# 国立環境研究所 特別研究年報

平成6年度



# 平成6年度国立環境研究所特別研究年報 の発刊に当たって

本研究所は、我が国の環境研究の中心的な役割を果たすために、昭和49年に「国立公害研究所」として設置されました。その目的を達成するために、本研究所は、理学、工学、医学、生物学等の自然科学分野はもとより、人文・社会科学を含む広範囲にわたっての多様な研究者集団によって構成され、さらに大学関係者、地方自治体の環境研究所等の国内外の専門科学者の参加のもとに、多くの学際的な研究を展開してきました。

特別研究は、本研究所の学際性に見られる特徴を十分に活かすよう、総合的なプロジェクト研究として、昭和51年度からスタートしたもので、現在まで51件の研究課題を実施してきました。このうち42課題が平成5年度までに終了し、平成6年度時点では9課題の特別研究を実施しています。また、平成2年7月に行われた研究所の全面的な組織改革によって"特別研究"が地域環境研究グループに集約されてから、今年ですでに5年目を迎え、本書はその第4回目の研究成果年次報告書となります。

平成6年度の終了課題は「閉鎖性海域における水界生態系機構の解明及び保全に関する研究」の1課題であり、大都市に隣接した内湾での流入負荷や汚染物質の蓄積に関する機構を解明するとともに、内湾における植物プランクトンの増殖、微小生物群集、無酸素水塊の動態、生態系破壊による社会経済への影響等について総合的研究を行い、その結果、内湾の環境保全に関する総合的な科学的知見を得ることができました。また、新たな開始課題として「廃棄物埋立処分に起因する有害物質暴露量の評価手法に関する研究」の1課題が始められ、最近社会問題ともなっている埋立処分地からの侵出液等が水及び土壌系を経由して環境に放出された場合の有害物質負荷量と、その環境影響を評価する手法の研究を行うこととなっており、環境汚染の健康及び生態系に対するリスクの低減に資する科学的知見が得られるものと期待しています。

特別研究は、その時々で社会的関心の高いテーマを取り上げ、一定期間に問題解決を目指して集中的に研究を行うことを意図しています。先に制定された環境基本法や環境基本計画に基づく新たな環境施策を展開していく上で、欠くことができないのが環境の状況の的確な把握、環境変化の機構の解明といった科学的知見の充実であることはいうまでもありません。こうした環境施策の新たな展開は、特別研究の研究計画の内容、進め方等そのあり方にも大きな影響を与えつつあります。

組織改革後5年が経過し、特別研究をめぐる情勢の変化の中で、特別研究自体の方向性 についても議論が始まっています。この特別研究年報をご覧戴き、特別研究のあり方につ きましても率直なご意見やご提言を賜れば幸いです。

平成7年8月

国立環境研究所 所 長 鈴 木 継 美

# 目 次

1.	概	況	**********	•••••	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •		••••••	********	• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	•••••		**********	······ ]
2 .	特別研	究											
2. 1	閉鎖性液	毎域に	おける水	界生態系	機構の解	¥明および	び保全に	関する研究	究(最終年	度)		•••••••	5
2. 2	2 環境保全	全のた	めのバイ	オテクノ	ロジーの	活用とる	その環境	影響評価	に関する研	究			15
2. 3	3 湿原の斑	環境変	化に伴う	生物群集	の変遷と	:生態系の	の安定化	維持機構	に関する研	究			21
2. 4	4 環境中 <i>0</i>	の有機	塩素化合	物の暴露	量評価と	複合健康	東影響に	関する研究	宛			••••••	31
2. 5	湖沼環均	竟指標	の開発と	新たな湖流	沼環境問	題の解明	月に関す	る研究	••••••	•••••			37
2. €	都市型理	環境騒	音・大気	汚染によ	る環境ス	トレスと	と健康影	響に関す	る環境保健	研究		• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	47
2. 7	環境負荷	岢の構	造変化か	ら見た都	市の大気	【と水質問	問題の把	握とそのタ	対応策に関	する何	开究	•••••	58
2. 8	3 ディー+	ビル排	気による	慢性呼吸	器疾患発	e症機序の	の解明と	リスク評値	価に関する	研究		• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	65
2. 9	<b>廃棄物</b> 場	里立処	分に起因	する有害	物質暴露	<b>基の評価</b>	≣手法に	関する研究	究(初年度	<u>*</u> )			67

地域環境研究グループは"環境保全対策"と"環境リスク評価"の2分野について9課題の特別研究を14チームによって実施した。それら成果の要点を研究チームごとにまとめると以下のようである。

まず "保全対策" 分野では 6 チームが 4 課題の特別研究を担当した。

海域保全研究チームの担当する特別研究「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」は最終年度を迎えたが、その中で内湾密度流装置を用いた室内実験と流動モデルを用いた数値解析を行い、東京湾奥に多発する青潮現象の機構解明を行った。また、海の物質循環に重要な食物連鎖について検討し、微小動物プランクトンの重要性を明らかにした。さらに、最終年度として成果のとりまとめを行った。

湖沼保全研究チームの実施している特別研究「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」は中間段階であるが、屋外実験池を用いて魚密度を変化させることにより、生態系構造の水質、物質循環に及ぼす影響の解析を行った。同時に溶存酸素、pHの連続観測データをもとに生物代謝活性を評価した。また、霞ヶ浦やその流入河川で溶存有機物の内容、動態を調べ、そのモデル化を行った。

水改善手法研究チーム、都市大気保全研究チームと交 通公害防止研究チームは共同して特別研究「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」を実施している。水質に関わる部分 としては、都市域の水質の経年変化の調査研究より水域 の N/P 比が上昇傾向にあり、生態系の不健全化を未然 に防止する上で特に窒素除去機能を有する高度処理が必 須であることを明らかにした。また、東京湾と伊勢湾の 汚濁負荷削減対策効果を比較した結果、下水道の整備率 の低い場合、BOD, N, P, の高度除去できる浄化槽整 備が大きな効果を発揮することを明らかにした。大気汚 染に関わる部分として、東京及び大阪地域における大気 汚染物質濃度立体分布の特徴をフィールド観測データを 基に調べ、さらに三次元モデルを用いた解析を行い二次 生成大気汚染と発生源との関連性を定量的に解析した。 また、大気安定度を考慮した沿道大気汚染の風洞実験を

行い、成層状態によって風速及び温度の乱れの分布が変化する様子を明らかにした。さらに、大都市を中心とした交通公害問題をより精緻に把握するためのシミュレーションプログラムと情報システムの拡充に努めるとともに、この問題を解決するための手段として公共交通、自動車交通、道路構造のそれぞれの分野における対策案を見いだすとともに一部その技術開発に着手した。

有害廃棄物対策研究チームは、本年度から新たな特別研究「廃棄物埋立処分に起因する有害物質暴露量の評価手法に関する研究」を開始した。最初の歩みとして、廃棄物処分地に起因するリスク評価を行うため、埋立地からの浸出水や埋立地汚染上壌の分析手法を検討した。また、揮発性有機塩素化合物によって汚染された上壌、地下水汚染の浄化技術の開発と評価を行った。

環境リスク評価を対象としている分野では、4つの特別研究が行われた。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。

新生生物評価研究チームは特別研究「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」を担当している。バイオテクノロジーを利用した環境保全技術、遺伝子操作生物及びその遺伝子の環境挙動を追跡する手法、及び遺伝子操作生物の影響評価手法の開発の3つの目的に向かって、組換え体の作成、組換え体の環境中での生残性の検討、マイクロコズムやライシメーターを用いた影響評価実験などを行った。

化学物質健康リスク評価研究チームは、特別研究「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」を行っており中間段階にある。有機塩素化合物を例にとり、化学物質の環境影響の総合評価手法の開発を目指して、河川での低質及び水中の有機塩素化合物の検索、検出された化合物の複合影響評価の in vitro系の試験システムの開発などを行った。

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

大気影響評価研究チームは、新たな特別研究「ディーゼル排気による慢性呼吸器疾患発症機序の解明とリスク評価に関する研究」を開始した。ディーゼル排気が気管支ぜん息やアレルギー性鼻炎に及ぼす影響とその量 - 反応関係、発症メカニズムの解明、及び呼吸器腫瘍の発症に及ぼす食事性因子の影響とその量 - 反応関係の解析などを行った。

特別研究を担当する地域環境研究グループが発足して 5年目を迎えているが、本グループは特別研究とは別に 「開発途上国環境技術共同研究」を担当する組織を平成5年度より整備しはじめており、中国における大気汚染の健康影響、韓国における水質汚染問題等についての研究が進行しはじめている。我が国国内の環境問題の経験とその対策技術が開発途上国に生かされていくものと考えられる。

以上の成果は、学術的な業績として内外から評価を得ているが、同時に環境行政の問題解決にも直接・間接に役立っているものと思う。

# 2. 特 別 研 究

# 2.1 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(最終年度)

平成3~6年度(1991~1994年度)

(研究組織)

地域環境研究グループ

統括研究官

海域保全研究チーム

水改善手法研究チーム

水環境改善国際共同研究チーム

地球環境研究グループ

海洋研究チーム

水土壤圏環境部

部長

上席研究官

土壤環境研究室

社会環境システム部

上席研究官

環境計画研究室

情報解析研究室

客員研究員 7名, 共同研究員 3名

内藤正明

○竹下俊二·木幡邦男·中村泰男

西村 修

稲森悠平

原田茂樹

渡辺正孝

相崎守弘

高松武次郎

大井 紘

近藤美則

須賀伸介

# 〔研究概要〕

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

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

本特別研究では、現場海域におけるフィールド調査.

室内実験、大型計算機による数値シミュレーション等を 総合することによって、内湾海域における水界生態系の 機構を解明するとともに、閉鎖性海域にかかわる人間活 動の影響と保全対策の評価を行うために、以下の研究課 題を実施する。

(1) 閉鎖性海域における内部生産の評価と抑制に関す る研究

海域の有機性汚濁の要因である内部生産CODについて、その値や窒素、リン削減効果を正確に評価するために、内湾(東京湾、播磨灘)の調査を行い、COD、Chl-a、TOC等の測定値相互の関連を明確にする。さらに内部生産者の構成員である微小生物群集の実態・動態を把握するため、現場海域の調査と室内実験によって従属栄養性渦ベン毛虫ー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。内湾密度流装置を用いて、温度・密度成層の崩壊にいたる過程に与える潮汐流・吹送流及び水面冷却の影響を可視化することにより、鉛直混合及び湧昇流との関連性を検討する。

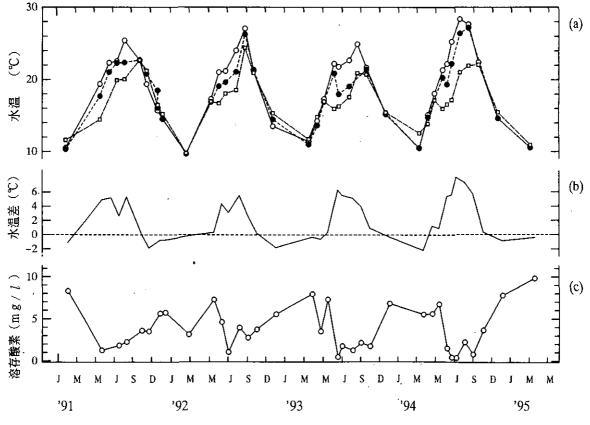
### (3) 閉鎖性海域の評価手法に関する基礎的研究

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

#### 〔研究成果〕

# (1) 閉鎖性海域における内部生産の評価と抑制に関する研究

本研究では、東京湾でも富栄養化の進んだ湾奥部で, 水質や生物の現存量の季節変化を知るために、平成3年 から6年にわたり定期的に調査を行った。茜浜沖船橋航 路横(地点A), 茜浜冲約16km(地点B), 船橋航路入 り口(地点C), 茜浜沖しゅんせつ窪地(地点D)の4 調査地点を設定し、夏期は毎月、冬期には約隔月に、多 項目水質測定器で温度・塩分・溶存酸素等を測定するほ か、表層から底層まで約4mごとに4から5層で採水し、 栄養塩濃度・光合成色素量・有機炭素量等を測定した。 調査点の内で岸から最も遠い地点Bでの水温・溶存酸素 の測定例を図1に示す。表層水温は8月から9月にかけ 最大となるが、底層の水温は9月上旬から10月に最大と なることが多い (図1a)。 夏期には、表層と底層の水 温に大きな差ができ、安定な成層を形成していた(図1 b)。安定な温度成層のため、夏期には、底層の溶存酸 素が著しく低下していた(図1c)。温度成層は、例年、 5月上旬に形成が始まっていた。また、9月中旬から10



\* 図1 東京湾北東部(地点B)における水質の季節変動

- (a) 水温変化(○) 表層0.5m, (●) 中層 8 m, (□) 底層15m
- (b) 水温差 (表層水温 底層水温) の季節変化
- (c)底層(15m)における溶存酸素の季節変化

月にかけ、表層と底層の水温の関係が逆転し、温度差が 最小になる現象が観測された。この時期には、まだ塩分 による成層があるが、この後冬季では、温度・塩分とも 上下に混合していた。温度差が最小になる9月中旬頃は、 夏期成層期の底層貧酸素水がまだ残っており、例えば風 などの影響で不安定になった成層が破壊されることで背 潮が発生しやすいのであろう。

内湾・外洋を問わず、海域の物質循環を明らかにする 上で、植物プランクトンによる有機物生産(基礎生産) の行方を明らかにすることは基本的に重要である(図 2)。こうした中で、「微小動物プランクトン」(20~200 μm) の植物捕食者としての重要性(図2, 経路A) が 近年認識されるようになった。 微小動物プランクトンは、 主として繊毛虫や従属栄養性渦ベン毛虫といった原生動 物から構成されている。このうち繊毛虫については、培 養系および現場での生態学的な知見が蓄積されつつある。 一方、従属栄養性渦ベン毛虫については、その現存量が 繊毛虫と同定度と言われているにもかかわらず、その生 態的知見は数年前までほとんどなかった。本特別研究に おいては瀬戸内海や東京湾で最もポピュラーな従属栄養 性渦ベン毛虫である Gyrodinium dominans に着目し, 1) 培養系における増殖・摂食速度の餌濃度依存性や餌 嗜好性、および2) 夏の瀬戸内海におけるG. dominans を始めとする従属栄養性渦ベン毛虫の消長と植物プラン クトンの関連を検討した。そして従属栄養性渦ベン毛虫 が富栄養化した内湾域において植物捕食者として重要な 役割を果たしていることを示した。

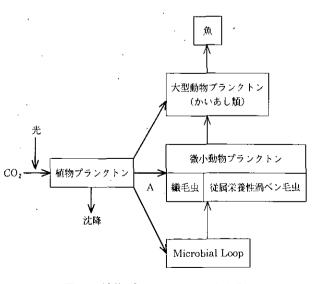


図2 植物プランクトンのゆくえ

### 1) 培養系での知見

①餌である植物プランクトンが充分存在するとき、G. dominans(30 $\mu$ m)は  $5\sim25\mu$ m程度の植物プランクトンを活発に捕食し、速やかに増殖(ca.1.4/day, at 24  $^{\circ}$ C)する。

② $G.\ dominans$ による $Nephroselmis\ rotunda$ (5  $\mu$ m)摂食速度は,餌濃度の増加と共に直線的に増大する(図 3)。しかしながら,餌濃度が  $1\times10^4/ml$  以下(現場で見られる濃度)においては,摂食速度は $G.\ dominans$ の速やかな増殖を維持するには低すぎる。また, $5\mu$ m程度のプランクトンに対する捕食圧も極めて小さい(5%/day)ことが判明した。つまり, $G.\ dominans$ は $5\mu$ m程度のプランクトン捕食者としては重要ではない。

③G. dominans による Heterocapsa triquetra (20  $\mu$ m) の摂食速度は、餌濃度に対して双曲線的に変化し、半飽和定数が200/ml, 最大摂食速度が0.6 prey/pred/ml程度であった(図 4)。これらの値から、 $20\mu$ m程度の餌のプランクトンが水中に100個体/ml程度存在すれば、G. dominans は速やかな増殖(>0.7/day)を維持でき、また、 $20\mu$ m程度の餌に対する捕食圧も大きくなって、例えば  $Gymnodinium\ mikimotoi\ による赤潮も消滅させうる可能性が示された。$ 

④G. dominansは植物プランクトン粒子のほかに、バクテリアの付着したアモルファスな物質を好む。現場に

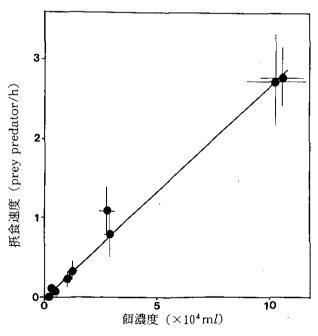


図3 Gyrodinium dominansによるNephroselmis rotundaの摂食・餌濃度依存性

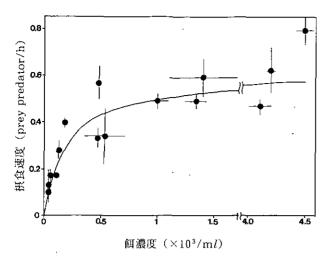


図 4 Gyrodinium dominansによるHeterocapsa triquetraの摂食・濃度依存性

おいて、 $20\mu$ m程度の餌が極めて少ないとき(<10個体/ml)彼らは、バクテリアフロックを食べて、生命を維持しているのかもしれない。

### 2) 現場での知見

1994年7月14日から8月8日まで、瀬戸内海の家島諸島において、従属栄養性渦ベン毛虫の動態を明らかにする目的で現場調査と現場実験を行った。以下にその概略を示す。

① 7月26日に Gymnodinium mikimotoi による赤 潮が発生した。赤潮は8月1日まで継続したが、1日か ら2日にかけて急速に減少した。

②赤潮の発生に伴い、従属栄養性渦ベン毛虫である Gyrodinium dominans および Gyrodinium spirale の個体数が急激に増加した(図5)。また、赤潮発生期間中、これらの従属栄養性渦ベン毛虫の体内には、G. mikimotoi 由来と思われる食胞が存在していた。

③調査期間中9回にわたって、従属栄養性渦ベン毛虫の現場増殖速度を測定した。赤潮発生期間中は>0.7/dayと高い値を示したが、発生前後では<0.3/dayであった。

④これらの結果から、従属栄養性渦ベン毛虫は赤潮の発生に伴い、餌の欠乏状態から開放されて、個体群を拡大したと考えられた。·

⑤8月1日から2日にかけての赤潮の急速な減少に従 属栄養性渦ベン毛虫による摂食がどの程度寄与している かを培養実験結果を基に見積もった。その結果、8月1 日においては、赤潮現存量の55%が従属栄養性渦ベン毛 虫によって1日のうちに摂食された。したがって、これら渦ベン毛虫は赤潮の消滅に重要な役割を果たしていると考えられた。

⑥調査期間中、従属栄養性毛虫と競合関係にあると考えられている繊毛虫の現存量は、渦ベン毛虫よりも少なかった。また、赤潮の発生によっても繊毛虫の現存量は増大しなかった。このことから、渦ベン毛虫と繊毛虫は、瀬戸内海で直接の競合関係にないのではないかと考えられた。

以上のように、本研究においては微小動物プランクトン、特に、従属栄養性渦ベン毛虫の植物捕食者としての重要性を示すことができた。内湾域における物質循環を解析して行く場合にも、今後は、微小動物プランクトンを陽に含んだモデルの開発が必要であろう。

# (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

千葉県船橋沖において、水質変化と青潮発生機構との 関連について検討するために、1991年から1994年の毎年、 大規模な青潮の発生しやすい9月下旬に4日から8日間, 集中的に調査した。本年と前年は、等深度線に直交する、 茜浜地先から南西に延びる線上に3~4km間隔で5定 点を設定し、水質の鉛直2次元分布を求めた。また、茜 浜地先にあるしゅんせつ窪地で水質等の測定を行った。 前年までに、冷たい北東風の影響で、当海域の成層が弱 まり、さらに鉛直混合が起こることが、青潮発生と深く 関連することを報告した。ここでは、アルカリ度および 全炭酸と、青潮発生海域の水質との関連につき報告する。 アルカリ度は適定法により測定し、全炭酸はアルカリ度 とpHから計算で求めた。外洋水のアルカリ度は概ね 2.2 meq/l であることが知られている。もし、アルカリ 度と塩分が保存量であると仮定すると, 東京湾内の海水 は外洋水と河川水の混合で形成されているとして、アル カリ度と塩分の間に直線関係が期待される。河川水のア ルカリ度は、降水量などで大きく変動するが、約1 meq/l 程度と考えられるので、仮にこの値を用いたア ルカリ度と塩分の関係を、図6中に直線で示す。図から、 多くの測定値がこの関係を満たすと思われるが、しゅん せつ窪地では、塩分から予想されるよりも大きなアルカ リ度の値であった。これは、窪地内で、嫌気的な有機物 の分解により、硫酸イオンが消費され、あるいはアンモ

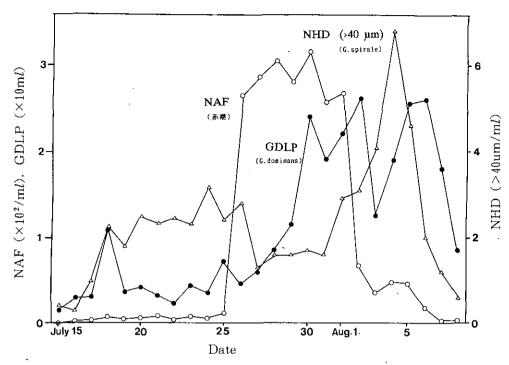
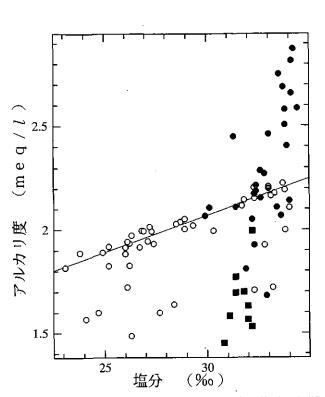


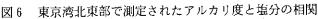
図 5 1994年夏。家島諸島におけるGyrodinium dominans赤潮(NAF)の消長と、これに伴う Gyrodinium dominans(GDLP)とGyrodinium spirale(NHD>40µm)の消長

ニアイオンが生成されているためと考えられる。青潮発生海域でのアルカリ度の値は特徴的に低い値であり、硫化物イオンの酸化など青潮発生機構と関連が深いと思われるが、確かな原因はまだ不明である。図7には、全炭酸と溶存酸素の関係を示す。光合成により有機物が生成されれば、炭酸ガスを消費し酸素を放出する。逆に、有機物が分解されれば、酸素を消費し、炭酸ガスを放出することから、全炭酸と溶存酸素には負の相関が予想される。図7に見られるように、多くの測定点でほぼ直線の関係が見られたが、しゅんせつ窪地と青潮発生海域では、この関係から大きく外れていた。窪地内では、溶存酸素がほとんどないが、有機物は硫酸還元菌などによって嫌気的に分解され、その結果全炭酸濃度が高くなっていると考えられる。

