

図 13 酵母を用いたエストロジェン様物質定量結果 (17β-エストラジオール等価換算) と ELISA による 17β-エストラジオールの直接測定結果の比較⁴⁷⁾

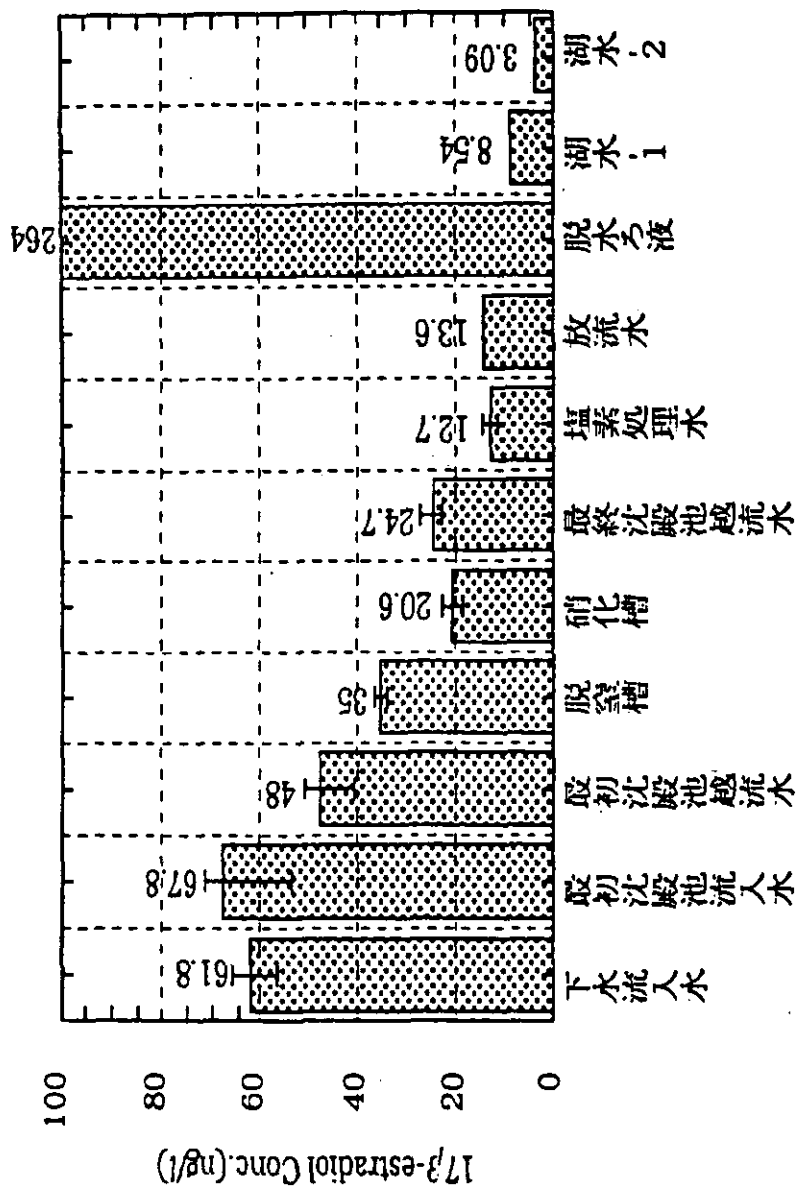


図 14 酵素抗体法 (ELISA) による 17β-エストロジオールの定量値 (ng/l)

発生過程における内分泌攪乱リスク発現の遺伝的要因の寄与事例の整理

研究者 長尾 美奈子 東京農業大学

研究要旨：環境物質による二世世代影響を検討するに当たり、遺伝的に腎発生異常を伴うACI系ラットを用いた。この実験系の特徴は、浸透率が20～30%であることである。即ち遺伝的に均一であってもその子孫の一部にしか表現形質が伝わらない。この実験系を用いて、環境因子により浸透率が変化するか否かを明らかにする。本年は、影響を与える物質を、食物成分、葉酸及びビタミンAについて検討した結果、葉酸に増強効果、ビタミンAに抑制効果がある傾向を見出した。現在確認中である。

A. 研究目的

環境物質による二世世代影響を検討するに当たり、遺伝的に腎発生異常を伴うACI系ラットを用いて、環境物質の浸透率に及ぼす影響を明らかにする事を目的とする。この実験系は腎発生異常の浸透率が20～30%と非常に低い特徴を利用し、環境因子により浸透率が変化するか否かを明らかにしようとするものである。また、浸透率を制御する機構が全く解っていない点からも、その機構解明について手がかりを得ることができると思う。

B. 研究方法

ACI ラット雌雄に交配1週間前から葉酸またはビタミンAを制限または過剰投与し、1週間交配し、生まれる仔動物の発生異常を解剖、肉眼所見により検討した。基礎餌料にはAIN93Gを用いた。尚、基礎餌料中の葉酸濃度は2mg/kg、制限F-1群0.2mg/kg (x0.1)及び過剰F-3群40mg/kg (x20)を用いた。基礎餌料中のビタミンA濃度は4,000 IU/kg、制限A-1群800 IU/kg (x0.2)及び250,000 IU/kg (x62.5)を用いた。

