死濃度に至らない程度のカルバリル濃度では, カイロモンに暴露されたミジンコの方がそうでないミジンコよりも殺虫剤の影響を強く受け成長速度

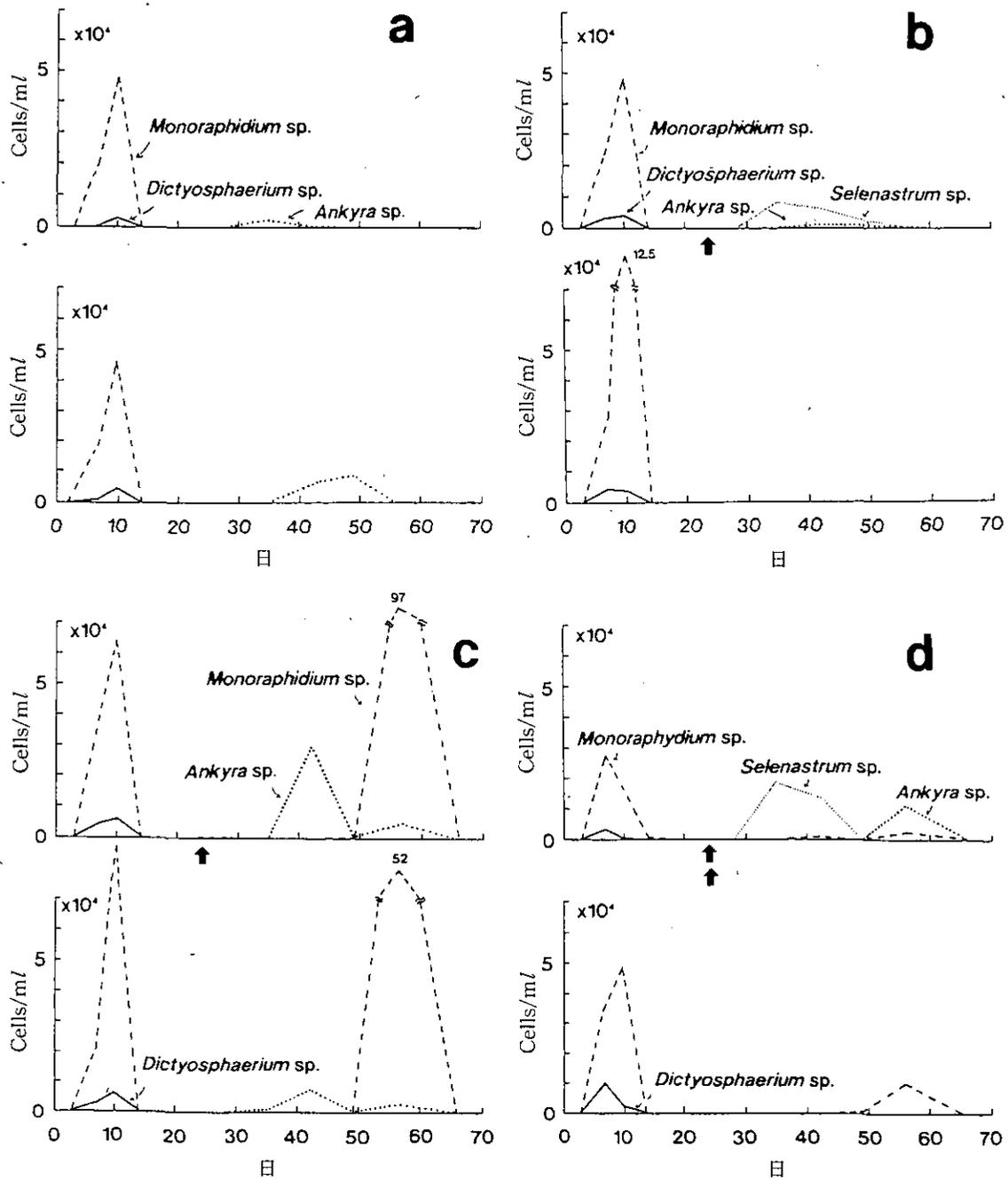


図4 除草剤及び殺虫剤処理の実験生態系におけるクロコック目緑藻類の変化
 a: 無処理 (対照), b: 除草剤シメトリン (100 $\mu\text{g/l}$) 処理, c: 殺虫剤フェンチオン (50 $\mu\text{g/l}$) 処理, d: シメトリン (100 $\mu\text{g/l}$) とフェンチオン (50 $\mu\text{g/l}$) 同時処理。
 矢印の時点で各処理を行った。

が低下した (図5)。したがってフサカ幼虫はミジンコを捕食するだけでなく、カイロモンの放出により間接的にミジンコの殺虫剤耐性を低下させるものと考えられる。

殺虫剤がミジンコ (*Daphnia ambigua*) の尖頭形成を誘引することを先に発見したが、同様の効果が季節的に形態を変化させる他のミジンコ (*Daphnia pulex*, *Daphnia retrocurva*, *Daphnia galeata mendotae*, *Daphnia*

lumholtzi) に対しても見られるかどうかを試験した。ミジンコを胚の終期に比較的高濃度の殺虫剤カルバリルに10時間暴露すると、*Daphnia pulex* は後頭部に突起を形成し、他の3種のミジンコは高い尖頭と長い殻刺を持った。これらの形態変化は、捕食者のカイロモンに対するそれぞれのミジンコの形態的反応として知られており、殺虫剤は多くのミジンコの捕食者に対する形態変化を誘

表3 無処理およびシメトリン処理水槽から分離した
緑藻 *Scenedesmus* の一種の EC₅₀ 値の比較

株名	LCL ($\mu\text{g/l}$)	EC ₅₀ ($\mu\text{g/l}$)	UCL ($\mu\text{g/l}$)
無処理水槽から分離			
B-8-7-1	10.5	16.9	27.2
B-8-12-1	11.3	16.1	22.9
B-8-13-1	8.6	16.0	29.8
B-8-16-1	9.4	14.8	23.2
B-8-23-1	9.9	22.3	50.3
B-8-24-1	11.3	16.3	23.6
シメトリン処理水槽から分離			
B-3-4-1	189	587	1822
B-3-12-5	362	846	1975
B-3-15-1	378	690	1259
B-12-2-1	178	677	2576

LCLとUCLは95%信頼限界を示す。

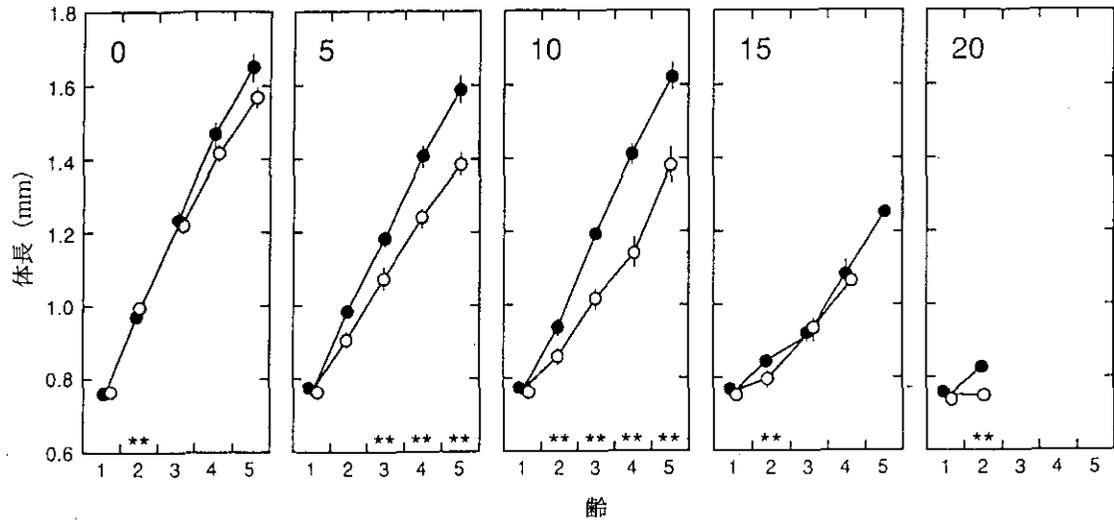


図5 異なった濃度の殺虫剤 (カルバリル; 0, 5, 10, 15, 20 $\mu\text{g/l}$) を含んだ2種類の飼育水 (フサカ幼虫の放出する化学物質を含有; ○, 及びそれを含まない対照; ●) を用いて飼育したミジンコ (*Daphnia pulex*) の成長

各パネル内の数字は殺虫剤濃度を示す。有意差レベル * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 。

引することが明らかとなった。

貧酸素条件下でミジンコ (*Daphnia pulex*) を殺虫剤カルバリルに暴露して慢性影響を調べた。ミジンコは十分に酸素がある状態よりも貧酸素条件下でより顕著に低濃度の殺虫剤 (5, 10 $\mu\text{g/l}$) の影響を受けて、成長速度や産仔速度を低下させた (図6)。野外では様々な環境要因がミジンコの殺虫剤耐性に影響を及ぼしていることが示唆された。ミジンコ (*Daphnia pulex*) が殺虫剤に暴露され

ると、体の回転を伴う異常な行動を示すことを観察した。この殺虫剤に暴露されて異常行動をとっているミジンコと正常なミジンコを、水槽中で同時に魚 (ブルーギル) に曝し、魚の選択捕食を調べた。ミジンコの異常な行動は魚の注意を引きつけ、魚の選択的な捕食を招いた。殺虫剤はミジンコの行動を変化させ、魚-ミジンコ間の喰う-喰われる関係に影響を与えるものと思われる。

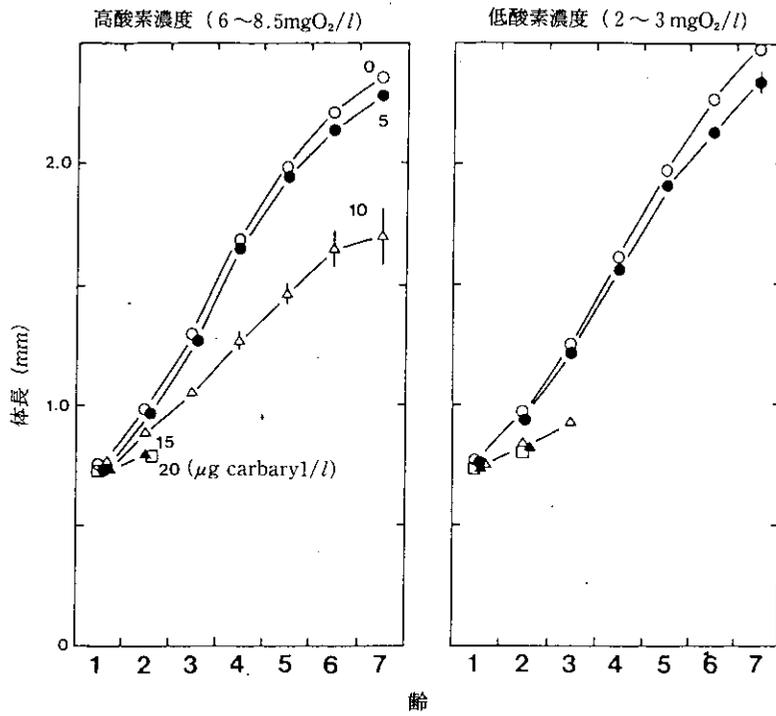


図6 高酸素濃度または低酸素濃度条件下で異なった濃度の殺虫剤カリバリルに暴露されたミジンコ (*Daphnia pulex*) の成長

2.7 閉鎖性海域における水界生態系機構の解明および保全に関する研究

平成3～6年度(1991～1994年度)

〔研究組織〕	地域環境研究グループ	
	統括研究官	内藤正明
	海域保全研究チーム	○竹下俊二・木幡邦男・中村泰男
	水改善手法研究チーム	稲森悠平
	水土壤圏環境部	
	部長	渡辺正孝
	上席研究官	相崎守弘
	水環境工学研究室	原田茂樹
	土壤環境研究室	高松武次郎
	社会環境システム部	
	環境計画研究室	大井 紘・近藤美則
	情報解析研究室	須賀伸介
	客員研究員 7名, 共同研究員 3名	

〔研究概要〕

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

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

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

動の影響と保全対策の評価を行うために、以下の研究課題を実施する。

(1) 閉鎖性海域における内部生産の評価と抑制に関する研究

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

(2) 水界生態系の機構と外的要因の変化との関連に関する研究

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

流が深くかかわっている。このため、そのモデル化のために内湾密度流実験装置や3次元流動モデルの適用性を確立する。内湾密度流実験を用いて、温度・密度成層時及び非成層時の速度分布に与える潮汐流・吹送流の影響を可視化することにより、湧昇流との関連性を検討する。

(3) 閉鎖性海域の評価手法に関する基礎的研究

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

〔研究成果〕

(1) 閉鎖性海域における内部生産の評価と抑制に関する研究

東京湾奥北東部に4定点を設け、表層から底層まで約3mごとに4~5水深で採水した試料につき、COD, Chl-*a*, 有機炭素等を測定した。試料中の有機炭素は、懸濁試料測定装置付き全有機態炭素計で、試水をそのまま(TOC), また、GF/Fフィルターでろ過後(溶解有機炭素 DTOC)測定した。有機物量の測定方法による違いを調べるために、TOCとDTOCの差から計算した粒子状炭素(POC)と、ろ紙上に集めた物を元素分析計で測定したPOCを比較した。両方法で得た値の相関は良かったが、全有機態炭素計で求めた値は元素分析計の値の80%程度であった。この原因として、全有機炭素

計での粒子状炭素の分解効率が低かったことなどが考えられる。

海域における一次生産のかなりの(~数十%)部分は、2μm以下の微小なラン藻(PC)によって維持されている。PCの現存量、一次生産速度、増殖速度を現場で測定し、海域における炭素循環と結びつけようとする試みは現在世界各地でなされているが、PCの現場での消長がどんな環境要因によって支配されているのかを検討した研究はきわめて少ない。本課題においては1992年夏、瀬戸内海家島諸島において約1ヶ月にわたる環境調査を実施し、ルーチン観測(水温、栄養塩、クロロフィル等)と併行してPCの消長を連日モニターした。さらにPCの捕食者を除去した現場海水に窒素、リン、微量元素をさまざまな組み合わせで添加しPCを培養することで、PCの現場での増殖がどの化学物質によって律速されているのかを検討した。

調査開始直後(7月19日)、風による混合によって表層にN、P-栄養塩が供給された。これに伴いPC個体数は急増し7月23日には 6×10^4 cells/mlに達した(図1)。その後は成層の発達に伴う栄養塩の枯渇と従属栄養性ペン毛虫(HNF)によるPCの捕食によってPC個体数は、 1×10^4 cells/mlにまで減少した。7月29日以降は風による混合で再び表層にN、P-栄養塩が供給された。また、この時期はHNFの現存量がきわめて低い期間にあっていた。豊富なN、P-栄養塩と少ない捕食者はPCのブルームを予想させたが、PC個体数の顕著な増加は認められなかった。このことはN、P-栄養塩以外の化学物質、あるいはHNF以外の捕食者(例えば繊毛虫)が

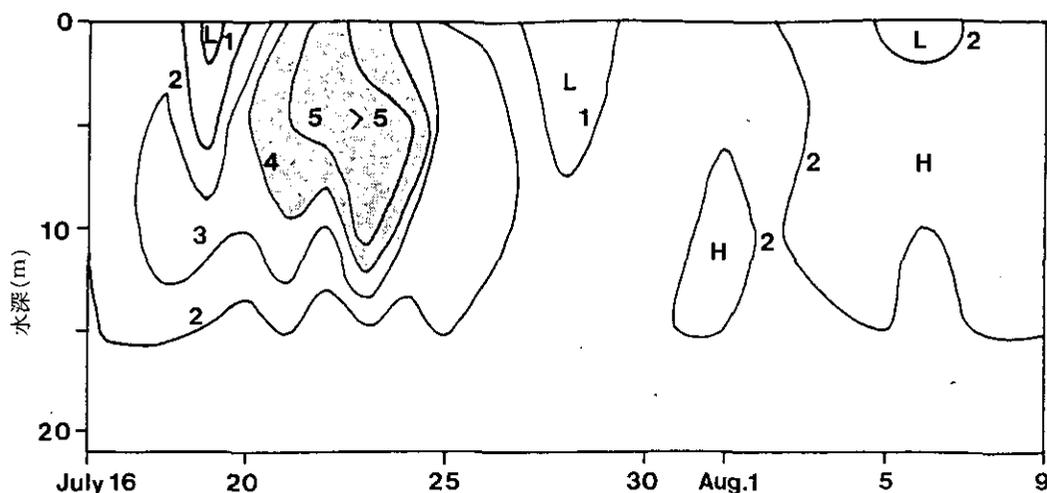


図1 調査期間中の微小なラン藻(PC)の消長($\times 10^4$ /ml)

H: High, L: low

PCの現場での増殖を抑えていたことを示すものである。一方、7月29日以降に行ったPCの現場培養実験においては、化学物質無添加のコントロールや硝酸塩とリン酸塩を同時に添加した系でのPCの増殖は貧弱であったが、海水にFe-EDTA溶液を添加することでPCの増殖は著しく促進された(図2)。以上の結果に基づき7月29日以降N、P-栄養塩の表層への供給にもかかわらずPCの個体数が増加しなかった一つの理由は、現場海水中の鉄不足によるのではないかと推察された。

太平洋の北東域や赤道周辺においては豊富なN、P-栄養塩が存在するにもかかわらず植物プランクトンは決してブルームを起こさない。その原因の一つは海水中の鉄不足に起因するという議論が近年活発になされている。外洋域に比べ鉄濃度の高い(4~10 nM)内湾域においても、一次生産者の増殖が鉄によって支配されている可能性を示す本課題の結果は興味深いものがある。

本年度の家島での環境調査では上述した項目のほかにバクテリアおよびHNFの消長も連日モニターした。また現場実験によりHNFによるバクテリア捕食速度を測定した。その結果、植物プランクトンのブルーミングに呼応してバクテリア、HNFの個体数が急増し、植物プランクトン-バクテリア-HNFをつなぐ「微生物食物連鎖」(microbial loop)が内湾域において活発に機能していることを直接的に検証することができた。

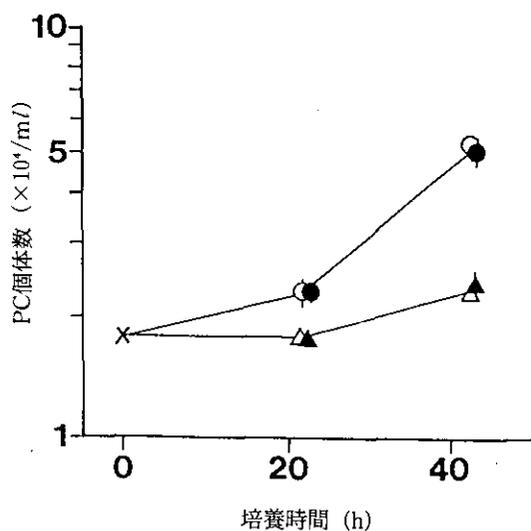


図2 2 μ mでろ過した現場海水中的のPCの増殖
 △: コントロール, ▲: 硝酸塩, リン酸塩添加,
 ○: Fe-EDTA添加,
 ●: 硝酸塩, リン酸塩, Fe-EDTA同時添加

