

Fig.5 焼却灰から得られた酢酸エチル抽出物の金魚鰓
に対する小核誘発頻度

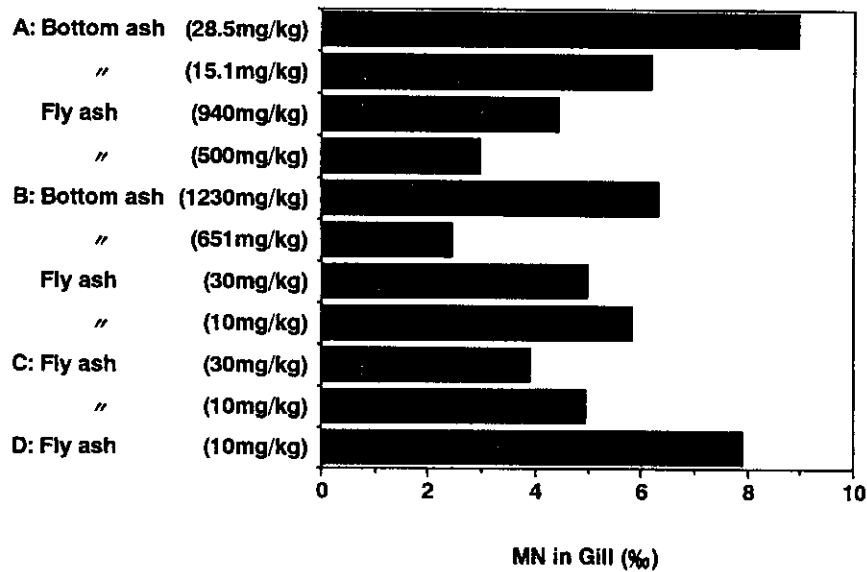


Fig.6 浸出水から得られた酢酸エチル抽出物の金魚鰓
に対する小核誘発頻度

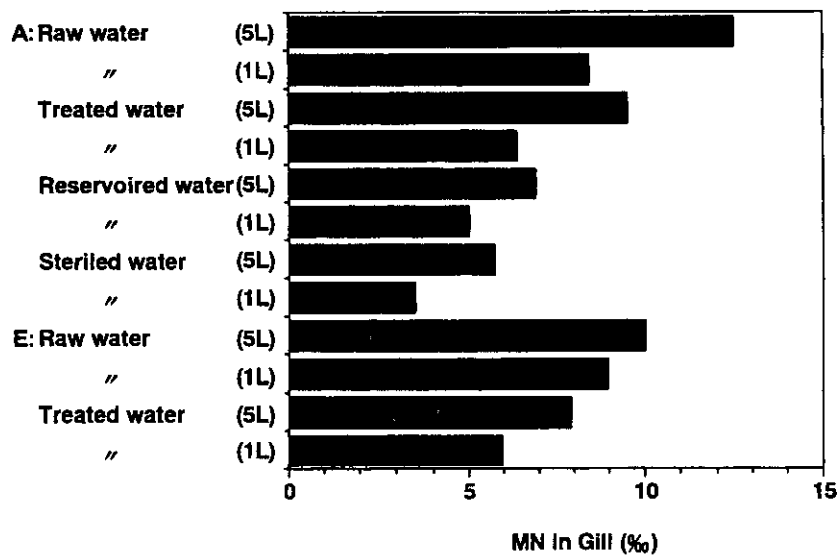


Fig.7 標準物質の金魚末梢血に対するDNA損傷性