C. 研究結果

I-1.各群雌雄3匹ずつを用い、実験飼料を生後9週より与え10週で交配した。親ラット及び仔ラットにおける腎異常率をFigure-1に示す。尚、仔ラットは生後可及的速やかに解剖した。親ラットの腎異常の有無、仔ラットの数、および腎異常をTable-1に示す。結果は、対照群の30%に対し、F-3群では69%に増加していた。また、A-1群では異常が抑制され、0%であった。分娩したラット当たりの仔ラットの数、A-3およびF-1群では3および3.7匹で少なかったが、その他の群ではいずれも6～6.5匹で、差は無かった。対照群及びF-3群では各1匹ずつ雄が片腎であったが、仔ラットに対する影響は無かった。A-3及びF-3群では各1匹ずつ雌が片腎であり、仔ラットの数、A-3では2匹F-3では0匹であった。

I-2.I-1の葉酸の作用について再現性を検討した。対照群及びF-3群雌雄各5匹ずつを用いた。異常腎の誘発率は対照群25%に対し、36%であった。I-1およびI-2を総合した結果はTable-2に示す様に対照群26.9%に対し、F-3群45.6%で有意に増加していた。

II-1.各群雌雄3匹ずつを用い、実験飼料を生後11週より与え12週で交配した。仔ラットの腎異常の割

合は、対照群, 20%; A-1, 22%; A-3, 23%; F-1, 31%; F-3, 23.5%でいずれの群も対照群と有意差が無く, I-1 の結果と著しく異なった。

II-2. 対照群及びF-3群について雌雄各5匹ずつを用いて, II-1と同じ条件下で実験を行った。対照群では25%, 実験群では25.9%であった (Table-2)。

D. 考察

ACI ラットは遺伝的欠損により, 腎発生に異常を伴うが, 親ラットで見ると, 腎に関する異常は片側性腎欠失である。雄ラットでは同側性の精巣上体, 輸精管および精囊の欠失を伴う。雌ラットでは, 同側性の子宮角の欠失を伴う。この事実に基づき, ヴォルフ管, ミューラー管, 及び中腎の発生に関わる遺伝子に異常を伴うことが推定される。また, 仔ラットの場合は, 片腎の他, 水腎症が比較的多く見られる。後者は尿管の閉塞の異常である。また, 両側の腎を欠くものもまれに見られた。

今回は分化に関わると考えられるレチノイン酸の前駆体であるビタミンA, およびDNAメチル化と深い関係のある葉酸の摂取量を調節してみた。その結果, ビタミンAによる抑制, および葉酸による促進が, 10週で交配して得られた仔ラットに見られたが, 12週で交配して得られた仔ラットに見られなかった。この点についてさらに実験を重ね確認中である。また, 関与する機構については現在不明である。

F. 研究発表

1. 発表論文

Kitamura, K., Nagahashi, M., Sunaga M., Watanabe, S. and Nagao M. (2001) Balance of intake and excretion of 20 congeners of polychlorinated dibenzo-p-dioxin, polychlorinated dibenzofuran and coplanar polychlorinated biphenyl in healthy Japanese men. *J. Health Science.* 47. 145-154.

Kitamura K. and Nagao M. Justification of measurement of eight congener levels instead of twenty congeners of dioxins for mass screening of human exposure, *J. Toxicol. Sci.* in press.

2. 学会発表 なし

Table 1. Kidney Abnormality in Parents and Neonates

	Control		A-1		A-3		F-1		F-3	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Renal Agenesis	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1
No. parturition	3		2		2		3		2	
No. progeny	20		12		6		11		13	
Abnormal	6		0		1		4		9	
Agenesis	4		0		0		2		7	
Hydro nephrosis	2		0		1		1		2	
Hypoplasia	0		0		0		1		0	

Table 2. Effect of Folic Acid on Kidney Abnormality

Exp	Diet	Mating age	No. progeny	No. animal with abnormal kidney (%)	P value
1	Cont	10	20	6(33)	0.063
2	Cont	10	32	8(25)	0.185
		Σ10	52	14(26.9)	0.039*
1	F3	10	13	9(69)	
2	F3	10	33	12(36)	
		Σ10	46	21(45.6)	
1	Cont	12	15	3(20)	0.821
2	Cont	12	40	10(25)	0.896
		Σ12	55	13(23.6)	0.962
1	F3	12	17	4(23.5)	
2	F3	12	27	7(25.9)	
		Σ12	44	11(23.6)	