近年,富栄養化が進行した閉鎖性海域では他の水域に比較して化学的酸素要求量(COD)の環境基準の達成率が依然として低い。とりわけ、溶存酸素量(DO)は沿岸域の底層で著しく低下し、しばしば貧酸素化状態を呈することから水質の重要な指標として注目されている。平成3年度より平成6年度にわたって、東京湾北東部に4定点を設け、夏期は毎月、冬期には隔月に表層から底層まで1メートルごとにDO、水温、塩分などを測定した(図1)。DO・水温・塩分の鉛直分布は、過去4年

間とも極めて類似しており、その典型的な例として、図 8にDOの鉛直分布に見られる季節変化を示す。底層に おけるDOは5月頃から減少しはじめ、7月から10月に かけて水面下数メートルに貧酸素化がみられるとともに, 底層ではDO< 1 mg/l以下という無酸素水塊の形成が 認められた。いったん生じた貧(無)酸素水塊も台風な ど大風や偏西風が卓越する冬期になると、海水の鉛直混 合が盛んに起こり、表層から底層近傍に至る全層にわ たって貧酸素状態が解消される。一方、水温と塩分の鉛 直分布の季節変化を調べた結果、夏期に形成された水温 と塩分成層の間には、良い逆相間がみられた。これら両 成層は11月頃から崩壊し、DOの鉛直分布(図8)と同 様に、表層から底層までほぼ一様な分布を示すことが分 かった。すなわち、水温・塩分成層がみられない晩秋~ 冬期の水中のDO は浮遊状の懸濁態有機物や底泥中の堆 積有機物が分解する際に消費されても、表層付近の豊富 な酸素を含んだ水塊と混合することで、適切な濃度に維 持されている。しかし、初夏から日照時間の増加と気温 の上昇に伴い、海水温は表層から次第に上昇しながら温 度成層の発達が始まる。一方、梅雨期には降水量の増加 に伴い、東京湾河口域の塩分は冬期に比較して大幅に低 下する。このため、沿岸域の表層は高温かつ低塩分に、 底層は低温・高塩分の安定成層流が形成され、流体(海





- (●) 浚渫窪地で溶存酸素が 1 mg/ l 以下になる層での値,
- (■) 青潮発生海域での値、(○) 前記以外の海域での値

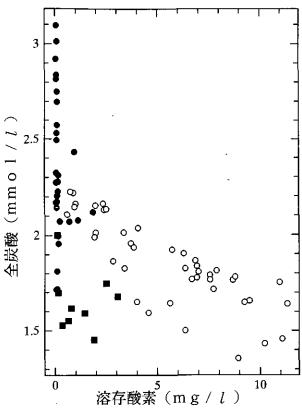


図7 東京湾北東部で測定された全炭酸と溶存酸素の相関

- (●) 浚渫窪地で溶存酸素が1mg/l以下になる層での値,
- 【■)青潮発生海域での値,(○)前記以外の海域での値

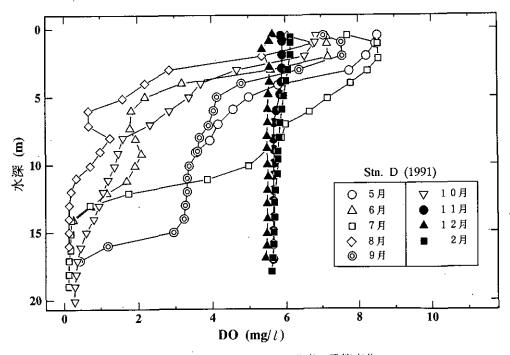


図8 東京湾奥における溶存酸素の季節変化

水)の密度差による浮力は流体の鉛直運動を抑制する方向に作用する。夏期になると、水温・塩分成層はさらに 発達して上下層の水温差及び塩分差の増幅を誘起する。 底層が貧酸素化を経て無酸素状態に移行するメカニズム は大略以上のように説明される。

一方, 定期調査とは別に, 1991年から1994年にかけて

青潮発生期(9~10月)に東京湾奥の集中調査を行った。その結果、青潮発生前後に観測される水温・塩分の成層構造は夏期に発達、冬期に崩壊という季節変化のパターンと酷似していることが確かめられた。その一例として、図9に青潮発生前と発生中の水温・塩分の鉛直分布を示す。発生前には、底層と表層の水温差は約11℃、塩分差は6‰の強い成層の発達が認められるが、発生中は水温数℃、塩分数‰に縮小され、成層の崩壊がみられる。他方、この時のDOの鉛直分布を調べると、青潮発生前に存在していた貧・無酸素水塊は発生中には上層に湧昇し、表層付近まで貧酸素化していることが分かる(図10)。

東京湾の青潮現象は、これまで離岸風に伴う吹送流に抗して発生する補流が底層の貧・無酸素水塊を湧昇させて起こるといわれている。しかし、過去の青潮発生事例について、発生因子、発生条件などを解析した結果、水温・塩分成層の崩壊が単なる補流という流動現象を考えるだけでは不十分であることが明らかになった。そこで、東京湾での青潮発生時は、北偏風が連吹し、気温の降下と表層水温の低下を伴うことから、無酸素水塊の湧昇を、運動量(吹送流、離岸流、補流、湧昇流)、熱および物質(塩分)の同時移動現象としてとらえ、1)現場調査、2)室内実験、3)シミュレーションモデルによる数値解析を行った。

### 1)海面における熱収支

海面での熱流方向を調べるために、①太陽から受ける

放射熱,②海面から大気中への放射熱,③海水の蒸発による潜熱,④海面での顕熱を、それぞれ気温、湿度、気圧、日射量、雲量、風速、水温、水蒸気圧などの観測値を用いて求めた。結局、海面の熱流束(Q)は、Q=①-②-③-④によって算出することができ、Q<0では海面冷却、Q>0では海面加熱が行われる。一般に、海面における熱移動量は春~秋が大気から海洋に向かう量が多く、冬~早春は逆に海洋から大気に向かう量が多い。

1993年9月20~23日の青潮発生時を中心に、前後4日間の海面での熱流束の計算結果を図11に示した。9月18日に南寄りの暖かい風によって海面は正味350cal/c㎡/dayの受熱があるが、19日からの北偏風への転向に伴って、受熱量が減少しはじめ、21日には放熱量が受熱量を上回った。この海面での放熱現象は、再び南偏風に転向(24日)するまで続いた。特に、22日の青潮最盛時の熱流束は最小値を示すとともに、海面冷却による自然対流の発生と、それに基づく鉛直混合流の誘因となっていることが推察できる。

### 2) 室内実験

内湾で形成された水温と塩分の成層はどのような条件下で崩壊していくのかを明らかにするために、内湾密度流装置を使った室内再現化実験を行った。本装置は内湾模擬部(水路:深さ0.7m、幅0.5m、長さ4m)、外洋模擬部(水槽:深さ1.3m、縦1.5m、横1.5m)から構成されており、水路と平行に離岸風または向岸風を連吹

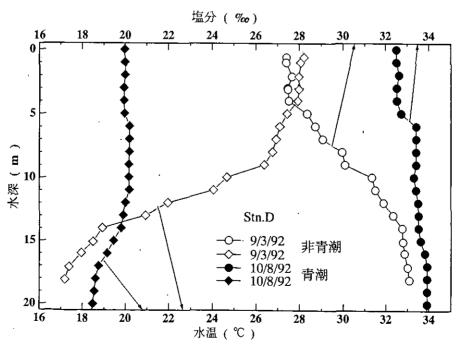


図9 東京湾奥における青潮・非青潮時の水温・塩分鉛直分布

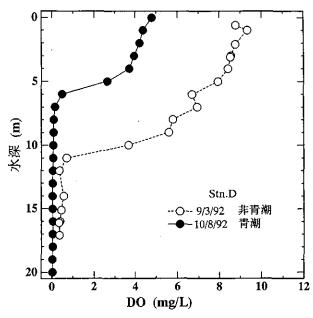


図10 東京湾奥における青潮・非青潮時の 溶存酸素鉛直分布

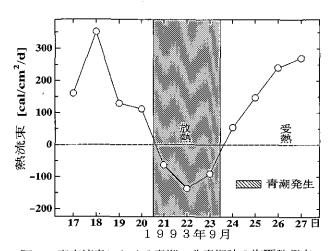


図11 東京湾奥における青潮・非青潮時の海面熱収支

するための風洞が装備されている。実験は、従来の背潮発生事例で観測された気象条件を設定して行った。初期条件として、内湾部の水路内に青潮発生前の温度・塩分成層を形成させた。一方、離岸風の条件として、風洞の気流温度を海水温度より4~6℃低く、また風速を4m/sと8m/sに設定した。初期に存在した温度成層が離岸風の連吹を受けると、数時間後に崩壊し、表層(水面)から底層まで一様な水温となることが分かる(図12)。他方、塩分成層についても同様に成層崩壊がみられ、水面から低面まで均一な塩分分布となっている(図13)。これまでに得られた青潮発生前後における東京湾観測結果をこれら室内実験によって検証することができた。

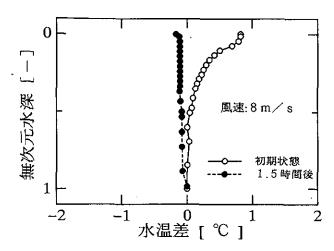


図12 青潮発生時の気象条件における装置内水温鉛直分布

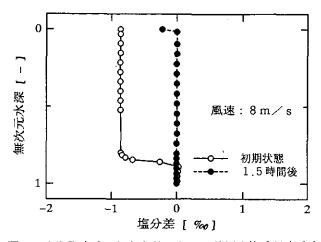


図13 青潮発生時の気象条件における装置内塩分鉛直分布

青潮発生メカニズムの解明に重要な成層崩壊過程を詳細に検討するために、水路内流れの軌跡を可視化した。 内湾奥部に存在する底層の水塊(写真1)は、湾中央部から湾奥に向かう流れに同伴して、最奥部では湧昇流となって水面に輸送されることが確認された(写真2)。 このとき、表層付近では、水面冷却によって生じた冷水塊が下降流となり、次第に鉛直混合範囲を拡大させながら、やがて湧昇流を伴った鉛直循環流が形成される様子も観察された。

### 3) シミュレーションモデルによる流れの解析

青潮発生時は、湾奥の沿岸部で鉛直流れが支配的になることから、鉛直 2 次元流動モデルを作成し、流向・流速と塩分(密度)分布を求めた。図14は、図12、図13の実験条件と同一の条件を与えたときの数値計算結果例である。本図は内湾密度流装置内のフローパターンを示したものであり、全体として上層では離岸流が、下層では

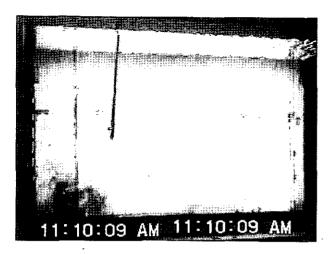


写真1 装置内流れの可視化(湧昇流発生開始)

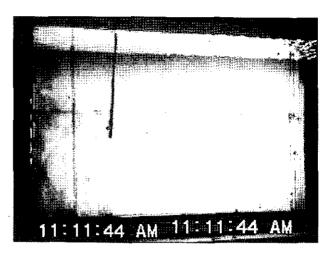


写真 2 装置内流れの可視化 (湧昇流発生中)

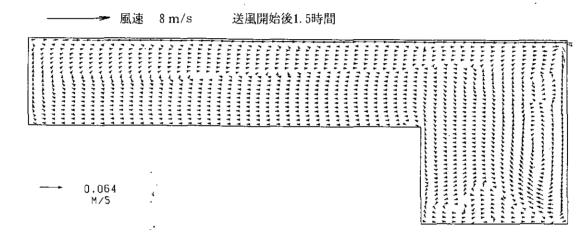


図14 鉛直2次元モデルによる装置内の流向・流速の数値計算結果

逆向きの向岸流がみられる。さらに、向岸流は湾奥で湧 昇流となって上層に移動しており、実験結果と同様な鉛 直循環流の形成が確かめられた。

### (3) 閉鎖性海域の評価手法に関する基礎的研究

ある海域が富栄養化によって汚染したからといって、一般の人々がその状況を汚染質の濃度値や生態系の変容によって認識するわけではない。環境を管理する行政の立場からすれば、海域の汚染質に着目してその値の時間空間変化を追求し、あるいは生態系の様子を解明することは当然に重要な任務になるが、それぞれの海域がその周辺に住む人々にとっての環境を構成する要因である以上、一般の人によって海域がどのように受け止められているかが問われなければならないだろう。

海域の社会的価値の評価というと、水産資源としての価値, リクリエーションの場としての価値, あるいは景

観価値が考えられるであろう。ここでは、このように項目を挙げてその価値を検討するのではなく、直接に、近辺住民に海域についてどのように考えているかを尋ねることにして意識調査を行った。調査にかかわる具体的海域としては、環境の保全上問題の認められていることや他のサブテーマとの共通性を考慮して、東京湾を選んだ。

意識調査のためには研究分担者らの開発してきた自由 連想法を用いた。この方法では、調査対象者にある刺激 語、この調査では「海」「東京湾」「東京湾横断道路」を 順次示して、それぞれから連想することを単語、句、文 いずれの形を問わずになるべくたくさん回答してもらう。

調査対象地域は次のとおりである

- ①木更津市の東京湾の沿岸北部 (小櫃川以北)
- ②川崎市川崎区の東京湾の沿岸北部(高速神奈川1号線 横羽線以東、櫻堀運河以北)
- ③木更津市内で東京湾から15~20kmの内陸部

④川崎市内で②にある京浜運河から15~20kmの内陸部 (高津区の溝口および二子)

これらのうち、①は自然海岸の近くの農漁村として選ばれ、一方、②は海岸の近くの工業地帯における住宅地として選ばれている。③と④とはそれぞれ①と②との後背地であって、同一市域内にあるものとして採った。③は、静かな農村地帯であり、水田地帯から房総半島の丘陵部へと広がっている。④は、東京への通勤電車の便もいい典型的な住宅地である。

以後, ①~④の各地域を, 木更津西, 川崎, 木更津東, 高津と呼ぶ。

各地域に約600票の調査票を送り、約40%の有効回収 率を得た。

このように文をはじめ多様な形で記述された回答を分析するために、以下のようなデータ解析を行う。そのために、得られた回答のうち、句と文章は単語に分解し、分解後は意味を持たなくなる助詞などの語は除いたのち、もともと単語の形として回答されたものと合わせて語の集合をつくる。その際、同義語の統合などの整理を行う。このようにして得られた語を連想語という。

まず、連想語の調査地域ごとでの出現頻度と頻度順位 を検討することによって、興味深い結果が得られる。

また、連想語を調査地域ごとにクラスター分析をすることによって、住民の地域ごとの東京湾についての主題や主題にかかわる概念が見いだされる。クラスター分析のための類似度は、概略として言えば、ある二語の対を考えたときに、

「共通した回答者によって記述される割合の大きい語 同士は類似度が大である」

とするものである。ここで、共通した回答者によって 記述される割合というのは、考えている語の対の少なく ともどちらかを記述した回答者の中での割合のことであ る。このようにして分けたクラスターの中の語同士は、 ある何人かの回答者が比較的高い頻度で用いた語である ので、その人々にとっての共通の主題に関係し、そのク ラスターがその主題ないしは主題にかかわる概念を表す と考えられる。

以下では、3つの刺激語のうち「東京湾」についての 連想を中心にして述べる。

「東京湾」についての連想語の頻度分析の結果の機略 は次のとおりである。

連想語としてゴミ、汚れ、汚染について(以下、連想

語には下線を引く)が、4地域のすべてで20位以内に入 る。我々は少なくとも「現にいま在る」東京湾がこのよ うな連想を人々に引き起こすものだということを認めな ければならない。それが、首都圏における身近な海の主 要なイメージの現実である。なお、汚れ、汚染の2語に 限っていえば、東京湾からより離れている高津と木更津 東の方が頻度順位は上である。これを、実際に見た経験 に基づかない連想によるものが多いと考えるのなら、こ こに東京湾に対するひとつの思い込みを見いだすことが できるかもしれない。周辺住民の意識を問題とするとき に留意すべき点である。さらにいえば、汚染していると 思い込まれると、浄化が行われてもイメージの回復が伴 い難いことを示唆する。<u>ヘドロ、狭い</u>についても、それ ぞれ両岸で東京湾に近い地域の方で順位が低い。埋<u>め立</u> ての順位が高かったが、東京湾の湾奥部の海岸線があら かた埋め立て地になってしまったことから当然ともいえ よう。木更津西でだけはその海岸線が埋め立て地となっ ていないことによるであろうが若干順位が低い。

このような開発と汚染にかかわるイメージが持たれている一方、海苔、魚、潮干狩といった自然の産物あるいはそれとのかかわりについての語が4地域すべてで上位20位以内に入るのも現実である。また、木更津市からは対岸に位置することになる富士山を木更津西の人々、ついで木更津東の人々はよく連想する。この連想は、海域の景観保存を考えるときかなりの遠景までを考慮に入れなければならないことを示している。

さて、昔なる語は距離的に東京湾に近い調査地域の方が頻度が目立って高い。過去と現在の実際を知っているものの方が、切実に時代の差を感じうるのであろう。

つぎに、「東京湾」についての連想語のクラスター分析の結果について述べる。それは、木更津西とその他の3地域との間の対照的な意識の差を示す。

まず、きたない、くさい、汚れなどの汚染にかかわる語を含む「汚染に関するクラスター」とでも呼ぶべきものが、木更津西以外の地域では見いだされる。また、海苔、横断道路、埋め立て、コンビナート、羽田空港、フェリー、潮干狩、釣りなど東京湾における海産物、開発、工業、交通、遊びなど約言すれば産業やレジャーにかかわる語が見いだされる「産業のクラスター」と呼ぶべきものも同様である。

一方木更津西では、海産物を通して成り立っている生活のクラスターを見いだすことができる。すなわち、海

<u>産物に関する海苔、あさり、かれい、はぜ、あおやぎの</u> 5 語と潮干狩、簀立てが集まったクラスターが見いださ れる。潮千狩と、簀立てはこの辺の人々にとってはレ ジャーに来る人達から生活の糧を得る方法の一つである。 また、このクラスターよりも大局的かつ概念的に漁業に よる生活の場としての東京湾をイメージしているクラス ターも生じた。さらに、その東京湾の自然が開発によっ て失われて行くことについての危惧を表しているクラス ターも見いだされる。そのクラスターにある死は、「東 京湾が死ぬ」「死の海」などという形で記述されている ものである。東京湾に直面し、そこで生活を立てている 人々のもたらす鋭さであろう。表現の用語としては、汚 染とか汚れとかいう概念的な語を用いずに、象徴的な表 現をとっているわけである。ここにも、環境破壊のとら え方に地域間で感性的な相違があることが分かる。この ように、クラスター分析によって、4地域のうちでの沿 岸で漁業者の多い木更津西の特異性が鮮明に分離できた。

また、「東京湾」の連想とそれ以外の刺激語のひとつの「海」の連想とを比較すると、基本的に東京湾はその固有性において連想されることが分かる。このことは、東京湾が単に海辺一般として周辺の住民にイメージされているわけではないことを物語る。つまり、湾内は商工業用地として開発してしまうけれども、その利益から周辺住民が外洋を訪れる費用を捻出するなら補償をしたことになるとか、埋め立てた面積と等価の面積を新たに海

水面として作り出せばいいというミティゲーションの考え方とかは、人々の感性からはかけ離れた論であることを示している。海域の価値を経済価値に還元して比較することを、この調査の結果は拒否する。

さらに、もう一つの刺激語「東京湾横断道路」の連想の示すところは、まずそのもたらすであろう利便性や渋滞解消と交通事故や公害や新たな渋滞である。それに加えて、自然破壊や環境破壊や変化への不安を指摘している。また、木更津市側では地価高騰が恐れられていて、開発が本質的にもたらすこの困難な事態に住民が不安を持っていることを示している。それに対して、川崎市側では、経済なる語の連想が見いだされ、両岸での横断道路に対する評価の視点の相違を示している。また、周辺道路という連想は、道路網がシステムとして計画・構成されなければならないことを住民はよく知っているとともに、開発に関して波及影響に住民が敏感なことをも示唆しているといえよう。

東京湾は周辺住民にとって、汚染した海域として、また、種々の産業やレジャーの場として認識されていると同時に、独特の海産物をもたらす海としても認識されていることが分かった。決して、周辺住民は東京湾に背を向けてしまったわけではない。また、沿岸の漁民にとって、東京湾は生活実感に密着した場であって、彼らは東京湾をその他の周辺住民とはかなり違ったイメージで見ていることも分かった。

## 2.2 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

新生生物評価研究チーム

水環境改善国際共同研究チーム

水土壤圏環境部

水環境質研究室

水環境工学研究室

土壤環境研究室

生物圈環境部

環境植物研究室

環境微生物研究室

分子生物学研究室

客員研究員 40名, 共同研究員 6名

中杉修身

○近藤矩朗・佐治 光・中嶋信美・岩崎一弘 稲森悠平・高木博夫・水落元之

矢木修身・内山裕夫・冨岡典子

今井章雄

向井 哲・服部浩之

大政謙次・名取俊樹・清水英幸

渡邉 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る一方、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ば す影響に関する研究および手法の開発はこれまでほとん ど行われていない。

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

以上の目的を達成するために、以下の課題を設定して 研究を進める。

- (1)環境保全のための遺伝子の探索と活用に関する研究
  - 1) 有用遺伝子の探索と有用生物の作成

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

2) 遺伝子組換え体の検出用マーカーおよび検出法の開発

上記1)の研究を通して得られた有用生物にマーカーを付与し、その検出技術の開発を行う。すなわち、マーカーの導入手法の確立、マーカー付き生物の環境中から

の検出手法の確立を図るとともに、マーカーの検出感度、 精度、安定性、利用可能な宿主の範囲等を明らかにする。

- (2)環境中における遺伝子組換え生物およびその遺伝 子の挙動に関する研究
- 1) 外来遺伝子の環境中での挙動に関する研究

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

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

2)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、生残性に及ばす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、移動性に及ばす生物的・土壌的因子をモデル解析と基礎的実験により解明する。

3) 環境中での組換え植物の利用に関する研究

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

- (3) 遺伝子組換え生物の生態系への影響に関する研究
- 1)制御実験系を用いた組換え微生物の各生物相に及ぼす影響の解明

フラスコレベルでのマイクロコズムを用いて、組換え 微生物の一般細菌、脱窒・硝化菌、グラム陰性菌、糸状 菌等の微生物、原生動物、藻類への影響、および呼吸活 性、各種酵素活性等への影響を調べ、その影響要因を明 らかにする。また、微生物、原生動物、藻類を組み合わ せた水圏生態系の標準マイクロコズムシステムを確立し、 組換え微生物の各生物相に及ぼす影響を解明する。