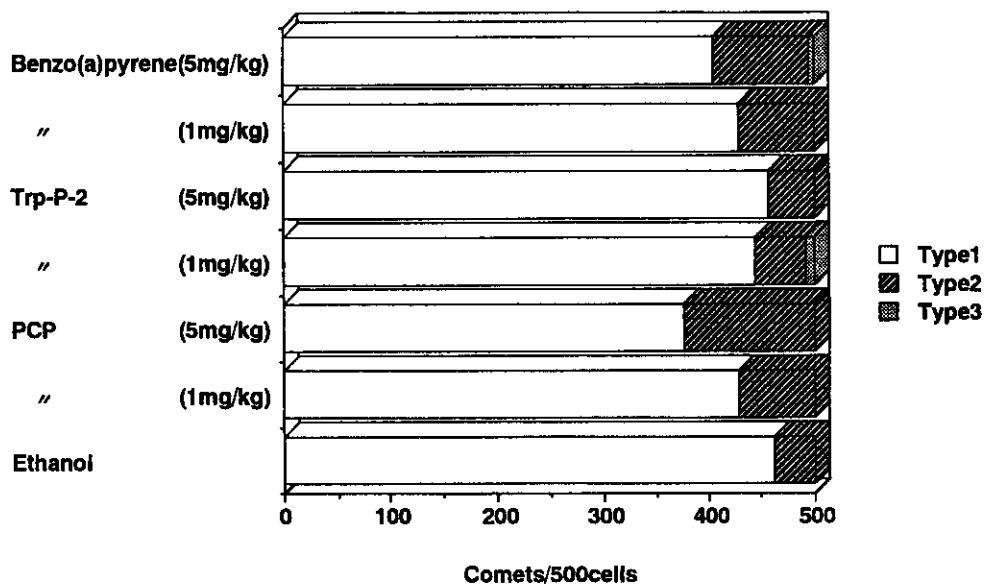


Fig.8 焼却灰抽出物の金魚末梢血に対するDNA損傷性 (A)

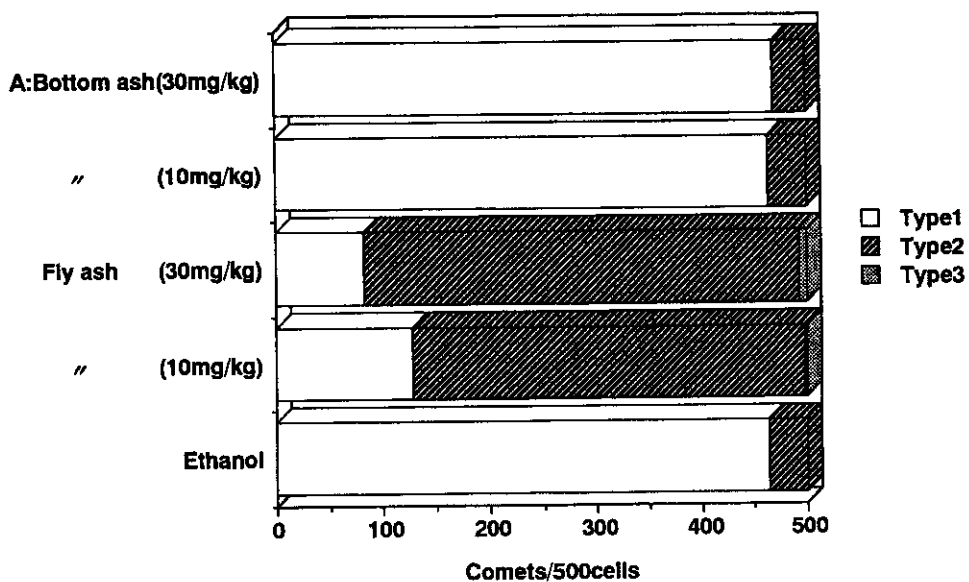


Fig.9 焼却灰抽出物の金魚末梢血に対するDNA損傷性 (B)

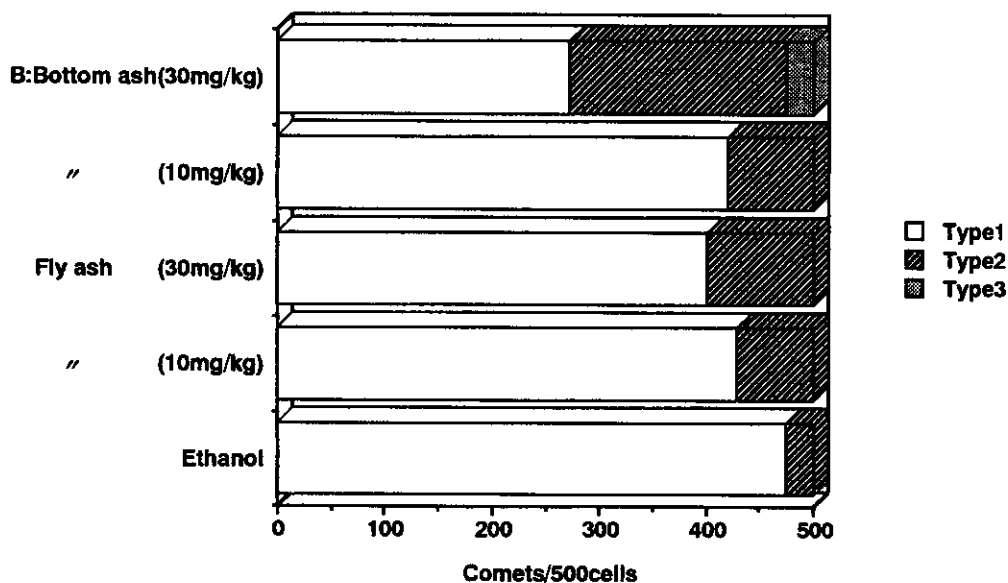


Fig.10 焼却灰抽出物の金魚末梢血に対するDNA損傷性 (C)