(2) 水界生態系の機構と外的要因の変化との関連に関する研究

青潮は千葉県船橋沖を中心とした東京湾奥北部で発生することが多い。そこで、その発生機構と掘り下げ航路や浚渫窪地との関連を検討するために、前年同様、当海域に4ヶ所を調査地点として設定した。沖合の定点(図3: A5)での溶存酸素(DO)は8、9月の温度・密度成層期に底部で3 mg/l程度まで低下するものの10 m以浅や他の時期では5 mg/l以上であった。一方、浚渫窪地上の定点では10 m以深で5~10月に1.0 mg/l以下となり、著しい貧酸素状態を呈している。また、岸寄りの浅い定点で得られたDOは浚渫窪地と比べ底層で高いほかはほぼ同じ値を示した。このほか、航路入り口部の定点でのDOは沖合の定点の値に近似していた。これらのことから、夏期には図3: A1~D1の岸に近い海域の水質は青潮発生を示唆しているものと考えられる。

大規模な青潮の発生しやすい9~10月初旬に、東京湾北東部海域でDO・水温・塩分等の水平・鉛直分布とを調査し、青潮発生との関連について検討した。茜浜沖から南西に延びる線上に2.5~4 km間隔でA1~5を、これから南東方向に1.5 km離れてB1~5を、以下同様にC1~5, D1~5の20点を調査地点に選び(図3)、1992年9月16、17、29日及び10月8日に調査した。水平移流に

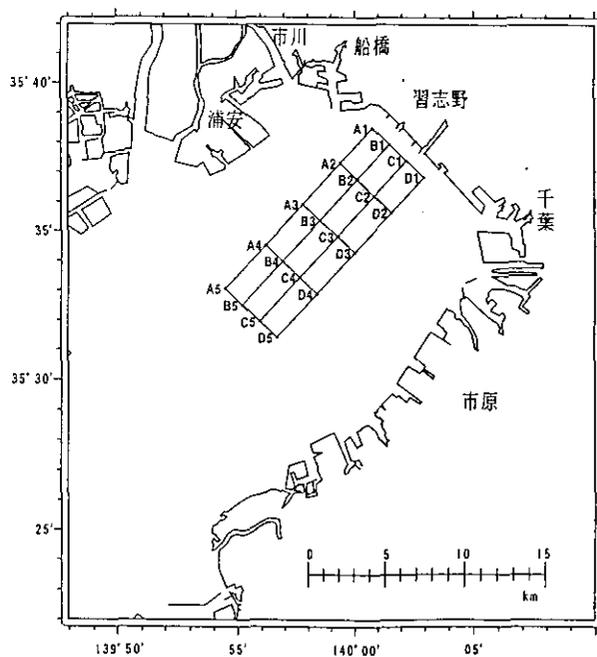


図3 調査地点

よる水質の時間変化への影響をできるだけ小さくするために、船を2隻使用し、午前中の短時間(8~12時)に、2台の多項目水質測定器で測定した。調査期間中、9月16, 17日は水温・塩分の躍層が発達しており、沖合の底層が貧酸素化していた(図4, 5)。一方、9月6~12日と10月4~8日に当海域に青潮が発生し、10月8日(青潮

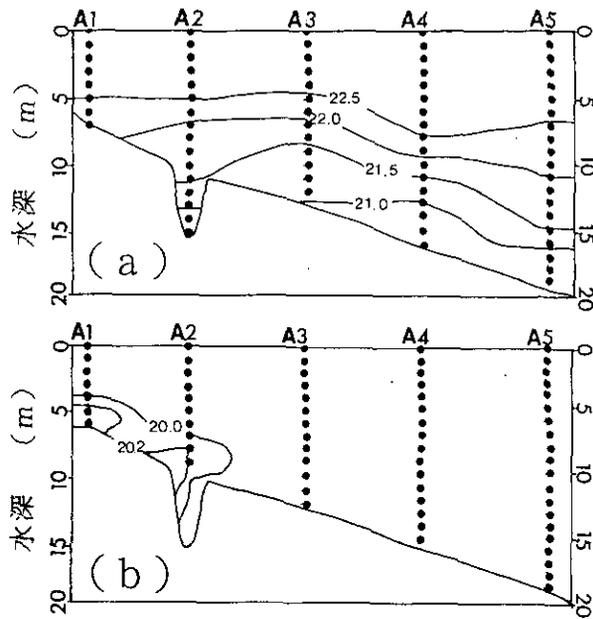


図4 水温(°C)の鉛直分布
(a)平成4年9月17日成層時
(b)平成4年10月8日青潮時

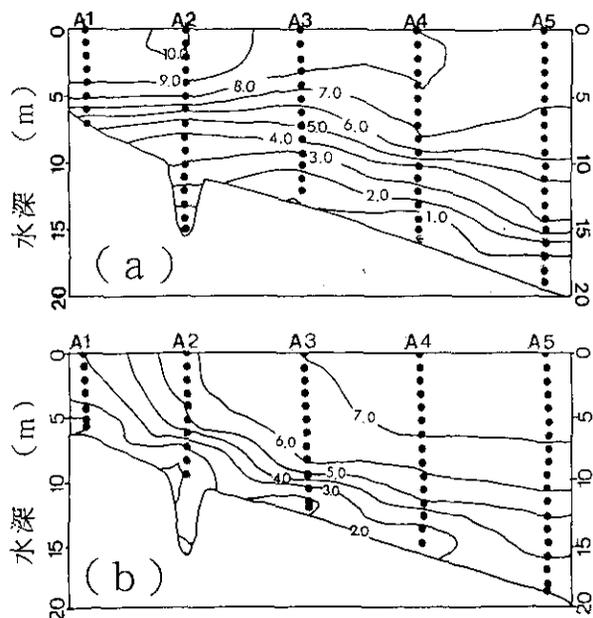


図5 溶存酸素(mg/l)の鉛直分布
(a)平成4年9月17日成層時
(b)平成4年10月8日青潮時

時)の調査では、青潮発生時の水質の水平・鉛直分布が得られた。青潮時に水温は、調査した全地点・全水深で19.3~20.5°Cの範囲でほぼ一様であり、DOの鉛直分布は、岸に近いほどDO成層の位置が浅くなっていた(図4, 5)。成層時には全データで塩分とDOの間には良い逆相関がみられた。青潮時には同様の逆相関が岸から遠い地点について得られたが、岸よりの地点ではこの関係から外れていた。これらのことから、青潮の発生機構として湧昇のほかに底層の巻き上げを伴う鉛直混合が推察された。

一般に青潮は、硫黄を含んだ底層の無(貧)酸素水塊が湧昇することによって発生するとされている。内湾において離岸風が継続的に吹くと、表層に沖向きの吹送流が生ずるとともにその補流として海岸近傍で底層水の上昇が起こる。そこで、湧昇流と鉛直混合に着目し、青潮発生時の環境因子として気象変動との関係を統計的に調べた。東京湾奥北東部で1989~1992年の定期調査および集中調査によって得られた水温、塩分、溶存酸素の鉛直分布の結果をもとに、青潮発生時の気温、風向の時系列解析を行った。その結果、この間に発生した24件の青潮は次のような3条件を満たしていた。①底層の溶存酸素が3 mg/l以下、②北寄り(西北西-北-東)の風が2日以上連吹、③風向が南寄りから北寄りに転向後、日平均気温が4°C以上降下(図6)。東京湾の無(貧)酸素水塊の存在場所・時期がある程度特定できている現在、今後は1~2日後の天気予報精度が向上すれば青潮発生予測が可能になるものと考えられる。

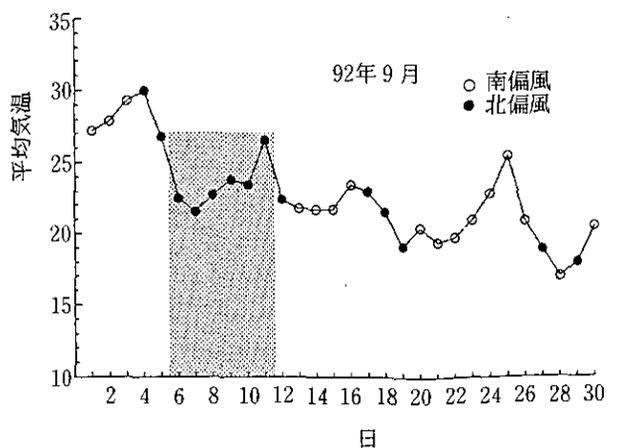


図6 千葉港付近における日平均気温および風向(千葉測候所観測)
● 青潮発生

湧昇流を室内で再現するために内湾密度流装置を用いた実験的研究を行った。海水温一定の下で塩分成層深さ、流入淡水の温度および流速について調べ、湧昇・鉛直混合の流動現象を流れの可視化法によって確かめた。また、閉鎖性海域における潮汐流、密度流、風速を考慮した3次元流動モデル、およびモデルの東京湾への適用を検討した。得られた流動シミュレーション結果の可視化を行うために、コンピュータグラフィックスによる可視化システムの検討を行った。

(3) 閉鎖性海域の評価手法に関する基礎的研究

東京湾沿岸の住民が海に対して抱いているイメージを把握・分析するために自由連想法の導入を検討するとともに、住民の意識調査を実施した。これは、「海」「東京湾」「東京湾横断道路」の刺激語から自由連想法によって得られた連想語を、調査対象地区ごとの頻度分析や連想語と回答者それぞれのクラスター分析を行うもので、調査対象地は、海岸線に近い居住地区、工業地帯並びに湾奥、湾口地域の内陸部居住地区とした。

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

平成3～7年度(1991～1995年度)

〔研究組織〕

地域環境研究グループ

上席研究官

新生物評価研究チーム

水改善手法研究チーム

水圏環境部

水環境質研究室

土壌環境研究室

生物圏環境部

環境植物研究室

環境微生物研究室

分子生物学研究室

客員研究員 40名、共同研究員 6名

三浦 卓

○近藤矩朗・佐治 光・中嶋信美・岩崎一弘

稲森悠平・松重一夫・今井章雄

矢木修身・内山裕夫・富岡典子

向井 哲・服部浩之

大政謙次・名取俊樹・清水英幸

渡辺 信・広木幹也

久保明弘・青野光子

〔研究概要〕

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

近年の環境問題はますます複雑化し、人間をはじめとする生物に多大なストレスを与えている。生物は種々の環境ストレスの影響を受け一方、環境変化を緩和する能力を有しており、環境保全のために環境指標生物、環境浄化生物として利用されている。このような環境保全分野においても、組換え DNA 技術を利用した環境指標植物や環境浄化微生物等の作成が進められてきており、これを野外で活用することが期待されている。

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

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

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

以上の目的を達成するために、以下の課題を設定して研究を進める。

(1) 環境保全のための遺伝子の探索と活用に関する研究

1) 有用遺伝子の探索と有用生物の作成

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

2) 遺伝子組換え体の検出用マーカーおよび検出法の開発

上記1)の研究を通して得られた有用生物にマーカー

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

(2) 環境中における遺伝子組換え生物およびその遺伝子の挙動に関する研究

1) 外来遺伝子の環境中での挙動に関する研究

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

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

2) 環境中での組換え微生物の挙動とそれに及ぼす環境因子の解明

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

3) 環境中での組換え植物の利用に関する研究

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

(3) 遺伝子組換え生物の生態系への影響に関する研究

1) 制御実験系を用いた組換え微生物の各生物相に及ぼす影響の解明

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

らかにする。また、微生物、原生動物、藻類を組み合わせた水圏生態系の標準マイクロコズムシステムを確立し、組換え微生物の各生物相に及ぼす影響を解明する。

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

3) 環境影響評価手法の確立

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

[研究成果]

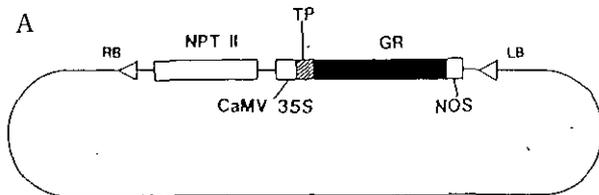
(1) 大気汚染耐性木本植物の作成

大気汚染ガスによって引き起こされる植物の傷害には活性酸素が関与していると考えられており、植物に備わっている活性酸素消去能が植物の大気汚染耐性にとって重要である可能性がある。既に、活性酸素消去系酵素の一つであるグルタチオンレダクターゼ (GR) の大腸菌由来の遺伝子をタバコに導入し、葉緑体中の GR 活性が高いトランスジェニック植物を作成した。そして、得られたトランスジェニック植物の大気汚染耐性を調べたところ、この高 GR 活性をもったタバコは、二酸化硫黄に対して高い耐性をもつことが分かった。したがってこの大腸菌 GR 遺伝子は、大気保全のための有用遺伝子として利用できるかと期待される。ところで野外において大気汚染の著しい、大都市の幹線道路付近のような場所には、樹木が植えられることが多く、大気汚染耐性の高い樹木が作成できれば、その利用価値は高い。そこで本研究において大腸菌 GR 遺伝子の樹木への導入を試みた。

アスペン、ポプラを含む *Populus* 属の樹木は成長が速く、栄養繁殖が容易であり、樹木生理の基礎研究に用いられている。同時に、ポプラはアグロバクテリウムによる遺伝子導入及びカルスからの再分化が可能であり、樹木における遺伝子組換え研究のモデル植物としての特徴を有している。GR 遺伝子の樹木への導入を行うに当たって、まず日本製紙が育成した実用品種である交雑ヤ

マナラシ「キタカミハクヨウ」を用いることにした。この品種は日本産のヤマナラシ (*P. sieboldii*) にカナダ産のオオバヤマナラシ (*P. grandidentata*) の花粉を交配して作出された雑種 F1 苗より選抜された数系統のエリートクローンであり、成長が極めて速く樹形が美しいという特徴を有している。遺伝子導入にはアグロバクテリウム法を用いた。「キタカミハクヨウ」Y 63 株のフラスコ苗より節を含まない茎の部分を取り取り、これを縦に二つ割りにして材料とした。タバコへの遺伝子導入に用いたものと同様のプラスミド (図 1 A) をもったアグロバクテリウムの培養液に材料を浸して菌を感染させ、カルベニシリンとカナマイシンを含むカルス形成培地上で培養した。生じたカナマイシン耐性カルスを同じ抗生物質を含む莖葉分化培地に移植し、トランスジェニックヤマナラ

シを得た (図 1 B)。現在までに約 40 個体が発根に至っている。このうち 4 個体について葉から DNA を抽出し、PCR 法によって GR 遺伝子の導入の確認を行った。その結果、すべてのクローンで遺伝子の増幅が認められ、これらの個体がトランスジェニックヤマナラシであることが確認できた (図 2)。さらに 7 個体の葉の抽出液についてイムノブロッティングを行い、このうち 6 個体が大腸菌 GR 遺伝子の発現が確認された。



A



図 1 グルタチオンレダクターゼ遺伝子を導入したトランスジェニックヤマナラシの作出

A: 遺伝子導入に用いたプラスミドの構造

RB・LB: T-DNAの左右境界領域, NPTII: カナマイシン耐性遺伝子, CaMV35S, カリフラワーモザイクウイルスの35Sプロモーター, TP: マンテマ・葉緑体型フェレドキシンの通過ペプチド部分の遺伝子, GR: 大腸菌グルタチオンレダクターゼ遺伝子, NOS: ノパリンシンターゼのターミネーター

B: トランスジェニックヤマナラシ再生個体

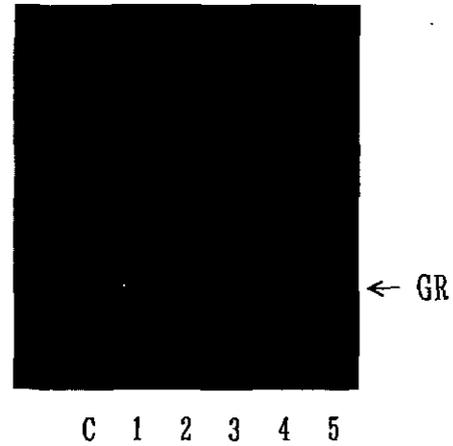


図 2 PCR分析によるGR遺伝子の確認

C: コントロールヤマナラシ
1~4: トランスジェニックヤマナラシ
5: トランスジェニックタバコ

今後は各クローンのフラスコ内増殖を行い、葉抽出液の GR 活性を測定後、活性の高いものを馴化し、パラコート耐性や大気汚染ガス耐性の解析を行う予定である。トランスジェニックヤマナラシにおいてもタバコと同様な結果が得られるかどうか興味深い。

(2) 組換え微生物検出用マーカー遺伝子の単離と組換え微生物の作成

1) 組換え微生物の作成

水銀化合物分解酵素遺伝子 (水銀マーカー) を組み込んだ組換えプラスミド pSR 134 の電気パルス法による *Pseudomonas putida* PpY 101 への導入最適条件を検討した。パルス電圧, パルス時間, DNA 濃度, 菌体濃度について検討した結果, 最適な条件はそれぞれ 12.5 KV/cm, 4.5~11.9 msec, 1 μ gDNA/ml, 10⁹ 細胞/ml であることが認められた。最適条件で *P. putida* PpY 101 の形質転換を行った結果, 非常に高い効率 (1.11 \times 10⁵ 形質

転換菌数/ μgDNA) で組換えプラスミドの導入が可能であった。

2) 組換え微生物の諸特性

水銀マーカーを *P. putida* PpY101, PRS2000, *P. fluorescens* LB303, *P. aeruginosa* PAO1, *Escherichia coli* HB101, *Klebsiella oxytoca* R16 に導入して得られた各種組換え体とその宿主の比増殖速度, 塩化水銀耐性能及び塩化水銀分解能の比較検討を行った。増殖速度はいずれの菌株においても組換え体の方が若干遅いことが

表1 各種組換え微生物と宿主における塩化水銀及びテトラサイクリン耐性能の比較

菌 株	EC ₅₀ * (ppm)	
	塩化水銀	テトラサイクリン
<i>P. putida</i> PpY101	5	7
PpY101/pSR134	72	47
<i>P. putida</i> PRS2000	5	7
PRS2000/pSR134	54	82
<i>P. fluorescens</i> LB303	70	16
LB303/pSR134	73	25
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	5	22
PAO1/pSR134	113	32
<i>E. coli</i> HB101	14	7
HB101/pSR134	70	56
<i>K. oxytoca</i> R16	16	48
R16/pSR134	122	68

*EC₅₀: 生育を50%阻害する薬剤濃度

認められた。組換えプラスミド pSR134 にコードされている塩化水銀およびテトラサイクリン耐性能を調べた結果, いずれの組換え体もこれらの耐性能が高まったことが示された (表1)。さらに各種組換え体の塩化水銀分解能を X 線フィルム法によって確認した。

(3) 環境中における遺伝子組換え生物およびその遺伝子の挙動に関する研究

1) 組換え遺伝子の伝達性

多くの微生物においてその遺伝情報が接合によって他の微生物へ伝達することが知られている。伝達に関与する遺伝子群 (tra 遺伝子) は, 微生物のプラスミド (伝達性プラスミド) にコードされていることが多い。また伝達性プラスミドを保持する微生物 (ヘルパー) を共存させると, 本来単独では伝達が認められない非伝達性プラスミドが可動化して他の菌へ伝達していくことも知られている。環境中に導入した組換え体の遺伝情報が他の菌へ接合伝達する可能性があるため, 水銀マーカーのメンブランフィルター上での伝達性試験を行った。組換えプラスミドは保持する菌株, 受容菌およびヘルパーの培養液をメンブランフィルターでろ過し, 平板上で伝達を行わせた。水銀マーカー単独での伝達は認められなかったが, 伝達性プラスミドの共存下では $5.2 \sim 7.1 \times 10^{-4}$ (伝達菌/受容菌) の頻度で伝達することが認められた (表2)。また染色体に tra 遺伝子がコードされている場合 (*E.*