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

### 3)環境影響評価手法の確立

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

### 〔研究成果〕

- (1)環境保全のための遺伝子の探索と活用に関する研究
- 1) 大気汚染耐性植物の作成

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、植物が持っている活性酸素消去系酵 素が、植物の大気汚染ガス耐性に重要な役割を果たして いると考えられている。私たちは、このような酵素のう ち、アスコルビン酸ペルオキシダーゼ(APX)とグル タチオンレダクターゼ(GR)に注目し、それらの役割 について遺伝子レベルでの解析を行っている。本年度は, まずシロイヌナズナから単離したサイトゾル型APX遺 伝子をタバコに導入し、得られた組換え植物の大気汚染 ガス耐性を調べた。組換え植物の中には対照の非組換えご 体の5~10倍の葉中APX活性を示すものがあったが, これらの植物と対照の植物との間で大気汚染ガスの二酸 化硫黄(SO<sub>2</sub>)やオゾン(O<sub>3</sub>)に対する耐性に有意な 差がみられなかった。したがって少なくとも私たちが用 いた材料及び条件下において、サイトゾル型APXは、 大気汚染ガス耐性の律速因子とはなっていないことが分 かった。一方、私たちは大腸菌GR遺伝子を樹木のヤマ ナラシに導入し、大腸菌GRを細胞内のサイトゾルまた は葉緑体中に持つような組換え植物を作成した。その大 気汚染ガス耐性を調べた結果,これら2種類の組換えヤ マナラシは、ともに、対照の非組換えヤマナラシに比べ, 高いSO₂耐性を示し(図1),一方O₃耐性にははっきり とした差が観察されなかった。したがって、GR遺伝子

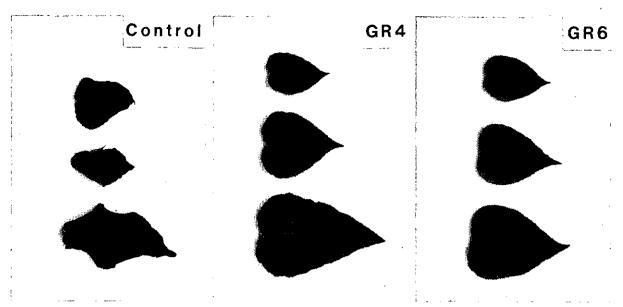


図1 大腸菌GR遺伝子を導入したヤマナラシのSO。耐性

組換え体及び非組換え体ヤマナラシを光照射下で 1 ppmの $SO_2$ と 5 時間接触させ、

翌日これらの植物から葉を採取して写真撮影した。

Control: 非組換え体、GR4、GR6: 大腸菌GRをそれぞれサイトゾルまたは

葉緑体に持つ組換え体

が、SO₂耐性の高い街路樹などの育成に有効であること が示唆された。

# 2) 大気汚染による障害におけるエチレン生成の関与 とACC 合成酵素の遺伝子のクローニング

 $SO_2$ や $O_3$ と接触させた植物体内でエチレン生成が増大した。特異的阻害剤によってその生成を抑えると植物のこれらの汚染ガスに対する耐性が増加することを示し、エチレンが植物の大気汚染ガス障害と深くかかわっていることを明らかにした。さらに、このエチレン生成が主として ACC 合成酵素の活性上昇によってもたらされることを明らかにした。したがって、ACC 合成酵素の活性を制御することにより、植物の大気汚染ガス耐性を変化させることができると予想される。そこでこの酵素の遺伝子の単離を試み、トマトの cDNA ライブラリーからこの酵素の cDNA クローンを単離した。

### 3)組換え微生物の作成と諸性質

各温度での Pseudomonas putida PpY101における水 銀マーカーを組み込んだ組換えプラスミド pSR134 の保 持率を比較検討した(図 2)。10℃ が最も安定性が高く 7 日後でも 90%以上の歯がプラスミドを保持していた。さ らに各種組換え体 P. putida PRS2000, P. fluorescens LB303, P. aeruginosa PAO1, Escherichia coli HB

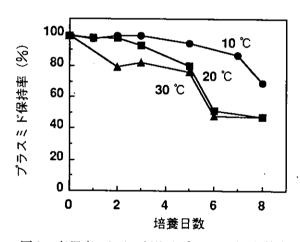


図2 各温度における組換えプラスミドの保持率

101. Klebsiella oxytoca R16 を栄養培地で増殖させ、 世代数と組換えプラスミド安定性との関係を求めた(図 3)。安定性は宿主により大きく異なることが示された。

# (2)環境中における遺伝子組換え生物及びその遺伝子 の挙動に関する研究

1) 土壌系マイクロコズムにおける組換え微生物の挙動

水銀マーカーを導入した組換え微生物の生残性に及ぼす土壌の種類の影響を調べた。500ml 容深型シャーレに黒ボク土壌および砂質土壌を充てんし、これを土壌系マイクロコズムとした。これに組換え体(P. putida PpY

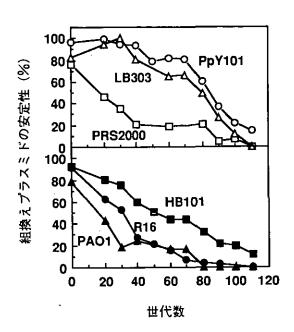


図3 各種宿主における組換えプラスミドの安定性

101/pSR134) および非組換え体 (P. putida PpY101)を10<sup>7</sup>生菌数/g 接種し、その生残性を比較した(図 4)。組換え体、非組換え体とも黒ボク土壌においては試験期間を通じて穏やかな減少を示した。また両者の生残性に大きな違いは認められなかった。一方、砂質土壌では 4日後に急激に死滅したが、その後は非常に穏やかな減少を示した。また組換え体の方が非組換え体に比べてやや早い速度で死滅することが認められた。

### 2) 微生物の土壌中での移動に関する計測法の検討

土壌に散布された微生物の土壌中での移動性を評価し、また、移動・拡散現象を微生物特性および土壌特性との関連においてモデル化するためには、微生物細胞と土壌粒子の吸着特性を明らかにする必要がある。本年度は、バッチ系において細菌細胞の土壌粒子への吸着定数を測定する方法を検討した。すなわち、テフロン製三角フラスコ中において供試細菌細胞(Pseudomonas sp. TR -44株)と砂質土壌を混合、吸着させた後、土壌粒子と遊離した細胞を遠心分離法により分離し、吸着した細菌細胞数を蛍光顕微鏡によって計数することを試みた。その結果、30~40%W/Vのしょ糖液を用いた密度勾配法

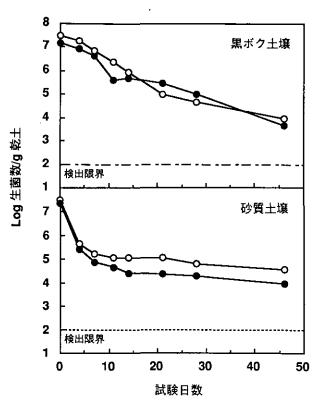


図4 各種土壌中における組換え体の生残性 ● : 組換え体, ○ : 非組換え体

により遠心分離を行うことにより、無機粒子と細菌細胞が良く分離されることが明らかになった。また、吸着平衡に達するまでの時間が24時間以上では細菌の計数率が低下するなどの問題点が明らかになった。

## (3) 組換え微生物の生態系への影響

# 1) 土壌マイクロコズムにおける影響評価試験

500ml 容深型シャーレに黒ボク土壌および砂質土壌を充てんし、これを土壌マイクロコズムとした。これに 10<sup>7</sup>生菌数/gの組換え体 (P. putida PpY101/pSR134) および非組換え体 (P. putida PpY101) を接種し、一般細菌、糸状菌に及ぼす影響を検討した。組換え体接種、非組換え体接種および対照として無接種のマイクロコズム土壌の微生物数を比較した(図 5 . 6 )。試験期間を通じていずれの微生物数に及ぼす組換え体、非組換え体接種の影響は認められなかった。

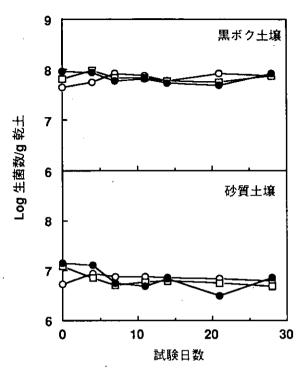


図 5 各種土壌中の一般細菌に及ぼす組換え体の影響 ○;組換え体接種.□;非組換え体接種.●;無接種

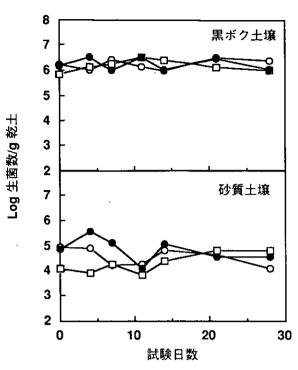


図 6 各種土壌中の糸状菌に及ぼす組換え体の影響 ○;組換え体接種,□;非組換え体接種,●;無接種

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

平成3~7年度(1991~1995年度)

〔研究組織〕

生物圏環境部

部長

生態機構研究室

環境微生物研究室

分子生物学研究室

社会環境システム部

情報解析研究室

地域環境研究グループ

有害廃棄物対策研究チーム

化学物質生態影響評価研究チーム

客員研究員 8名

「研究概要)

湿原・湿地は多様な環境を形成し、多様な生物の生息の場を提供していることから、現在、その保全や生物的多様性の保全が国際的な関心事となってきている。湿地の中でも湿原は過湿なために泥炭を形成し、泥炭地とも呼ばれている。地理的には北緯50度から70度の間に世界の湿原の90%以上が分布し、日本はその分布域の南端に位置すると言える。

湿原は、かつては農地や宅地等の有用地に転換することが急務であった不毛の地であり、古くから人々の住み着いた本州、四国、九州については、失われた湿原面積を推定することすら難しい。その湿原もいまや保全上最優先すべき生態系となりつつある。しかし一方で、保全すべき湿原生態系の特性が十分に明らかにされていないという大きな問題がある。この特性を把握し、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いる。研究課題は以下の3つ であり、課題(3)はまとめを兼ねている。 ○岩熊敏夫

野原精一・上野隆平

渡邉 信・野崎久義・広木幹也

田山 淨

山形与志樹

平田健正

花里孝幸

### (1) 湿原の変遷とそのモニタリングに関する研究

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

### (2) 湿原生態系の特性に関する研究

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

#### (3) 湿原生物群集の変動要因に関する研究

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

#### 〔研究成果〕

前年度に引き続き、福島県の宮床湿原(海抜約 830m,面積 6.5ha),赤井谷地湿原(海抜約 525m,面積 43.6 ha),福島・群馬・新潟の 3 県にまたがる尾瀬ヶ原(海抜約 1400m,面積 760ha)及び北海道の釧路湿原(海抜1.5~8 m,面積 18.290ha)で調査を行った。

### (1)湿原の変遷とそのモニタリングに関する研究

#### 1) 観測井戸の特性と土壌水分との関連-宮床湿原

ミズゴケ泥炭地でのモニタリング手法特に観測井戸の持つ意味を検討するため調査を行った。宮床湿原には中央を小さな水路が通り、東側にはヨシが生育し西側にはほとんどない(図1)。湿原周囲にはハイイヌツゲの低木を中心とする低木帯が存在する。そこで標高はほぼ同じで植生を異にするように湿原を東西方向(短軸)に横切る185mの調査線上の10mごとに調査地点を設定し、50、100cm深のピエゾメータ(先端のみ開いている水位観測井戸)、50cm深のピットホール(全面メッシュでできた井戸)、10、30cm深の土壌水分センサーを設置した。5、6、8、9月に各地点でピエゾメータ水位、ピットホール水位、土壌水分、表層間隙水のpH、ピットホールにおけるpH・溶存酸素濃度・水温等を測定した。また同調査線上の精密な植生調査を行った。

ピットホール設置直後の水位上昇が東側の地点では速 やかであったが西側では遅かった。 ピエゾメータの水位

の上昇の仕方に4つのパターンが見られた(図2)。水 路に近い地点ではほぼ一定の高水位を示し、透水系数が 大きい。緩慢な水位上昇を示したのは湿原中央から西側 に多く、透水系数が小さいことを表していた。中央の水 路近傍の地点と東側ブッシュ内で 50cm ピエゾメータ水 位より100cmの方が水位が高かったことが一時期あり、 上向きの流れが観測されたが、それ以外は垂直下向きで あった。土壌水分は水路を除く中央部で少なく、西側の ブシュ付近や東側150m付近で少なかった。土壌水分と ピエゾメータ水位の相関は設置当初には良くなかったが、 9月には相関が良くなった。ピットホールの水位は土壌 水分と設置当初から相関が良く、土壌水分の簡易測定と してはピットホールの方が良いことが分かった。5月~ 9月のピットホール水温は13~22℃で中央部が比較的高 く、表面地温に比べ低温であった。ピットホールのpH は 4.2~6.1 で地点による違いが大きかった。それに対 し、ポーラスカップで採取した表層約10cmの土壌間隙 水のpHは5~6.1で場所による違いが小さく、ピット ホールpHよりもより中性に近かった。間隙水を採取す る深さでpHが異なると考えられ、pH環境のモニターに は採取する深さが重要であると考えられた(図3)。

2) 観測井戸の特性と土壌水分との関連ー尾瀬ヶ原 尾瀬ヶ原の中田代では西北西-東南東方向の50m間隔 に10地点,これと交差する北東-南西方向の50m間隔に

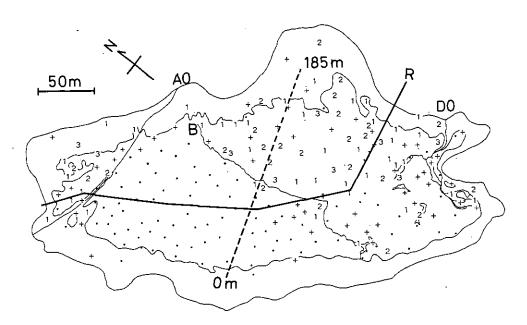


図1 宮床湿原におけるヨシの分布とライントランセクト 数字は優占度を示す。A0, D0は湧水を示し、Bは中央を流れ る水路を示す。Rは木道、破線はライントランセクトを示す。

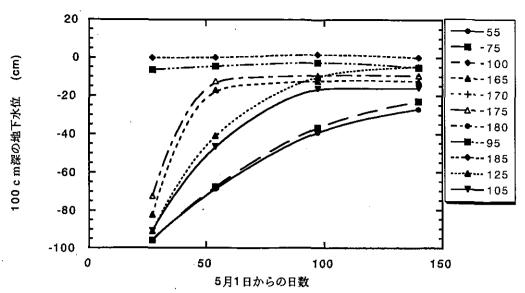


図 2 宮床湿原における観測井戸(ピエゾメータ)の地下水位の変化 凡例の数字はライントランセクトの位置を示す。

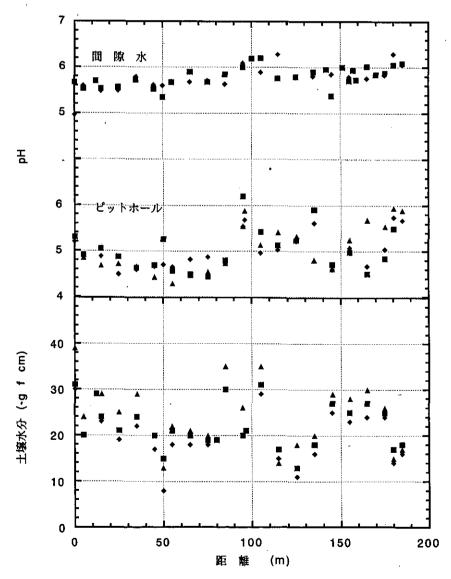


図3 宮床湿原における間隙水とピットホールの pH と土壌水分の分布 , 6月(■), 8月(◆), 9月(▲)

16地点,合計26地点に観測井戸を設置し、地下水位の変動を観測した(図4)。塩化ビニル管を泥炭中10cm,20 cm.30cm,45cm,50cm,80cmの6段階の深さに差し込み、ピエゾメータ方式で地下水位を観測した。10、20、30cm深さの井戸と45、50、80cm深さの井戸では地下水位の挙動が異なり、30cmまでの深さでは地下水面に到達していないことが多かった(図5)。

尾瀬ヶ原中田代の同じライントランセクトに沿って、TDR (Time Domain Reflectometry) 土壌水分センサーにより表層20cmまでの水分含量を測定した。低層湿原(フェン)では土壌水分含量はほぼ100%、高層湿原(ボッグ)では80~100%を示したが、ヤマウルシやヤマドリゼンマイの生育する泥炭土壌地点では25~65%に減少していた(図 6 )。この水分は45、50、80cm深さ

のピエゾメータの地下水位に対応して増減している傾向 が見られた。

# 3) 湿原地形と航空機搭載スペクトルイメージャによる湿原の観測ー赤井谷地湿原

赤井谷地湿原は全体がドーム状にミズゴケ泥炭地が盛り上がった形状をしている。周辺の土地は水田に利用されている。この湿原で50m間隔の格子状の地点について、光波測量器で高低差測量を行い地形図を作成した。この湿原は高低差約2.5mのドーム状にミズゴケの堆積した湿原で、中央部は北西に偏っていることが明らかにされた。そしてかつて開墾された湿原西側と北側の水田が、湿原の西側と北側を切り取った形状を呈していた(図7)。

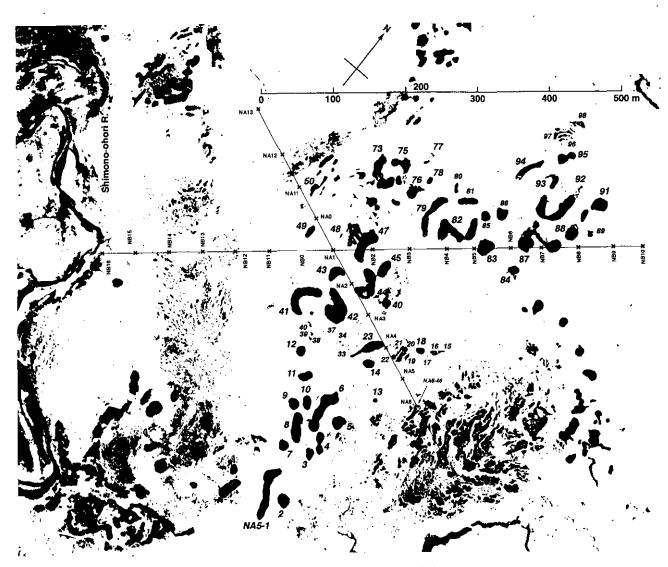


図 4 尾瀬ヶ原中田代湿原における観測井戸の設置地点 西北西 - 東南東方向のライントランセクト NA に沿って約 50m 間隔の10地点、 北東 - 南西方向のライントランセクト NB に沿って約 50m 間隔の17地点に井 戸を設置。NA 1 と NB 1 は共通。

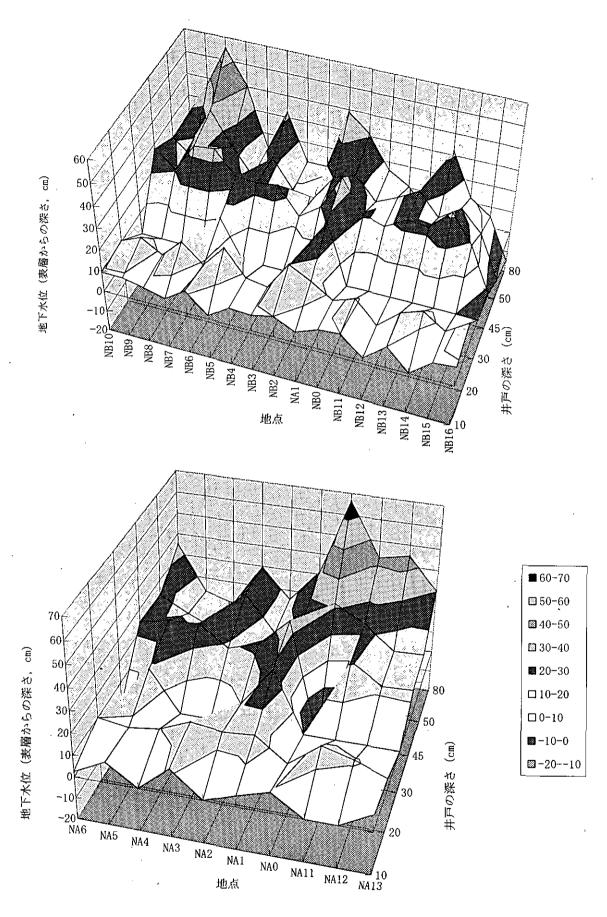


図 5 尾瀬ヶ原中田代湿原における観測井戸(ピエゾメータ)の地下水位(1994年10月17日) ピエゾメータは、10cm、20cm、30cm、45cm、50cm、80cmの6深度。 上段:ライントランセクト NB;下段:ライントランセクト NA

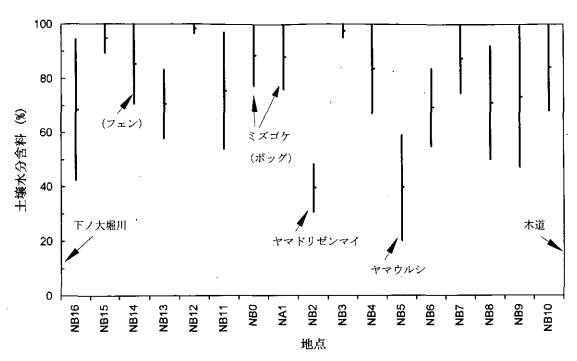


図 6 尾瀬ヶ原中田代湿原のライントランセクトNAにおける土壌水分分布(1994年9月16日) TDR土壌水分センサーによる 5 回の測定の最大・最小・平均値を示す。

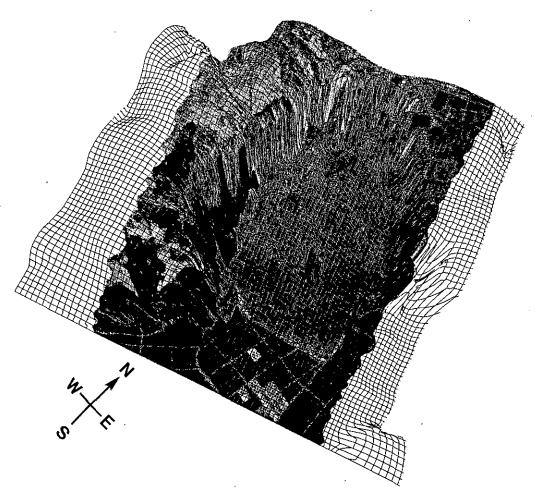


図7 赤井谷地湿原の地形と航空機搭載スペクトルイメージによる画像情報 湿原南と西の水田は湛水している。湿原北部に水分の多い地域が見られ、湿原西南 部は水分含量が低いと考えられる。メッシュサイズ=50m

1994年 6 月に、対地高度 1600m、速度 90ktで飛行する航空機に搭載したスペクトルイメージャ (CASI) により、南北(進行方向)に2.2m、東西(進行方向に直角)に1.9mの分解能で可視から近赤外までのバンドの赤井谷地湿原の画像を記録した。この画像から湿原植生と水分含量を分類する目的で、湿原内の代表的地点(トレーニングエリア)の植生と土壌水分含量を現地で記録した。図7の地形図には疑似カラー図を重ね合わせて表示してある。西側の休耕田を含め、湿原の境界部で土壌水分の低下が認められている。