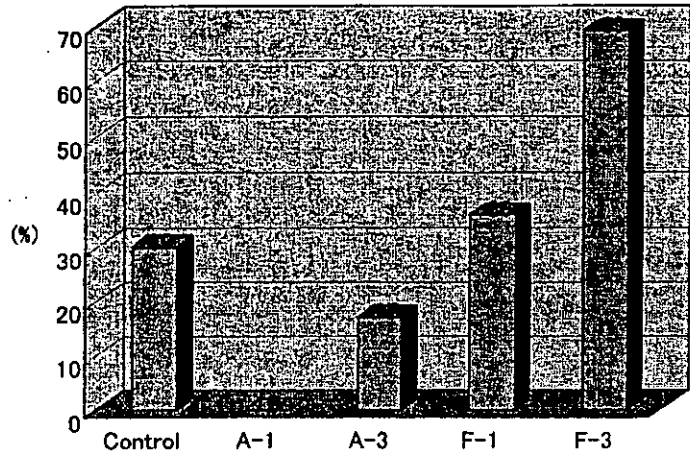


Figure 1. Number of renal abnormalities in neonatal ACl rats

次世代影響を評価する上で環境側のリスク要因の確認
と研究事例の収集・整理
～地域水系を対象としたリスク推定のトータルモデルの解析をベースに～

研究者 東海明宏 北海道大学工学研究科

研究要旨

本年度の研究目的は、次世代影響を評価する上での環境側のリスク要因の確認と研究事例の収集・整理であり、特に地域水系を対象としたリスク推定のトータルモデルの解析をベースに行った。報告者がすでに行った研究事例を再度詳細に分析することで、今後検討が必要な環境側の要因を整理した。

A. 本研究の背景と目的

人間活動にともない排出される化学物質は最終的には集水域において河口部分に堆積したり、あるいは生物体内にとりこまれ蓄積する。化学物質によるインパクトの評価のためには、環境での化学物質の運命予測、水系における濃度分布の推定、水生生物へのインパクトモデルを統合することで推定される。このため、個別の分野において化学物質の環境中での挙動を推定するための素過程の解明とモデル化、事例適用の研究がなされてきた。次世代影響をエンドポイントとした場合においても、リスク対策を提案するためには、リスク発現までのトータルシステムをモデルとして表現できることが前提となる。その作業によって、人間活動側の要因、環境側の要因において操作変数を明らかにすることで対策対案につながる。本研究の最終目標は、リスク対策選択肢の提示手法の提案であり、そのため本年度においては、(1) 家畜用生理活性物質の消費実態データの収集・整理、(2) 酪農業—環境—人間系の概念モデルの構築、(3) スクリーニングレベルでの曝露解析の解説、を行った。

B. 研究の枠組み

B.1 リスク対応策とハザードの監視

図-1 にリスク対応策の導入可能な部分をしめした。畜産業で使用される化学物質は、使用後の土壌、水系への流出、畜産廃棄物とともに環境に流出後、水生生物への水経路での曝露、食品経路の人への曝露という経路を追跡する必要がある。図-2 はそれを記述するための一般的な枠組みを示したものであり、図-3 では、対策効果の推定の目的をしめした。

対象物質の絞込みという観点と、リスク対策のひとつとしてのハザードの監視の枠組みを図-4 に示した。この図においては、化学物質流れの上流部分からハザード要因を監視することで、プライオリティを常に意識した対策を準備するための考えかたを示した。

B.2 既往研究

本研究と同じ観点の代表的な先行研究として、2つの評価システムがあげられる。第1は、主に、マクロポリュータントを対象に水量、水質、環境評価を統合したモデルとして、USEPA の Office of Water、Basin ver. 2.0 があげられる。合衆国の主たる水系に適用でき、ユーザーインターフェイスやデータベースとの連結の面など完成度の高いものである。ヨーロッパ大陸を対象とした統合モデルの Greater は生産企業が主体となって産・官・学のコンソーシアムを形成して化学物質のリスク評価を重点目的として構築されたシステムである。中軸に化学会社がいっており、生産・消費・廃棄の過程で環境へ漏洩して行く化学物質が水循環系に進入することによる影響評価を目的としており、地理情報を活用しつつ、事故による環境への化学物質のインプットの評価などもシナリオとして組み込まれている（図—5）。

B.3 プロタイプモデル

報告者が中心となって構築してきたモデルにおいては、多様なタイプの人間活動が高度に集積した流域の環境評価を可能な限り実態に即した形でおこなうことである。そのため、次の点をモデル構築・事例適用に反映させた。

(1)化学物質の消費特性、物理化学性状に対応した推定ができること。(2)年間を通じ、晴天時も雨天時も連続的にシミュレーションができること。(3)環境評価として適切な（実行可能な）影響判定指標を探索したうえで可能な限りインパクトを定量的に推定すること。

C. 事例適用

C.1 適用対象

評価対象地域として庄内川の支川である矢田川を取り上げた。また、対象物質として生活系から排出される洗剤に含まれる界面活性剤 LAS（直鎖型アルキルベンゼンスルホン酸）、除草剤として使われるベンチオカーブ、廃棄物燃焼工程から発生するダイオキシンである。矢田川の流域面積は約120km²であり、計算期間は1991年の1年間を対象とし、必要なデータとして土地利用、人口分布等を500mメッシュ単位で整備した（図—6、図—7、図—8）。