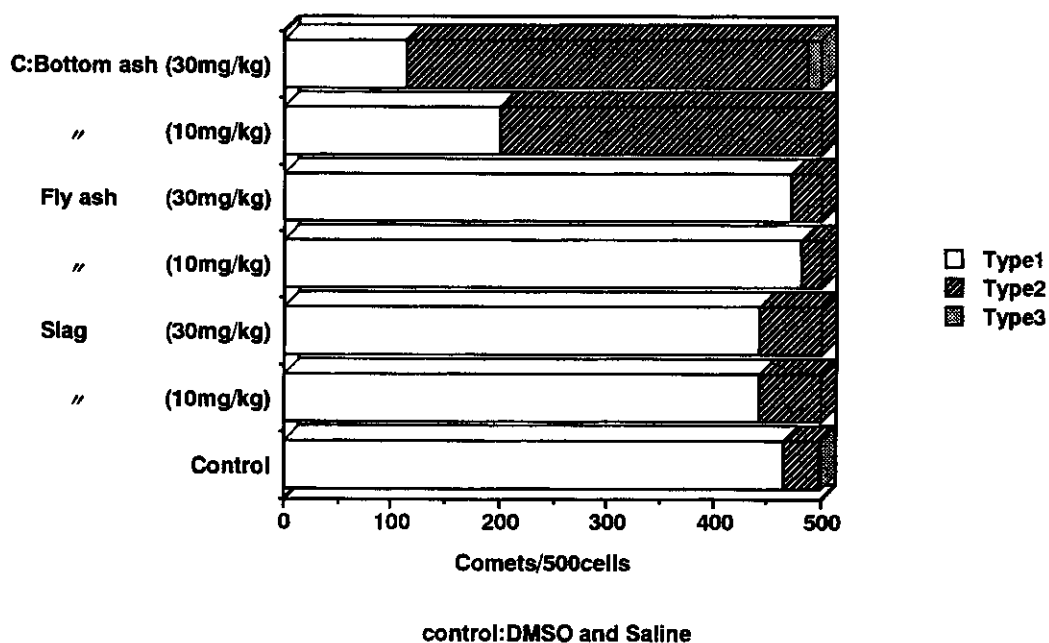


Fig.11 浸出水抽出物の金魚末梢血に対するDNA損傷性

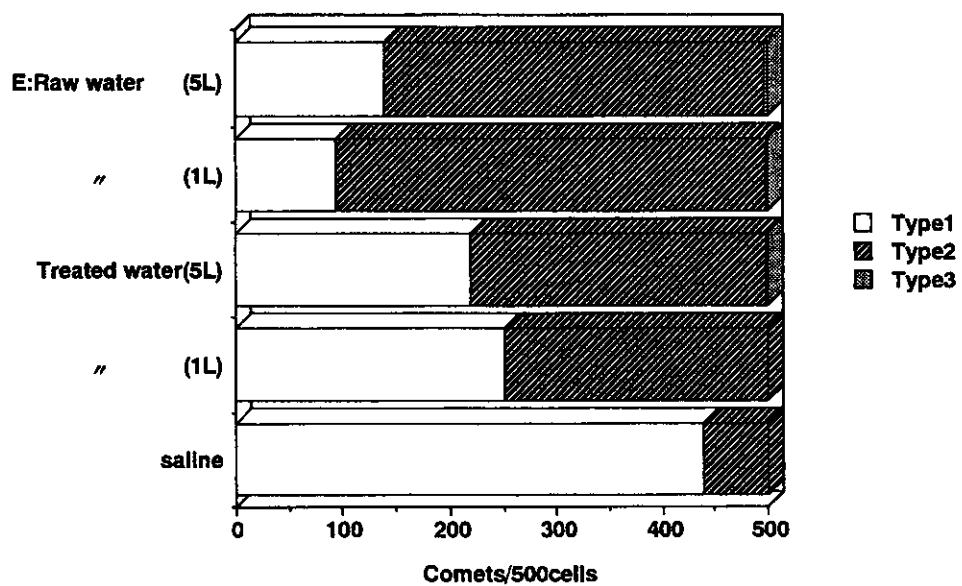


Table.1 焼却灰から得られた酢酸エチル抽出物の収量

Sample	Dose used(g)	Yield of ethyl acetate extracts	
		(mg)	(mg/g)
A:Fly ash	100	25.5 (400)	0.255
Bottom ash	100	30.2 (400)	0.302
B:Fly ash	50	15.5 (400)	0.310
Bottom ash	100	33.2 (400)	0.332
C:Fly ash	40	3.1 (400)	0.076
Bottom ash	50	1.6 (400)	0.032
Slag	100	1.3 (400)	0.013
D:Fly ash	30	4.5 (400)	0.150