## (2)湿原生態系の特性に関する研究

### 1)湿原への雨水と河川水の影響ー釧路湿原

釧路湿原はヨシ, スゲ, ハンノキの植生が多い泥炭地 湿原であるが、ほぼ湿原中央の赤沼周辺にはミズゴゲ湿 原が島状に存在し、周囲には温根内川が流れている。赤 沼から温根内川まで約400mの距離がある。ミズゴケ湿 原とヨシースゲ湿原の生態系の特性を調べるため、5月 から10月に気温、日射量と赤沼の水位・水温、ミズゴケ 湿原、ヨシースゲ群落、温根内川周辺ヨシースゲ群落各 地点のピットホール水位・地温を連続モニターした(図 8)。その結果、6月までの地面が凍結している間と融 解後に異なる水位パターンが見られた。凍土がある期間 には降水で水位が上がるが、地下浸透や乾燥による水位 の低下は見られなかった。7月になると降水後に地下水 位が急に上昇し、その後ゆっくりと低下して行った。ミ ズゴケ湿原での水位は降雨に伴って急上昇し徐々に低下 していくパターンだけ見られ、降水涵養型のボッグとし ての特性を示していた。これに対し、ヨシースゲ群落で はさらに左右対象の変動曲線のパターンを示し、河川に 近い方が高いピークを持っていた。ヨシースゲ群落は河 川の増水によって地下水位が上昇する地点に成立し、流 水涵養型のフェンとしての特性を示していることが明ら かになった。また赤沼の水位は変動が10cm程度と小さ かった。ミズゴケ群落の凸地の地温に比べ凹地の地温は 5~6月に約8℃ほど低く凍土の影響が観測された。融 解後も凹地の地温は低く、日格差も小さかった。ヨシー スゲ群落の温根内川近傍の地点(No.4)は同じような 植生で河川から遠い地点(No. 3) に比べ常に低温で日 変動の幅も小さかった。夏季には約2℃の差が常にみら れたのは、地下水位に差があることから土壌水分による 差の影響と考えられた(図8)。

釧路湿原内を流れる釧路川及びその支流の11カ所で 1993年と1994年の2年間,年10回の採水を行い水質の分析を行った。pHは6.5~8.6の範囲にあり 7付近で変動していた。1993年には夏季にやや低く1994年には夏から秋にかけて上昇した地点があり,2年での変動パターンは異なっていた。電気伝導度は低く安定している時に50  $\mu$ S/cm程度であったが,1993年の夏に上昇し $900\mu$ S/cmを記録した。1994年にはそれほど大きなピークはなく,2年での変動パターンは異なっていた。

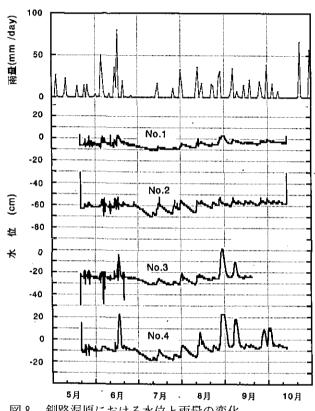


図 8 釧路湿原における水位と雨量の変化 赤沼 (Na 1)、ミズゴケ群落 (Na 2)、ヨシースゲ群落 (Na 3)、 ヨシースゲ群落の温根内川近傍 (Na 4)

## 2) 湿原の微生物と分解活性-宮床湿原

宮床湿原において採取したミズゴケおよび泥炭のセルラーゼ活性をカルボキシメチルセルロースナトリウムを 基質としたグルコース生成量により測定した。その結果、 微高地および窪地の分解程度の低いミズゴケ泥炭の方が、湿原内を流れる水路脇あるいは湿原周辺のかん木林の分解の進んだ泥炭よりも、乾燥重量当たりのセルラーゼ活性は高い傾向にあった(図9)。しかし、セルラーゼ活性と泥炭中のセルロース分解微生物数との相関は小さかった。また、セルラーゼ活性と泥炭中に埋めたセルロースろ紙の分解速度とも相関は小さかった。このことは、

これら基質の添加によりセルラーゼ活性が誘導されることを示唆していると思われた。

土壌微生物群のセルロースろ紙分解への寄与を評価するため、ヌクレオポアフィルターで包んだろ紙を湿原に6カ月間埋め、その分解率を求めた。その結果、分解率の高かった"微高地"(地点No. E97)では、孔径 $0.2\mu$ mのフィルターで包んだろ紙は分解されなかった(分解率 $2\%以下)が、孔径<math>1\mu$ mおよび $5\mu$ mのフィルターで包んだろ紙の分解率はそれぞれ76%以上または5%以下および89%以上または35%以下であり、分解されたろ紙とほとんど分解されていないろ紙の差が大きかった(それぞれSD=0.44および0.27)。また分解の進んだろ

13.7

紙の表面には菌類の菌糸が高密度で観察された。これらの結果は"微高地"では大きな孔隙のみを通過できる、コロニーを形成する菌糸状の微生物により不均一に分解が進むことを示唆している。一方、かん木林に埋め込んだ孔径  $1\mu$ mまたは  $5\mu$ mのフィルターで包んだろ紙の分解率はいずれも 11%から 67%の間であり、ろ紙間のバラツキは"微高地"に比較して小さかった(SD=0.14~0.21)。また、分解の進んだろ紙においても密生した菌糸は観察されなかった。以上の結果から、かん木林では比較的微小な孔隙をも通過可能な微生物または微生物の生産するセルラーゼにより平均的に分解が進むことが考えられた(図10)。

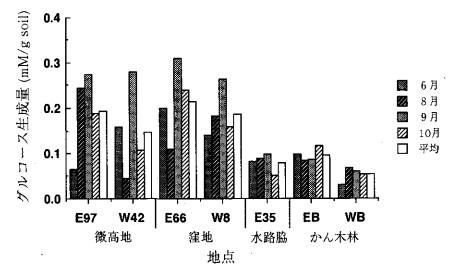


図 9 宮床湿原泥炭中のグルコース生成量(セルラーゼ活性) グルコース生成量は微高地および窪地のミズゴケ泥炭において水 路脇およびかん木林の泥炭におけるよりも高い傾向にあった。

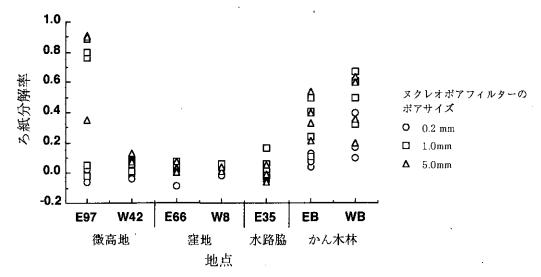


図10 宮床湿原泥炭に埋め込んだヌクレオポアフィルターに包んだろ紙の分解率 E97地点では、埋め込まれたろ紙のうち1 μm 以上の孔隙のフィルターに包まれた一部 のろ紙のみ、非常に分解が進んだ。

### (3) 湿原生物群集の変動要因に関する研究

#### 1) 底生動物の分布特性-宮床湿原

宮床湿原で底生動物の分布と種類組成について調べた 結果, 8目31分類群の水生昆虫と甲殻類, 環形動物, ミ ズダニ類, 軟体動物等 6 分類群, 合計37分類群の底生無 脊椎動物が採取された。湿原外の湧水部と湿原内の流水 部または池塘とでは底生動物の組成がかなり異なってい た。最も大きな違いはトンボ目昆虫相で、湧水部ではこ のグループはほとんど採集されなかったが、湿原内の小 水路の地点及び池塘からはそれぞれ4~8種類の幼虫が 採集されていた。ユスリカ科幼虫、ヌカカ科(Ceratop ogonidae) 幼虫, 貧毛類及びミズムシ(Asellus hilgendorfii) は全域に分布していた。A. hilgendorfii は特 に小水路の地点で最優占し個体数が多かった。センブリ 属sp. (Sialis sp.), コカクツツトビケラ属sp. (Goerodes sp.) 及びアミメトビケラ属sp.(Oligoticha sp.) は 湿原内の2,3地点を除き、出現頻度が高かった。宮床 湿原の池塘の底生動物の出現グループ数は、これまでに 報告されている他の湿原池塘での調査結果に比べて多 かった。宮床湿原の流水部の底生動物相は、池塘との共 通種も多く見られた。流速が遅い小水路であり、また融 雪時には各池塘と水路は水理的に繋がるため、池塘と河 川の中間の底生動物相を示しているものと考えられる。

2) 湿原の水生生物の分布と多様性について-尾瀬ヶ原 尾瀬ヶ原の上田代の24池塘及び中田代の36池塘につい て動物プランクトンの分布,底生動物の分布と食性を調 べた。動物プランクトンは各池塘の中央部で採水器を用 いて定量的に採取した。ヒガナガケンミジンコ(Acanthodiaptomus)とハネウデワムシ(Polyarthra)はほとんどの池塘で見られた。枝角類では、ミジンコ(Daphnia)、ホロミジンコ(Holopedium)、オオメミジンコ(Polyphemus)及びオナガミジンコ(Diaphanosoma)が出現したが、ミジンコ(Daphnia)とホロミジンコ(Holopedium)は比較的深い池塘に出現する傾向が見られた。一方オオメミジンコはどちらかというと浅い池塘に出現する傾向にあった(図11)。フサカ幼虫は池塘間で生息数に違いが見られ、深い池塘ほど多くの個体が生息する傾向にあった(図12)。

6月と9月に底質を持ち帰り、実験室内でユスリカ幼虫を飼育し同定用の成虫を羽化させた。底質中のユスリカ科幼虫はユスリカ亜科(Chironomidae)とモンユスリカ亜科(Tanypodinae)で占められ、エリユスリカ亜科(Orthoclacdiinae)の個体数は少なかった。

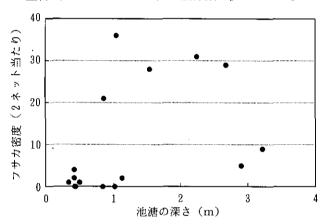


図12 尾瀬ヶ原の池塘の深さとフサカ幼虫密度との関係 フサカ幼虫密度は口径 20cm のプランクトンネットを用い て 2 回の鉛痕曳きで得られた個体数。

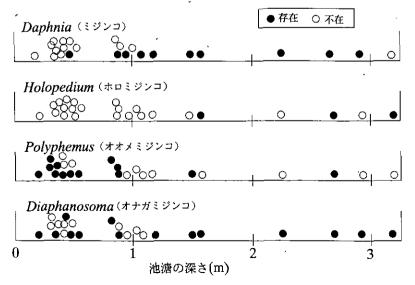


図11 尾瀬ヶ原における池塘の深さと枝角類動物プランクトン出現種との関係

## 2.4 環境中の有機塩素化合物の暴露量評価と複合健康影響に関する研究

平成 4~8年度(1992~1996年度)

〔研究組織〕

地域環境研究グループ

上席研究官

化学物質健康リスク評価研究チーム 化学環境部

部 長

上席研究官

計測技術研究室

環境健康部

生体機能研究室

保健指標研究室

病態機構研究室

客員研究員 9名, 共同研究員 4名

中杉修身

○相馬悠子・米元純三・白石寬明・稲葉一穂・梅津豊司

森田昌敏

相馬光之

藤井敏博

鈴木 明

国本 学

青木康展・松本 理

### 〔研究概要〕

近年、我が国で使用される化学物質の種類の増加は著 しい。これは先端産業の進歩とともに、化学製品の多様 化、高付価値化が要求され、それぞれの量は少ないが非 常に多種類の化学物質が生産、使用されることによって いる。そして将来生産される種類はますます増加すると 予想され、それに伴って、化学物質の環境への放出も少 量ではあるが多種類の放出になり、化学物質総量として は増加することが考えられる。そこでく化学物質による 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、化学工業製品の中でもその種類、割合はきわだっ て多い。一方、化審法に基づいて規制がなされている化 学物質のうち、第一種特定化学物質で8種、第二種特定 化学物質,指定化学物質20種が塩素の入った物質であり, 化合物の安定性、殺菌殺虫作用といった有機塩素化合物 の有用性が難分解性、有毒性といった環境汚染につな がっていると考えられる。

この研究では、環境に存在する化学物質、特に有機塩素化合物の健康影響を体系的に評価するために、環境中の多種類の有機塩素化合物の暴露量評価及び健康影響評価に関する研究を行い、調査したモデル地域で、人の健

康に影響を与える可能性がある有機塩素化合物のプライオリティリストを作製する。

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

- (1) 有機塩素化合物の暴露量評価に関する研究
  - ・綾瀬川水域における水中の全有機ハロゲン鼠の変動 とその発生源分別
  - ・河川水中の塩化メトキシベンゼン類の異性体別分析 による起源の推定
- ・イオントラップ質量分析を用いた226物質の一斉分 析法
  - ・GCMS分析法を用いた環境中の有機塩素化合物の 検索
  - ・河川底質中の有機塩素化合物と流域特性
- (2) 有機塩素化合物の複合健康影響評価に関する研究
- ・TCEP (Trischloroethyl phosphate) の培養胎仔 への影響,神経細胞毒性,行動薬理学からの考察
  - co-planar 3, 3', 4, 4', 5-PCBの毒性発現機構
- (3)環境中有機塩素化合物の総合影響評価
  - ・ab-initio分子軌道法による2,3,7,8-TCDDの電子 状態,分子構造,イオン化エネギーの計算

### (研究成果)

### (1) 都市河川の有機塩素化合物と有機塩素量

綾瀬川水系において全有機ハロゲン量(TOX)と合 成洗剤の主成である分直鎖型アルキルベンゼンスルホン 酸(LAS)を測定し、これらの相関関係から河川水中 の有機塩素量の発生源を推定した。綾瀬川、古綾瀬川の 7カ所で1994年2月から1995年1月まで5回採水を行っ た。住宅地域の河川水中に含まれるアルキル鎖長11の LAS濃度から河川水全量中の生活排水量を推定しTOX の生活排水由来の量を算出した。図1に示すように住宅 地域である綾瀬川上流3地点では採水期間を通してその 量はかなり安定して約70mg/人・日であることが分か り、水道水使用(220リットル/人・日)からのTOXが 約25mg/人・日であることを合わせて考えると、住宅 地域の河川のTOXは1/3が水道水由来であることが分 かった。下流および古綾瀬川の工業地域では単位水量当 たりのTOXは住宅地域よりかなり大きく工場排水中の TOXが上乗せされていた。

河川水中の有機化合物のGCMSによる検索で検出さ

れる有機塩素化合物のうち、塩化ベンゼン類はほとんど の河川で検出されるが、それとともに塩化メトキシベン ゼン類が検出された。防虫剤であり生活排水を通して河 川に流出してくるp-ジクロロベンゼンが塩化ベンゼン 類の中で量的に一番多いが、塩化メトキシベンゼン類は 工業的にあまり使用されていない。これら塩化メトキシ ベンゼン類の起源を推定するために、塩化ベンゼン、塩 化メトキシベンゼン類の異性体別分析を10河川21地点で 行った。その結果、河川水で一般的に見られる2,5-ジク ロロアニソール, 1,4-ジクロロ-2,3-ジメトキシベンゼ ンは n - ジクロロベンゼンとの相関が強く、防虫剤のp-ジクロロベンゼン由来と考えられた(図2,図3)。2,6-ジクロロアニソール、2,4,6-トリクロロアニソール、 2,4-ジクロロアニソールはフェノールが殺菌剤,漂白剤 などで塩素化され、微生物によるメチル化を受けて生成 すると推定された。

### (2) 環境中の有機塩素化合物の検索

環境中に残留している化学物質を把握する目的で大気。

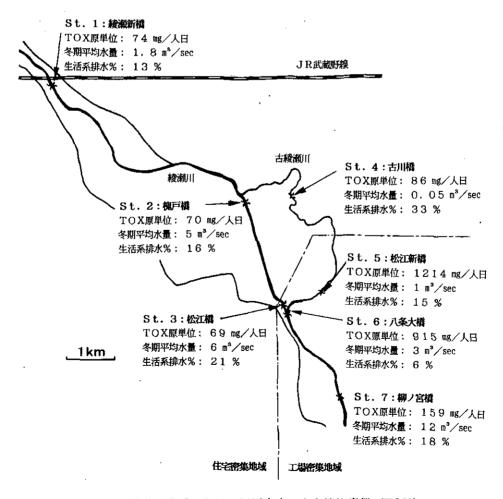
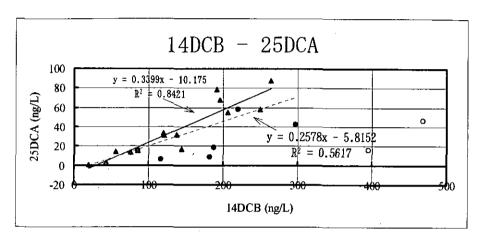


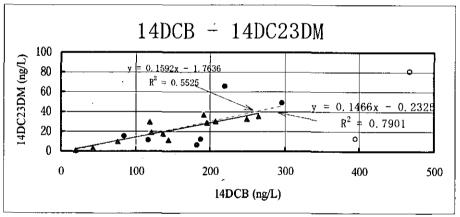
図1 綾瀬川水系における河川水中の全有機塩素量(TOX)

海水,海底質,生物(海藻)中のGCMSによる検索を行った。同定できた407物質のうち、ハロゲン化合物は49物質であった。内訳は脂肪族のハロゲン化合物が20、芳香族が22、農薬等が7物質であり、ほとんどが人為起源のものと考えられた。脂肪族ハロゲン化合物は、大気、海水から検出され、農薬は大気、底質から、芳香族化合物はいずれの環境メデイアからも検出されたが、特に底質、生物に数多く検出された。

### (3) TCEPの毒性影響評価に関する研究

プラスティック難撚剤として広く用いられているTCEPは、暴露量評価におけるフィールド調査においても底質サンプルのほとんどから検出されている。ラットにおいて、腎尿細管腺腫の増加に示される発がん性、および海馬に特異的な傷害を及ぼすことが報告され、リスク評価の上からプライオリティが高いと考えられた。そこで、前年の細胞への急性毒性の検討に引き続き、培養胎仔への影響、神経細胞毒性、行動薬理学的影響の検討を行った。





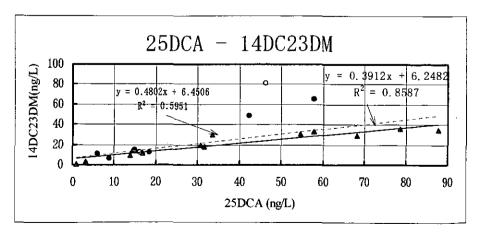


図 2 都市河川水中におけるp-ジクロロベンゼン (14DCB) と2,5-ジクロロアニソール (25DCA), 1,4-ジクロロ-2,3-ジメトキシベンゼン (14DC23DM) の相関

$$\begin{array}{c}
CI \\
OH \\
CI \\
OH
\end{array}$$

$$\begin{array}{c}
CI \\
OH \\
OH
\end{array}$$

$$\begin{array}{c}
CI \\
OH$$

$$\begin{array}{c}
CI \\
OH
\end{array}$$

$$\begin{array}{c}
CI \\
OH
\end{array}$$

$$\begin{array}{c}
CI \\
OH$$

$$\begin{array}{c}
CI \\
OH
\end{array}$$

$$\begin{array}{c}
CI \\
OH$$

$$\begin{array}{c}
CI \\
OH
\end{array}$$

$$\begin{array}{c}
CI \\
OH$$

$$CI \\
OH$$

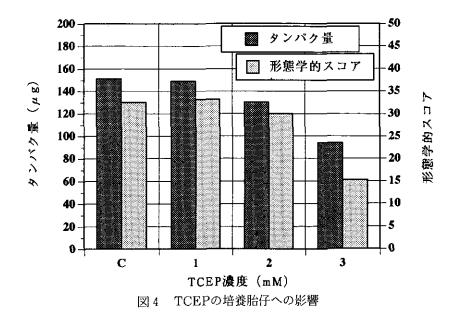
$$OH$$

図 3 p-ジクロロベンゼンの代謝産物とメチル化 フェノールの塩素化と生成物のメチル化 25DCA (2,5-ジクロロアニソール), 14DC23DM (1,4-ジクロロ-2,3-ジメトキシベンゼン) 24DCA (2,4-ジクロロアニソール)

前年度、胎仔肢芽培養法(LBC)を用いた胎仔毒性スクリーニングにおいてもTCEPのP/D比は相対的に高かった。そこでTCEPの胎仔毒性をさらに検討するために培養胎仔への影響を検討した。44時間培養後の胎仔のタンパク量、形態学的スコアともに3mMにおいて明らかな影響が認められた。形態的な傷害作用としては神経管への影響が特徴的であった。発育の遅延による2次的なものか、特異的な作用か今後検討する必要がある(図4)。

神経細胞毒性の検討では TCEP の神経細胞特異的な 毒性の有無を検討した。ラット小脳初代培養細胞を用い て神経細胞、および神経膠細胞に特異的なマーカータン パク質、すなわち440kDaアンキリンとMAP 2 および GFAPの発現と局在を指標として解析を行った。その 結果、TCEP暴露による各タンパク質の減少は細胞の生 存率とほぼパラレルであり、神経細胞マーカーの特異的 減少は認められず、TCEPの毒性は神経細胞に特異的ではないことが示された(図 5)。

TCEPに海馬特異的な傷害作用が報告されていること から行動薬理学的影響の検討を行った。受動的回避反応、 フォーゲル型コンフリクト行動には投与量との関係は見いだせなかった。Morrisの水迷路学習では、300mg/ kg群で、100および200mg/kgに比べて、ゴールに到達 するまでの平均時間が長くなる傾向がみられた。



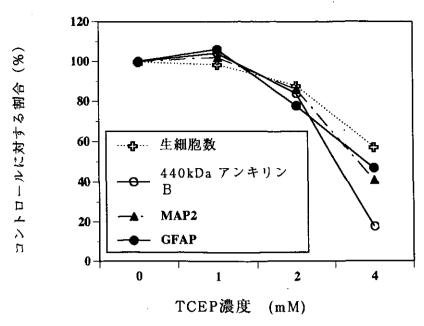


図 5 ラット小脳初代培養細胞におけるGFAP, MAP 2, 440k Da アンキリンの発現に及ぼすTCEPの影響

# (4) コプラナーPCBの毒性発現機構

co-planar 3, 3', 4, 4', 5-PCB (PenCB) の毒性発現機構に関する研究では、GST-Pの誘導に必須と考えられている遺伝子転写因子、AP-1の構成成分であるがん遺伝子 c-jun が PenCB によってリン酸化されることが明らかとなった。また、PenCB によるマウス肝実質細胞におけるGST-II の誘導において、Ah-receptorの親和性に大きな違いのある二つのマウスの系統を用いて検討した結果、PenCB によるGST-II の誘導にはAh-receptorに依存しない系が関与していることが示唆された。