C.2 指標物質濃度の空間分布

計算にあたり、LAS、ベンチオカーブの消費速度をまたダイオキシンは排出速度を文献値を基に原単位を決定した。気象条件（降雨、風速）、土地利用条件をあたえて流量、化学物質濃度、生物への影響の推定を行った。いずれの物質についても面的な広がりを消費形態・排出形態に対応した形で明らかにすることができた（図—9）。特にLASに関しては、上流から下流にかけて濃度が増加することが示されておりまたベンチオカーブは流域における農地の存在パターンに対応した濃度分布がえられた。さらに、エンドポイントとして水生生物の個体数変動、死滅確率を用いた水域の評価を行った（図—10、図—11、図—12）。

D. 考察

(1)初期の目的に対し、予備的な段階ではあるが酪農業—環境—人間系への適用を目的としたスクリーニングモデルによる事例解析をリスクの推定過程を検討した。今後の課題としては、モ

デルの素過程を実態に対応させた形で表現することとモデルシミュレーションに利用可能な地理情報や汚濁の発生源情報を活用したシステムの高度化、エンドポイントの検索、評価過程の論理性そして計画モデルへの連結等があげられる。

(2) 対象物質絞込みのためのハザードの順位付けの考え方を示した。具体的にデータを入力することで、各段階における優先監視物質を明らかにすることを今後予定している。

参考文献

土木学会環境システム委員会(1999)化学物質利用に伴うリスクと環境システムの接点・課題、第12回環境システムシンポジウム.東海明宏(2000)環境リスクの比較、評価、管理～その目的と展望～、第15回環境工学連合講演会論文集、pp.75-80.

A.Tokai, T. Fukushima and T. Kojiri(1999) Chemical Risk Assessment based on the Framework of Basin-wide Ecological Modeling and the Ecotoxicological Index, Proceeding of SRA European section.東海明宏、小尻利治、堀 博(1997)流域シミュレーションを利用した流域化学物質の環境運命予測、第5回水資源に関するシンポジウム論文集、pp.139-143.