表2 組換えプラスミドのフィルター上での伝達性試験

供与菌/プラスミド	受容菌	ヘルパー	伝達菌
			伝達頻度 (伝達菌数/受容菌数)
<i>E. coli</i> HB101/pSR134	<i>P. putida</i> PpY101		<i>P. putida</i> PpY101/pSR134 0*
<i>E. coli</i> HB101/pSR134	<i>P. putida</i> PpY101	<i>E. coli</i> HB101/pKT2013	<i>P. putida</i> PpY101/pSR134 7.1×10^{-4}
<i>P. putida</i> PpY101/pSR134	<i>E. coli</i> HB101	<i>E. coli</i> HB101/pKT2013	<i>E. coli</i> HB101/pSR134 5.2×10^{-4}
<i>E. coli</i> S17-1/pSUP104	<i>P. putida</i> PpY101		<i>P. putida</i> PpY101/pSUP104 5.5×10^{-4}

*検出限界以下

coli S17-1/pSUP 104)でも伝達することが示され、用いる宿主によっては環境中へ組換え遺伝子が拡散する可能性が示唆された。

2) 水系マイクロコズムにおける組換え微生物の挙動
水銀化合物分解組換え微生物を用いて、組換え微生物の挙動に及ぼす光の影響を調べた。500 ml 容三角フラスコに手賀沼水 200 ml を分注し、これを水系マイクロコズムとした。これに組換え体 (*P. putida* PpY 101/pSR 134) 及び非組換え体 (*P. putida* PpY 101) をそれぞれ接種した。5,000 lx の光照射と暗所の系における生残性を比較した (図3)。光照射により組換え体、非組換え体ともに生残性は悪くなった。光により藻類の活性が高まるとともに微生物、原生動物等の生物活性が強くなり、外来の生物である組換え体との競争、捕食作用が強まりその結果、組換え体の死滅が速くなったと考えられる。また、組換え体と非組換え体の生残性に大きな違いは認められなかったが、若干組換え体の方が速く死滅した。

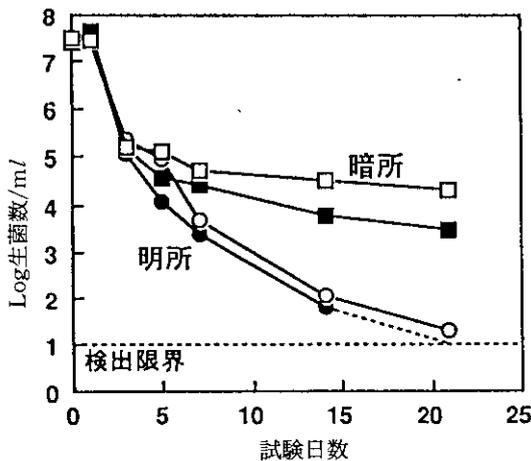


図3 組換え微生物の生残性に及ぼす光の影響
■, ●: 組換え体, □, ○: 非組換え体

3) 土壌系マイクロコズムにおける組換え微生物の挙動

水銀マーカを導入した窒素固定菌 *K. oxytoca* R 16 について、その生残性に影響を及ぼす要因を土壌系マイクロコズムを用いて調べた。6種類の土壌で生残性を比較し、土壌の性質と生残数との関係を調べたところ、生残数は土壌の粘土含量、シルト含量、および易分解性有

機物量と高い正の相関が見られ、これらが生残性を高めている可能性が示唆された。

実際に、粘土および易分解性有機物が *K. oxytoca* の生残性を高めているのかどうかを明らかにするため、これらの含量の少ない2種類の土壌に、粘土(ベントナイト) 10%添加、稲ワラ 0.2%添加して生残性への影響を調べた。その結果、2種類の土壌とも対照土壌では5週目に菌数は検出限界 (102/g) 以下まで減少したのに対して、粘土、稲ワラを添加した土壌では8週目でも生残が認められ、これらが *K. oxytoca* の生残性を高めることが確認された (図4)。

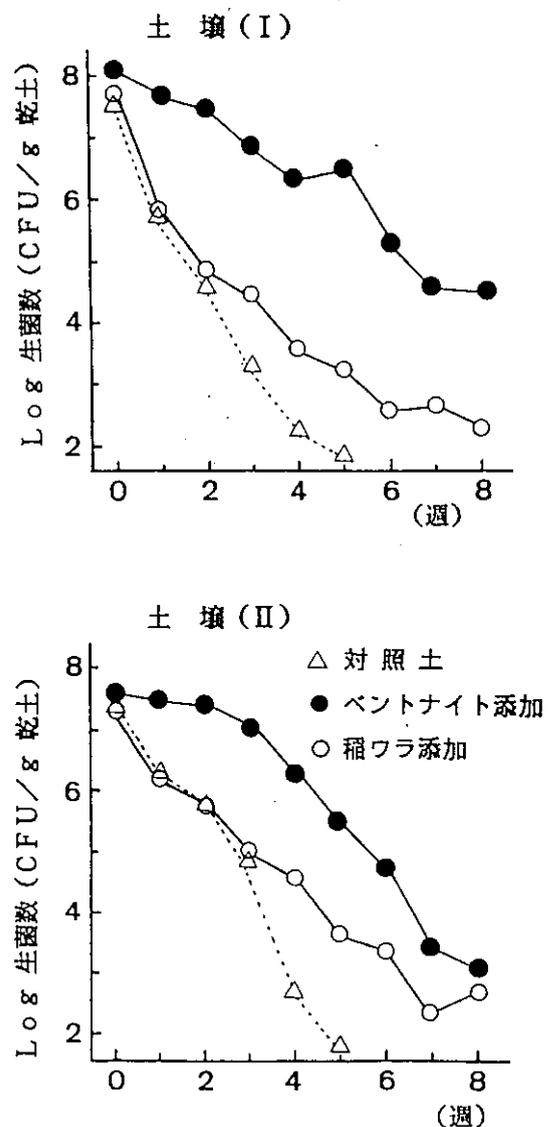


図4 *Klebsiella oxytoca* の生残性に及ぼす粘土、稲ワラの影響

(4) 組換え微生物の生態系への影響

1) ライシメータ試験法の開発

粉碎して4.75 mmのメッシュのフルイに通した淡色黒ボク土壌を充填したステンレス製ライシメータ(75(縦)×75(横)×60(深さ) cm)における組換え体接種の影響評価を行うためにまずライシメータの垂直方向における土壌微生物の分布を調べた(図5)。表層から10 cmごとの土壌を50 cmまでサンプリングし、それぞれの土壌試料に含まれる微生物数を計数した。その結果、本ライシメータにおいては表層から10 cmまでの土壌中に全体の90%以上の微生物が生息していることが明らかとなった。また、組換え体の接種は土壌表面に散布により行われるため影響評価は、表層から10 cmの土壌について行うこととした。

2) ライシメータ土壌生態系に及ぼす影響

水銀化合物分解組換え体(*P. putida* PpY 101/pSR 134)、非組換え体(*P. putida* PpY 101)およびBHC分解菌(*P. paucimobilis* SS 86)をそれぞれ培養し、噴

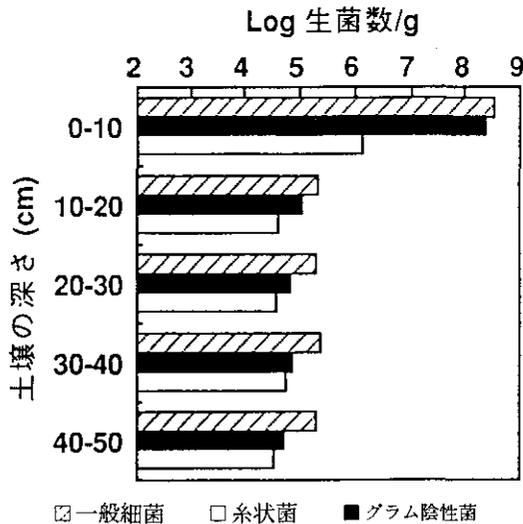


図5 ライシメータの土壌の垂直方向での微生物分布

霧器を用いてライシメータ土壌表面全体に均一となるように散布した。散布量は表層10 cm中に約107匹/g・乾土とした。

表層から10 cmまでの土壌をサンプリングし、供試微生物接種後のライシメータ土壌中の一般細菌、グラム陰性菌、糸状菌及びβ-グルコシダーゼ等の土壌酵素活性への影響を調べたところ、組換え体、非組換え体、BHC分解菌いずれも土壌微生物および酵素活性への影響は認められなかった(図6)。

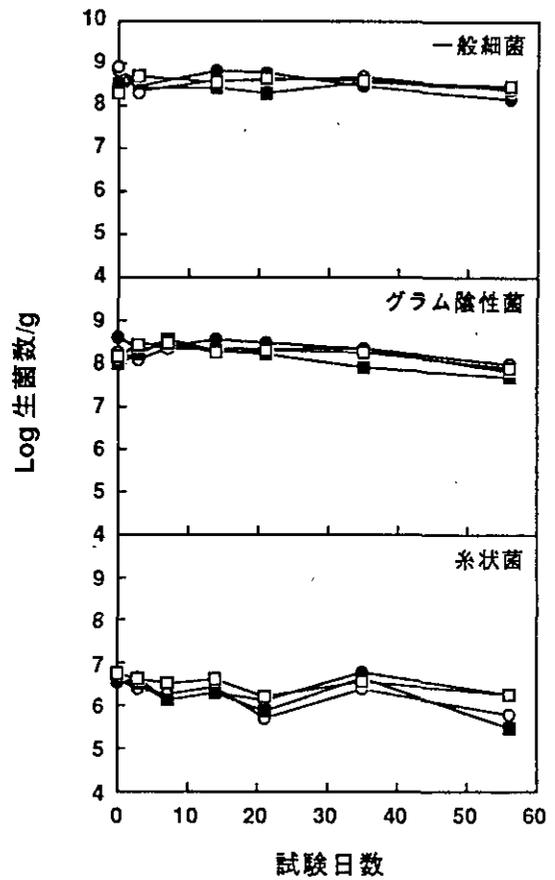


図6 ライシメータ土壌の各種微生物に及ぼす組換え体の影響

●: 組換え体接種, ○: 非組換え体接種
■: BHC分解菌接種, □: 無接種

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

平成3～7年度(1991～1995年度)

〔研究組織〕	生物圏環境部	
	生態機構研究室	○岩熊敏夫・野原精一・上野隆平
	環境微生物研究室	渡辺 信・野崎久義・広木幹也
	分子生物学研究室	田中 浄
	水圏環境部	
	水環境工学研究室	井上隆信
	社会環境システム部	
	情報解析研究室	山形与志樹
	地域環境研究グループ	
	新生生物評価サブグループ	中嶋信美
	有害廃棄物対策サブグループ	平田健正
客員研究員	8名	

〔研究概要〕

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

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

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

本特別研究では、湿原の生態系の現場調査手法の開発

と空中写真等の活用により、過去から現在までの湿原の変遷の実態解明を行いつつ、生態学的・生態遺伝学的手法を用いて湿原生態系の特性と生物群集の変動特性を把握することにより、湿原生態系の安定化維持機構を明らかにすることを目的として、以下の研究課題を設定して研究を実施する。課題(3)はまとめを兼ねている。

(1) 湿原の変遷とそのモニタリングに関する研究

湿原土壌・生物の採取方法、測定項目等、湿原生態系の調査方法を検討した。また航空機等による観測法の検討を行っている。平成4年度以降は地上における植生調査や、湿原全域の空中写真等により湿原植生を把握し一方で空中写真・衛星データ等による植物群落の区分を行い地上における調査と対応させる。さらに湿原の立地・成因別に現況を整理し、湿原とその環境の比較的短期間における(数十年)変遷を把握する。また、土壌の柱状試料を採取し生物遺骸等から長年月の湿原の変遷を把握する。

(2) 湿原生態系の特性に関する研究

湿原における気象・地下水位等の物理環境要因の連続測定を行った。宮床湿原では細菌、藻類、無セキツイ動物等の個体数・現存量と食物連鎖関係を調査した。今後、

植生も含めた調査を継続し湿原の生物群集構造を明らかにする。さらに生物生産量と分解量を定量し、水収支・水質収支を求め、湿原内の物質循環機構、生態系の機能を明らかにしていく。また、湿原に生息する生物種の分類学的多様性と種の集団内の個体間の遺伝的差異や遺伝的多様性を明らかにしていく。

(3) 湿原生物群集の変動要因に関する研究

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

〔研究成果〕

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

(1) 湿原の変遷とそのモニタリングに関する研究

宮床湿原で、湿原周囲も含めた地形測量を行い地形図を作成した。約2.5mの高低差があり北部が最も高かった。小清水由来の水路は等高線に平行に流れており、人工的に掘削されたものと判断された。高低差測量と同時に各測量地点で1m×1mの方形区内の植物種を調べ、5月における湿原内の植物分布を明らかにした。ハイイヌツゲ、タテヤマリンドウ、ワタスゲ等は全域に分布し

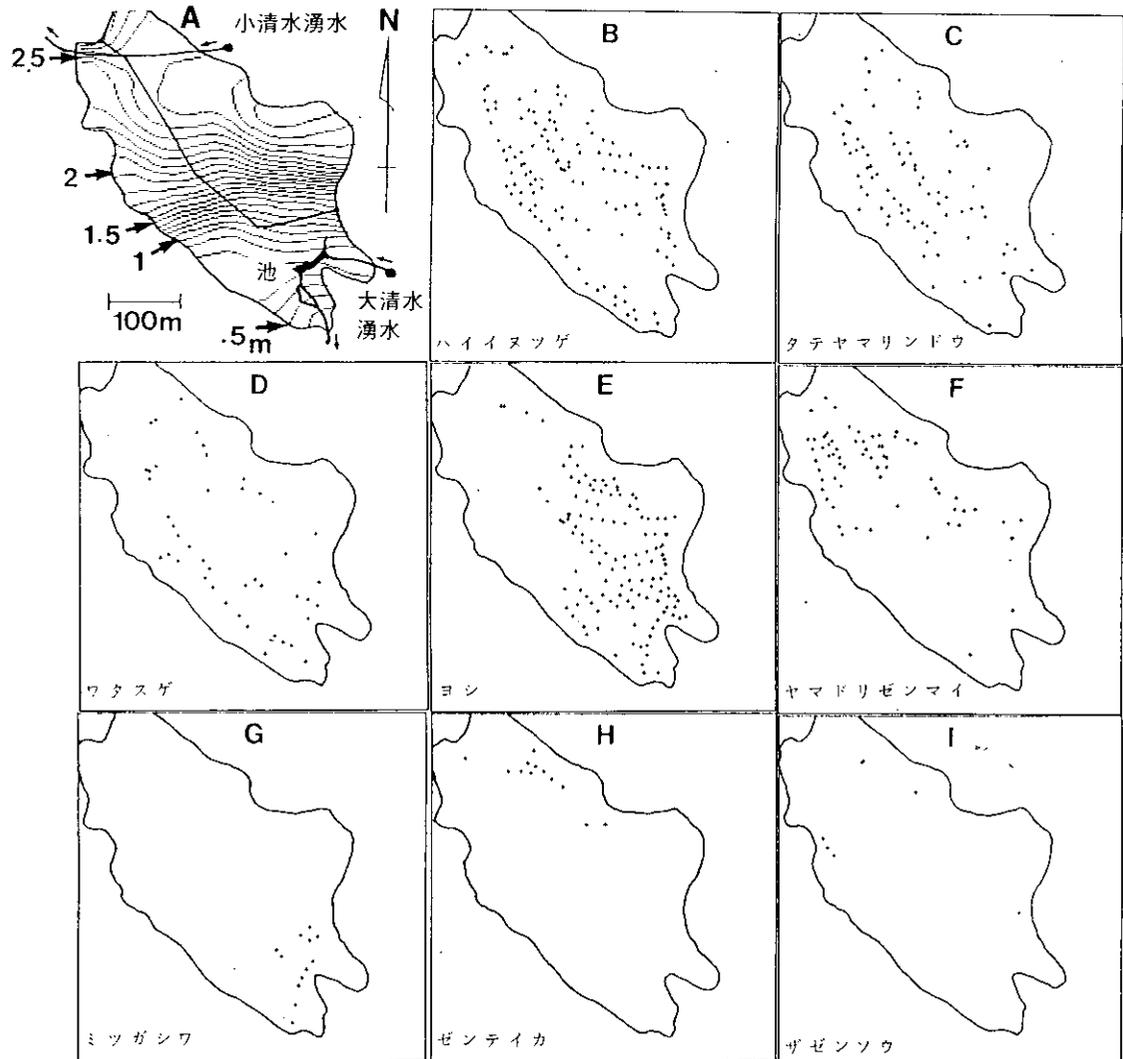


図1 宮床湿原の地形と植物分布

地形図(左上a)の等高線間隔は0.1m。測量した356地点のうち、木道を除く312地点について1m×1mの方形区に確認された植物の分布を示す。

ていた。ニッコウキスゲ、ヤマドリゼンマイは標高のより高い地域に、ヨシは傾斜地から標高の低い地域にかけて分布していた(図1)。これとは別に湿原内に28個の1m×1m 方形区を設置した。方形区の50%以上に出現していた草本類は、ヌマガヤ、ワタスゲ、コバギボウシ、ミカズキグサ、モウセンゴケであった。これらは凹凸の微地形に関係なく分布していた。一方、ミズゴケ類は微地形により分布が異なり、ムラサキミズゴケ、イボミズゴケ、チャミズゴケは凸地形部に、ハリミズゴケは凹地形部に分布していた。

宮床湿原周辺の植生調査を行った。コナラ、ミズナラが55%、ホオノキ、ハンノキが21%を占める二次林植生であることが分かり、湿原周辺の林地は古くから人間により管理されていたと考えられた。

生物季節の定量的把握手法のために開発された連続撮影の簡易システムを用いて、植物の季節変化、水位、積雪等の記録を行った。池塘の水位は4~8月に約15cmの変動幅があった。ミツガシワの花期は5月下旬から20日間と短く、結実期は6~7月の50日間で、種子が成熟して散布されるまで約45日を要した。ヒツジグサの花期は2カ月を越え、1991年は6月中旬~7月始めであったが、1992年は6月末~8月で、花期が年によって異なることが明らかになった。またヒツジグサの開花の日周リズムも明らかにされた。このシステムは季節的な被度変化や日周リズムと環境要因の関係等の解析に有効と考えられる(図2)。

釧路湿原域の合成開口レーダー画像(JERS-1 SAR画像、1992年9月12日撮影)のテクスチャー解析を行った。共起行列法により各種テクスチャー特徴量を計算した結果、総分散、総平均、エントロピー特徴量によ