# (5) 2, 3, 7, 8-TCDDの分子構造

分子構造と毒性の相関関係を調べる目的で、2、3、7、8-テトラクロロダイオキシン(2、3、7、8-TCDD)の分子 軌道法により電子状態および分子構造の計算を行った。 スーパーコンピューターNEC SX-3/14を使用し計算プログラムGaussian92により基底関数 6-31G\*を使用し Hartree-Fock-Roothaan 法に基づくエネルギー勾配 法で計算し、その結果はX線回折、赤外吸収の実験結果 と良く一致した。この構造では二つのベンゼン環の折れ 曲がり角度に対するエネルギー曲面が非常に緩やかであり、容易に曲がりやすいことを示した。このことは TCDD のレセプターへの結合のしやすさとの関連を示 唆している。

### 2.5 湖沼環境指標の開発と新たな湖沼環境問題の解明に関する研究

平成 4~8 年度(1992~1996年度)

〔研究組織〕 地域環境研究グループ

統括研究官

内藤正明

湖沼保全研究チーム

○福島武彦・松重一夫

海域保全研究チーム

木幡邦男

化学物質生態影響評価研究チーム

花里孝幸

主任研究官

春日清一

地球環境研究グループ

統括研究官

安野正之

化学環境部

化学毒性研究室

्रा दिने चित्र तथा देने और

水土壤圏環境部 上席研究官

相崎守弘

水環境質研究室

矢木修身

水環境工学研究室

海老瀬潜一・今井章雄・井上隆信

生物圈環境部

環境微生物研究室

渡邉 信・野崎久義

彼谷邦光·佐野友春

生態機構研究室

高村典子

客員研究員 17名, 共同研究員 2名, 研究生 9名

### (研究概要)

湖沼環境は国民共通の資産として維持保全して行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(Microcystis)を中心としたアオコからオッラトリア(Oscillatoria)を中心としたアオコに変化し始めており、それに伴って魚類の現存量の減少、異臭味の発生等が起きている。このような現象は湖沼水を利用して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、湖沿環境と優占する植物プランクト ンの関係については研究が進んでいない。

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

本研究で新たに開発を目指す湖沼環境指標としては,

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

### (1) 流域特性と水質との関係の評価に関する研究

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

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

今後,河川水質の分析を行うことから有機物等の発生 源情報を得る方法を開発したい。

### (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。 初年度より COD に代わる有機物指標として TOC (全 有機炭素)を取り上げ、その測定精度、湖沼での変動特 性、COD との関係、生分解性の評価方法などを中心に 検討を進めている。また、特に溶存有機物はその起源や 挙動があまり明らかにされていないところから、溶存有 機物を化学的特性、生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ため、 調査、実験を行ってきた。この結果、その基本的な分画 方法を確立するとともに、屋外実験池での実験から湖内 の内部生産に伴い難分解性の画分が生産されること等を 明らかにした。次年度以降は、霞ヶ浦等における溶存有 機物の収支を明らかにしたい。

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、前年度以前 は屋外実験池での実験を中心に検討を進めてきた。本年 度は各地の湖沼での観測結果をもとにその影響を評価し た。

また、湖沼生態系の中で中間的位置を占めている動物プランクトン等の植物プランクトン食者に着目し、高次捕食者である魚や、餌となる植物プランクトンと植物プランクトン食者の種組成や大きさ、量等との関係につき調査研究を行っている。特に、魚の植物プランクトン食者、植物プランクトンあるいはその他の水質に及ぼす影響を屋外実験池を用いて解析し、そのモデル化を検討している。また、pH、DOの連続観測結果をもとに、湖水中の生物代謝特性を評価する手法に関して開発を進めている。

### (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ている。本年度は、基本特性として増殖に及ぼす照度の影響を調べた結果、ある種のピコプランクトンは極めて低照度でも増殖することが確認され、現地での鉛直分布特性と整合することが分かった。

野外観測としては、分布や消長を調べる調査を野尻湖 で継続して行い、その生態系モデル化への基礎資料を集 めている。また、ピコプランクトンの一種に含まれる有 毒成分を分離、同定し、その毒性を明らかにした。

### 〔研究成果〕

### (1) 流域特性と水質との関係の評価に関する研究

流域の大部分が森林である9河川を対象に(図1;十 津川流域),土壌,地質,森林の種類,降水量等が河川 水質に及ぼす影響を平成4年度に開発した地理情報シス テムを用いて解析した。流域特性と河川水質の統計解析 の結果,崩壊地面積率が懸濁態物質,溶存無機窒素(図 2),林齢が溶存態リン,降水量が無機金属イオン(図 3)と密接な関係を有していることが分かった。すなわ ち、森林管理が下流の貯水池等の水質に大きな影響を及 ぼしていることが推測された。

また、霞ヶ浦の流入10河川を対象に、年4回の調査を行い、流入有機物の内容、特性を調べた。今後、河川流

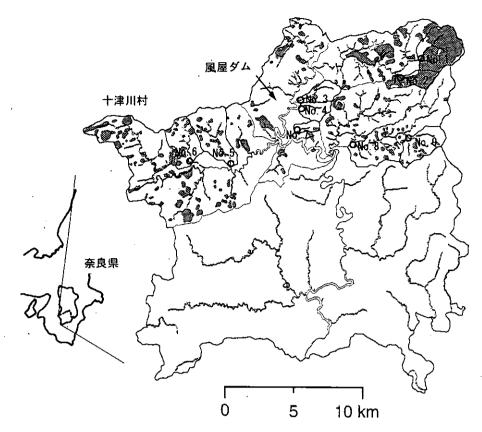


図1 十津川流域における河川測点(○), その流域(実線で囲んだ領域)と崩壊地が多い地域(ハッチ部分)

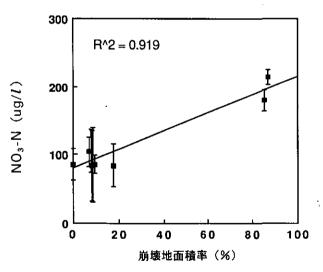


図 2 崩壊地面積率と河川水中のNO<sub>3</sub>-N濃度 (3回の測定の平均値と標準偏差)

域特性と有機物との関係を解析し、有機物の起源を推定する方法を開発したいと考えている。また、農耕地河川の上、中、下流地点で39回の定時調査と3回の降雨時調査を行い、BOD: COD: TOC 比が大きく異なることを明らかにした。

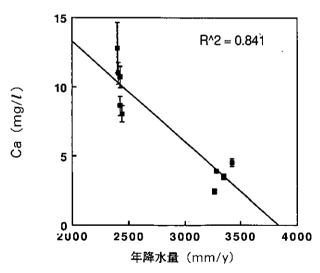


図3 年間降水量と河川水中のCa濃度 (3回の測定の平均値と標準偏差)

### (2)湖沼環境指標に関する研究

1) 生態系構造の水質,物質循環に及ぼす影響 平成5年度夏期には臨湖実験施設の小型実験池を用い て、供給する水、栄養塩量は同じに、魚(金魚)の密度 を変化させて、生物量、水質、各種物質循環速度を約40 日間連続して観測、測定した。この結果、魚の密度の違いが水質、物質循環を強く支配していることを示した。この観測期間以降も、水、栄養塩を一定量供給し続けて、本年度夏期にもそれらの項目の約40日間の連続観測を再度行った。前年度の系との大きな違いは、底泥がかなり多量に存在すること、窒素が制限因子となったことなどである。特徴的な結果としては、魚のいる池(表1)でラン藻類(図4;フィコシアニンはラン藻特有の色素である)、ケンミジンコが卓越し、クロロフィル濃度(表1)はいない池と比べ高いものが多いものの前年ほどの差ではなかった。

また、屋外実験池に各種のボックスを設置し、その中のDO、DIC変化を観測した(図5)。上部が閉鎖され

TP(mg/l)

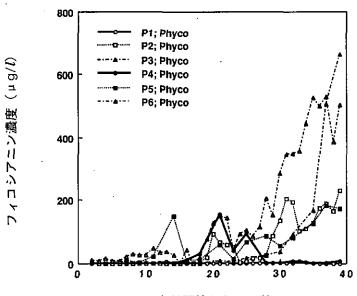
たボックスと解放されたボックスとの差から、酸素、二酸化炭素の大気との交換量を推定し、それを飽和量との濃度差で除した交換係数が風速、気体の水中での解離特性を用いてうまくモデル化されることを示した(図6)。さらに、このモデルを昨年度、本年度の屋外実験池でのDO、pHの連続観測結果に当てはめ、一次生産、呼吸・分解など池水の生物代謝活性を推測するとともに、こうした活性速度のモデル化を図った。

初年度から継続して行っている洞爺湖での水質,生物 量のモニター結果から,降雨によるリンの供給によって、 一次生産が,魚類によって動物プランクトン現存量ひい ては透明度が変化することが明らかになった。

		Pond 1	Pond 4	Pond 3	Pond 6	Pond 2	Pond 5	Inflow
の密度	(gC/m³)	0	0	4.4	5.1	8.2	5.7	
P均. 標準偏差	Chiorophyll- $a(ug/l)$	79±35	58±22	128±46	115±59	60±25	90±31	1±1
	Phycocyanin (ug/t)	0±1	20±42	154±174	89±193	54±72	61±62	0±1
	DOC(mg/l)	5.0±0.2	4.6±0.2	5.8±0.7	4.1±0.3	4.1±0.3	4.0±0.4	3.1±0.2
	POC (mg/l)	9.0±1.7	6.6±1.3	11.0±2.1	9.7± <u>3.</u> 9	6.1±1.4	9.5±2.2	0.3±0.0
	$NH_4$ - $N (mg/l)$	0.010±0.007	0.008±0.006	0.008±0.007	0.006±0.004	0.010±0.011	0.007±0.005	0.010±0.01
	$NO_2$ - $N (mg/l)$	0.002±0.002	0.002±0.002	0.002±0.002	0.001±0.001	0.002±0.002	0.001±0.002	0.002±0.00
	$NO_3$ - $N (mg/l)$	0.013±0.019	0.006±0.006	0.004±0.003	0.005±0.005	0.007±0.009	0.004±0.004	0.490±0.08
•	$DON\left(mg/l\right)$	0.653±0.069	0.584±0.072	0.514±0.080	0.208±0.232	0.464±0.087	0.458±0.113	0.294±0.11
	PON $(mg/l)$	1.29±0.27	0.78±0.16	1.27±0.38	1.04±0.42	0.73±0.23	0.97±0.17	0.04±0.01
	TN(mg/l)	1.97±0.28	1.38±0.20	1.80±0.39	1.50±0.39	1.22±0.26	1.44±0.21	0.83±0.14
•	$PO_4-P(mg/l)$	0.066±0.023	0.007±0.003	0.004±0.003	0.003±0.002	0.003±0.002	0.003±0.002	0.067±0.0

 $0.138 \pm 0.0030 \ \ 0.083 \pm 0.020 \ \ \ 0.086 \pm 0.010 \ \ \ 0.067 \pm 0.031 \ \ \ 0.051 \pm 0.010 \ \ \ 0.066 \pm 0.013 \ \ \ 0.052 \pm 0.016$ 

表1 屋外実験池での魚量、水質(1994年8月2日~9月9日)



実験開始からの日数

図4 屋外実験池におけるフィコシアニン濃度の変化(実験開始は1994年8月2日)

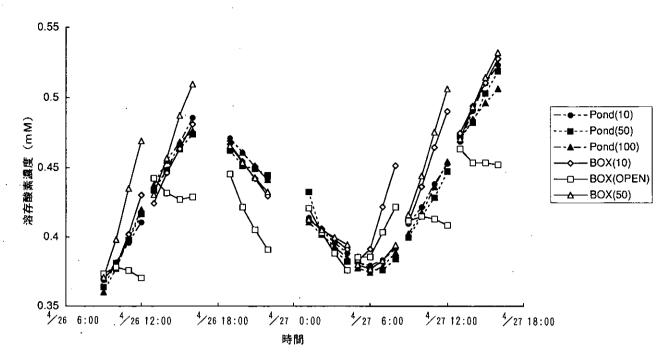


図 5 屋外実験池に設置した開放ボックス (Box; open), 閉鎖ボックス (Box; 平均位置が水面下 10,50cm), ならびに池水中 (水面下10,50,100cm) のDO濃度の時間変化

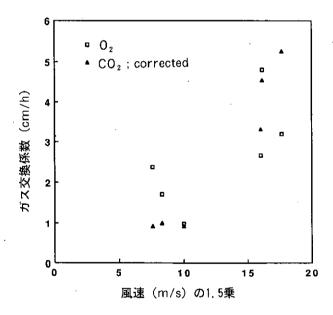


図 6 水-大気間の気体の交換係数と風速との関係 (気体の水中での解離効果を補正済み)

### 2) 卓越藻類種の変化

自然環境保全基礎調査湖沼調査の結果を用いて、約200 湖沼について環境因子の藻類種に及ぼす影響を調べた。従来からの藻類種に関する仮説が成立するか、しないかを表2にまとめる。富栄養湖ではN/P比、混合度の増加とともにラン藻類が優占化する傾向にあることが明白となった。しかし、MicrocystisとOscillatoriaの

どちらが卓越するかに関しては、サンプル数が少ないこともあり、はっきりとした傾向は抽出されなかった。

また、霞ヶ浦湖水の AGP 試験結果から、近年のMi-crocystisの減少にはキレート様物質濃度の低下が大きな影響を与えていると推測された。

### 3) 溶存有機物の動態

溶存有機物の内容を親水ー疎水性、酸ー塩基性の観点で分画する化学的手法を確立した(図 7)。この方法を霞ヶ浦湖水、流入河川水に適用することから、溶存有機物の主体は親水性、疎水性の酸であることを明らかにした(表 3)。また、前年度開発した生分解性試験に分子量分画を合わせることから、湖内での内部生産に伴い難分解性の溶存有機物が生成されること(フミン物質も)、その成分の分子量は大部分が1000以下であること等が分かった(図 8)。また、分光学的な手法を合わせて用いることから、湖水中の溶存有機物の内どの程度が流域起源なのか、湖内で生産されたものなのかを推測する手法を作成している。

屋外実験池における溶存有機物の変動特性には、藻類種、動物プランクトンの種と数等が大きく影響していることが分かった。また、霞ヶ浦と同様、屋外実験池でも難分解性の溶存有機物の生産が確認された。

			· 容				結果判定	_
仮説1	の発生とT-N、T-P濃	イ藻類、Microcystis. 度の関係は存在するの: 0.08mg/l, T-N>0.5	か。			ラン藻○. M○,	緑藻×, A△, O△	ケイ藻× △.P△
仮説 2	の発生とN/P比の関係 N/P比が高まるとラン	イ藻類、Microcystis、 は存在するのか。 藻類から緑藻類へと種 rocystisからOscillato	の変遷が起きる	らのかどうか。		ラン藻○. M○.	緑藻○, A△, O△ × △	ケイ藻× △, P△
仮説 3	の発生と水温の関係は	イ藻類、 <i>Microcystis</i> 。 存在するのか。 おいて発生頻度が高ま <i>る</i>		Oscillatoria,	Phormidium	ラン藻〇. M〇,	緑藻×, A○, O∠	ケイ藻○ △, P△
仮説 4	Microcystisは水深がi	深いところでは発生した な	<b>こいのか</b> 。			_		
仮説 5	の発生と混合度の関係	イ藻類、Microcystis、 は存在するのか。 Microcystisが、高いる				ラン藻〇, M〇,	緑藻×, A△, O∠ ×	ケイ藻× △, P△ -

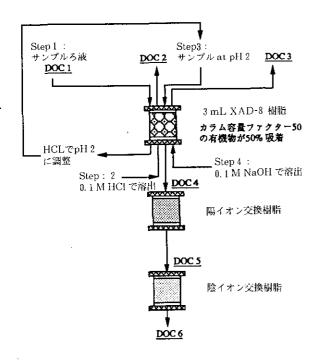


図7 水中溶存有機物の化学的分画手法

表 3 霞ヶ浦湖水のDOC分画

分画	St. 1	St. 2	St. 3 存在比 [%]	St. 7	St. 9	St.12
疎水性塩基	0-10.1	0.4-3.3	0.5-3.3	0.9-3.4	0.5-2.3	0.5-1.7
疎水性中性物質	0-7.0	0-10.2	0-8.9	0-11.5	0-13.5	0-16.0
疎水性酸	27.1-36.2	27.3-32.9	24.5-31.2	23.6-34.4	25.1-35.4	21.9-34.3
親水性塩基	0-14.5	5.8-11.9	0-11.6	0-10.0	0.3-18.2	3.1-14.0
親水性中性物質	5.8-17.6	4.5-12.9	5.6-13.7	6.3-14.1	5.8-17.0	3.6-19.6
親水性酸	39.0-53.3	34.2-57.0	41.3-55.0	37.8-63.6	37.0-59.3	36.9-51.5

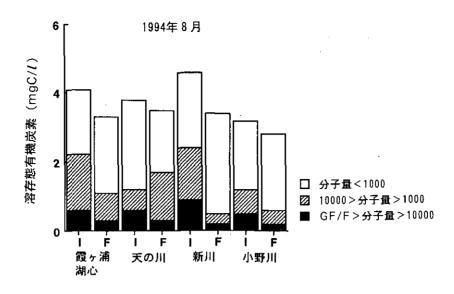


図 8 霞ヶ浦湖水,流入河川(天野川,新川,小野川)水中の溶存有機物の分子量分画 (I;分解実験開始時,F;分解実験終了時)

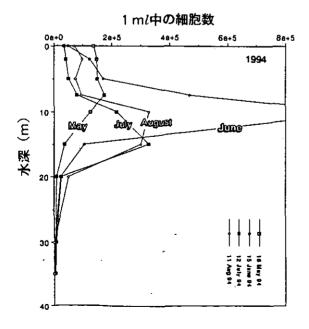
### (3) ピコプランクトンの異常発生機構に関する研究

### 1) ピコプランクトンの動態

平成 4 年度より、褐色系ラン藻ピコプランクトンが発生する長野県野尻湖においてピコプランクトンの動態並びに生態系の他の構成要素との関係を把握するための調査を行っている。平成 6 年度においては 6 月と11月の 2回の発生のピークがあり、1993年の動態とよく類似していた。垂直的には10m、15m付近に集積して出現しており、この出現特性は過去 2 年の調査でも確認されたものと同様である。最大値は 6 月の10m層で約  $1 \times 10^6$  細胞/

mlであり、この値は過去3年間での最大値であった(図9)。

混合栄養を行う黄金色ベン毛藻類 Poterioochromonas malhamensis は野尻湖において出現する種類であるため、その基本的摂食特性を調べた結果、本種の 1/500の体積をもつバクテリアから約17倍の体積をもつ緑藻 Carteriaまで捕食できることが判明した(表 4)。また、P. malhamensisは同じく野尻湖に出現する新種と思われる従属栄養渦ベン毛藻類 Gymnodinium sp. に捕食されることが、培養実験で検証された。



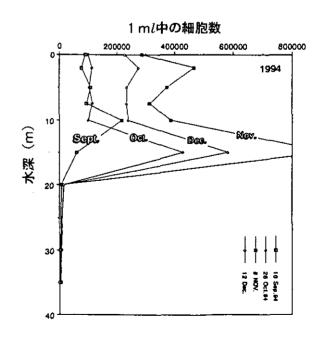


図 9 野尻湖 (1994年) におけるピコプランクトンの垂直分布と季節的変動

表 4 混合栄養を行う黄金色藻類 Poterioochromonas malhamensis

(細胞サイズ: 8 µm, 体積: 267µm³) の摂餌特性

餌	餌の特性			捕食**				捕食~被捕食サイズ比	
•	運動性‡	・ サイズ (μm)	体積 (μm³)	明	暗	生細胞	死細胞	サイズ	体積
Bacterium		1.0	0.52	+	. +	+	+	8.0	514
Bacterium	_	1.35 x 3.5	5.0	+	+	+	+	3.8	53
Synechococcus sp.	_	2.0	4.2	+	+	÷	t	4.0	63.6
Microcystis viridis	-	5.6	92.0	+	+	+	+	1.4	2.9
M. aeruginosa f. aeruginosa	_	3.8	29.0	+	+	ŧ	+	2.1	9.2
Chlamydomonas faciata	+	12.8	1095.0	+	+	+	+	0.6	0.2
Chlorella pyrenoidosa	=	13.3	1228.0	÷	ŧ	ŧ	÷	0.6	0.2
Carteria inversa	+	17 x 21	4764.0	+	+	ŧ	÷	0.39	0.06
Iroglena americana	+	10.0	522.0	+			+	0.8	0.5
Achnanthes minutissima	-	7 x 10	396.0	+		+		0.9	0.7

\* +;運動性 -;非運動性

\*\* +;摄食

### 2) ピコプランクトンの培養

低温アガロース包埋法により無菌化されたピコプランクトン藻類の培養株を使って、それらの増殖に及ぼす照度の影響を調べた結果、褐色系のラン藻ピコプランクトンは  $1\mu E/m^2/sec$ の低照度でも増殖できること、さらに  $400\mu E/m^2/sec$ の高照度でも光阻害を起こさずに増殖することが分かった(図10)。これに対して緑藻ピコプランクトン、緑色系ラン藻ピコプランクトンは少なくとも  $20\mu E/m^2/sec$ 以上の照度を必要とする。この結果は褐色系ラン藻ピコプランクトンは野尻湖の10、15m層のようなかなり低照度でも十分生育できることを示すものである。

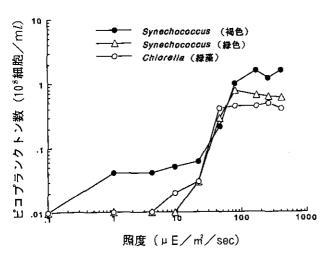


図10 各種ピコ植物プランクトンの増殖に及ぼす照度の 影響

### 3) ピコプランクトンの毒性

本年度は、ピコプランクトンの1種であるSynechocystis sp. に含まれる有毒物質について検討を行った。 Synechocystis sp. を 5 %酢酸水溶液で抽出し、その抽 出物をマウスの腹腔に投与した。Synechocystis sp. 乾 燥重量にして0.2g分を投与した場合,投与後10分以内 に痙攣しながらマウスは死亡した。その死亡するまでの 時間の早さと痙攣する様子から、この有毒物質は神経毒 であることが示唆された。この有毒成分は、逆相のSep-PakとDEAEイオン交換脂には吸着されなかったが、C Mイオン交換樹脂には吸着され、0.2M炭酸アンモニウ ム水溶液で溶出された。さらにポリマー系の逆相HPL Cカラムを用いて、塩基性条件下で精製を試みたところ、 2種類の化合物の単離に成功した。ニンヒドリンで発色 し、Dragendorff 試薬に陽性の化合物 1 は、そのMS、 NMRスペクトルからポリアミンの1種であるスペルミ ジン(図11)であると推定された。市販の標準品と比較 することにより、その構造が確認された。スペルミジン は、生物一般に広く存在しているポリアミンであり、マ ウスに対して腹腔内投与により30mg/kgで致死毒性を 示すことが知られている。このことから、Synechocystis sp. を 5 %酢酸で抽出した分画中の毒性の大部分は, このスペルミジンによるものと判断された。また、ニン ヒドリンで発色し、Dragendorff 試薬に陰性の化合物 2は、そのMS、NMRスペクトルから、やはりポリア ミンの1種であるプトレシン(図11)であると推定され、 標準品との比較によりその構造を確認した。

$$H_2N$$
 $\mathcal{T} \cup F \ni \mathcal{Y}$ 

図11 スペルミジンとプトレシンの化学構造

このプトレシンは腐敗した食品による食中毒の原因物質としても知られている。今回, 単離された 2 種類の化合物は藻体内に存在しているが, いずれも水溶性であり, 大量に水中に溶出した場合には他の生物に影響を与えることが考えられる。