F.研究発表

1. 論文発表 なし

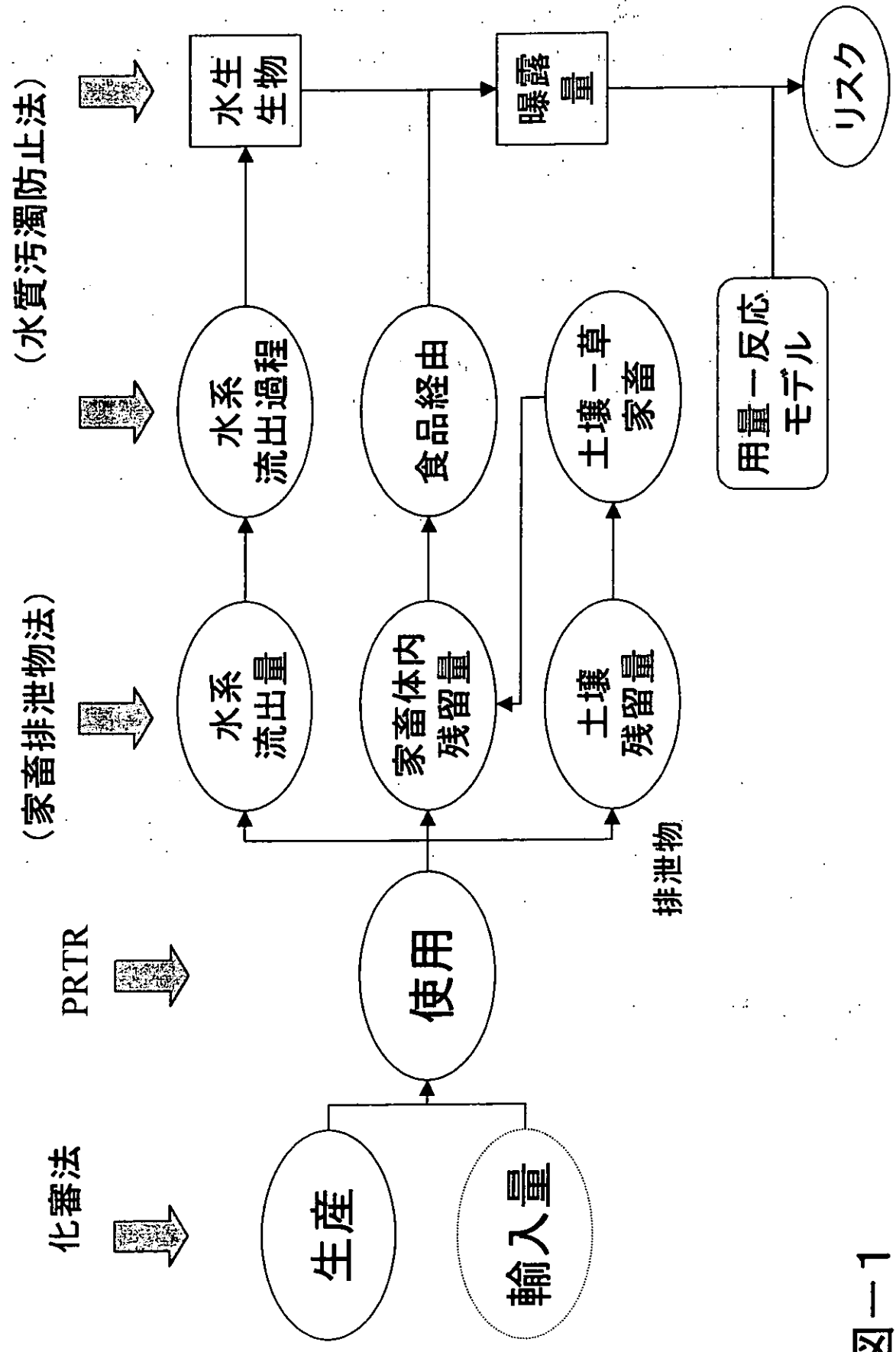
2. 学会発表

Akihiro Tokai(2000) Chemical Risk assessment based on the framework of basin-wide ecological modeling and ecological index, NATO ADVANCED RESEARCH WORKSHOP Assessment and Management of Environmental Risks - Methods and Applications in Eastern, European and Developing Countries October 1-4, Lisbon, Portugal.

G.知的所有権の取得状況

該当なし

リスク対応の選択肢



図一1

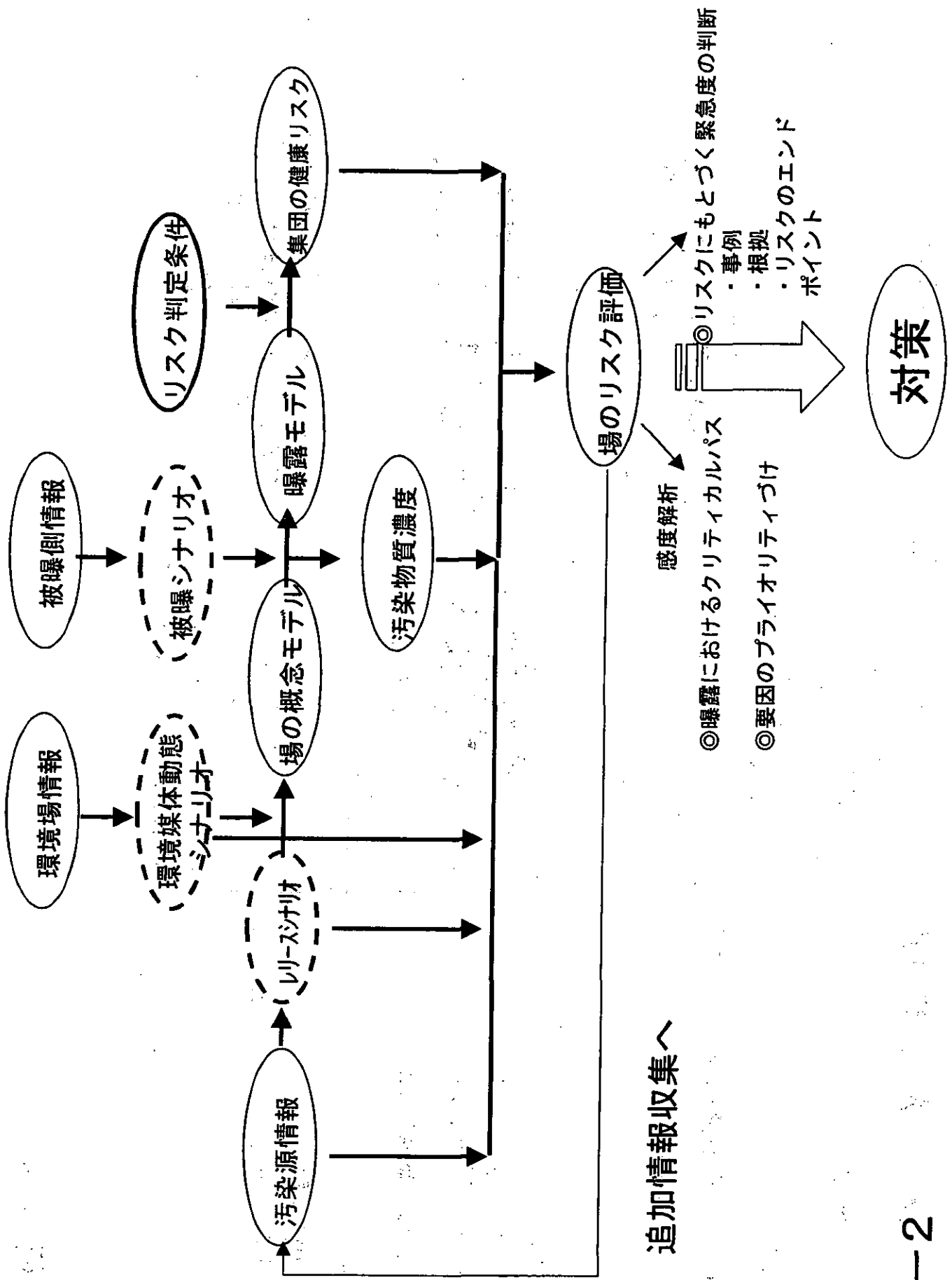


図-2

濃度 (場、汚染物質)