* : The figures in parenthesis are volume (ml) of ethyl acetate used.

Table.2 浸出水から得られた酢酸エチル及びメタノール抽出物の収量

Sample	Extracts	Yield of extracts	
		(g)	(g/L)
A:Raw water	Ethyl Acetate	1.09 (102)*	0.011
"	Methanol	2.54 (102)	0.025
Treated water	Ethyl Acetate	0.19 (117.6)	0.002
"	Methanol	0.25 (117.6)	0.002
Reservoired water	Ethyl Acetate	0.04 (18.1)	0.002
"	Methanol	0.39 (18.1)	0.022
Steriled water	Ethyl Acetate	0.05 (17)	0.003
"	Methanol	0.22(17)	0.013

* : The figures in parentheses are volume (L) of test water.

厚生科学研究費補助金（生活安全総合研究事業）
分担研究報告書

都市ゴミ焼却灰の生体影響をラットの生殖機能に関して評価する方法の実験的研究

分担研究者 市川 勇 国立公衆衛生院労働衛生学部長

研究要旨

都市ゴミ焼却灰は、焼却することにより濃縮された重金属等無機化合物をはじめ、焼却処理段階で生成されるダイオキシン類等の有機化合物を含有している。これら複数の有害化学物質の生体に対する複合的リスクアセスメント手法として生殖機能影響検索法を用いた。即ち、実験動物（ラット）に対して焼却灰の混合資料を1ヶ月間程摂取させた後、交配させ受胎率の低下、新生児数の増加など生殖機能に対する影響を観察した。

A. 研究目的

一般都市ゴミを焼却すると、その灰の中には濃縮された重金属等無機化合物および焼却途中で生成するハロゲン化有機化合物等の有害化学物質が多数含まれることが知られている。これら複数の有害化合物の生体に対する複合的リスクアセスメント手法を確立する必要がある。本研究では、都市ゴミ焼却灰の影響を受胎率、受胎必要日数、新生児の数、雌雄比率などの生殖機能に関連する評価法を採り入れて検討を行った。

B. 研究方法

都市ゴミは関東地域の焼却施設でバグフィルタに改善する前の飛灰を採取し、粉碎、ステンレス製ふるいで直径約150 μ m以下に調整して試料とした。飛灰粒子を1%濃度として粉末試料（日本クレア製CE-2）と混合し、水を加えて練り、乾燥後摂取させた。

動物は雌雄Jcl-Wistar系ラットの約9週齢を購入し、数日間予備飼育した後、対照群（n=10）には通常固形試料（CE-2）を、また飛灰（FA, Fly Ash, n=11）群には1%FA混合飼料を摂取させた。約一ヶ月後、対照群どうしまたはFA群どうしの雌雄を交配させ、プラグの有無、体重変化および出産により受胎を確認した。プラグ形成確認後、雌雄を個別ケージに移し、約20日間それぞれの飼料を摂取させ体重変化を観察した。新生児の数、雌雄判別、奇形の確認などは出産後2、3日経過後に行い、総数と母親一匹当たりの数を算出した。

また、雄の各臓器の湿重量は雌の出産から約3ヶ月後にエーテル麻酔下、採血による死後、摘出した肝臓、腎臓、脾臓、胃、小腸、副腎、精巣（睾丸）、精巣上体（副睾丸）、精囊、前立腺について測定し、左側の精巣およびその上体はブアン氏液で固定して精子数測定用として九州大学医学部に送付し、他の臓器は生化学的測定用試料として冷凍保存した。

C. 研究結果

1) 受胎率および受胎日数

都市ゴミ焼却飛灰1%濃度混合飼料摂取（FA）および通常固形飼料摂取を28日間行った雌雄を交配させた結果、図1に示す如く受胎（妊娠）が成立した確率は、対照群が交配1日目に60%、2、3日目に70%、4日目に100%であったのに対して、FA群は2日目に9.1%（1/11）、3日目に27.3%（3/11）、4日目に63.6%（7/11）、5日目以降でも72.7%（8/11）と低かった。