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

平成 4~7年度(1992~1995年度)

〔研究組織〕

地域環境研究グループ

統括研究官

上席研究官

都市環境影響評価研究チーム

主任研究官

環境健康部

上席研究官

環境疫学研究室

生体機能研究室

社会環境システム部

上席研究官

環境計画研究室

情報解析研究室

客員研究員 24名

内藤正明

中杉修身

○兜 眞徳・新田裕史・影山隆之・今井秀樹

松本幸雄

小林隆弘

小野雅司・田村憲治・本田 靖・黒河佳香

藤巻秀和

大井 紘

近藤美則

田村正行・須賀伸介

#### 〔研究概要〕

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

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

- (1) 都市環境の "反アメニティ要因" としての騒音に よるストレスの規定要因に関する心理・生理学的実 験研究
  - 1) 都市環境騒音の "不快さ" とその規定要因に関す る実験研究

都市の生活環境中の各種音を録音・採取し、音の快・ 不快に関する心理・生理学的実験を行う。主観的に快適 と感じられる音による生理反応については、暴露時の主 観的ストレスとの関連も調べ、ストレス評価法としての 可能性を検討する。なお、騒音評価の視点から、主観的 な快・不快にかかわる音の物理的特性についても分析・ 検討する。

2) ストレスの生物学的評価法の実験ならびに調査研究

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

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

動物実験結果から示唆されているスギ花粉症の発症・ 増悪に大気汚染(とくにディーゼル排ガス)が関与している可能性を検討するために、大気汚染レベルとスギ花 粉飛散状況の異なる数地域において、住民健診の受診者

を対象に、新たに作成したスギ花粉症質問票と血清検査を組み合わせた手法による有病率調査を行い、質問票のみによる花粉症把握の妥当性・信頼性について疫学的な検討を行う。また、スギ花粉飛散時期のスギ花粉への暴露状況を把握するために、スギ花粉飛散数観測点のデータと対象世帯の屋内・屋外のスギ花粉数、個人暴露数および屋内粉じん中スギアレルゲン量測定を実施する。

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

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

### (4)総合評価

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

### 〔研究成果〕

- (1) 都市環境の "反アメニティ要因" としての騒音によるストレスの規定要因に関する心理・生理学的実験研究
- 1)ストレスの生物学的評価法に関する実験的研究 ストレスの生物学的評価法の一つとして、心拍間隔変 動により示される自律神経系の機能(活動性)について、 引き続き基礎的検討を行った。昼間のストレスは一方で 不眠や血圧変動などの影響を生ずる可能性もあり、また、 慢性ストレスの結果、睡眠中安静時の自律神経機能が変 調を来してくる可能性もあることから、今年度はとくに 自律神経機能と睡眠・血圧等との関係について検討した。

睡眠に関しては、若年者6名を対象として実験を行った。脳波から判定した睡眠深度(ただしREM睡眠を除く)と、心拍数および呼吸数、心拍変動の呼吸性不整脈(RSA)成分(心臓副交感神経系の活動性の指標)との対応はみられなかった。一方、心拍変動係数(CV-RR)は睡眠深度とともに減少傾向を示し、さらに呼吸性不整脈(RSA)成分に対するMayer 波性不整脈(MWSA)成分のパワー比(交感神経系の活動性の指標、または交感・副交感神経系のバランスの指標とされ

ている) は睡眠深度と明らかな逆相関を示した(図1)。 この比が睡眠深度と相関するということは、この値がさらに覚醒・安静状態の個体の安静レベルの指標、あるいは「精神的緊張度」の指標となり得る可能性を予測させ、この点を明らかにすべく実験を拡大継続中である。

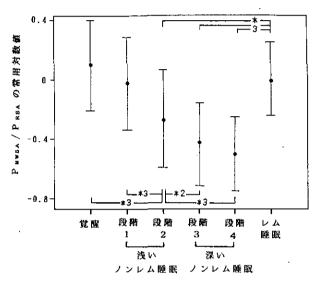
血圧との関連では、若年・中年男子45名について能動的起立負荷前後の心拍変動および血圧の変化を検討した。安静臥位においてRSA成分に対するMWSA成分の比が小さい人は、起立直後の血圧低下が大きい傾向が示唆された。また、起立後に安定した血圧レベルが低い人は、立位でのMWSA成分が大きい傾向も示唆された。

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

1) 地域集団におけるスギ花粉症有病率の追跡調査 平成5年度に,茨城県A市,茨城県B市,東京都C区, 神奈川県D区、神奈川県E区の5地域で、スギ花粉症有 病率の断面調査を実施した。全体の回収率は57%であり、 スギ花粉症粗有症率は20.7%であった。本年度は、前年 度質問票が回収された者のうち、対象者の家族が記入し たと思われるものなどをのぞいた2723名を対象として同 一質問票により、追跡調査を行った。調査はスギ花粉飛 散の季節を終えた7月に、郵送法により実施した。前年 度と同様に質問票で、「鼻症状(くしゃみ、鼻水、鼻づ まりのうちの2つ以上)と眼(かゆみなど)の症状がか ぜをひいていないのに、毎年のように繰り返して、早春 に起きる。」場合を典型症状が「あり」とし、「鼻症状 (くしゃみ、鼻水、鼻づまり)のうちの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い。」場 合を非典型症状が「あり」とした。その他、症状が全く ないものや上記に該当しないものは症状「なし」とした。 さらに、症状「なし」のうち、鼻症状・眼症状とも全く なかったものは「無症状」と分類した。

2723名の追跡対象者のうち質問票が回収されたのは 1543名,回収率は全体で56.7%であった。図2に前年度 と本年度の地区別の年齢調整スギ花粉症有症率(典型症 状のみ)を示した。茨城県A市、茨城県B市、東京都C 区、神奈川県D区、神奈川県E区の有症率はそれぞれ、 13.0、11.2、12.3、16.6、15.0であった。前年度の結 果に比べていずれの地区でも低く、約6割程度のレベル であった。地域間の傾向は前年度とほぼ類似していたが、 神奈川県D区はやや高めの値となっていた。平成6年度 は全国的にスギ花粉飛散数が少なかったことが有症率に 反映したのではないかと考えられる。

前年度の調査で症状「なし」群に分類されていた者 1085名のうち、本年度スギ花粉症の典型症状がみとめら れたのは 2.9%, 非典型症状かみとめられたのは5.2% であった。一方、前年度の調査で典型症状「あり」群に 分類されたもののうち、本年度は症状「なし」とされた ものは37.0%であった。さらに、くしゃみ、鼻水、鼻 づまりの鼻症状と眼(かゆみなど)がいずれもなかった



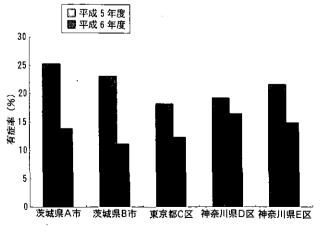
#### 図 1 睡眠深度と自律神経活動の関連

心拍間隔データの高速フーリエ解析により求めた $P_{MWSA}$ / Pasa (血圧のMaver波に由来するスペクトル成分と呼 吸運動に由来するスペクトル成分のパワー比)の、睡眠段 階別の分布図。

6人の被験者の睡眠実験から得られた3分間単位の全デー タを統計学的に処理したもの。

有意差検定は一元配置分散分析により行った。

\*2:p<0.01, \*3:p<0.001



地区年齢調整スギ花粉症有症率

「無症状」群は20.8%であった。前年度の調査で症状 「なし」で、本年度新たにスギ花粉症の典型症状が認め られたもの割合を地区別にみると、茨城県A市では2.9 %, 茨城県B市では2.9%, 東京都C区では1.0%, 神奈 川県D区では4.2%, 神奈川県E区では3.4%となってお り、神奈川県D区が最も高くなっていた。図2で示した 有症率の地区間差の傾向が神奈川県D区のみや前年度と 異なる傾向を示していたのは、新たに典型症状を表した 者が多かったためと考えられた。

### 2)職域集団におけるスギ花粉症症状とスギ特異的 IgE 抗体陽性率

東京都内に勤務地ある職域集団の定期健康診断受診者 の中から, 年齢が20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 歳の者,計770名を選び、スギ花粉症症状に関する質問 票調査と血清中スギ特異的 IgE 抗体価の測定を行った (図3)。質問票は地域集団での調査に用いたものの簡 略版であり、スギ花粉症の症状にかかわる質問文は同一 のものである。スギ特異的 IgE 抗体価はCAP RAST 法により測定した。

年齢別のスギ花粉症有症率とスギ特異的 IgE 抗体価 を図4、図5に示した。60歳台の者は数が少なかったた めに以下の解析からは除外した。典型症状有症率は20歳 代で10.0%, 30歳代で13.9%, 40歳代で11.3%, 50歳代 で2.4%であり、30歳代が最も高率であった。この傾向 は非典型症状を含めても同様であった。スギ特異的 IgE 抗体価については年齢が高くなるにつれて陽性率は低く なり、スコア 2 以上の陽性者は20歳代で54.6%、30歳代 で42.0%, 40歳代で33.6%, 50歳代で31.0%となってい た。また、若年の方が高スコアの者も多かった。次に、 スギ特異的 IgE 抗体陽性者の中でスギ花粉症症状有症

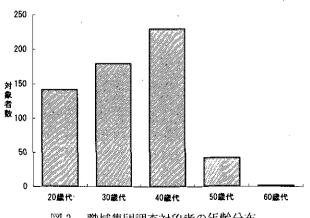


図3 職域集団調査対象者の年齢分布

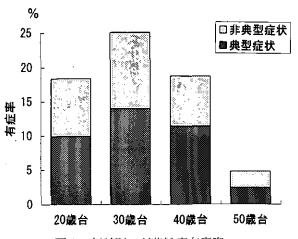


図4 年齢別スギ花粉症有症率

状況を年齢別に示した(図6)。陽性者のうち典型症状を示していたのは全体では25.8%,非典型症状を示していたのは13.8%であった。陽性者の中で症状を示している割合は30歳代と40歳代で大きく,約半数であった。次に,対象者の出生地別にスギ特異的 IgE 抗体陽性率を比較した(図7)。関東・東北出身者が多いために、全国的な傾向を判断することは困難であるが,スギのほとんどない北海道や沖縄出身者の陽性率が低くなっており,過去のスギ暴露歴と感作との関連性を検討する必要性があることを示している。

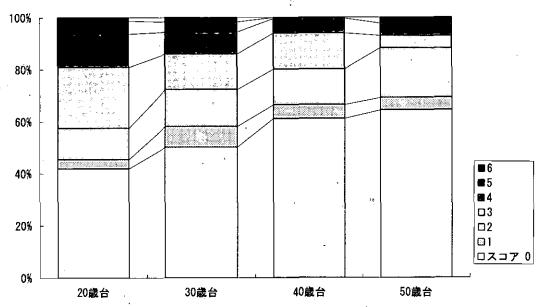


図5 年齢別スギ特異的 lgE 抗体価(CAP RASTスコア)

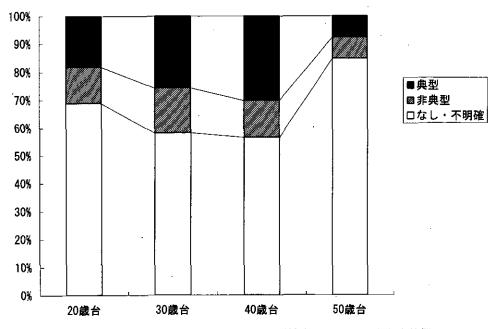


図 6 年齢別スギ特異的 lgE 抗体陽性者のスギ花粉症有症状況

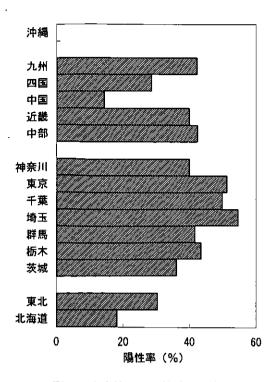


図 7 出生地別スギ抗体陽性率

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

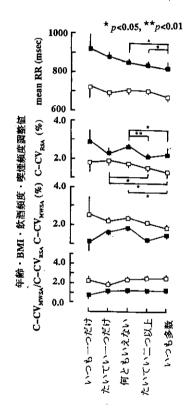
1)職業ストレス・通勤環境等を考慮した騒音ストレス ス評価に係わる調査研究

前年度に引き続き、東京都心部の一企業の従業員(若年~中年ホワイトカラー男子)について、対象者数を計282名に増やして、血圧測定、身体測定、生活時間・通勤ストレス・職場ストレスに関する問診、心拍変動を用いた自律神経検査などを実施した。結果、

- a)安静臥位におけるRSA成分量、および立位負荷時の同変化量により示される心臓副交感神経機能は、加齢・肥満によって有意に低下することを再確認した。ただし、同傾向はMWSA成分とRSA成分のパワー比により示される交感神経系の活動性には認められなかった。
- b) 喫煙頻度・飲酒頻度と自律神経検査の成績との関連は前年度同様観察されず、上記のような集団で通常みられる程度の喫煙・飲酒範囲内では自律神経系への影響はほとんどないものと考えられた。
- c) タイプA行動特性(心疾患のリスクファクターであり、ストレスの修飾要因ともいわれる)の簡便な評価法であるBortner尺度を問診に組み込んだ結果、同特性と喫煙頻度・飲酒頻度・残業時間などとの正の関連が示された。同特性と心拍変動を用いた自律神経検査の成績との関連は(後者への加齢・肥満の影響を考慮すると)

認められなかった。しかし、同尺度を構成する7つの質問項目別にみた場合、「一度にいくつもの仕事を手がける」という項目と、副交感神経の活動性低下および心拍数の増加との関連が示された(図8)。

- d)「一度にいくつもの仕事を手がける」人では、日頃の勤務時間が9時間以上の人が多いことから、勤務時間が9時間以上の人はそうでない人に比べ副交感神経の活動性が低下していることが示唆された。
- e) 通勤時間が片道90分以上の人は90分未満の人に比べ、MWSA成分とRSA成分のパワー比が大きく、交感神経優位にある可能性が示唆された。



Q. 「一度にいくつもの仕事を手がけますか」

### 図8 タイプA関連行動特性と自律神経系の活動性と の関連

■. 安静臥位; □. 立体における値 BMI, body mass index(肥満度の指標); mean RR, 平均心拍間隔;

C-CV<sub>#sa</sub>. 呼吸性不整脈成分変動係数(心臓副交感神経 系の活動性を示す);

C-CV<sub>MWs A</sub>. Mayer波性不整脈成分変動係数(交感神経 系と副交感神経系の活動に関連);

 $C-CV_{MWSA}/C-CV_{RSA}$ 、交感神経の活動性ないしこれと 副交感神経系活動性のバランスの指標

### 2) 不眠症の疫学と騒音性不眠に関する調査研究

大都市住民における不眠症に対する都市騒音(特に道路交通騒音)の寄与を評価する目的で、疫学調査を行った。不眠症の評価基準については、厚生省で進行中の調査研究との整合性を考慮しつつ、国際的診断基準にできるだけ近づけた。

前年度には東京都A区において、幹線道路(夜間交通量1500~1800台/時間)からの距離に応じ層別無作為抽出した成人女性を対象とする質問紙調査(N=716)を行い、幹線道路の沿道20m以内のゾーンで不眠症(入眠困難・中途覚醒・早朝覚醒・熟眠困難のうち一つ以上)の有症率が高い傾向を認めた。さらに詳しくみると、不眠症と判定された人のうちでも、不眠の理由の一つとして屋外の騒音をあげた人の割合は、上記ゾーンで有意に高かった。また、上記傾向は「加療中の疾患がある」群において顕著だが、「加療中の疾患がない」群ではこの傾向が認められなかった(図9)。属性・住居環境等の要因の影響を統計的に調整しても前者の群では、幹線道路から20m以内のゾーンにおける有症率が有意に高いこ

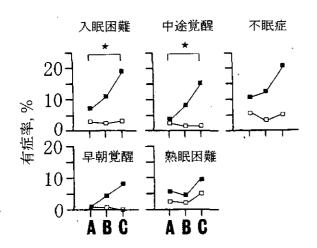


図 9 加療中疾患の有無・幹線道路からの距離別にみた 不眠症有症率

■. 加療中疾患あり群;□. 加療中疾患なし群 幹線道路からの距離;

A, 50~100m; B, 20~50m; C, 0~20m

★, p<0.05

とが示唆された。

さらに本年度は、上記質問紙調査により把握された不眠症例、およびこれらと年齢・婚姻状況・職業の有無・加療中疾患の有無をマッチさせた対照例について症例対照研究を行い、調査協力が得られた10組について寝室内および家屋外における睡眠時騒音状況を測定した。その結果、寝室内の睡眠時Leq、およびLo5とLo(ともに1分値の平均)は対照例より不眠症例において有意に高く(図10)、同居小児の有無・居住年数・飲酒頻度・半年以内のライフイベント数を多重ロジスティックモデルで調整してもなお同様の傾向が示唆された。すなわち、不眠症の一因として、高騒音レベル地域における道路交通騒音の影響が強く示唆された。

また、群馬県B市、長崎県C市、沖縄県D市・E市の3地域においても、東京と同様の質問紙調査を実施した(それぞれN=648/1,273/590)。全体的にみると、不眠症の粗有症率は東京の場合とほぼ同様の結果であるが、これらの結果については引き続き解析中である。

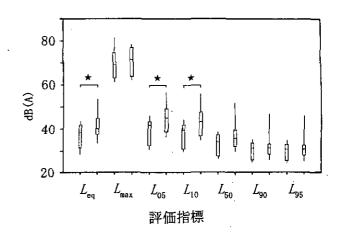


図10 不眠症例と対照例の睡眠時音暴露状況の比較各評価指標につき左は対照群、右は不眠症群の値を示す。ただしし、は等価振音レベル、Lmu、は最大値、Lmは1分ごとのLmの睡眠中の平均値を示す。箱の上下端と上下のタテ線は各々中央値±25パーセンタイルと最大~最小範囲を示す。★有意差あり(p<0.05)、N=10ペア。

## 2.7 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

平成5~8年度(1993~1996年度)

[研究組織]

地域環境研究グループ

統括研究官

都市大気保全研究チーム

交通公害防止研究チーム

水環境改善国際共同研究チーム

水改善手法研究チーム

湖沼保全研究チーム

海域保全研究チーム

主任研究官

大気圏環境部

大気物理研究室

高層大気研究室

水土壤圈環境部

上席研究官

客員研究員 27名, 共同研究員 10名

内藤正明

○若松伸司·上原 清

清水 浩・森口祐一

稲森悠平・高木博夫・水落元之

西村 修

福島武彦・松重一夫

竹下俊二

松本幸雄

鵜野伊津志

杉本伸夫,松井一郎

相崎守弘

### (研究概要)

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

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

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

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

の課題に沿って研究を行うことになっている。

- (1)環境負荷の構造変化の要因の同定とそれに伴う都 市の大気と水質問題の実態解明に関する研究
  - 1) 都市域における大気, 騒音と水質問題の経年変化 に関する解析

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

2) 都市域における大気、騒音と水質問題の地域分布に関する解析

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

- (2)環境負荷の構造変化に伴う都市の大気問題と水質 問題の予測に関する研究
  - 1)都市の大気問題の予測に関する研究

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

2) 都市の水質問題の予測に関する研究

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

- (3)都市の大気問題と水質問題への新たな対応策に関する研究
- 1)都市の大気問題への新たな対応策に関する研究 沿道大気汚染、交通騒音等の予測・評価結果並びに他 の環境問題に関しての評価等に基づいて望ましい実現可

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

- 2) 都市の水質問題への新たな対応策に関する研究表流水汚染の予測・評価結果並びに他の要因に関しての評価等に基づいて望ましい実現可能な対応策を検討する。具体的には地域特性及び排水特性に応じた小規模排水処理方法を検討し、小規模未規制排水の有機物、窒素、リンの同時除去システム、等を提案する。さらにはこれらのシステムの都市及び周辺地域への適正立地評価手法の開発を行う。
- (4) 都市大気環境の対策の評価及び都市水質汚濁負荷 の削減効果の評価に関する研究
- 1) 都市大気環境の対策の評価に関する研究

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

2)都市水質汚濁負荷の対策の評価に関する研究 都市域の未規制排水対策による水質汚濁負荷の削減効 果の評価を行い、各種のシナリオを提案する。

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

#### 〔研究成果〕

本研究の成果は都市の大気問題と水質問題に分けて示した。

- (1)環境負荷の構造変化から見た都市の大気問題の把握とその対応策に関する研究
- 1) 局地循環モデルの改善

大気汚染の立体的挙動を評価するにあたり気象パラメータの予測が最も重要である。このため 4 次元データ 同化手法(Four – Dimensional Data Assimilation;FDDA)を用いた局地循環モデルを検討した。さらにこの手法を関東・中部地域に適用し、シミュレーション 結果の定量的な評価を行った。シノプティックスケールの地衝風のみを与えたモデルでは、特別観測時の関東地域の風系を再現することができなかったがエアロロジカ



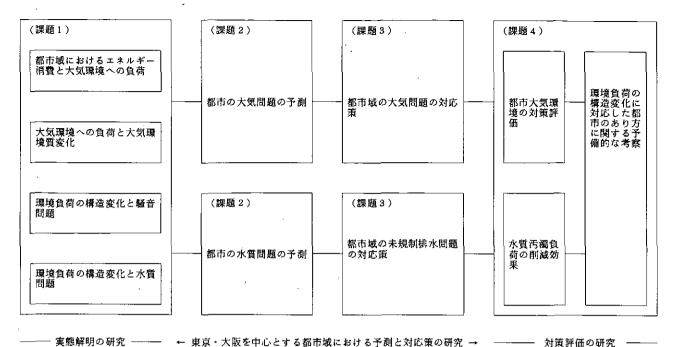


図1 環境負荷の構造変化から見た都市の大気と水質問題の把握とその対応策に関する研究の全体構成

ルデータをFDDAで取り込むことにより、モデルの日中の精度は大幅に改善され、モデルの平均風速・風向の時間変化と観測結果は良く一致した。一方、夜間はエアロロジカルとアメダスデータのみによるFDDAでは、海風から陸風への急激な変化を正確に再現することができなかった。モデルの標準偏差は観測値よりも小さく、モデルで用いた地表面性状の空間分布が実際と異なるためと考えられた。さらに、FDDAのデータの密度と時間間隔についての検討を行い、FDDAに用いる観測データ点が増加するにつれて、モデルと観測の一致性は上昇し、その傾向は夜間に特に顕著であることが示された。