リスク (場、汚染物質、被曝条件)

機能

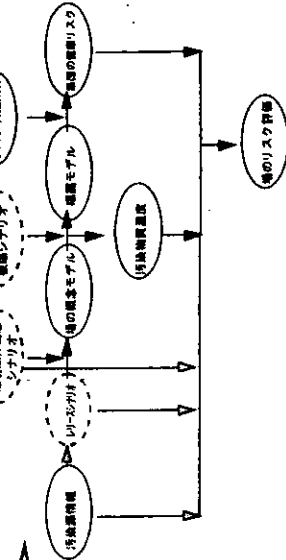
技法・結果

利点

Phase 1

■ リスクの構造モデル

(予備調査段階)

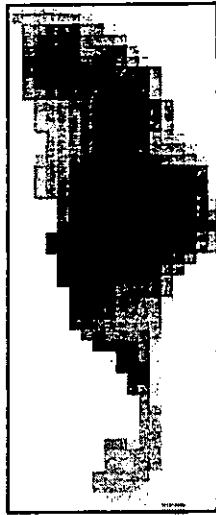


- ◎ 緊急度の判断
- ◎ 要因のプライオリティを決定
- ◎ クリテリカルパスを同定

Phase 2

■ リスクの時空間分布予測モデル

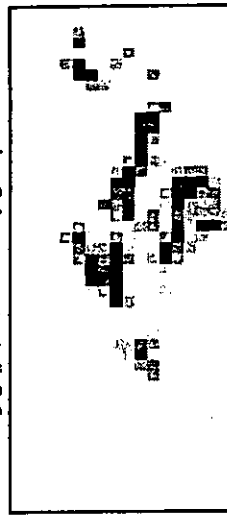
(CALTOX, MEPAS, etc.)