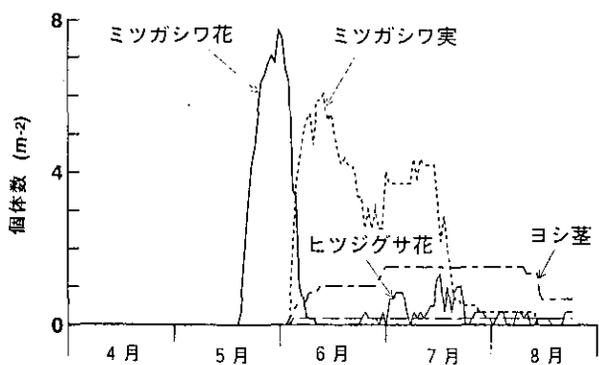


図2 宮床湿原の池塘での植物密度の季節変化(1992年) 毎日連続して撮影された写真をもとに、6m²の面積内の開花・結実等の個体数を数えたもの。

りミズゴケと冠水域を判別することができ、湿原の植生区分に有効であることが分かった。

(2) 湿原生態系の特性に関する研究

地下水・表流水の水質項目のうち、pH、電気伝導度、SiO₂濃度、Na濃度には季節変動が見られた。pHは表流水、地下水ともに4月と10~11月に低下した。表流水は5.2~6.8の間、地下水は3.9~7.0の間を変動し、地下水の方が変動幅が大きかった。地下水のpHは深度150cmと250cmはほぼ同じ値、深度50cmはこれよりかなり低かった(図3)。表流水の電気伝導度は、大清水湧水や小清水湧水ともに1991年10月に10μS/cm以下にまで低下した。これらの値は降水の値かそれ以下であった。地下水の電気伝導度については、湿原中央から東南部の井戸で季節変動が認められた。これらの井戸では表流水と同様に、1991年10月に10μS/cmにまで低下した。冬季に高く夏季から秋季に低い傾向は見られたが、1991年10月のデータを除けば、雪解け時に低下し夏季に上昇す

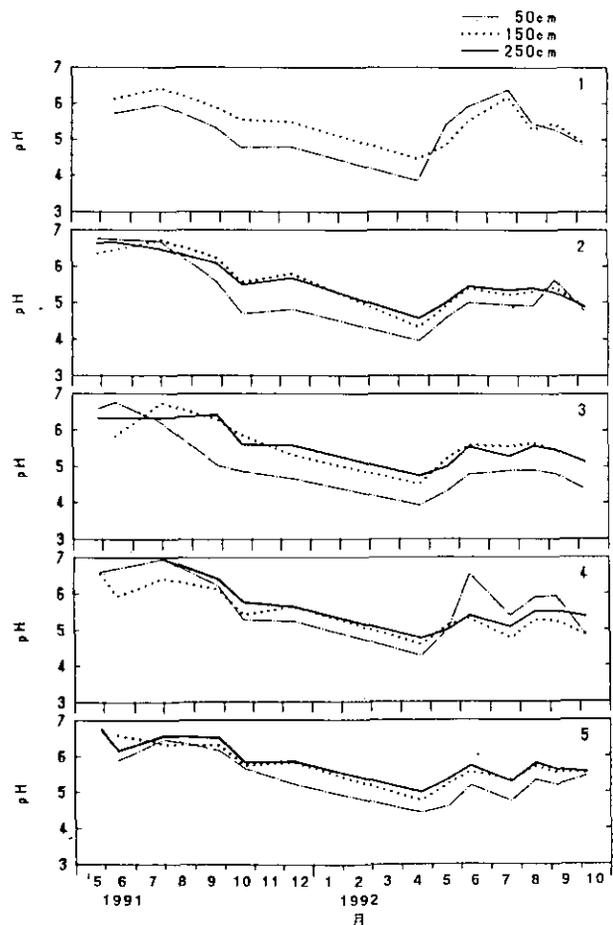


図3 宮床湿原の5地点の観測井戸(各地点に50cm, 150cm, 250cm深さ)の地下水のpHの季節変動

るようにも読み取れる。pHと同様に深度150 cmと250 cmはほぼ同じ値で、深度50 cmはこれらより低かった。ただし、電気伝導度の低くなる時期には深さ方向にも差がなくなり、鉛直方向によく混ざっているようにも考えられた。SiO₂濃度については、大清水湧水は年間を通して21 mg/l、小清水湧水は17 mg/l程度で、大きな変化はなかった。これに対し、湿原内を流れた後の出口では、9~11月に濃度が高くなり、この時の値はそれぞれの湧水地点での濃度とほぼ等しくなった。また雪解け時の3月や7~8月に濃度の低下が認められた。地下水のSiO₂濃度については、5地点ともに年間を通して大きな変動は認められなかった。地下水のNa濃度は、夏季から秋季にかけて濃度が高くなり、冬季から雪解け時に低くなった。

宮床湿原の地下水の起源と流動については次のように考えられた。地下水の電気伝導度は1991年10月に低下し、降水の値に近くなった。しかも、この時には地下水の深さ方向に電気伝導度の差がなくなった。ところが、SiO₂濃度にはさしたる変動はなく、降水濃度に比べてはるかに大きな値を示した。傾斜面に設置した3カ所の井戸の50 cm深度の地下水については、湧水の流入の可能性も考えられた。湿原を流れる溪流や水量の多い時期に表層を流れる成分に影響されているのかも知れない。しかし、井戸の深層(250 cm)ではSiO₂濃度は30 mg/lを超え、この部分では流れにくく、滞留時間も長いものと予想される。宮床湿原では表層の地下水のみ流動している可能性がある。しかし表層流だけの影響からは、電気伝導度やpHの季節変動を説明することは難しい。また、降水の浸透とすれば、おそらくpHも電気伝導度も同じような季節変動を描くであろう。今後別のトレーサー項目を用いて検討する必要がある。

宮床湿原に生育しているミズゴケ類は主要なものとしてイボミズゴケ、チャミズゴケ、ムラサキミズゴケ、ハリミズゴケがあり、オオミズゴケ、サンカクミズゴケ、ホソバミズゴケも少なからず生育している。これらミズゴケの胞子の形成状況について観察を行った。サンカクミズゴケは6月には多くの個体に胞子が観察され、チャミズゴケ、ハリミズゴケ、ホソバミズゴケでは7月にいくつかの個体に胞子形成が観察された。イボミズゴケでは10月に湿原の縁に生育しているいくつかの個体のみ胞子形成が観察されただけであり、オオミズゴケ、ムラサキミズゴケでは胞子を形成している個体はどの時期

でも観察されなかった。

ミズゴケ湿原に特有の微地形構造の成立過程を明らかにするため、宮床湿原の凹地・凸地で地温、土壤の乾燥状態(毛管ポテンシャル)、日射量、地下水位を連続測定した。凸地にはイボミズゴケ、ムラサキミズゴケ、チャミズゴケ等が優占しており貫入式土壤硬度計で測定した貫入抵抗値は大きかった。ピエゾメータで測定した深さ1.5 mの地下水位は季節変化が少なく安定していたのに対し、テンシオメータで測定した土壤表層の毛管ポテンシャル(土壤水分、負圧を正とする)は夏季に増加し徐々に乾燥し、8月に凸地表層10 cmで最も高い値(最も乾燥した状態)の-4.5 kPaを示した(図4)。降雨によって毛管ポテンシャルは減少し土壤水分は急激に回復した。凸地では1回の降雨量と毛管ポテンシャルの減少量は比例し、傾きは表層の方が大きかった。無降雨期には毛管ポテンシャルは日変化しながら徐々に増加し、毛管ポテンシャル日増加量は凸地で最大-0.7 kPa/dayになった。日増加量は時期によってあまり変化しなかった。

凹地にはハリミズゴケが優占しており、春には表層に

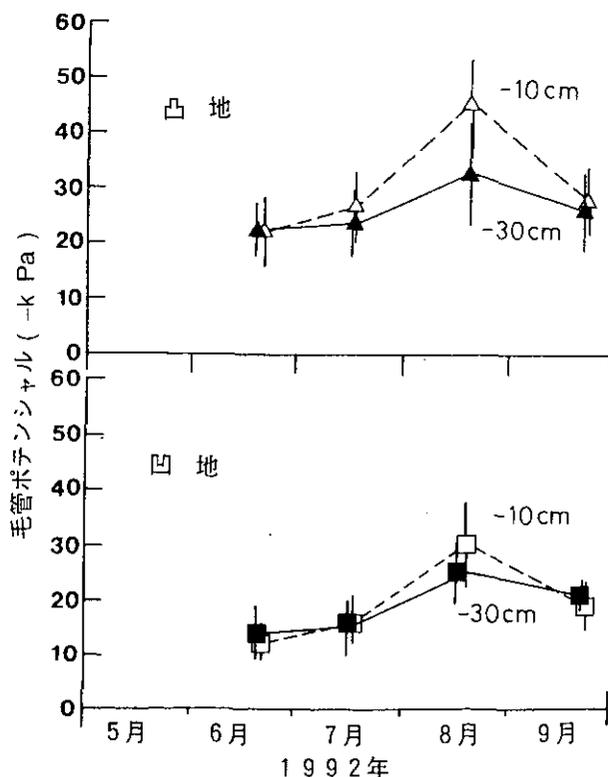


図4 毛管ポテンシャル(土壤水分)の季節変化
凸地と凹地でのミズゴケ表面から10, 30cmの深さで測定。縦棒は標準偏差を示す。10g/cm²/1kPa。

水が存在したが、8月には干上がりハリミズゴケは一部白く枯死した。凹地では毛管ポテンシャルの日変化は大きく日中にピークがくるのに対して凸地は日変化が小さく夜中にピークが見られた。降雨による変化は認められなかった。凹地は湿潤・乾燥の変化が大きく、雨が少ないと水が抜けやすい場所であること、湿原では微地形によって土壤水分の挙動が大きく異なることが明らかになった。土壤硬度（貫入抵抗値）も凸地が凹地に比べて1mの深さまで高かった。このことより、凹地のミズゴケが成長して新たな凸地を形成し凸地が交互に形成されるという一般に言われている湿原の微地形形成が、宮床湿原では起こり得ないことを示唆していた。また凹地と凸地ではミズゴケの種に違いがみられており、種の違いが微地形形成に関係しているかを今後調べる必要がある。

植生と環境要因との関係を明らかにするために、1m×1mの永久方形区を37カ所に設置し植生の記録及び地下水位・土壤水の水質を測定した。土壤水のpHは7月に表層（10cm深度）で4前後と低く、30cm深度では6前後と差が大きかった。50cm深い層でのpHの変化は夏季に上昇するが表層では逆に低下する季節変化が見られた。凸地でのpHは凹地でのpHより低い傾向にあった。

宮床湿原の中心部において深さ2.5mのボーリングを行い泥炭試料を採取した。この試料から植物種の変遷

が把握できる。

泥炭層におけるセルロース分解活性を調べるための手法として、異なる厚さのろ紙の現場における分解度を比較した結果両者に差は見られなかった。さらに泥炭の分解度を定量化する手法の検討を行った。

地下水位観測井の近傍14カ所において、微地形、植生および泥炭の分解度と泥炭中の微生物数および泥炭中に埋め込まれたセルロース（ろ紙）の分解量との関係を調べた。その結果、微生物相、分解活性は微地形、植生等の微環境によって、次のように大きく異なることが明らかとなった（図5、6）。

①分解度の低いミズゴケのマット（図5、6のグループI；イボミズゴケ、ムラサキミズゴケ）では *Penicillium* spp.が優占する単純な糸状菌相であり、セルロース分解微生物としては真菌類が優占した。また埋め込まれたセルロースの6カ月間（4～10月）の分解率は中程度（19～62%、平均37.5%）であった（図6）。②凹地の中程度に分解したミズゴケ層（図5、6のグループII；ハリミズゴケ）では糸状菌相は複雑となり、セルロース分解率は高かった（25～83%、平均57.8%）。③泥炭の分解が進んだ水路脇、水たまり等（図5、6のグループIII）では、糸状菌相は複雑で *Trichoderma* sp.等が出現し、*Penicillium* spp.はほとんど見られなかった。セルロース分解微生物としては細菌が優占し、埋め込まれたセルロースの

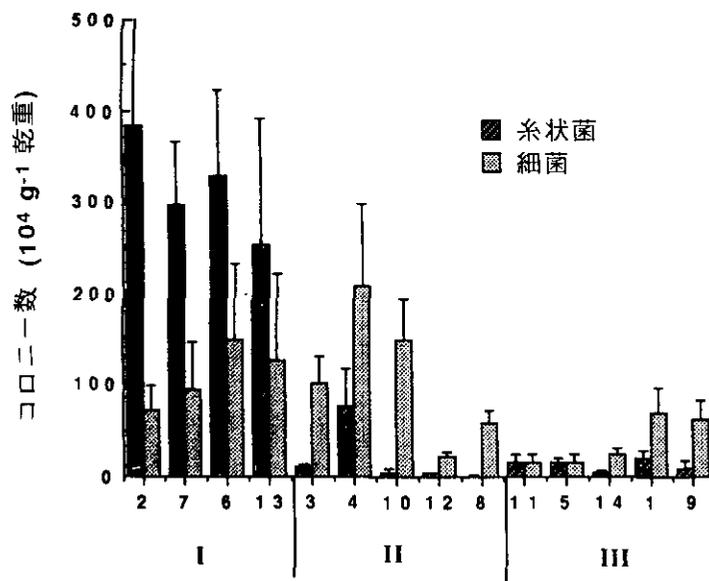


図5 泥炭中のセルロース分解菌数

菌数は培地プレート上のコロニー数を乾重当たりで示す。分解度の低いミズゴケマット（I）では、中程度に分解したミズゴケ層（II）や泥炭の分解が進んだ水路、水たまり等（III）よりも、セルロース分解微生物として真菌類が優占している。横軸の数字は地点を、縦棒は標準偏差を示す。

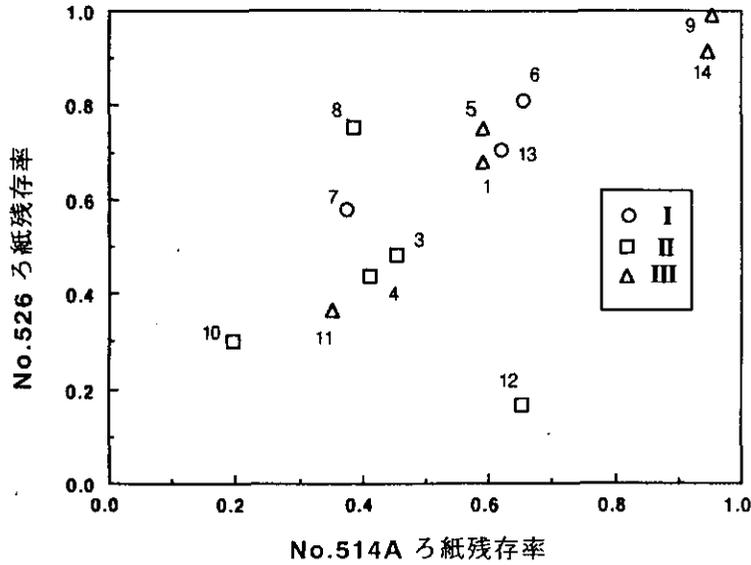


図6 泥炭中に埋設した厚さの異なる2種類のろ紙の6カ月間の残存率
 No.514Aろ紙は厚さ0.34mm, No.526ろ紙は厚さ0.70mm。泥炭の分解度を示す記号I, II, IIIについては図5の説明を参照。泥炭の分解の進んだ水たまり(III, 図中△印)では一般にセルロースの分解率は低い
 が、水路脇のやや好気的な地点(地点11)では分解率は高い。

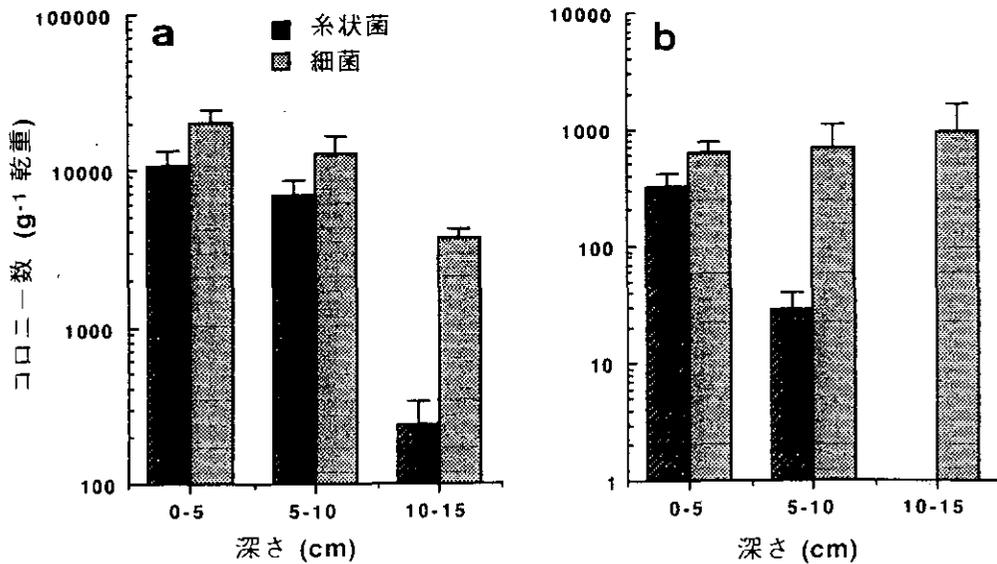


図7 宮床湿原泥炭中の微生物数の鉛直分布
 菌数は培地プレート上のコロニー数を乾重当たりで示す。
 a: 生菌数, b: セルロース分解菌数

分解率は低かった(1~65%, 平均28.7%)。未分解のミズゴケ泥炭ではセルロース分解菌より糸状菌類が多く、分解の進んだ泥炭では逆にセルロース分解菌が多くなった。

湿原中央部で層位別に微生物数を調べた結果、上層(0~5 cm)では糸状菌が、下層(10~15 cm)では細菌が相対的に優占していた(図7)。

宮床湿原の池における藻類はケイ藻を除いても30種類であった。そのうち17種類は鼓藻類に属する種類で、湿原独特の藻類相となっていた(表1)。鼓藻類のうち、ミカツキモ(*Closterium*属)が種数、個体数とも多く、特に*Closterium parvulum* var. *maius*は8月には7500/cm²を超える個体数で繁殖していた。この他鼓藻類以外では、*Klebsormidium klebsii*も優占していた。種類数に

表1 宮床湿原池塘における底生藻類（ケイ藻を除く，単位cells cm⁻²）

種名	4月28日	6月22日	8月24日	10月1日
緑藻類—鼓藻類				
1) <i>Closterium acerosum</i>		135		
2) <i>C. costatum</i>				338
3) <i>C. gracile</i>	68			
4) <i>C. intermedium</i>	270		203	676
5) <i>C. littorale</i>	203	270		1014
6) <i>C. lunula</i>	68	135	68	
7) <i>C. parvulum</i> var. <i>maius</i>	135	2434	7505	338
8) <i>Cosmarium</i> sp.				
9) <i>Cylindrocystis crassa</i>			68	
10) <i>Docidium undulatum</i> var. <i>major</i>	135			
11) <i>Euastrum crassum</i> var. <i>tumidum</i>	68			
12) <i>Gymnozyga moniformis</i>	68			
13) <i>Hyalotheca</i> sp.	338			
14) <i>Netrium digitus</i>	68	135	203	338
15) <i>Pleurotaenium minutum</i> Yar. <i>minutum</i>	68			
16) <i>P. minutum</i> var. <i>latum</i>		135	68	338
17) <i>Xanthidium</i> sp.	68			
緑藻類—鼓藻類以外				
18) <i>Klebsormidium klebsii</i>	8654			
19) <i>Gloetica turfosa</i>	3510	612		
20) <i>Microspora willeana</i>		68		
21) <i>Pediastrum boryanum</i>		540	540	
22) <i>Scendesmus acutus</i>		810		
ラン藻類				
23) <i>Anabaena</i> sp.			884	
24) <i>Chroococcus turgidus</i>	203	135	135	
25) <i>Merismopodium glaucum</i>	4320			3105
26) <i>Oscillatoria</i> sp.		680		
黄金色藻類				
27) <i>Synura sphagnicola</i>	2700		135	
28) <i>Dinobryon serturalia</i>				1225
渦ベン毛藻類				
29) <i>Gymnodinium</i> sp.			68	
ミドリムシ藻類				
30) <i>Trachelomonas</i> sp.		680		