## 2) 都市域における環境データの収集整備と大気汚染モデルの運用

関西地域における大気汚染機構の解明,並びに長期的な変化の傾向を明らかにするための基礎資料の作成を行った。具体的には、大阪、兵庫を中心とした関西地域における発生源データ、大気環境関連データを収集整備した。さらにこれらのデータを大気汚染モデルに入力するためのモデルフレームの検討と平成 5 年度に関西地域において実施したフィールド観測への適用を行った。発生源データの推定はフィールド観測を実施した平成 5 年4月18~21日の期間を対象として $NO_x$ ,  $SO_x$ , NMHC,

COに関して行った。この中でNMHCに関しては生物起源についても考慮した。本年度は第一段階として気象要素の予測のための力学モデルとしてFDDAを用いた局地循環モデルを関西地域に適用して、移流・拡散の状況を解析した。モデル対象地域を図2に、大阪における気流シミュレーションの結果と $NO_x$ の濃度の時刻変化の計算例を図3、4に示す。観測期間中には高濃度の $NO_x$ が出現したがモデルによる計算においても高濃度が示されており比較的良好な一致が得られている。次の段階として反応を含んだ計算を行い $NO_2$ の濃度評価を行うことになるが、今後さらに物理モデルの調整や発生源の精査が必要であると思われる。

### 3) 大気安定度を考慮した沿道大気汚染の風洞実験

前年度は沿道及びその周辺地域において、NOがNO<sub>2</sub>に変化していく様子をフィールド観測によって明らかにした。本年度は①フィールド観測した現地の250分の1縮尺模型を用いた事例研究、②市街地を単純な形状のブロックで置き換え、大気安定度が沿道濃度分布に与える影響を調べる模型実験、③汚染物の拡散に直接の影響を及ぼす風速及び温度の乱れをはかる乱流測定の研究を行った。

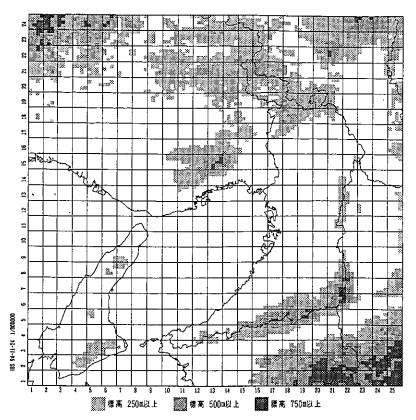


図 2 関西地域における大気汚染予測モデルの計算対象領域

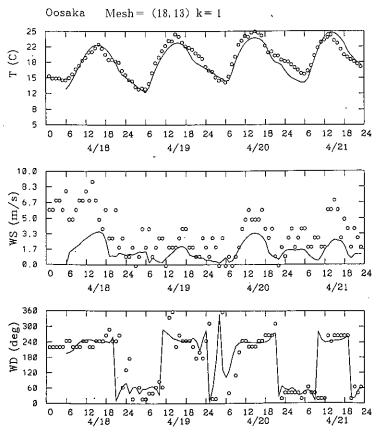
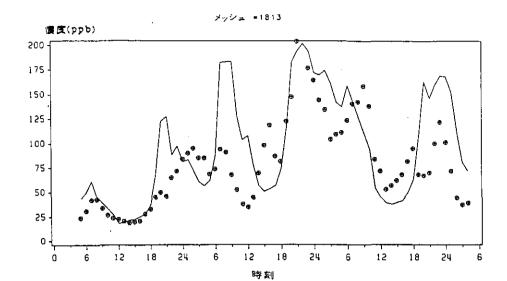
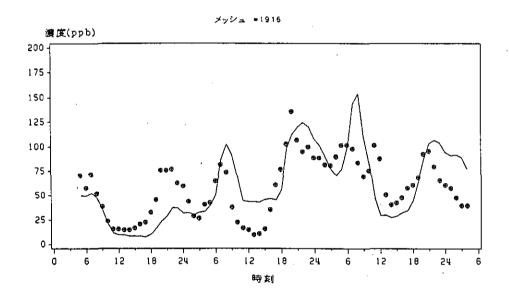


図3 1993年4月18日から21日にかけての大阪におけるFDDAを用いた局地循環10層モデルによる気温、風向、風速の予測結果(実線)と実測値(〇)との比較計算結果は図1の東西メッシュ18、南北メッシュ13の地点における地上第1層(25m)の平均値





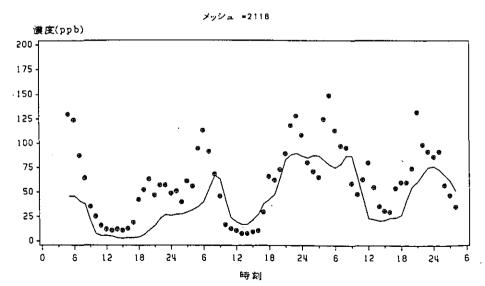


図 4 1993年 4 月19日から21日にかけての三次元モデルを用いたNOx濃度の第 1 層 (25m) における計算値 (実線) と実測値 (⊕) との比較 地点メッシュは図1 参照

事例研究では対象とした市街地の縮尺模型を制作し, 幹線道路からの自動車排ガスを再現するための線源より トレーサーガスを放出し、沿道周辺の濃度分布を測定し た。この実験では特に、対象とした区域の500m風上に ある高速道と国道からの汚染寄与を調べるためにそれら に相当する線源も加えて設置している。実験の結果を図 5 に示す。図より濃度が高いのは風上側建物や、大きな 樹木の風背側のよどみ域に当たる場所であることが分 かった。また風上側500mと比較的離れた場所にある交 通量の多い道路からの汚染寄与は、通常では低濃度が予 想される後背地に対しても大きいことが分かった。図6 に自排局におけるNOxの観測値と、風洞実験の自排局 に対応する位置の無次元濃度を比較する。図の観測値は 平成5年4月19~20日の間の風向SSWのときの自排局 の $NO_{x}$  1 時間値から同時刻のN一般局の $NO_{x}$  1 時間値 をバッククラウンド濃度として差し引き、さらに同時刻 の風速と交通量調査によるNOx排出強度を用いて無次 元化している。図より自排局における $NO_x$ 濃度は大気 安定度によって大きく変化している。風洞実験は中立で 行っているのでこの図ではDに対応するが、安定度によ る観測値の変化の傾向を考慮すればよくあっているとい える。

この結果より大気安定度による沿道汚染濃度の変化が 大きいことが分かったが、これを実験的に検証するため に、市街地を単純な形状のブロック模型に置き換えて拡 散実験を行い、大気安定度によって沿道大気汚染濃度が どのように変化するかを調べた。図7に結果の一例を示す。図は前後の街区に挟まれたストリートキャニオン内の濃度分布を表しており、風は矢印の方向、汚染は道路中央から発生している。図よりストリートキャニオン内にでてくる大きな回転流によって高濃度は全般的にキャニオン風上側の街区に偏って生じる。また大気が安定の場合の濃度は中立の2~3倍、逆に不安定の場合には中立の3分の1ほどに低下することが分かる。この理由は鉛直方向の汚染物の拡散にもっとも強い影響を及ぼす風速の乱れが、大気の成層状態によって変化するためである。

そこで、レーザードップラー流速計を用いて種々の温度成層状態における風速と温度の乱れを精密に計測した。 結果の一部を図8と9に示す。図の凡例においてs87-11のsはstabl:安定,nはneutral:中立,uはunstable:

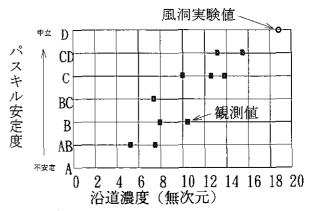


図 6 風洞実験値と観測値の比較(風向SSW)

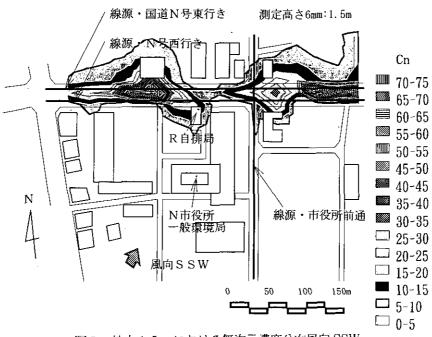


図 5 地上 1.5m における無次元濃度分布風向 SSW

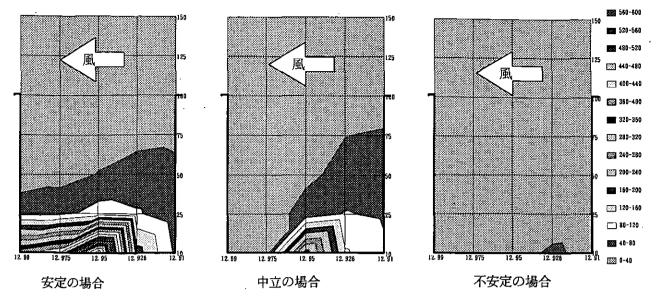
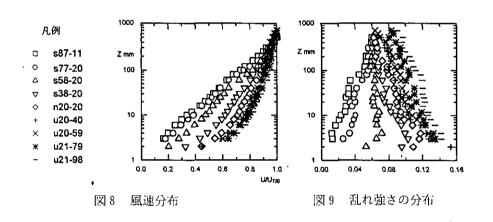


図7 大気安定度によるストリートキャニオン内の濃度分布の差



不安定,最初の数字は気流温度87℃,あとの数字は床パネル温度11℃であることを示している。図8はそれぞれの成層状態で得られた風速分布であるが安定度が強いほど床面近くの風速が低下し、逆に不安定では風速が高くなる。これは図9流れ方向の乱れ強さの分布において安定が強いほど床面近くの乱れが小さく抑えられ、不安定側で大きいこと、さらに図は省略するが鉛直方向の乱れ強さが、安定が強い場合には非常に小さくなっていることに対応し、鉛直方向の運動量の輸送が安定度により大きく変化することを明瞭に示し、成層状態によって風速及び温度の乱れの分布が大きく変化することが分かった。

4) 差分型の沿道大気拡散モデルの実用化のための検討

都市内における自動車排出ガスの拡散は、道路沿道の 建物や道路自身の構造の影響を強く受ける。このため、 こうした構造物の影響を明示的に扱える予測手法として、 風速場と濃度場を差分法によって解く沿道大気拡散モデルの開発を進めてきた。今年度は、風速場を解くアルゴリズムの改良を行うことにより、さまざまな境界条件について計算を従来より高速かつ安定に行うことが可能となった。また、これまでスーパーミニコンピュータで実行していたモデルをワークステーションに移植して、十分な性能をもつことを確認するとともに、パーソナルコンピュータ上でのモデルの実行可能性についても検討を行い、今後の計算機性能のさらなる向上を見込めば、小型・安価な計算機上でも実用に供し得るとの見通しを得た。

5) 関西地域における交通環境シミュレーションシステムの構築

交通量配分シミュレーションモデルと大気汚染予測モデルを結合することにより, 道路網の整備やモーダルシフト等の都市圏レベルの交通公害対策の効果の予測を行

うシステムとして、広域交通環境シミュレーションシス・ テム(RTPSS)を前年度までに整備してきた。本年度 は、大阪府および兵庫県南部を対象地域としたシステム を構築するため、交通量配分計算に用いる幹線道路ネッ トワークデータの整備および発生集中交通量を与える地 域ゾーン分割を行った。また、交通量や汚染物質排出量 の構造変化を分析するため、上記地域を含む広域都市圏 における過去3時点における道路交通センサス断面交通 量データをシステムに入力し、これをRTPSSですでに 整備ずみの地図表示やメッシュ集計の機能と組み合わせ ることにより、環境負荷の推移を都市圏レベルで面的に 把握することが可能となった。なお、平成7年1月の阪 神・淡路大震災により、上記対象地域が道路網を含め大 きな被害を受けたため、今後の復興策による交通需要や 道路網の変化が大気環境に与える影響についても、予備 的な検討を行った。

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

都市における人口の集中,産業構造の変化,土地利用の変化あるいは生活様式の質的向上等は,都市域において発生する排水や廃棄物等の環境負荷の量および質を大きく変化させ新たな水質問題の引き金となる可能性が高いことから,これらの水質問題の実態把握,将来予測,新たな対応策とその評価手法について研究し,行政的対応を図る上での知見を集積するための検討を行った。

本年度の計画は課題1では、環境負荷の構造変化の要因の同定とそれに伴う都市の水質問題の実態解明に関する研究として利根川流域を対象とした解析を行い、課題2では環境負荷の構造変化に伴う都市の水質問題の予測に関する研究として東京湾への流入負荷の今後の予測および栄養塩バランスの変化が水界生態系に及ぼす影響予測を行い、課題3では都市の水質問題への新たな対応策に関する研究として高濃度有機排水の高温好気発酵法処理,埋立地からの難分解性高濃度窒素含有排水処理等のプロセスの開発研究を行い、課題4では都市の水質汚濁負荷の削減効果の評価に関する研究では東京湾への生活系汚濁負荷削減対策の効果を下水道における高度処理導入、し尿単独処理浄化槽の合併処理浄化槽への転換による効果の評価を行った。各課題ごとに得られた成果は以下に示すとおりである。

## 1) 都市域における水質問題の経年変化と地域分布特性 からの解析

課題1においては1970年から現在までの利根川流域の 水質の経年変化を解析し、それらの変化に影響を及ぼす 因子について検討した。その結果ほとんどの流域におい て河川水中の総窒素、硝酸性窒素等が上昇傾向にあるこ とが明らかにされた。またリンの濃度は低下傾向にあり, 結果としN/P比が上昇する傾向が示された。これらの 濃度上昇の原因としては①畜産業における家畜飼育頭数 の増加、②浄化槽の普及によるトイレの水洗化、水使用 量増加などの人間の生活様式の変化の影響が挙げられ、 畜産業等の小規模事業場排水および生活排水への対策が 今後重要であると考えられた。また、N/P比の増加に よる水界生態系への影響評価の基礎として水源池等の N/P比と藻類種の関係を解析した。その結果、N/P比 の増加はラン藻類の優占化を招く傾向にあり(図10), 利水障害等が増加する可能性が示され,環境水中の窒素 濃度の低下が重要であることが示された。

### 2) 都市域における水質問題の予測に関する解析

課題2においては将来の首都圏の社会的状況をいくつかのシナリオとした水質予測システムを作成し、東京湾への汚濁負荷量、中小河川の水質という2つの観点から将来の水環境の問題点を予測した。その結果東京湾への負荷の総量は生活系では人口の伸びがそのまま負荷量の伸びとなり、総負荷としては数%~数十%の増加となることが示された。また、中小都市河川では下水道の普及率と人口増加率の関係で水質が改善もしくは悪化し、年1%程度の下水道普及率増加が行われない場合には、中小河川の水質汚濁はますます進むものと予測された。

### 3) 都市域における水質問題に対する新たな対策

課題3においては都市の環境負荷の構造変化により、 今後ますます対策の必要性を増すものとして、生活排水、 畜産排水、油分等を含むレストラン排水等の小規模事業 場排水、埋立地浸出水等の処理技術について実験的検討 を行った。生活排水対策としては、合併処理浄化槽の高 度化、特に窒素の高度除去については嫌気・好気循環生 物膜ろ過法の検討をすすめ、脱窒の条件を最適化する手 法を明らかにした。畜産排水、油分を含むレストラン排 水等の高濃度有機物排水については高温好気発酵法を応 用した処理の開発を進めた。また埋立地浸出水の処理に 関しては、難分解性有機物の処理の高度化のために嫌気・好気循環生物活性炭オゾン併用プロセスを検討し、中間オゾン処理により効果的な処理が可能となることが明らかにされた(図11)。

### 4) 東京湾を対象とした汚濁負荷削減効果の評価

課題 4 においては東京湾への負荷の削減対策に関する効果の水質ならびに費用の面から評価を行った。評価の対象とした対策は①下水道の高度処理化、②高度合併処理浄化槽による未処理雑排水の処理、③海域内しゅんせつ、④海域内覆砂、⑤人工海浜の設置である。この中で、第 3 次総量規制が実施された場合のデータをベースとした場合において、下水道の普及率によって差はあるものの地域によっては既設の合併処理浄化槽をさらに高度化し、未処理雑排水を高度処理合併処理浄化槽で処理する場合、既設の下水・し尿処理場を100%高度処理した場合にほば匹敵し、大きな総量規制の効果を有することが図12、13に示すとおり明らかとなった。

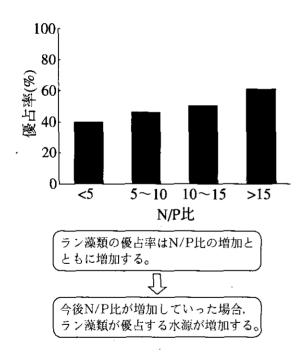


図10 N/P比の変化のラン藻類占有率からみた水界生態系に及ぼす影響予測

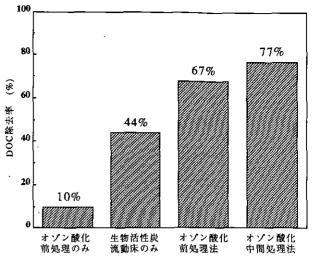


図11 オゾン・活性炭プロセスによる 埋立地浸出水処理特性

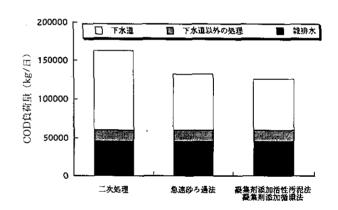


図12 下水道の高度処理化によるCOD負荷量削減効果 (平成16年度、下水道普及率86.5%, 高度化率100%)

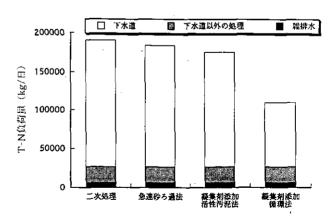


図13 下水道の高度処理化によるT-N負荷量削減効果 (平成16年度,下水道普及率86.5%, 高度化率100%)

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

平成5~9年度(1993~1997年度)

[研究組織]

・ 地域環境研究グループ

上席研究官

大気影響評価研究チーム

環境健康部

生体機能研究室

病態機構研究室

環境疫学研究室

中杉修身

○嵯峨井勝・市瀬孝道・熊谷嘉人

小林隆弘・古山昭子

藤巻秀和

田村憲治・本田 靖

#### 〔研究概要〕

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

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

そこで、本特別研究では、ディーゼル排気 (DE) の 吸入暴露実験装置を用いて、①マウスで気管支ぜん息等 ・の慢性呼吸器疾患の発症とディーゼル排気 (DE) との 間の因果関係の有無を解析するため、その発症機序の解明および量一反応関係の解析を行う。②マウスに対する低濃度DEの長期暴露による発がん実験を行い高脂肪食や緑黄色野菜に含まれているβ-カロチンなどの食事性栄養素を多量に摂取した場合の発がん率の抑制等を調べる。このような実験的研究を通じて、ディーゼル排気がどのような機序でヒトの慢性呼吸器疾患を引き起こすのかを明らかにする。さらに高濃度のディーゼル排気暴露を受けている集団の個人暴露量・健康影響調査の結果と合わせてディーゼル排気によるヒトの健康に及ぼすリスクを評価し、都市大気汚染防止に資する科学的知見を得ることを目的とする。

本研究ではディーゼル排気ガス (DE) を実験動物に吸入させることにより慢性呼吸器疾患を発症する機序を解明するとともに、量一反応関係を明らかにし、さらに、ヒトの個人暴露量の推定の結果から、ヒトの健康に及ぼすリスク評価を行うことを目的に以下の4つの課題の研究を行う。

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

近年、ディーゼル車の増加に伴い、大都市部において 学童や老人に気管支ぜん息等が増加しているという。し かし、両者の因果関係は依然として不明である。この因 果関係を実験的に明らかにすることを目的に、上記の3 つの段階の反応をそれぞれのサブテーマに分けて研究す る。

3つのサブテーマの中には、IgE 抗体産生誘起反応、 炎症反応、粘液分泌促進反応、化学伝達物質遊離反応、 自律神経系の受容体異常および気道反応性の亢進等の 様々な病態の解明が含まれ、これら病態がディーゼル排 気吸入によって発現するかどうかをディーゼル排気暴露 実験により検討する。このような各反応の解析によって、 ディーゼル排気がそれら病態を引き起こすメカニズムを 明らかにすると同時に、各病態がどの程度のディーゼル 排気濃度の吸入で発症するかという量一反応関係をも明 らかにし、ヒトのリスク評価の基礎資料を得る。

- (2) ディーゼル排気による呼吸器系腫瘍発生に及ぼす 食事性因子のリスク評価に関する研究
  - 1) 高脂肪食摂取による呼吸器系発がん率の変動に関する研究
  - 2) 高脂肪食による呼吸器系発がんの抑制因子の解析 に関する研究

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

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

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

ディーゼル排気暴露によるヒトの慢性呼吸器疾患発症のリスクを評価するために、特にディーゼル排気等の高濃度の大気汚染物質に暴露されていると考えられる職域や地域の集団を対象に、浮遊粒子状物質(SPM)とNO2の個人暴露量を推定するための調査を行い、一般住民との暴露レベルの違いを明らかにする。このため、職域集団としては自動車乗務員等を、地域集団としては

幹線道路周辺沿道の商店店員等を対象として、リスク因子としてのSPMについて、重量濃度と粒子中の多環芳香族炭化水素濃度を測定する。

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

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

### 〔研究成果〕

- (1) 気管支ぜん息等慢性呼吸器疾患の発症機序と量ー 反応関係に関する研究
  - 1) 免疫的刺激によるIgE抗体産生能に及ぼすDEP の影響

これまで、DEP は卵白アルブミン(OA) 等との同 時投与によって、アレルギー反応に関与するIgE 抗体 産生を上昇させることが知られている。本年度は、この アレルギー反応に関与するIgE 抗体産生能に及ぼすOA の役割とDEPの量反応関係を検索するために、マウス 1匹当たりに0.1mg, 0.05mg, 0.025mgのDEPを毎 週1回ずつ気管内投与し、その間に1μgのOAを3週間 に1回ずつ,DEPと同時に投与し,OA抗原特異的IgE 抗体産生能を調べた。その結果、OA単独、DEP単独お よびOAとDEPとを同時に投与した場合のいずれの場合 もIgE 抗体価はほとんど増加しなかった。一方、図1 に示すように、IgG 抗体価は著しく増加していた。前 年度の10μgOA投与実験では IgE 抗体価がかなり増加 したことに比べると、抗原量の違いが産生する抗体の種 類に影響することを示しており、興味ある知見を得た。 さらにこの時、次項に述べるように、気管支周辺部への 好酸球と好中球の浸潤も顕著であった。このことは、