- ◎ 汚染の進行速度を視覚化
- ◎ 修復の範囲の決定
- ◎ 高曝露集団の分布を視覚化

Phase 3

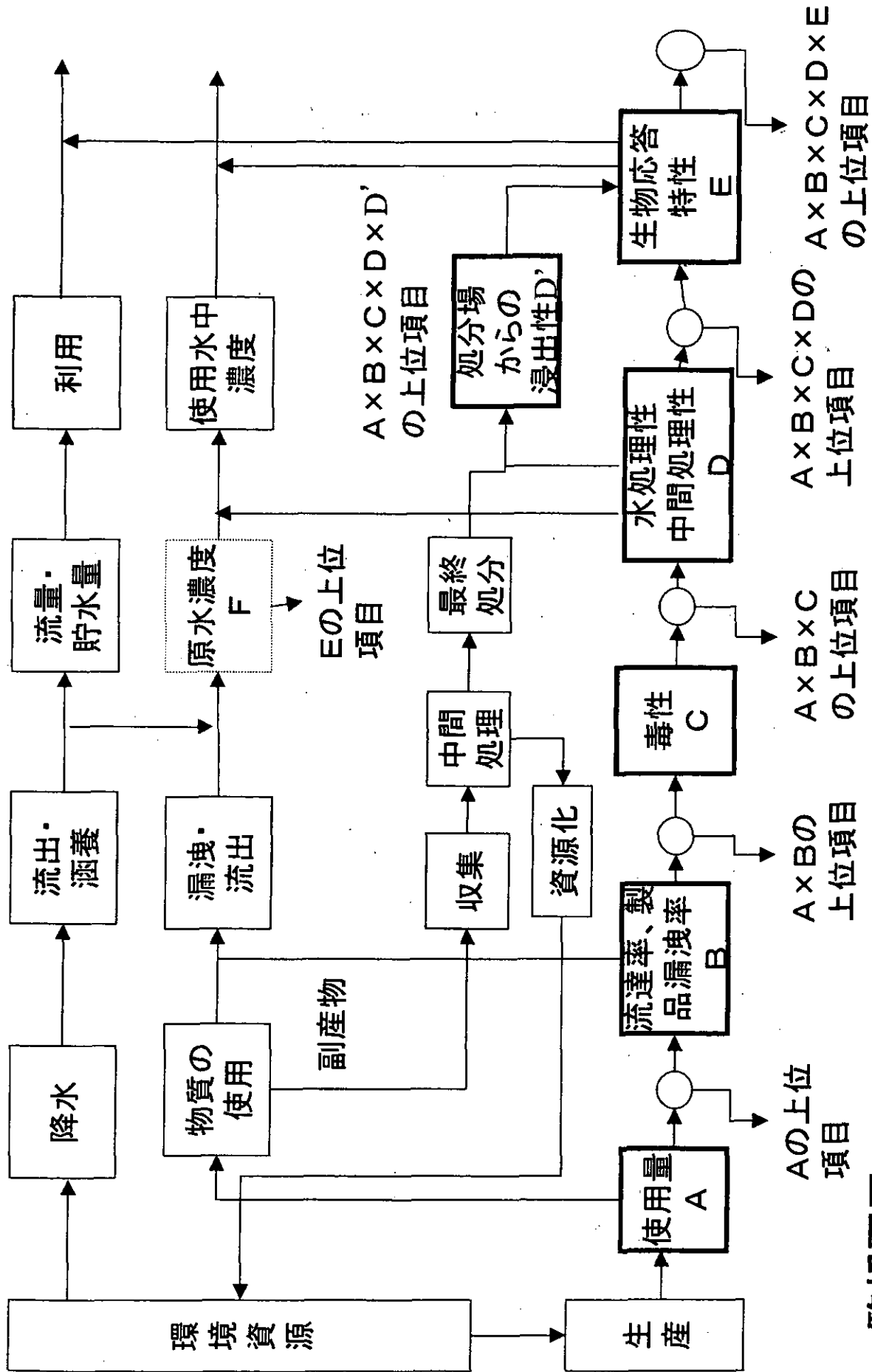
■ 対策効果予測モデル



- ◎ 対策効果の視覚化と合意形成促進
- ◎ 対策技術の組合せ効果の評価
- ◎ 代替案の比較が可能

代替案実施後のrisk分布

現象



監視要因

対象物質の絞り込みとハザード監視体制の例

図一四

流域環境評価システム

開発主体	BASIN ver.2.0 USEPA Office of Water	GREAT-ER 欧州化学会社を中心とする産学官のコンソーシアム	本研究 東海、福島、小尻
公開年(開始年)	1996.9～	(1996～)	(1996～)
目的	流域管理で発生する点源、非点源汚濁の管理	生産・消費・廃棄に伴う有害化学物質のリスク評価	流域での水量、水質、水生生物への影響予測
動機	データ管理の一元化・効率的利用	化学物質の環境へのリスクを共通の枠組みのものとで相対評価	人間活動系・水循環系・被影響系の統合モデルによって流域の評価を行う
現到達段階	国内全域を対象としたシステムが稼働	欧州全域を対象	河川流域を対象