関しては，4月に17種，6月で13種，8月で11種，10月で8種と4月に最も種類数が多く見られた。特に鼓藻類でその傾向は顕著に現れており，4月に12種，6月，8月，10月ではその半分の6種に減っていた。小清水を起源として湿原を横断する水路からは黄金色藻類の *Synura sphagnicola* が得られた。本種は北米，欧州，シベリアに分布し，日本では東北地方でしか報告がない北方性の種で，湿原でよく見られる種である。今まで培養による研究がなかったが，現地での分離作業により培養に成功した。大清水の岩の付着物からは緑藻の *Draparnardia*

*acuta*が採集された。本種は清流に生息する種であるが，日本での記録は初めてである。

池の底生動物の生産量と付着・底生藻類の生産量を調べた。ここでは付着底生藻類食性の *Stictochironomus akizukii* とそれを捕食する *Procladius culiciformis* が優占していた（図8）。年平均現存量（乾重）は前者が1.46 g/m² 後者が0.44 g/m² であった。両者とも1年で成熟していたので，生産量/現存量比を5と仮定して年生産量は *Stictochironomus* が7.3 g/m²，*Procladius* が2.2 g/m² と推定された。*Procladius* が捕食している *Stictochir-*

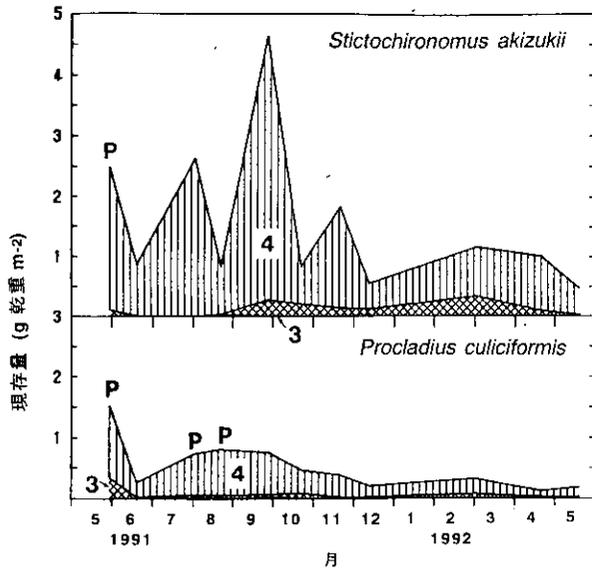


図8 宮原湿原の池のユスリカ幼虫の現存量の季節変動
数字は齢期を表す。Pは蛹の出現期を示す。

onomus の1, 2 齢幼虫の生産量は 0.7 g/m^2 と推定されることから *Procladius* の餌は主に底生・付着藻類であると考えられた。ユスリカの合計生産量 9.5 g/m^2 は富栄養湖で報告されている値に匹敵した。池の付着藻類、底生藻類及び浮遊藻類の総生産量を現場で明暗チャンバーを酸素容器法により測定し、9月に $0.04 \text{ g O}_2/\text{m}^2/\text{day}$ (付着藻類), $0.64 \text{ g O}_2/\text{m}^2/\text{day}$ (底生藻類), $0.0 \text{ g O}_2/\text{m}^2/\text{day}$ (浮遊藻類) であった。幼虫の成長期である7月の付着藻類の総生産量はこれより高く $0.2 \text{ g O}_2/\text{m}^2/\text{day}$ であったが、藻類の一次生産は主に底生性のものでまかなわれ、これがユスリカの二次生産を維持していると考えられた。

種子植物の中には、種子生産のために異個体からの花粉の運搬を昆虫に依存しているものも多い。このような送粉昆虫の活動と湿原内の開花植物の結実との関連を調べるため、1992年5~9月の間に訪花昆虫相の調査を行った。

期間中に鞘翅目、鱗翅目、膜翅目、双翅目がそれぞれ3種ずつ確認された。主な開花植物と訪花昆虫(括弧内)はミズバショウ(ネクイハムシ亜科の一種)、タテヤマリンドウ(トラマルハナバチ, ピロウドツリアブ), レンゲツツジ(訪花見られず), ニッコウキスゲ(トラマルハナバチ), トキソウ(訪花見られず), ミズギク(ハナノミの一種, ハナアブ科の一種, セセリチョウ科の一種, コハナバチ科?の一種), ウメバチソウ(ハネカクシ科の一種), ハイイヌツゲ(ミツバチ属の一種), イソノキ(ミ

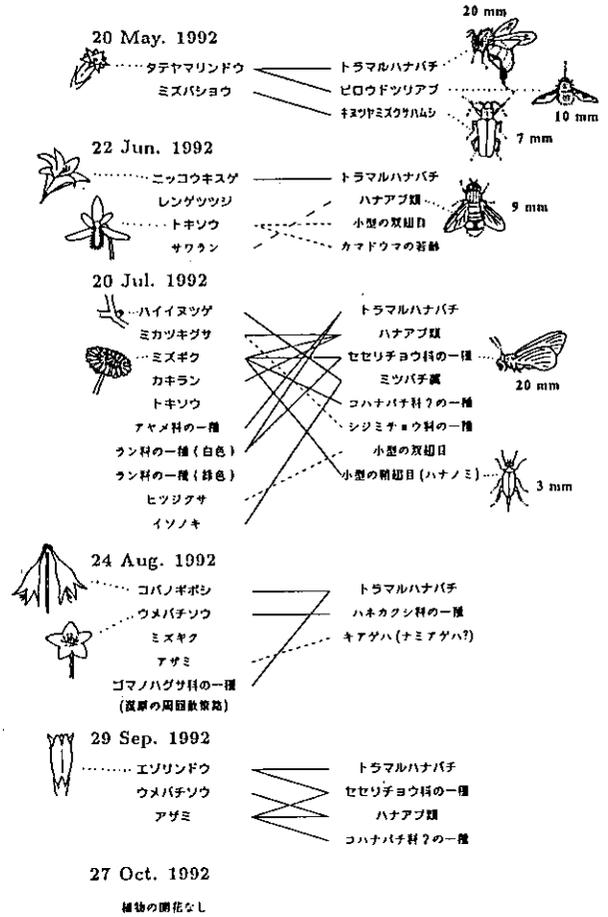


図9 宮床湿原の訪花昆虫

図中太字は比較的多く見られた種。

—— 重要な送粉昆虫と思われるもの

----- 送粉している可能性が高いもの

..... 訪花している送粉しているかどうか分からないもの

..... 目的があって訪花しているかどうか疑わしいもの

ツバチ属の一種), エゾリンドウ(トラマルハナバチ, セセリチョウ科の一種) 等であった(図9)。

6~9月にかけて気象が安定している時を選んで、場所を変えながら10分間にどれくらいの訪花があるかを調べた。トラマルハナバチが比較的多く見られ、この種は多くの植物種を訪れることから、重要な送粉昆虫であると考えられた。ミズギクにはトラマルハナバチは見られなかったが、この花で多くの他の昆虫が見られたことは興味深い。

9月に開花したエゾリンドウ34花序について、10月に'さく果'を形成していたものは花序で76.5%, 花で52.6%であった。この値と訪花昆虫の訪花頻度との関係を解析していく必要がある。セセリチョウについては花

粉に触れずに吸蜜している（盗蜜）のが何度か観察された。

赤井谷地湿原では湿原周囲の河川水、側溝の水、流出入水の水質の水平分布を調べた。湿原由来の水は電気伝導度が $30 \mu\text{S}/\text{cm}$ 以下で全有機炭素量が $70 \text{mg}/\text{l}$ 以上、農地由来の水は電気伝導度が $60 \mu\text{S}/\text{cm}$ 以上で全有機炭素量が $20 \text{mg}/\text{l}$ 以下というように、この2つの水質項目により水源を分類することができた。

(3) 湿原生物群集の変動要因に関する研究

湿原植物の種子繁殖の動態を明らかにするために、種子の発芽実験を行った。凸地から単子葉植物が $106/\text{m}^2$ 、双子葉植物が $63/\text{m}^2$ の密度で埋土種子が発芽した。ワタスゲは 10°C 以上で発芽したが、 $10\sim 15^\circ\text{C}$ では一定の発芽率に至るまで10日ほど遅くなった。冬季に湿潤環境で過ごしたワタスゲは約70%の発芽率があったが、乾燥状態であると20%になり、湿潤環境で生きる適応であると推

定された(図10)。種類別に見ると、コバギボウシ、ミカヅキグサ及びイは発芽率が高い(約90%)がゼンテイカ、ミツガシワ、エゾリンドウ、ミズギク、アザミの発芽率は低かった(50%以下)。

宮床湿原で採取した孢子から、チャミズゴケ、イボミズゴケ、ハリミズゴケ、サンカクミズゴケ、ホソバミズゴケの実験室培養を行った。BBM培地用い、温度 20°C 、照度 $100 \mu\text{Einst.}/\text{m}^2/\text{s}$ 、12-12 明暗周期下で培養個体を得ることができた。このうち、宮床湿原でイボミズゴケ、ハリミズゴケ、ムラサキミズゴケと並んで個体数が多いチャミズゴケの温度に対する増殖特性を調べた結果、 5°C では原系体のままで成熟個体へ成長しないのに対し、 $10\sim 30^\circ\text{C}$ では成熟個体への成長を示した。培養60日目までは 25°C が最も成長が速く、湿重量で 58mg の成長を示したが、その後はほとんど成長を示さなかった。これに対して、低温では60日目までの成長は 25°C と比較すると遅いが、60日目以降でも成長し、100日目では 15°C で湿重量 92mg 、 20°C で湿重量 77mg 、 10°C で湿重量 46mg の成長を示した(図11)。以上の結果から、宮床湿原のチャミズゴケは、雪解けの4~11月の間の温度条件下では成長可能なことが明らかとなった。

宮床湿原のミツガシワからDNAを生成し制限酵素で切断した断片をクローン化した。4つの生息場所から10個体ずつ採取した40個体について細胞膜局在性ATPアーゼ遺伝子の構造を調べたがすべて同じであった。

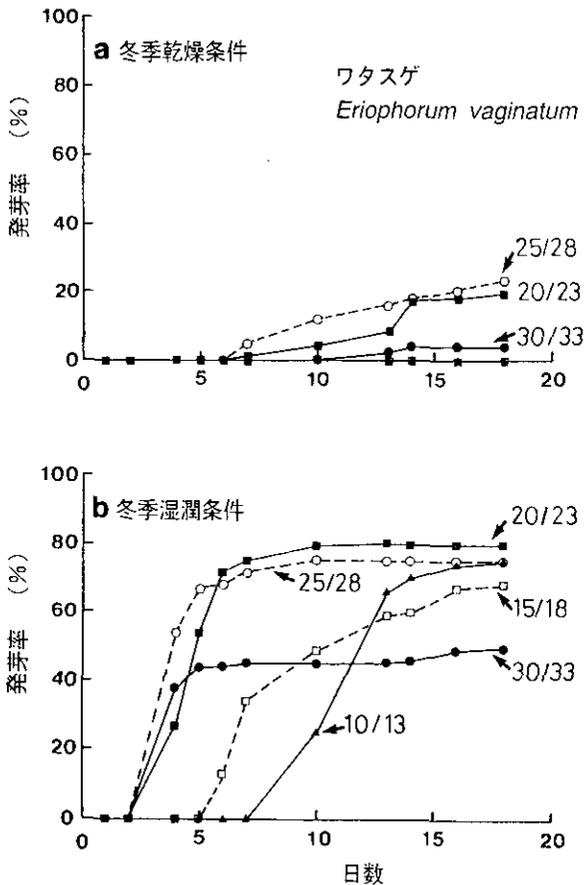


図10 ワタスゲの種子の発芽率
a: 乾燥状態で5カ月間保存したもの
b: 湿潤状態で5カ月間保存したもの
表中の数字は温度条件(暗期/明期: $^\circ\text{C}$)

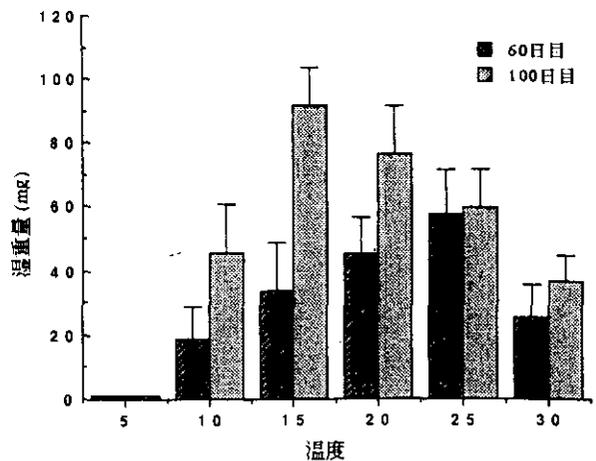


図11 チャミズゴケの成長に及ぼす温度の影響
縦棒は標準偏差を示す。

2.10 環境中の有機塩素化合物の暴露量評価と複合健康影響に関する研究（初年度）

平成4～8年度（1992～1996年度）

〔研究組織〕	地域環境研究グループ 上席研究官 化学物質健康リスク評価研究チーム 都市環境影響評価研究チーム 化学環境部 部長 動態化学研究室 計測技術研究室 計測管理研究室 化学毒性研究室 環境健康部 生体機能研究室 病態機構研究室 保健指標研究室 水圏環境部 水環境質研究室	三浦 卓 ○相馬悠子・米元純三・白石寛明・稲葉一穂・梅津豊司 高橋慎司 森田昌敏 相馬光之 藤井敏博 安原昭夫・伊藤裕康・山本貴士 白石不二雄・宇野由利子 鈴木 明 青木康展 太田庸起子・国本 学 小沢秀明
--------	---	--

〔研究概要〕

わが国の化学物質の種類は生産量の増加率の数倍の速さで増加している。これはエレクトロニクス、新素材、複合材料、バイオテクノロジーといった先端産業の進歩と共に、化学製品の多様化、高付価値化が要求され、それぞれの量は少ないが非常に多種類の化学物質が生産、使用されることによっている。そして将来生産される種類はますます増加すると予想され、それに伴って、化学物質の環境への放出も少量ではあるが多種類の放出になることが考えられる。＜化学物質による質的低下をもたらさない環境の持続＞への危機を防ぐためには、どのような種類の化学物質がどのような環境に、どの位存在し、複合してどのような影響を環境に与えるかという、化学物質の総合影響評価をする必要がある。化学物質の中でも塩素を含む有機化合物、有機塩素化合物は、化合物としての安定性、化学合成中間体としての有用性から、化学工業製品の中でもその種類、割合はきわだって多い。一方化審法に基づいて規制がなされている化学物質のうち、第一種特定化学物質9種類中8種、第二種特定化学

物質、指定化学物質62種類中20種が塩素の入った物質であり、化合物の安定性、殺菌殺虫作用といった有機塩素化合物の有用性が難分解性、有毒性といった環境汚染につながっていると考えられる。

この研究では、環境に存在する化学物質、特に有機塩素化合物の健康影響を体系的に評価するために、環境中の多種類の有機塩素化合物の暴露量評価及び健康影響評価に関する研究を行い、調査したモデル地域で、人の健康に影響を与える可能性がある有機塩素化合物のプライオリティリストを作製する。図1のブロック図に、この特別研究の全体構成を示した。

本特別研究では、以下の研究課題を実施する。

- (1) 有機塩素化合物の暴露量評価に関する研究
 - 1) 暴露量評価のための全有機塩素化合物同時分析手法の開発
環境中の多種類の化学物質を同時に検出定量するスクリーニング手法をサンプリング、クリーンアップ法を含めて開発する。

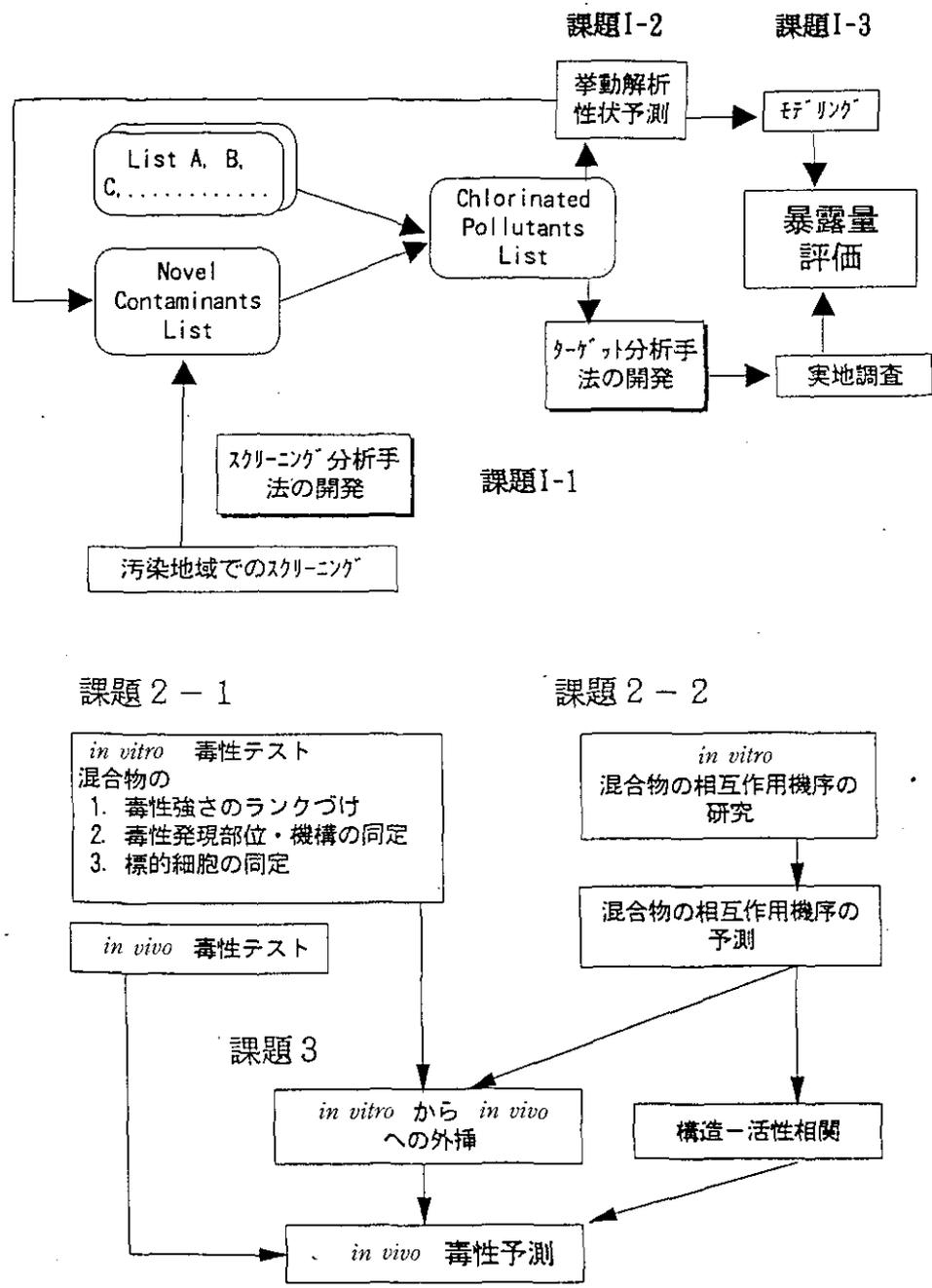


図1 特別研究の全体構成

2) 有機塩素化合物の環境中の挙動と非意図的の二次生成物質の同定

このサブテーマでは、水、生物、土壌中の化学物質スクリーニングで見いだされる二次生成物質の同定と、問題と思われる有機塩素化合物についてフィールド調査、実験系、予測モデルを使って環境中の挙動の解明を行う。