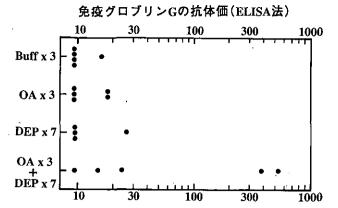


図1 ディーゼル排気微粒子(DEP), 卵白アルブミン (OA)の単独あるいは併用投与によるマウスの 血清中IgG抗体価の変化

Buff x 3, OAを溶かした緩衝液を 3 週間おきに 3 回投与した群; OA x 3,  $1\mu g$  OAを 3 週間おきに 3 回投与した。群; DEP x 7, 0.1mg DEPを毎週 1 回ずつ 7 回繰り返し投与した群; OA x 3+DEP x 7,  $1\mu g$  OAを 3 週間おきに 3 回投与し、さらに、0.1mg DEPを毎週 1 回ずつ 7 回投与した群;

IgE 抗体産生を起こさないDEP単独投与実験でも高い好酸球浸潤が認められた前々年度の結果とともに、IgE 抗体産生を介さないアレルギー反応によって気道の慢性炎症が起こりうることを示している。この時、IgG抗体産生が増加していたことがどのような意味を持つのかはまだ分からないが、何らかの形でこのアレルギー反応に関与している可能性があり今後の重要な検討課題である。

## 2) 気管支ぜん息を誘発する気道炎症の発症機序とその量-反応関係の解析

ディーゼル排気微粒子(DEP)の慢性的気管内投与実験で観察された IgE 抗体産生亢進のような免疫的刺激を介さず、活性酸素によってぜん息様病態が起こることは前々年度に示した。さらに、今年度はハウスダスト等のヒトを取り巻く環境中に存在している抗原の代わりに  $1\mu$ g という微量のOAの存在下で IgG 抗体の産生増加が認められたので、この条件下で気管支粘膜下への好酸球浸潤が起こるかどうかを調べた。その結果、この好酸球浸潤が起こるかどうかを調べた。その結果、この好酸球浸潤は  $1\mu$ gOA+0. 1mg DEPで顕著であり、さらに DEP が0. 05mg や0. 025mg レベルでも対照群の値より量反応的に増加していた。

さらに本年度は、マウスを用いたディーゼル排気の長期暴露実験を開始し、あと数カ月でその結果の解析が始まろうとしている。この吸入暴露実験によってぜん息様病態が発症するかどうかを調べるとともに、その量-反

応関係を明らかにし、ヒトに及ぼすリスク評価に資する データを得ることに努める。

### 3) 気道反応性亢進等に及ぼす呼吸生理学的研究

前記の実験のように、 $1\mu$ gOA+DEPを気管内へ繰り返し投与したマウスの吸入アセチルコリン・エアロゾルに対する気道反応性に及ぼす影響を検討した。その結果、0.1mg DEP+OA投与群では気道過敏性は対照マウスの約5 倍に増加していた。また、ディーゼル排気ガス暴露でも約3 倍に上昇し、量一反応的に気道過敏性が増加していることが確認された。現在、この気道過敏性増加が起こる機構を解析するため、化学伝達物質や薬理学的手法などを使ってその変化から気道反応性に及ぼす影響の検討を行っている。

### (2) 呼吸器系腫瘍発症に及ぼす食事性因子のリスク評 価に関する研究

先に、ディーゼル排気微粒子(DEP)を毎週1回ずつ、10回気管内投与し、コーン油等の $\omega$ -6 系高脂肪(16%)含有食を与えたマウスでは普通脂肪(4%)含有食を与えたマウスに比べて肺の腫瘍発生率が上昇すること、さらにこれらの飼料に0.02%の $\beta$ -カロチンを添加するとその腫瘍発生率は低下し、その傾向は悪性腫瘍で顕著であることを報告した。

本年度は、これらのことがDNAの分子レベルの変化と相関しているかどうかを高脂肪食、普通脂肪食、さらにその各々に0.02%の $\beta$ -カロチンを添加した飼料を与えたマウスを用いて、8-ヒドロキシデオキシグアノシン(8-OHdG)生成の変動を調べた。

実験はマウスの1匹当たりに、0 mg、0.1mg, 0.2 mg, 0.3mg, 0.4mg, 0.5mgおよび0.6mgのDEPを1回だけ気管内投与したマウスの肺内 8-OHdG 生成を調べ、その結果を図2に示した。DEP濃度が $0.3\sim0.4$ mgで最大となり、それ以上になると生成量はむしろ低下した。これは、DEP自身が・OHラジカルを生成して8-OHdGを生成すると同時にこの・OHは細胞毒性も高いことから、・OH生成量が一定以上になると細胞毒性も発現し、8-OHdG 生成も低下したものと考えられる。

・ また、食事の違いによる8-OHdG 生成の結果を図3 に示した。発がん性の結果と同様に高脂肪食投与マウスでは8-OHdG 生成量は有意に増加し、β-カロチン投 与マウスではその生成量は低下する傾向を示していた。

これらのことから、高脂肪食による発がん性の増加には活性酸素の関与ならびにそれにかかわる8-OHdGの生成が重要なかかわりを持っていることが示唆された。

# (3)高濃度暴露集団の個人暴露量の推定とリスク評価 に関する研究

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

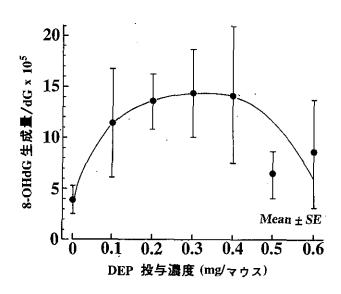


図 2 ディーゼル排気微粒子 (DEP) を 1 回だけ気管 内投与されたマウスの肺内 8-ヒドロキシデオキ シグアノシン (8-OHdG) 生成の量反応関係

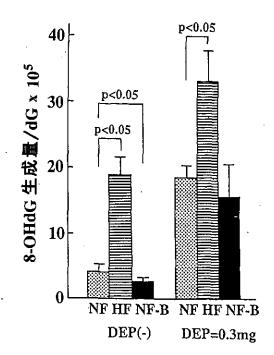


図 3 普通脂肪食, 高脂肪食および普通脂肪食に β -カロチンを添加食摂取マウスへの DEP 気管内 投与による肺内8-ヒドロキシデオキシグアノシ ン (8-OHdG) 生成の変化

NF. 普通脂肪 (4%) 食群; HF. 高脂肪 (16%) 食群; NF-B. 普通脂肪食+0.02% β-カロチン添加食群:

## 2.9 廃棄物埋立処分に起因する有害物質暴露量の 評価手法に関する研究(初年度)

平成6~9年度(1994~1997年度)

〔研究組織〕

地域環境研究グループ

統括研究官

上席研究官

有害廃棄物対策研究チーム

水改善手法研究チーム

化学環境部

計測管理研究室

客員研究員 20名. 共同研究員 2名

内藤正明

中杉修身

○植弘崇嗣·西川雅高

平田健正

安原昭夫

#### [研究概要]

### (1) 研究目的

廃棄物は人間活動の増大・物質文明の発達に伴い、発生量が増大するとともにその性状についても多様な広がりを見せている。また、国際的にも越境汚染問題、発展途上国における大都市周辺のごみの山問題等、今後の人間活動・環境の根幹にかかわる緊急かつ重大な解決すべき課題となっている。

我が国においても廃棄物は、経済の高度成長に伴い、その量は増大し、質は多様化している。減量化と無害化を目的とする中間処理としての焼却処理については、地球温暖化対策の一環であるエネルギーの高度利用の観点から、ゴミ発電や熱電併給システムの導入等による高効率燃焼・排ガス対策等の解決の糸口も見えつつある。しかし、廃棄物最終処分の主要な形態である埋立処分については、その立地条件の困難性に伴う発生地と処分地の分離による国内版越境汚染問題や廃棄物処理コストの負担問題等、解決に時間がかかる課題が山積みになっている。

有害廃棄物問題としては、最近、埋立処分地からの浸出水・漏出水中に有害物質が検出されたことにより、上水水源汚染等の人間の健康に対する影響あるいは生態系に対する影響が危惧されているところであるが、その実態については未だ不明確な状態にある。上水道の水質基準や水質や土壌に係る環境基準及び排出基準の改訂に伴い、環境庁のみならず他省庁においても廃棄物に起因する水質環境汚染についての調査研究が緒についたところである。一方、埋立処分地から発生する揮発性成分によ

る汚染に関しては、廃棄された土壌等に含有されるトリクレン等、あるいは埋立処分地内で起こる化学的変化の結果生ずるおそれのある揮発性有害物質による大気経由の環境汚染についてはほとんど情報がない状態である。また、過去の埋立地の再開発・再利用に伴う健康及び環境影響についても未解明な状態にある。

人間の生活環境の保全を主たる目的として定められる 水質環境基準の見直しの過程において、「生態系に対す るリスク」をも考慮すべきであるとの最近の社会的動向 からみても、廃棄物の埋立処分に伴う有害物質の環境に 対する負荷過程を明らかにし、これらの有害物質による 環境影響を評価する手法を確立することは、緊急に解決 すべき重要な課題である。

有害物質による環境汚染の中で廃棄物問題の持つ特徴は、評価の対象となる有害物質として、廃棄物中に含まれる化学物質や農薬等だけではなく、燃焼や埋立処理に伴い非意図的に生成する物質が多く含まれる可能性が高いことである。また、特に埋立処理では水溶性の蒸気圧の低い物質も生成するため、環境中化学物質の分析手法として有効であり広く用いられているGC/MSのみでは、必ずしも妥当な測定・評価手法とはならないのではないかと危惧されている。

本特別研究では、環境に対する有害物質の影響を評価する上で不可欠な化学物質の環境濃度を測定するために、 最新の物理・化学的分離分析手法の適応性の拡大を図り、 さらに標準化するとともに、暴露量に関する評価手法を 確立することを目的とする。

本研究の成果は、有害廃棄物の最終処分形態である埋

立処分に起因する環境汚染の実態の解明に寄与し、埋立 処分に関わる環境汚染の健康及び生態系に対するリスク の低減施策に大きな貢献ができる。特に、施策の立案段 階でのバックデータの集積、及び施策実施時の効果を判 断するために不可欠なモニタリングシステムの構築に大 きな寄与を果たすことができる。

### (2)全体計画

平成2~4年度に実施した特別研究「産業構造の変化および生活様式の高度化に伴う多様な環境汚染にかかわる対策に関する研究(2)有害廃棄物のモニタリングに関する研究」では以下の知見が明らかとなっている。

①廃棄物(処理過程も含む)由来の有害物質による環境汚染の進行が危惧される。

②中間処理としての焼却過程においては、廃棄物が液体・固体・吸着土壌等と形態的が複雑であるための困難さもあり、十分高温で分解されない場合が起こり、多環芳香族や有機塩素化合物(ポリ塩化フラン、ポリ塩化ダイオキシン等)などの生成が見られる。

③最終処分の埋立処分においては、安定型・管理型の処分地からの浸出水あるいは漏洩水中にフタル酸エステル類を始めとするプラスティック添加物等が検出された。さらに、浸出あるいは溶出水中には多種多様な無機・有機物質が含有され、GC/MS等によっても同定の不可能な物質が量的にも質的にも多くを占める。また、焼却灰埋立に伴って有害な重金属や塩素系有機物の溶出の可能性が危惧される。

④潜在的な技術水準は別として, 現実的には焼却処理 の排ガス処理の方が技術的水準が高く, 環境負荷の観点 からは低減されつつある。

すなわち、焼却処理、埋立処分それぞれに問題があるが、特に埋立処分に起因する環境汚染に関する知見の集積が求められている。このため、本研究では、埋立処分に伴う有害物質による環境汚染に焦点を当て、埋立処分地からの浸出液等の水及び土壌系経由並びに揮発性成分及び粉塵等の大気系経由の有害物質負荷量及びその環境影響を評価する手法を構築する。

1) 埋立地由来汚染物質の検出法及び特定法の高度化 ①浸出水中の汚染物質等の捕捉・同定率の向上

環境試料を含め複雑な混合物中の有機物質の測定に当たって、今日最も有力でありまた広く採用されているガ

スクロマトグラフィー/質量分析法 (GC/MS) によっても、埋立地浸出水の分析においては全有機物質含量の10%以下の成分しか測定できない。これは、浸出水中の蒸気圧の低い(蒸発し難い)物質あるいは熱分解し易い物質が多量に含まれ、これらがGC/MSによっては測定困難であるためである。このため、これらの蒸気圧の低い物質あるいは熱分解しやすい物質を測定するために、近年発展しつつある液体クロマトグラフィー/質量分析法(LC/MS)による難揮発性成分測定手法の検討・開発を行う。

②埋立地から発生する揮発性物質に関する研究

埋立地においては、埋め立てられる廃棄物の種類及び 埋立地の物理・化学的形態により、酸素(空気)の存在 化で起こる好気的酸化状態から酸素のない嫌気的還元状 態まで様々な状態で分解が起こり、これに伴って熱が発 生するとともに二酸化炭素やメタン等の気体の発生が見 られることは良く知られている。嫌気的な分解時には炭 素以外の元素のメチル化物、特に有毒である水銀やヒ素 等のメチル化物の生成も危惧される。この他、廃棄物に 含まる可能性のある低沸点物質であるトリクレン・パー クレンあるいは他の有機溶剤等が、温度上昇とともに揮 発することも考えられる。このため、パージアンドトラッ プ、吸収管吸着法等による有害揮発性物質の測定法の検 討・開発を行う。

③廃棄物汚染の指標となる物質群の効果的な検出手法 に関する研究

埋立処分に伴う汚染物質は、構成成分が特定困難で複雑な組成をなすため、環境中でこれらによる汚染の検出は容易ではない。このため、埋立処分に起因する汚染のマーカーとなる物質(群)をGC/MS及び本研究で開発するLC/MS等の高度な測定手法を用いて検索する。

また、埋め立てられた燃焼灰等に特有な無機元素の高 濃度出現や同位体比異常等をマーカーとした検出法等に ついても検討を行う。

2) 埋立処分に係る有害物質暴露量評価手法に関する研究

①溶出試験及び廃棄物分類法の検討

埋め立てられた廃棄物による環境汚染の大きな経路の一つであると考えられる浸出水からの寄与を減少させる ために廃棄物の溶出試験等が実施されているが、複雑で 多様な埋立地という環境下では現行の単純化された条件 での試験結果のみでは実態とのかい離が危惧される。このため、溶出試験法について実態をより反映した手法を検討するとともに、実行可能性も考慮にいれた標準化についても検討を行う。

### ②強毒性物質の検索

測定された物質や存在の予想される物質の環境影響を評価するには、それらの物質の人の健康や生態系に対する毒性等についての情報を得る必要があるが、本研究においては文献的な検索を主として行うこととする。

また、エームズテスト等の変異原試験などの生物学的な検出手法を用いて、強い毒性を発現する物質(群)や分画についての検索行うとともに、これら物質(群)をGC/MSやLC/MS等を用いて同定する。

### ③有害物質放出量評価手法に関する研究

数種類の形態の異なる埋立処分地を対象として、浸出 水に起因する水・土壌経由及び揮発性物質による大気経 由の汚染物質の環境への放出量を実測データ、モデル化 等を用いて評価する手法を検討・開発する。

### ④暴露評価手法に関する研究

埋立処分に伴う、長期的微量暴露に関する評価手法を検討する。このため、環境濃度の測定データの蓄積、放出量推定、統計/物理モデルによる環境暴露の推定及び人による摂取量の推定等を行い、生態系及び人に対する 暴露評価手法の検討・開発を行う。

また、環境中の有害物質による人の健康及び生態系に 対する影響の内で、廃棄物の埋立処分に起因する寄与分 の評価を行い、埋立処分に伴うリスクの管理手法につい ても検討を行う。

### 3) モニタリングシステムの開発

地方公害研究所等との共同研究を実施し、共通試料の 作成・分析による測定手法の統一化・標準化を検討する。 また、模擬廃棄物及びフィールド試料に関して、試料前 処理法の検討、測定項目・対象の選定・分担、及びデー 夕取りまとめ等を行う。

上記共同研究の成果も踏まえ、定状的なデータ取得及び監視のできる測定法を開発し、標準的な測定法を提示する。

図1に本研究の概念的な年次計画を示す。

### 〔研究成果〕

特別研究の初年度である平成6年度は、水質・土壌経

由の汚染を評価するための前提として、化学物質の観点から浸出水の実態を明確にする目的で実施することとした、地方環境研究所等との「埋立地浸出水共同分析プログラム」を最重点項目と設定し、実施した。また、これらの分析結果から、浸出水の特性・指標となる物質群についての検討を開始した。非揮発性有機ハロゲン化物の指標であるAOXについては、基礎的な分析化学的見地からも検討を加えた。

汚染土壌の標準試料は、非揮発性有機物についても測定できる調整法を検討し、試料採取、前処理を実施した。 また、水質の要監視項目であるホウ素に注目して、溶出 実験を実施した。

大気経由の汚染を評価するための気体成分捕集法に関しては、従来の活性炭を用いた固相吸着法(フィンガープリント法)とGCあるいはGC/MS直接導入可能な坦持液相分配法を、土壌ガスの現場測定可能性の観点から検討した。

### (1) 埋立地浸出水共同分析プログラム

平成5年度に予備的に開始した「埋立処分問題研究会」 の会員である地方環境研究機関および該当する行政部門 の協力を得て、3都道府県7カ所12試料を収集すること ができた。各試料は、20リットルナルゲン社製ポリプロ ピレン瓶3本と3リットルガラス瓶4本および揮発性有 機物測定用のサンプル瓶3本に採取することとし、梅雨 明けをねらった7月中旬以降8月当初に現地でサンプリ ングを行った。しかし、平成6年の空梅雨により、水量 が低くサンプリングに困難を極めた地点もあった。採取 した試料は、低温宅配便等で国立環境研究所に収集し、 低温庫に一時保管し、8月中に14研究機関に測定項目に 応じた容器・量で配布した。試料は、研究者の測定対象 項目が測定不能になるとの指摘を受けて、均質性を保持 するため当初想定していたフィルターあるいは遠沈によ る不溶物の除去過程を割愛し、混合による均質化のみで 配布することとした。但し、試料をろ過する場合は添付 のメンブレンフィルターを標準として用いることとした。 このため、通常の分析精度管理等のラウンドロビン用試 料と同程度の試料均質性はないものと考えられる。一方、 より実試料に近づいた試料であるとは言える。

配布された試料の測定日程等は、各研究機関の決定に 委ねた。測定結果については、平成6年12月7~8日に 大阪で中間報告会、平成7年3月10~11日に平成6年度

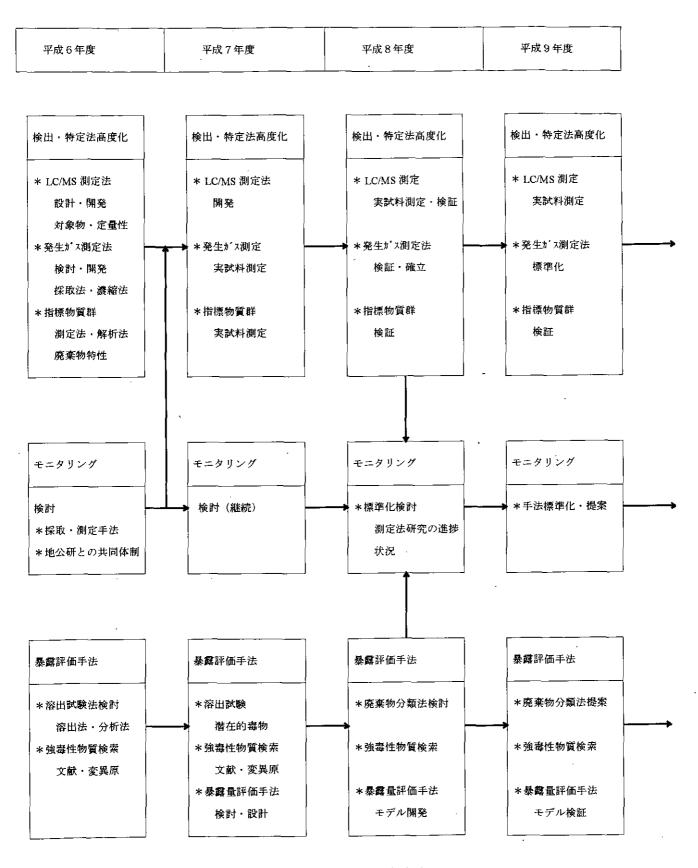


図1 本研究の概念的な年次計画

の最終報告会を実施した。

測定結果について概観すると,

- ①環境基準で規制されている揮発性有機物 (VOC) はほとんど検出されない。
- ②有機物の内、水に対する分配係数の小さいポリ塩化 ビフェニル (PCB)、ポリ塩化ジベンゾダイオキシ ン (DIOXIN) 等は、濃度が低い。
- ③フタル酸エステル, リン酸トリエステル等のプラス チック添加物は比較的高濃度。
- ④種々の有機酸が検出。
- ⑤無機成分ではカルシウム,マグネシウム等が高濃度 で存在。
- ⑥鉱滓が埋め立てられた処分地では、ヒ素、ホウ素が 高濃度で存在する事例があった。
- ⑦無機陰イオン成分では、塩化物イオンが高濃度、硝酸イオンは ND~10ppm とバラツキが大きい。

次年度以降についても、プログラムは継続を考えているが、経時的な変化と採取地点の拡大とどちらを重要視するかは、今後の検討課題である。

なお、この分析プログラムに参加している地方環境研究機関は、北海道立衛生研究所、新潟県衛生公害研究所、 茨城県公害技術センター、埼玉県公害センター、東京都 清掃研究所、千葉県廃棄物情報技術センター、神奈川県 環境科学センター、大阪府公害監視センター、大阪市立 環境科学研究所、兵庫県公害研究所、岡山県環境保健セ ンター、広島県保健環境センター、北九州市環境科学研 究所、福岡県保健環境研究所と国立環境研究所の15機関 である。

### (2) 汚染土壌標準試料

浸出水共通試料を採取した埋立処分場の一カ所で、土 壌を採取した。この処分場では、廃棄物と覆土を交互に サンドイッチ状に積層しているが、埋立地内で浸出水の 流出している地点で 200kg の土壌を採取した。

採取した土壌を、天日乾燥した後、ふるい目 2 mmで粗 ふるいを行い、その試料を40℃の強制乾燥後、さらに 200 μm のふるいを行って試料を均質化した。

次年度以降,「埋立処分問題研究会」を中心とした研究者に協力を頂いて、土壌中の汚染物質の測定法の検討 を実施することとしている。

### 平成6年度 編 集 小 委 員 会

委員長 松本幸雄

委員長代理 大政謙次

委員栗原 祟

〃 正木清郎

〃 原田茂樹

〃 米元純三

四 村 正 行

〃 柴田康行

"鈴木明"鵜野伊津志

ル 服 部 浩 之

〃 神沢 博

事務局 環境情報センター

## 国立環境研究所特別研究年報

平成6年度

平成7年8月31日

編 集 国立環境研究所 編集委員会 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 0298-50-2343 (ダイヤルイン)

印刷 アサヒビジネス株式会社 〒305 茨城県つくば市竹園2-11-6

本年報は再生紙を使用しております。