2) 新生児数および雌雄比率

妊娠期間を終え、出産した新生児数は表1に示した如く、対照群、FA群共に総数123匹であった。従って、母親一匹当たりの新生児数は、対照群が平均12.3匹に対してFA群は15.3匹であり、有意に（ $P<0.01$ ）多かった。

また、新生児の雌雄の比率は、対群

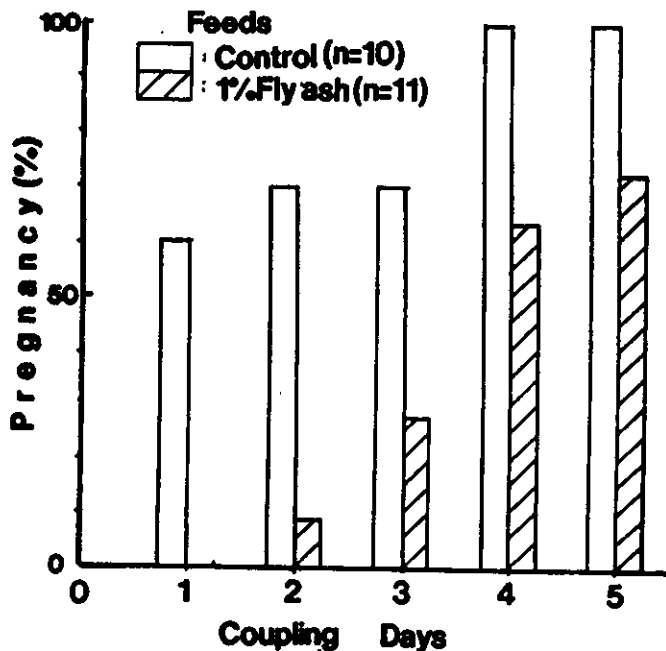


図1 都市ゴミ焼却飛灰採取ラットの受胎率と必要日数

で雄58.8%、雌41.2%であったが、FA群では雄51.3%、雌48.7%と雌の比率が高くなった。これら雌雄別での新生児数を母親一匹当たりで比較すると、雄は対照群が平均6.7匹で、FA群が平均7.5匹と大差なかったが、雌はFA群で7.1匹と、対照群の平均4.7匹に対して有意に($P < 0.01$)多かった。

なお、母親一匹当たりの生後6日目における新生児の生存数もFA群が有意に多かった。

3) 体重変化

都市ゴミ焼却飛灰の1%濃度混合飼料を約1ヶ月間摂取後、交配、妊娠した期間の雌雄ラットの体重変化は、実験開始時に雄の対照群で 314 ± 6 g、FA群 316 ± 6 gであったが、全般を通してFA群が対照群より数g少なく並行して成長し、大差なかった。他方、雌の開始時における対照群の体重は 209 ± 5 gで、FA群は 208 ± 5 gであり、数日後のFA群の体重に減少が見られたが、5日目以降は対照群と同様な増加が示された。交配で受胎(妊娠)した雌は10日目以降急激な体重増加が見られた。

なお、飼料の摂取量は雌雄共にFA群の方が多かった(55日間、雄の対照群1387g、FA群1756g、雌の対照群1007g、FA群1375g)が、混合飼料は多少硬さが低いので食べこぼしが多く、実際量には大差ないものと思われる。

4) 臓器湿重量

実験開始後4ヶ月目の雄の臓器湿重量を摘出直後に測定し、体重の違いによる個体差を補正するために、体重当たりの臓器湿重量比で比較すると、肝臓のみにFA群の有意な低下($P < 0.01$ 、対照群 0.0337 ± 0.0019 、FA群 0.0312 ± 0.0012)が見られた。この時点における体重(対照群 479 ± 21 g、FA群 481 ± 20 g)と同様に他の臓器湿重量比はほとんど同レベルの値であった。

表1 総新生児数および母親一匹当たりの新生児数 ()内%、☆: $P < 0.01$ vs 対照群

飼料種類	出産数 (匹)	生存新生児数(匹)			母親一匹当たり新生児数			
		総数	雄性	雌性	出産数	生存数	雄性	雌性
FA混合飼料	123	117 (95.1)	57 (51.3)	60 (48.7)	15.3 ± 1.3 ☆	14.6 ± 1.4 ☆	7.5 ± 2.1	7.1 ± 1.6 ☆
対照飼料	123	114 (92.7)	67 (58.8)	47 (41.2)	12.3 ± 1.4	11.4 ± 1.2	6.7 ± 1.3	4.7 ± 1.0