3) モデル地域における有機塩素化合物暴露量評価

農業、工業、商業、住宅地域のモデル地域で大気中の化学物質、特に有機塩素化合物の暴露量調査を行い、ど

のような種類の有機塩素化合物が多いか等の特徴を明らかにする。

(2) 有機塩素化合物の複合健康影響評価に関する研究

(1) のサブテーマで検知される環境中の有機塩素化合物の健康影響のリスクを評価するために、同時に多種類の化学物質へ暴露される場合の生体影響を検出、評価する手法の開発を行う。

1) 有機塩素化合物の混合物の *in vitro* 系テストシステムによる毒性の評価手法の開発、応用、体系化に

関する研究

2) 有機塩素化合物の相互作用機序解明に関する研究
 混合物の相互作用機序を解明するために、異物代謝系誘導、ストレスタンパク質誘導、培養胎仔における薬動態学的研究を中心に行う。

(3) 環境中有機塩素化合物の総合影響評価

(2) の成果をもとに、(1) -3 で調査をしたモデル地域で検出された有機塩素化合物の暴露量から健康影響評価を行い、またそれら有機塩素化合物のその地域における生産量(または使用量)及び使用形態の見積、環境中における化合物の挙動(半減期、反応性、蓄積性)の諸点から、それぞれのモデル地域で検出された有機塩素化合物に対し、点数づけ(スコアリング)を行う。その結果として農村、工業、商業、住宅のモデル地域で、どのような有機塩素化合物が健康に影響を与える可能性があるかのプライオリティリストを作製する。

〔研究成果〕

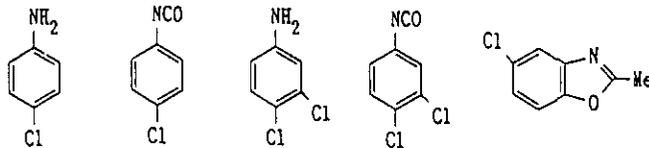
(1) 有機塩素化合物の暴露量評価に関する研究

河川底質中の有機塩素化合物の総量、地域による特性、抽出物の毒性試験と有機塩素化合物との関係などを調べる目的で、隅田川中流～上流4地点(工業、住宅地域)、埼玉県川口市の川3地点(工業地域)、手賀沼に流入する川3地点(住宅、農業地域)、小野川1地点(農業地域)

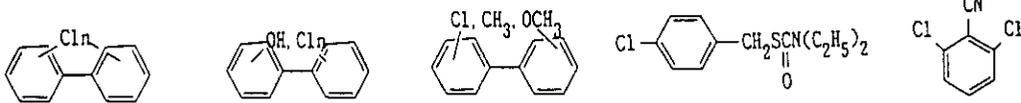
の底質を1992年春に採取し、アセトン抽出物でGCMSによる有機塩素化合物のスクリーニング、EOX(extracted organic halogen)、Ames test(変異原性試験)、MICROTOX(発光性細菌による毒性試験)、神経細胞毒性試験を行った。GCMSで検出されたのは、図2に示すようなものであるが、多くの河川で共通に検出されたのは、*p*-クロロアニリン、3,4-ジクロロアニリン、*p*-クロロフェニルイソシアネート、3,4-ジクロロフェニルイソシアネートであり、これらは互いに相関が強く、尿素系除草剤の土壌中での分解生成物(およびガスクロでの熱分解)と考えられる。5(or 6)-クロロ2-メチルオキサゾール(フィルム感光剤?)も多くの川で検出された。工業地域の河川ではPCBが検出された。これらの結果から、河川底質の有機塩素化合物は除草剤またはその分解物が広範囲に、また以前に堆積した汚染物質は相変わらず残存しているのが分かった。MICROTOX、Ames test、神経細胞毒性試験では、いずれもヘキサン分画には毒性が発現せず、エーテル/ヘキサンまたはアセトン分画に毒性が現れた。PCBが検出された地点では、(PCBはヘキサン分画にある)変異原性や神経細胞毒性がみられた。

重化学工業を中心とした工場、事業所からの排水が流入している洞海湾(北九州市)を工業地域のモデルとして、底質と海藻中に含まれる化学物質を負イオン化学イオン化質量分析法を用い調査した。ジ、トリ及びヘキサクロロベンゼン等の一般的に検出される物質のほかに、

多くの河川底質で検出された有機塩素化合物



PCBおよび分解生成物



TCEP(プラスチック難燃剤)

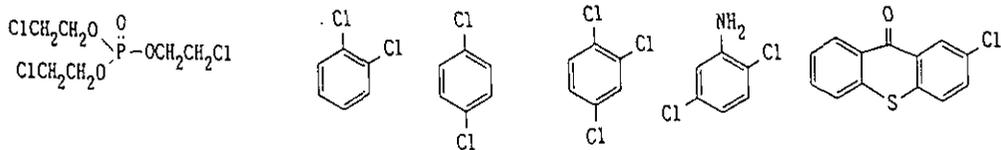


図2 河川底質で検出された有機塩素化合物

2,4,6トリプロモアニリンなどの2,4,6位が塩素または臭素により置換されたアニリン、ハロゲン化された安息香酸など、他地域では知られていない特徴的な化合物が検出された。

塩素の入った化合物は一般に生物分解され難いといわれており、活性汚泥法による下水処理場の放流水中には、流入水中の分解性の悪い塩素を含む化合物が相対的に多く含まれている可能性がある。東京都及び茨城県にある2つの流域下水道の放流水を固相吸着法により濃縮し、濃縮液中の有機塩素化合物を、ガスクロマトグラフ質量分析法を用いて同定した。両下水道に共通する塩素を含んだ化合物は、*p*-ジクロロベンゼン、トリス(2-クロロエチル)フォスフェート、トリス(1,3-ジクロロ-2-プロピル)フォスフェート、5-クロロ-2-(2,4-ジクロロフェノキシ)フェノール(イルガサン)、ジクロロフェノール、トリクロロフェノール、ジクロロアニソール、トリクロロアニソール、ジクロロジメトキシベンゼンなどであった。この内、前の4つの化合物は市販の製品中に使用されている化合物であるが、後半の化合物の起源は特定できていない。ただし、ジクロロフェノールとジクロロアニソールに関しては、主な異性体が2,5-ジクロロ体であり、*p*-ジクロロベンゼンに由来する部分が多いと思われる。

(2) 有機塩素化合物の複合健康影響評価に関する研究

in vitro 系テストシステムによる混合物の毒性評価法に関する研究ではC2塩素化炭化水素をモデル物質として、まず、化合物単独の①毒性の強さのランクづけ、②標的細胞(器官)の同定を、ラット正常腎上皮細胞を用いたBasal cytotoxicity test、神経細胞培養法(ヒト神経芽細胞腫細胞NB-1、ラットクロム親和性細胞腫細胞PC12h)、ラット胎仔肢芽培養法を用いて行った。ラット胎仔肢芽培養法を用いて行った結果では、毒性の強さは、トリクロロエチレン>四塩化炭素≧テトラクロロエチレン≧1,1,1-トリクロロエタン順であった。いずれの化合物でも分化への特異的な毒性はみられなかった。培養神経細胞を用いたテストでは、四塩化炭素に神経細胞への特異的な毒性の傾向がみられた。

in vivo の行動毒性学的研究では、正向反射の消失(麻酔作用)、ブリッジテスト(協調運動)、オペラント行動(学習行動の遂行)、抗コンフリクトテスト(抗不安作用)に対するトリクロロエチレンの影響を検討した。この結果、抗コンフリクトテストでは、他の行動試験法では検出できなかった低用量でも影響が及ぶことが示され、行動の障害が生じない低用量でも、なんらかの精神影響が発現する可能性が示唆された。また、抗コンフリクトテストは中枢神経抑制作用を有する物質に対して鋭敏な試験法となる可能性が示された(図3)。

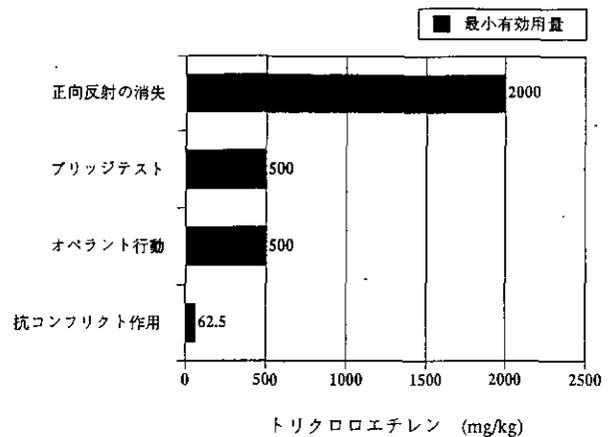


図3 トリクロロエチレンの行動影響

有機塩素化合物の相互作用機序解明に関する研究では、コプラナーPCBの毒性発現機構を明らかにする目的で、コプラナーPCBによる胎盤型グルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST-P)の発現機構に関する研究を行った。PCBが発がんプロモーター物質であることから、細胞増殖因子によりGST-Pが誘導される可能性が考えられた。種々の細胞増殖因子を検討した結果、上皮細胞増殖因子(EGF)によってもGST-Pが誘導されることが示された。そこで、EGFレセプター結合→チロシンキナーゼ活性化→Aキナーゼ、Cキナーゼ活性化をGST-Pの発現経路と想定し、各種阻害剤を用いてGST-Pの発現を検討した。その結果、コプラナーPCBによるGST-Pの発現は、EGFレセプターを介さず、Cキナーゼの活性化により発現されることが示唆された。

2.11 湖沼環境指標の開発と新たな湖沼環境問題の 解明に関する研究（初年度）

平成4～8年度（1992～1996年度）

〔研究組織〕	地域環境研究グループ 統括研究官 湖沼保全研究チーム 主任研究官 海域保全研究チーム 水改善手法研究チーム 有害廃棄物対策研究チーム 化学物質生態影響評価研究チーム 地球環境研究グループ 酸性雨研究チーム 社会環境システム部 資源管理研究室 水圏環境部 上席研究官 水環境質研究室 水環境工学研究室 生物圏環境部 部長 環境微生物研究室 化学環境部 化学毒性研究室 客員研究員 26名、共同研究員 10名	内藤正明 ○福島武彦・高木博夫 春日清一・松本幸雄 木幡邦男 稲森悠平・松重一夫・今井章雄 平田健正 花里孝幸 河合崇欣 天野耕二 相崎守弘 矢木修身・小沢秀明 海老瀬潜一・井上隆信 安野正之 渡辺 信・高村典子・野崎久義 彼谷邦光・佐野友春
--------	---	---

〔研究概要〕

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

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

本特別研究に連なるこれまでの研究成果により、流入負荷量と植物プランクトン現存量の量的関係については

かなり明らかにされてきたが、質的な関係については不明な点が多く残されている。したがって、なぜピコプランクトンが増殖するのか、アオコが発生するのか、淡水赤潮が発生するのか等、湖沼環境と優占する植物プランクトンの関係については研究が進んでいない。

本研究では、流域での各種対策や土地利用変化が負荷発生にどのような変化をもたらしているのか、窒素やリン等の負荷として、また有機物の負荷として自然由来の

ものはどの程度あるのか、N/P比の変化は湖沼水質環境や生態系にどのような影響を与えているのか、湖沼水中の有機物の起源はどこにあるのか、ピコプランクトンの異常発生はどうして起きるのか等の調査研究を行うとともに、最近の急激な湖沼生態系の変化を表現できる新たな指標の開発を行うことを目的とする。

こうした目的を達成するために全体を以下の3つのサブテーマに分けて研究を行う(図1)。

(1) 流域特性と水質との関係の評価に関する研究

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

湖沼に流入する水質は流域の土壌特性や森林特性によって強く規定され、降雨等による負荷も土壌や植生の違いで流出特性が異なる。湖沼に流入する自然由来の負荷の算定を行うために人為汚染の少ない各地の溪流河川での水質特性を明らかにし、土壌特性や植生等との関係を明らかにする。

(2) 湖沼環境指標に関する研究

湖水中の有機物量は湖沼やその流域環境の指標として重要であり、その挙動は湖沼管理上重要な意味を持つ。特に溶存有機物はその起源や挙動あまり明らかにされていないところから、溶存有機物を化学的特性、生物分解特性等から分画し、それぞれの分画の起源や水中での変動特性等を明らかにする。

湖沼環境変化を引き起こす原因の一つとして湖水のN/P比の変化が考えられている。N/P比の変化が植物プランクトン組成等に与える影響について、屋外実験池での実験や各地の湖沼調査結果等から明らかにする。また、湖沼生態系の中で中間的位置を占めている動物プランクトン等の植物プランクトン食者に着目し、高次捕食者である魚や、餌となる植物プランクトンと植物プランクト

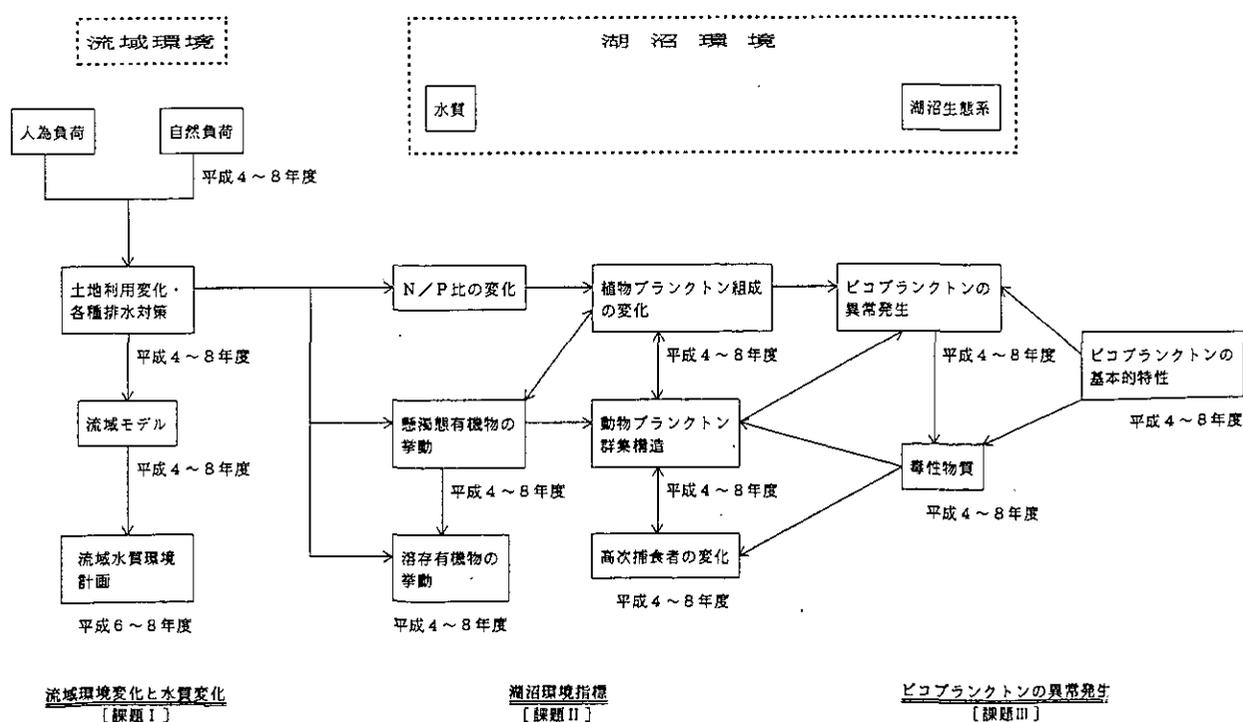


図1 本特別研究の全体構成

ン食者の種組成や大きさ、量等との関係につき調査研究を行う。植物プランクトン食者は食物連鎖を通じて一次生産者及び高次捕食者と密接な関係があるところから、これらの群集の特徴を明らかにすることにより、湖沼の生物群集構造を推測する。さらに、一般市民が湖沼環境を評価する際のものさしとなる景観指標を提案する。

(3) ピコプランクトンの異常発生機構に関する研究

淡水湖におけるピコプランクトンの異常発生機構および水界生態系や水利用に与える影響を明らかにするために、ピコプランクトンの基本的特性、毒性の有無、湖沼における分布や消長等を調べる。そのために、まず無菌培養手法を確立し、培養特性及び生理学的特性を調べ、次にピコプランクトンの大量培養を行い、マウスに対する毒性や魚毒性等を調べ、毒物の抽出と構造決定を行う。野外では、まずいくつかの湖沼で分布や消長を調べ湖沼環境との関係を明らかにする。さらに、ピコプランクトンの優占する湖で、生態系の構成要素（栄養塩、細菌、従属ペン毛虫、繊毛虫、植物・動物プランクトン、魚類など）を全部調べることから、生物間の相互作用を明らかにする。

[研究成果]

(1) 流域特性と水質との関係に関する研究

1) 流域情報システムを用いた流域指標の作成

パソコン上で動く地理情報システムに、流域指標の計算機能、異なる集計単位への変換機能などを追加して、簡単に流域特性の評価ができるようにした。また、このシステムに霞ヶ浦流域の4種類(50万分の1, 20万分の1, 5万分の1, 1万分の1)の地図をラスター情報として取り込み、また流域特性データを収集し、次年度以降の解析のための準備を行った。

2) 河川水質特性

恋瀬川の上, 中, 下流地点において、溶存態有機炭素(DOC), COD, BODの晴天時, 降雨時における流出特性を調べた。特に、変動率(最大値/最小値)は、溶存態のCODで5(下流)~10(上流)であるのに対して、DOCでは2(下流)~3(上流)と小さく、かなり安定していることが分かった。

(2) 湖沼環境指標に関する研究

1) N/P比のアオコ発生に及ぼす影響

霞ヶ浦臨湖実験施設の6個の屋外実験池(容量36m³, 水深1.5m)において、表1のような条件を設定して夏期に40日間のアオコ培養実験を行い、N/P比と米ぬかのアオコ発生に対する影響を調べた。米ぬかを入れたP1, P3, P5について、クロロフィルa(chl a), 40μmのネットに捕捉されるクロロフィルa, ラン藻類の量を表すフィコシアニン(phyco)濃度の培養期間中の最大値を比較したのが図2であるが、N/P比が大きくなるとアオコ量が増加することが分かる。同様に、米ぬかを入れない池でも、全体的に濃度は小さいもののこうした傾向が観察された。

表1 臨湖実験施設屋外実験池におけるアオコ培養実験の条件(1992年度)

池No	滞留時間(日)	P(mg/l)	N(mg/l)	N/P	米ぬか抽出液(mg/l)
P1	20	0.46	2.3	5	20
P2	20	0.46	2.3	5	0
P3	20	0.46	4.6	10	20
P4	20	0.46	4.6	10	0
P5	20	0.46	9.2	20	20
P6	20	0.46	9.2	20	0

その他:クエン酸鉄3mg/l, EDTA0.1mg/l

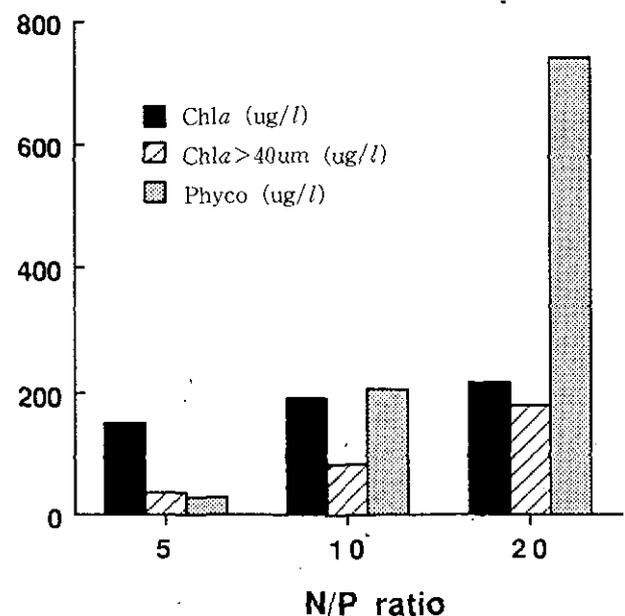


図2 N/P比の藻類発生量に及ぼす影響

また、*Microcystis viridis*, *Oscillatoria raciborskii*, *Anabaena spiroides* の室内混合培養実験の結果では、窒素濃度が 30 mg/l と高くなると、*M. viridis* の増殖が抑制され、*O. raciborskii* や *A. spiroides* が優占することが分かった。さらに、霞ヶ浦湖水の AGP 試験結果では、*Oscillatoria* 属のみ窒素の添加で増殖し、その他のラン藻では窒素、リン、EDTA が必要であることが分かった。次年度以降、こうした実験を続けるとともに、実際の湖沼で生じている N/P 比の変化とそれに伴う藻類種の変化について情報を整理して、総合的解釈を行うことからその因果関係を明らかにしたい。

2) 溶存有機物の動態, 起源

1) の屋外実験池でのアオコ培養実験に際して、DOC、難分解性 DOC、溶存態のタンパク質、炭水化物、遊離アミノ酸などの濃度を連続測定した。図 3 にはクロロフィル *a* と DOC の変化を P 3 について示すが、クロロフィル *a* の 1 回目のピーク時には初期値とあまり大差なく、その後の減少過程で急激に増加し、約 20 日間にわたりほぼ一定な濃度を示している。特に、湖内での植物プランクトンの生産、捕食、分解に伴い DOC も生産されることが明らかである。また、各ろ過水サンプルに植種し、DOC の分解特性を調べた結果、50 日程度で易分解性の成分はほぼ全量分解することが確かめられたので、100 日後に残った成分を難分解性 DOC として定量することにした。その濃度変化を図 4 に示すが、アオコ増殖時の増加量は 0.5 mg/l 程度と極めて少ないことが分かり、植物プランクトンの生産、捕食、分解により生産される溶存有機物は極めて分解されやすい特性を有していることが分かった。ボックスモデルにあてはめ、DOC、難分解性 DOC の生産速度を計算してみると、光合成速度に対して

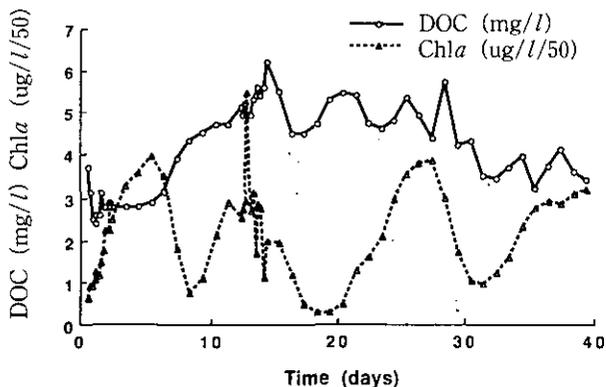


図 3 屋外実験池でのクロロフィル *a*, DOC の変化

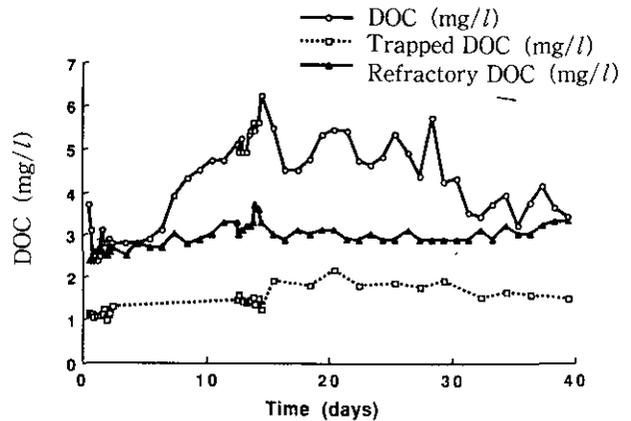


図 4 屋外実験池での難分解性 DOC, PS 2 カートリッジに捕捉される DOC の変化

それぞれ 13%, 2% 程度となった。

また、溶存有機物の濃縮、分画を目的に、オクタデシル結合シリカゲル (ミリポア社 tC 18) やポリマー粒子 (同社 PS 2) を充填したミニカートリッジにろ過水を通させ、捕捉される DOC 量やその化学的特性を調べた。その結果、こうしたカートリッジによって溶存有機物の 30~60% を捕捉しうることを、紫外部の吸光度が高く、分解性の悪いサンプルほど捕捉率が高いこと、捕捉された成分は分解性が悪いことなどが明らかになった。図 4 には PS 2 カートリッジに捕捉された DOC 濃度をあわせて示しているが、実験開始約 15 日以降に難分解性 DOC の増加に伴い 0.5 mg/l 程度増えている。

3) 生態系構造と水質変動特性

屋外実験池には魚を入れていないので、植物プランクトンと動物プランクトンだけの系となり、両者の現存量は位相差をもって周期的に変化した。それに伴い、溶存酸素 (DO) や尿素といった水質も大きく変動した。特に DO は、最大時で 20 mg/l と飽和値の 2 倍以上、最小時には 1 mg/l 前後と生物の生存に影響を与えるレベルまで低下した。このように代謝特性を評価することから、生態系構造の問題点を指摘できる可能性が得られた。

なお、霞ヶ浦南岸でのイサザアミ、テナガエビ、ヌマチチブ、ジュズカケハゼの採集量調査から、これらの種は激減していることが明らかになった。また、霞ヶ浦における漁獲量の経年変化データから、以前は競合関係にあったハゼ・エビとワカサギの漁獲量が、1988 年以降共に減少している。こうした現象の原因としては、オオクチバスやブルーギルなどの帰化魚の増加が考えられる。

表2 見た目アオコ指標

レベル0	アオコの発生は認められない。
レベル1	アオコの発生は肉眼では確認できないが、ネットで引いたりすると認められる。
レベル2	うっすらと筋状にアオコの発生が認められる。
レベル3	アオコが水表面全体に広がり、所々パッチ状になっている。
レベル4	膜状にアオコが湖面を覆う。
レベル5	厚くマット状にアオコが湖面を覆う。
レベル6	アオコがスカム状に湖面を覆い、腐敗臭がする。

4) 景観指標

目視により湖沼環境、景観を評価する指標として見た目アオコ指標を提案した(表2)。霞ヶ浦、児島湖など全国数湖沼において一般市民にアンケート調査を行い、同一対象に対して評価レベルのばらつきがあまり大きくないことを示した。加えて、同一人物が屋外実験池のアオコ状態をモニターした結果とフィコシアニン濃度の間に明白な関係が得られたので(図5)、目視による観測、判定にかなりの客観性があることが確かめられた。また、アンケート結果の統計解析から、レベル3以上では大部分の人には水源としても(図6)、水遊びの場としても、散歩などの対象としても望ましくないことが分かり、上水、親水利用のための水質目標としてはアオコレベル2以下にすべきであることが明らかになった。

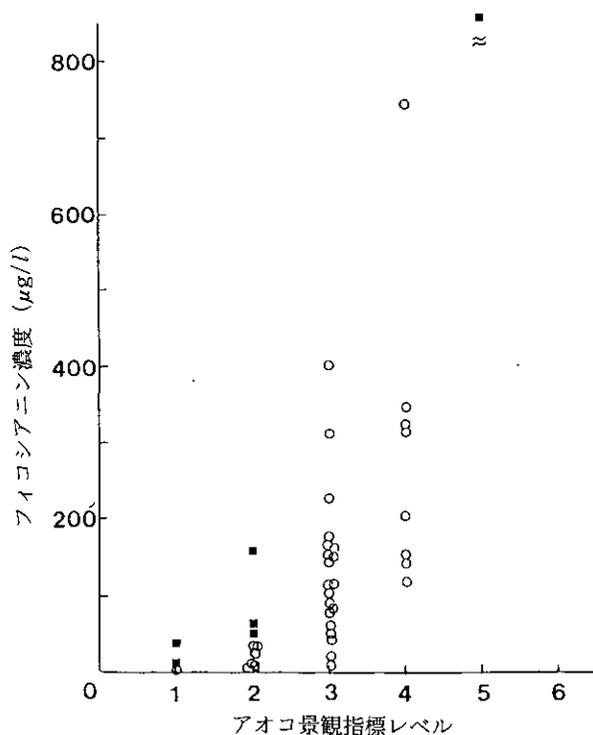


図5 アオコレベルとフィコシアニン濃度との関係 (○) 実験池における結果, (■) 現地調査における結果 (%)

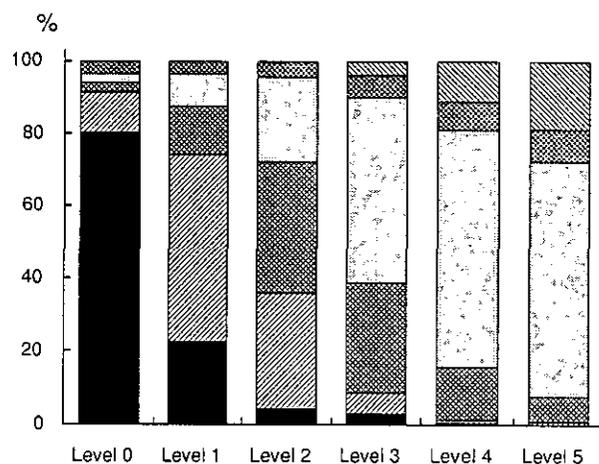


図6 各アオコレベルに対する水源としての評価

■ ミネラルウォーター ▨ 浄水器を買う □ 飲みたくない
 ▩ 不安 ▤ 少し不安 ■ 安心

(3) ピコファイトプランクトンの異常発生機構に関する研究

1) 全国湖沼における現存量調査

ピコファイトプランクトンは光学顕微鏡では観察できない2µm以下超微細藻をさす。ピコファイトプランクトンがどのような水質の湖沼で優占するのかを栄養塩レベルの異なる日本全国42湖沼(図7)で調べた。ピコファイトプランクトンの現存量は2µm以下のクロロフィルa量として表した。ピコファイトプランクトンの現存量の幅は貧栄養湖で0.03~0.33µg/lと低く、中栄養、富栄養、過栄養湖ではそれぞれ0.15~5.24, 0.08~4.46, 0.00~5.87µg/lと同じ程度であった。しかし、全植物プランクトンに占めるピコファイトプランクトンの割合は貧・中栄養湖で多く、順に10~62%, 13~56%であったが、富・過栄養湖では0~37%と低かった。したがって、ピコファイトプランクトンは中栄養湖において現存量と優占度がともに高くなることが明らかになった。さらに、中栄養湖においてピコファイトプランクトンの優占度とTN: TP比の関係をプロットしたところ図8に示すよ

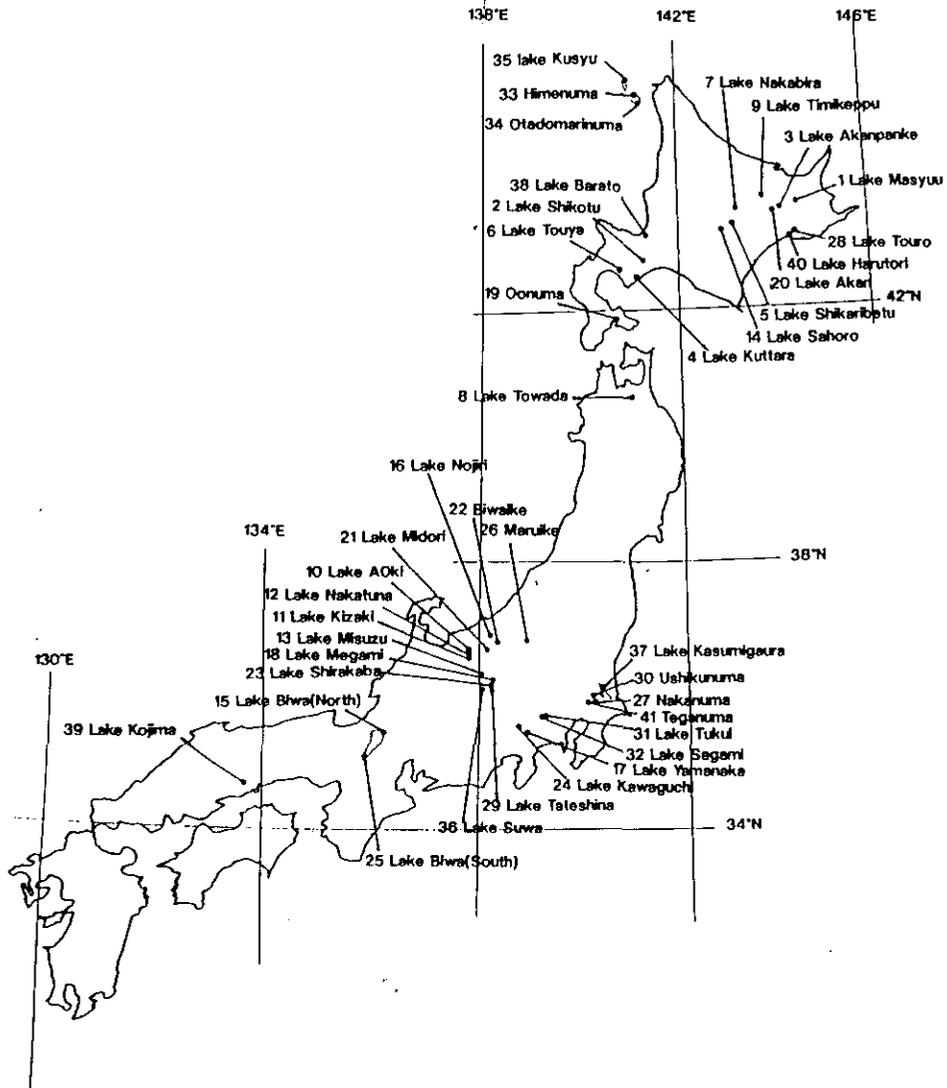


図7 調査を実施した全国41湖沼（琵琶湖については北湖と南湖の2点としている）

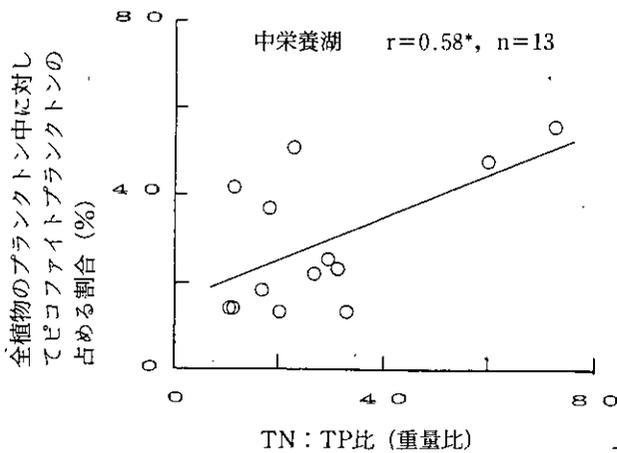


図8 中栄養湖13湖沼の湖水TN:TP比とピコファイトプランクトンの優占度の関係

うに正の相関があった。このことは、ピコファイトプランクトンが湖水のTN:TP比の高い湖で優占する傾向があることを示しており、今後の湖沼におけるピコファイトプランクトンの管理は、リンのみならずTN:TP比にも注意を払う必要があることが示唆された。

2) 分類, 同定

湖沼に出現するピコファイトプランクトンがどのような種類の生き物であるのかを明らかにする目的で、日本全国の湖沼からピコファイトプランクトンを59株の単離、培養を行った。各々の株について、走査型電子顕微鏡と透過型電子顕微鏡を用いて形態と微細構造を観察した。さらに蛍光分光光度計、液体クロマトグラフィーを用いて色素組成を測定した。以上の情報をもとにこれら

表3 日本の湖沼から単離したピコファイトプランクトンの分類学的特徴

名 称	形 態	決め手となる色素
ランソウ (原核)		
1. <i>Synechococcus</i> sp.	楕円体	フェコエリトリン
2. <i>Synechocystis</i> sp.	球体	フェコエリトリン
3. <i>Synechococcus</i> sp. (?)か <i>Cyanothece</i> sp. (?)	棍棒状	フェコエリトリン
4. <i>Romeria</i> sp. (?)	網状	フェコエリトリン
5. <i>Synechococcus</i> sp.	楕円体	フィコシアニン
6. <i>Synechocystis</i> sp.	球体	フィコシアニン
7. <i>Synechococcus</i> sp. (?)か <i>Cyanothece</i> sp. (?)	棍棒状	フィコシアニン
緑藻 (真核)		
8. <i>Auxenochlorella</i> sp. (?)	楕円体	クロロフィルb
9. <i>Mychonastes</i> sp.	球体	クロロフィルb
10. <i>Monoraphidium</i> sp.	棍棒状	クロロフィルb