D. 考察

都市ゴミ焼却灰中には焼却により濃縮された重金属をはじめとする金属元素化合物が多数含まれている。市川らは数種類の飛灰中の金属元素の分析を行い、珪素、カルシウム、アルミニウム、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、鉄の含量が高く、鉛、亜鉛、マンガン、銅が続き、クロムやカドミウムは検出されるが少ないことが示された。この飛灰微粒子をラットに吸入暴露すると、肺にはアルミニウム（測定してないが、恐らく珪素も）は投与期間が長くなると蓄積量が増加するが、可溶性の亜鉛や鉛の蓄積量は少なかった。また、金属元素の可溶性は希塩酸溶液で飛灰を抽出すると、亜鉛、ナトリウム、カリウムは多く抽出液にみられ、カドミウム、カルシウム、鉛、銅が続き、アルミニウム、鉄、クロムは少ないことから示された。この抽出液（強酸性）を苛性ソーダで中和後、水道水で希釈してラットに6ヶ月間摂取させると、肝臓、腎臓、脾臓、胃、小腸などでカドミウムの顕著な蓄積が、また肝臓、腎臓などにクロム、胃にマンガンの蓄積がみられた。更に18ヶ月間摂取すると、カドミウムの先述臓器での顕著な蓄積に加え、腎臓や小腸での鉛の、また胃でのマンガンの顕著な蓄積が観察され、逆に肝臓からナトリウム、亜鉛、マグネシウム、カルシウム、マンガン、銅の減少、腎臓では更にカリウムも減少していた。これらの無機化合物元素のラット体内における変動は、摂取期間に関係した種々の生体影響を与えていると思われる。

有機化合物に関しては、焼却飛灰中に数 μ molesの総量が検出したが、内容については分析を行っていない。昨年度使用した飛灰に関してはダイオキシン類およびジベンゾフラン類を測定した結果、総PCDDsおよび総PCDFsの濃度(ng/g)はそれぞれ600と940であり、2,3,7,8-TCDDの毒性に換算した毒性等量(ng-TEQ/g)はそれぞれ17と22であった。今回使用した試料もバグフィルタに取り替える前の飛灰であるので、同程度の2,3,7,8-TCDDが含まれると考え、雌雄ラット共に交配前、交配中および妊娠中55日間で摂取した量は雌17ng雄25ngであり体重kg・1日当たりの摂取量(ng)は3前後であると推測できる。この量(耐容一日摂

取量、TDI)は、ヒトに関する値(WHO、環境庁、厚生省：1-4、5、10)より高いが、種差と個体差の安全係100を考慮して算出すると約30pg/kg/dayとなり、ヒトのTDIに近い値なので、55日程の期間でラットの生殖機能に影響を与え難いとは考え難い。従って、今回得られた受胎率の低下および母親一匹当たりの新生児数の増加などの変動は、他の有機化合物や無機化合物などの総合的影響によるものと思われる。

生殖機能に対する影響は、現在遂行中の精子数や性ホルモン量の変動に関する結果を含め、結論を出さないといけないが、現段階では複数化合物による影響の評価方法として生殖機能に関するものは有効であると考えられる。生殖機能に関する項目には染色体など遺伝子レベルの変化を観察することも含まれるので、本研究課題名のリスクアセスメント手法の一つとして活用できる。

E. 結論

都市ゴミ焼却灰中の複数の有害化学物質の生体に対する複合的リスクアセスメント手法の一つとして生殖機能影響検査法の検討を行った。即ち、ラットに対して焼却飛灰の1%濃度混合試料を約1ヶ月間摂取後、交配を行った結果、受胎率は対照群より低下し、また母親一匹当たりの新生児数は増加し、新生児の雌雄比率が変動した。過去の飛灰中の無機化合物やダイオキシン類等の濃度から推測して、それぞれ単一化合物によるというより複合影響による可能性が示唆された。

現段階の結果から、生殖機能影響検査法は複数の化学物質からなる焼却飛灰等のリスクアセスメントを評価する手法の一つとして有効であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表

市川勇、田中勝、井上雄三、山田正人、今岡浩一、大村実、田中昭代、都市ゴミ焼却灰の長期間摂取による雄ラットの体重等に対する影響、第9回廃棄物学会講演論文集I、p423-425、1998。