の株をグループ分けしたところ、表3に示すようにに10のグループに分かれた。いずれも新種、新属の可能性があり分類学的記載をするための検討を行っている。

3) 毒性試験

琵琶湖で異常発生したピコファイトプランクトンの一

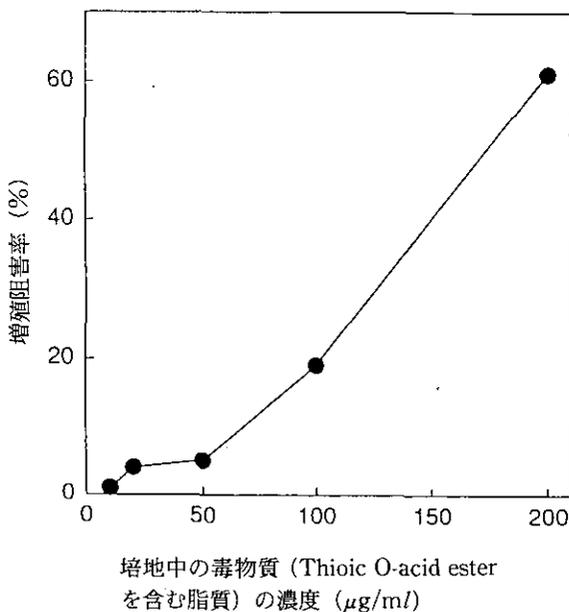


図9 純化された毒物質 (Thioic O-acid esterを含む脂質)を加えた時の組織細胞 (HL60)の細胞生長

種 *Synechococcus* sp.-1 (フィコエリトリンを多く含むもの)の10 l規模での大量培養法を確立した。この株から毒物質の一種と考えられる Thioic O-acid ester を含む脂質を純化し、IR スペクトル、GC/MS、NMR を用いて構造決定を行った。この物質の組織細胞 (HL 60) に対する増殖阻害を調べたところ図9に示すように200 µg/mlの濃度で61%の細胞生長が阻害された。さらに、魚毒性をアカヒレ (*Tanichtys albonubes*) を用いて調べたところ LC₅₀ 値は20 ppmであった。

4) 異常発生のメカニズム

ピコファイトプランクトンの異常発生要因を明らかにするため、長野県野尻湖をフィールドとし毎月一度、ピコファイトプランクトンとそれに関係する生態系の構成要素 (細菌、ペン毛虫、繊毛虫、動物プランクトン) 並びに水質の調査を行った。ピコファイトプランクトンは6、7月から増え始め、水深10 m層に、8、9月には水深15 m層に集積することが確認された。9月には約10⁶細胞/mlに達した。今後は窒素・リンなどの栄養塩とピコファイトプランクトンの増殖の関係、光をめぐる他の植物プランクトンとの競争関係、ピコファイトプランクトンを食べる植食者 (動物プランクトン、ペン毛虫、繊毛虫など) との関係などからピコファイトプランクトンの異常発生機構について研究する予定である。

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

平成4～7年度（1992～1995年度）

〔研究組織〕

地域環境研究グループ

統括研究官	内藤正明
上席研究官	三浦 卓
都市環境影響評価研究チーム	○兜 真徳・新田裕史・影山隆之・今井秀樹
交通公害防止研究チーム	田村正行
環境統計手法研究官	松本幸雄
実験動物開発研究官	高橋 弘

環境健康部

部 長	鈴木継美
環境疫学研究室	小野雅司・田村憲治・本田 靖
生体機能研究室	小林隆弘
病態機構研究室	藤巻秀和

社会環境システム部

環境計画研究室	大井 紘・近藤美則
情報解析研究室	須賀伸介

客員研究員 18名

〔研究概要〕

大気汚染、騒音などの環境汚染状況は、超都市化の進行と相まって都市型汚染の傾向を強めており、そこでの居住に伴う環境ストレスあるいは健康影響・リスクの評価・管理システムを体系化していく作業は、環境保健領域の研究として重要となってきた。それは、昼夜を問わない稠密な都市活動などを背景として発生する騒音による心理・生理的影響、あるいは、依然改善の見られない大気汚染との関連を示唆するかの如く、とくに都市部により強く急増傾向を示す呼吸器系アレルギー性疾患などに代表されよう。

一方、近年アメニティ政策や地球にやさしいライフスタイルが強調されているが、その具体化のためにも、これら都市環境汚染による環境ストレスや健康影響について、都市活動（人間活動）の在り方とともに体系的に検討していくことが必要であり、それは、今後の都市の環境政策にかかわる基本的指針を与える上でも重要な作業と考えられる。

本特別研究では、都市生活における不眠症等のストレ

ス総体に占める環境騒音による影響の大きさの評価、また都市型大気汚染による呼吸器系アレルギー疾患への影響評価を行うほか、これらの評価法を、先行特別研究である「大都市圏における環境ストレスと健康に係る環境保健モニタリング手法に関する研究」（昭和63年度～平成3年度）において整理した「環境保健モニタリング手法」の一つとして位置づけることを目的とする。

先行特別研究で、環境汚染と健康影響との関連にかかわる「環境保健モニタリング手法」として、騒音については交通騒音による睡眠影響、大気汚染についてはディーゼル排ガスによる肺ガンへの影響を取り上げ、各汚染暴露人口を推定・同定することを基本とした方法を検討してきた。本研究では、騒音関連では、都市生活に伴う不眠症をはじめストレス総体、すなわち「反アメニティ」に占める環境騒音の影響、また、大気汚染関連では、大気汚染の関与が強く示唆されてきている呼吸器系アレルギー疾患発症との関連解明に焦点を当てている。これらは、上記「環境保健モニタリング手法」に、都市環境における非アメニティ要因総体に関する調査・評価

法を、また、肺ガンという遅発性影響の他に、アレルギー性疾患という比較的急性の影響の場合に関するものを加える作業でもある。

以上の目的のため、本研究は以下の4研究課題から構成される(図1)。

- (1) ストレス評価のための心理・生理学的実験研究
- (2) 都市型大気汚染状況と呼吸器系アレルギー疾患の関連性に関する疫学的研究
- (3) 都市生活に伴う複合的環境ストレス状況評価のための調査研究
- (4) 総合評価：得られた成果と環境保健モニタリングへの連携

である。

このうち、(1)では、ストレスの生物学的評価法の吟味を行うが、それらの一部は(2)、(3)での調査研究の支援的データを提供する。(2)では、大気汚染状況及び花粉状況の顕著に異なる地域を設定し、呼吸器系アレルギー疾患発症状況と示唆されている関連の関連諸要因等との関連を調査・解析する。(3)では、(2)の対象地域の一般人口を対象として、各種環境汚染への複合暴露調査、環境ストレスとストレス対処行動の調査、「アメニティ」嗜好性とその背景要因との関連調査など、環境騒音に伴う「反アメニティ」性について一連の調査を実施する。

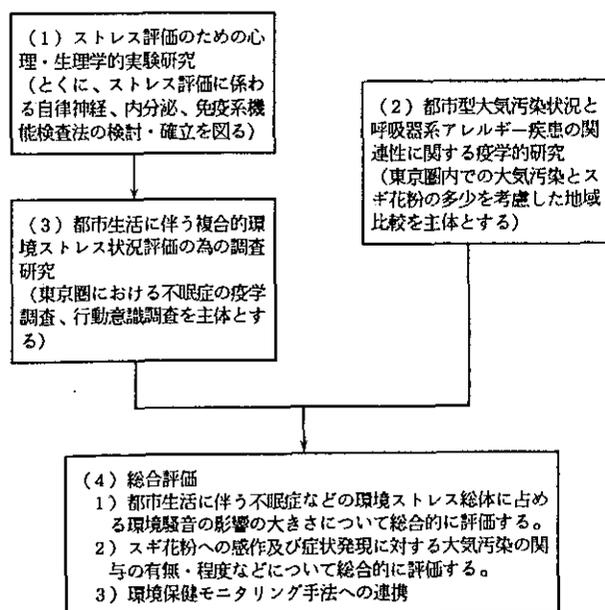


図1 研究のフローチャート

(1) ストレス評価のための心理・生理学的実験研究
騒音の心理的不快感にかかわる規定要因の分析及びストレスの生物学的評価法の吟味を行う。

1) 都市環境騒音の“不快さ”とその規定要因に関する実験研究

音の快・不快に関する心理・生理学的実験を行い、快適音による生理反応については、ストレスの評価法との関連でも検討する。快・不快にかかわる音の物理的特性についても詳細に分析・検討する。実際の各種都市環境騒音を採取・録音し、再生・聴取させて心理的・生理的反応を調べる実験を行い、それらの種類別“量・反応関係”を整理していく。

2) ストレスの生物学的評価法の検討

尿中・血中のホルモンおよびカテコールアミン濃度を用いた内分泌検査法、脳波、心電図、脈波などを指標とした電気生理学的検査法、NK細胞活性などを用いた免疫学的検査法につき測定系を確立する。

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

大気汚染によるスギ花粉への感作、スギ花粉症の発症・増悪への影響を検討するために、住民健診の受診者を対象に、血清中抗体検査、質問票による有病率調査を行う。また、大気汚染レベルとスギ花粉飛散状況の異なる数地域において、無作為抽出した住民について質問票による有病率調査を行う。さらに、スギ花粉飛散時期のスギ花粉への暴露状況を把握するために、スギ花粉飛散数観測点のデータと対象世帯の屋内・屋外のスギ花粉数、個人暴露数および屋内粉じん中スギアレルゲン量測定を実施する。

(3) 都市生活に伴う複合的環境ストレス状況評価のための調査研究

調査対象の選定を行い、調査内容や方法についての予備的検討を行う他、調査内容に(1)のストレス評価法に関する成果を盛り込み、体系化を図る。

(4) 総合解析

以上の(1)～(3)の実験・調査研究による成果をそれぞれ整理・解析するほか、(4)として、これまで検討してきている「環境保健モニタリング手法」としての位置

付けを検討する。

〔研究成果〕

(1) ストレス評価のための心理・生理学的実験研究

1) 都市環境騒音の“不快さ”とその規定要因に関する実験的研究

男女学生 90 名を対象として、幹線道路周辺で採録した自動車騒音を実験室で呈示した場合の快・不快に関する心理実験を行った。結果については引き続き解析中であるが、音レベル上昇に伴う不快感の増大に比較して、周波数特性や共存する他の環境音の影響は大きくないこと、同時に呈示した風景映像が不快感を緩和する可能性があること、等がこれまでに示唆された。

2) ストレスの生物学的評価法に関する実験的研究

音刺激に対する指尖脈波反応を用いた自律神経機能検査と、心拍変動の自己相関スペクトル解析による自律神経検査を行うための、実験系を整備した。

健康な学生および精神科を受診した神経症患者を対象として、両者の実用性・妥当性を検討する実験を行った。両者の結果がよく相関すること、学生群と患者群での差は年齢差を考慮に入れば小さいこと、等がこれまでに明らかになっている。

心拍変動のスペクトル解析に基づく検査については、測定方法による結果の差や呼吸速度・食事・運動負荷・精神作業負荷等との関係等についての基礎的実験も行った。結果は引き続き解析中であるが、これまでに心電図・指尖脈波のいずれを用いても同様のスペクトル解析が可能であることを確認している。

また、交感神経機能の活動レベルの指標としての、尿中カテコールアミン排せつ速度の有用性を検討するため、健康な男女 42 名について試料を採取し、基礎的な情報を得た。結果の詳細な解析および前記電気生理学的検査との関連の検討を継続中である。

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

茨城県 A 市および B 市において各種健診受診者を対象に、新たに作成したスギ花粉症質問票と血清検査を組み合わせた手法による有病率調査を行い、質問票のみによる花粉症把握の妥当性・信頼性について基礎的に検討した。また、郵送法による質問票調査を東京都で実施し、

調査実施上の問題点を探るとともに、有症率の性・年齢分布を検討した。血清中スギ花粉抗体価は CAP RAST FEIA 法 (Pharmacia 社) により測定した。

1) スギ花粉特異的 IgE 抗体価と症状との関連性

表 1 と表 2 に、スギ花粉特異的 IgE 抗体検査成績とスギ花粉症症状との関係を示した。スギ花粉抗体が陽性で典型症状を持つ者はスギ花粉症確定群と考えることができる。スギ花粉抗体陽性者の中で症状を示していない者もかなり存在していた。一方、スギ花粉症の典型症状を示している者の中にスギ花粉抗体が陰性であるものも含まれていたが、典型症状を持つ者の中でスギ花粉症確定群の割合は、茨城県 A 市のデータでは 86% (=37/(6+37))、茨城県 B 市のデータでは 79%であった。ここで、スギ花粉症の典型症状とは「鼻症状 (くしゃみ, 鼻水, 鼻づまりのうち 2 つ以上) と眼症状 (かゆみなど) がかぜをひいていないのに、毎年のように繰り返して、早

表 1 スギ花粉抗体価と症状の関係 (茨城県 A 市調査)

		症状		
		なし・不明確	非典型	典型
スギ花粉抗体	陰性	254(58.4)	22(5.1)	6(1.4)
	偽陽性	23(5.3)	2(0.5)	0(0.0)
	陽性	69(15.9)	22(5.1)	37(8.5)

表 2 スギ花粉抗体価と症状の関係 (茨城県 B 市調査)

		症状		
		なし・不明確	非典型	典型
スギ花粉抗体	陰性	188(70.9)	15(5.6)	3(1.1)
	偽陽性	15(5.6)	1(0.4)	0(0.0)
	陽性	25(9.4)	7(2.6)	11(4.2)

春に起きるか、もしくは早春に強くなる。」場合であり、非典型症状とは鼻症状（くしゃみ、鼻水、鼻づまり）のうち2つが欠けたり、眼症状だけが毎年早春に繰り返して起きるか、もしくは症状が揃っていても早春だけに起こることもなく、悪化したりしない。」場合をいう。

2) スギ花粉特異的IgE抗体陽性率の性・年齢分布
スギ抗体陽性率 (CAP RAST スコア 2 以上) の性・年齢分布を図示した。茨城県北部の A 市でのスギ抗体陽性率は、男女とも 20 歳台が最も高く、年齢が高くなるとともに低下する傾向にあった。性別にみると、20 歳台、30 歳台および 40 歳台では女性の陽性率が男性よりも高くなっているが、50 歳以上では性差は明確ではない(図 2)。

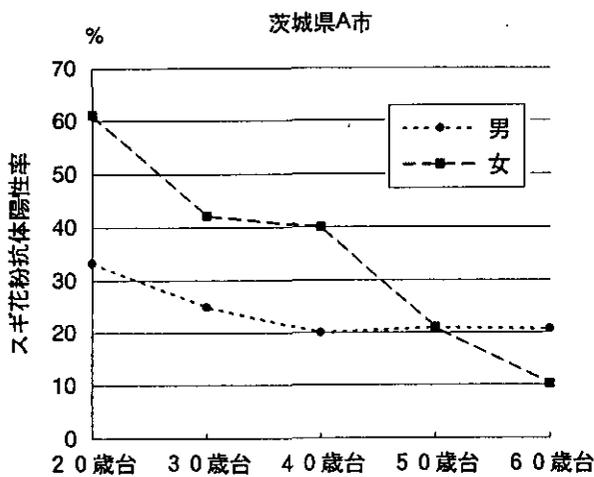


図 2 スギ花粉特異的IgE抗体陽性率 (茨城県A市調査)

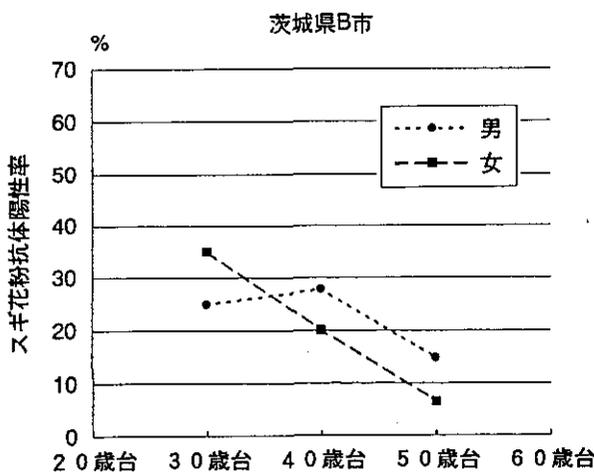


図 3 スギ花粉特異的IgE抗体陽性率 (茨城県B市調査)

茨城県南西部の B 市でのスギ抗体陽性率は、A 市と同様に年齢が高くなるとともに陽性率が低下する傾向がみられているが、性差は大きくなかった。陽性率は茨城県 A 市の場合より、全体として低い傾向にあった(図 3)。東京都東部の C 区のスギ抗体陽性率 (40 歳台のみ) は男約 30%、女約 20%であり、その傾向は茨城県 B 市の 40 歳台と類似していた。

3) スギ花粉症症状有症率の性・年齢分布

図 4 には質問票のデータに基づいたスギ花粉症症状 (典型症状のみ) 有症率の性・年齢分布をデータ数の比較的多かった地区のみを示した。東京都 C 区での調査では、男女とも有症率は 30 歳台がピークとなっていた。これに対して、茨城県 A 市の女性は 30 歳台、40 歳台が高い傾向を示すものの年齢分布は東京都 C 区の場合とは異なっていた。

東京都内、および茨城県 A 市および B 市で実施した予備調査結果から、①スギ花粉抗体陽性率およびスギ花粉症有症率は若年層 (30 歳台) で高いこと、②これらの性・年齢分布は地域間で異なることが示唆され、地域比較を行う場合に考慮すべき点、また③地域住民の疫学調査におけるスギ花粉症の把握方法についてはさらに検討が必要である、ことが明らかとなった。

(3) 都市生活に伴う複合的環境ストレス状況評価のための調査研究

1) 東京都内にある企業の職域健診において、男子約 30 名を対象に、問診、血圧測定、身体測定、採血および免疫機能・内分泌その他生化学検査、(1) で検討した自

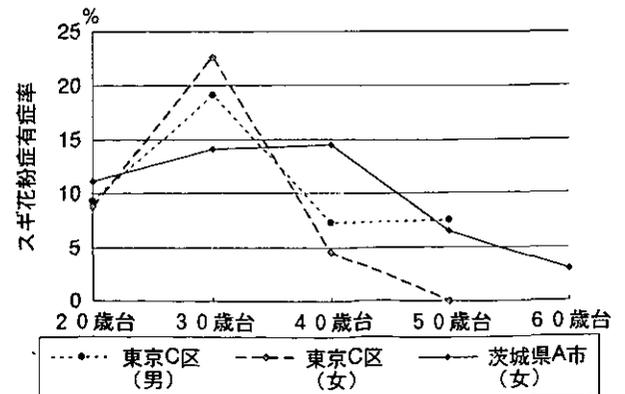


図 4 スギ花粉症有症率

律神経機能検査，採尿および尿中カテコールアミン測定等を行った。問診の中では，生活時間，通勤ストレス，職場ストレス等についての質問も行った。その結果については引き続き解析中である。

2) 都内の住工混住区において，公害苦情の申し立て者に苦情の内容・原因・いきさつ・申し立てのきっかけ等を尋ねる調査を行い，興味深いデータを得た。また，

東京都丸の内の手金融会社の社員に対して，職場・通勤・住居それぞれについての状況と行動と意識とを問う調査を行った。特に，それぞれにおける音環境意識を調査した。

(4) 総合評価

初年度であり，実施していない。

平成4年度編集小委員会

委員長	近藤 矩朗
委員長代理	松本 幸雄
委員	栗原 崇
〃	山下 洋一
〃	原島 省
〃	酒巻 史郎
〃	高橋 慎司
〃	須賀 伸介
〃	瀬山 春彦
〃	鈴木 明
〃	杉本 伸夫
〃	海老瀬 潜一
〃	田中 浄
〃	古田 直紀
事務局	松井 文子

国立環境研究所特別研究年報

平成4年度

平成5年8月31日

編集 国立環境研究所 編集小委員会
発行 環境庁 国立環境研究所
〒305 茨城県つくば市小野川16番2
電話 0298-51-6111 (代表)

印刷 前田印刷株式会社筑波支店
〒305 茨城県つくば市東新井14-5

本年報は再生紙を使用しています。