図-5

流域モデルの全体構成

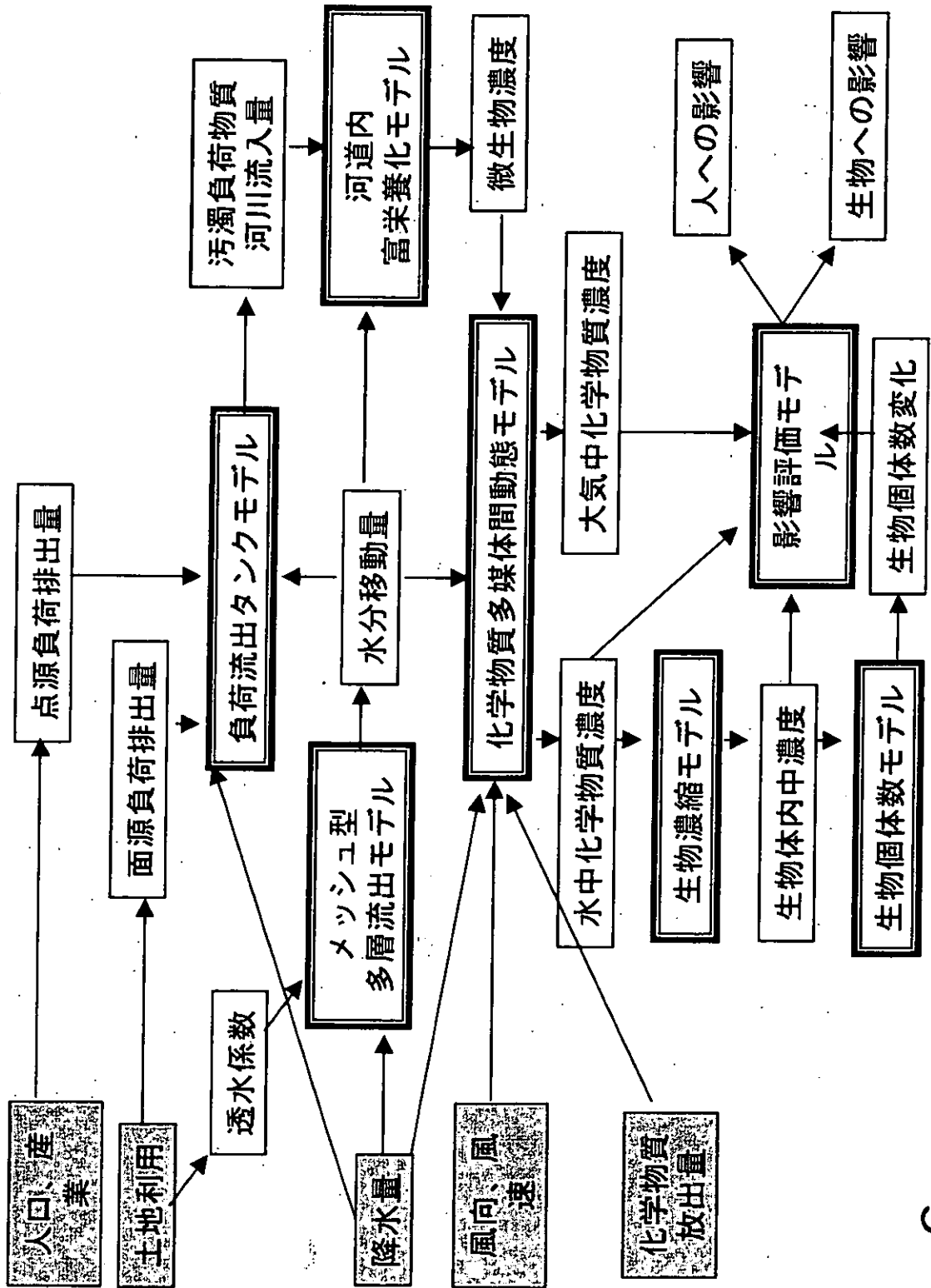
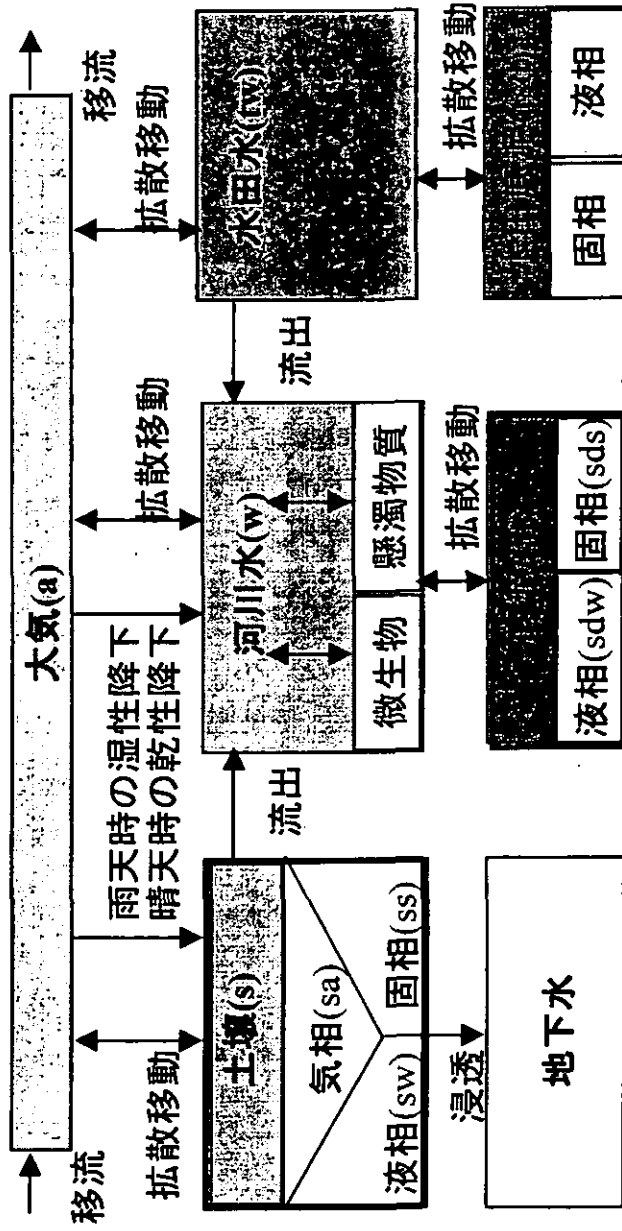


図-6

化学物質の環境媒体間動態モデル



$$\frac{dV_i C_i}{dt} = (Q_{i,in} C_{i,in} - Q_{i,out} C_i) - K_i V_i C_i - \sum_{j=1}^N U_{ij} A_{ij} \left(C_i - \frac{C_j}{H_{ij}} \right) + \sum_{j=1}^N \Omega_{ij} + S_i$$

i : 対象のコンパートメント

j : i コンパートメントに接するコンパートメント

V_i : i コンパートメントの体積(m^3)

Q_i : i コンパートメントへの移流量(m^3/h)

$C_{i,in}$: i コンパートメントへの移流入濃度(mg/m^3)

$Q_{i,out}$: i コンパートメントからの移流量(m^3/h)

C_i : i コンパートメントの濃度(mg/m^3)

K_i : 分解係数($1/h$)

U_{ij} : i から j への移動係数(m/h)

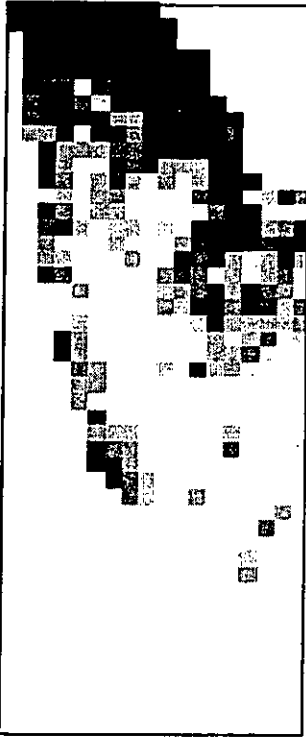
H_{ij} : ij 間の分配係数(—)

Ω_{ij} : ij 間のその他の物理的移動量(mg/h)

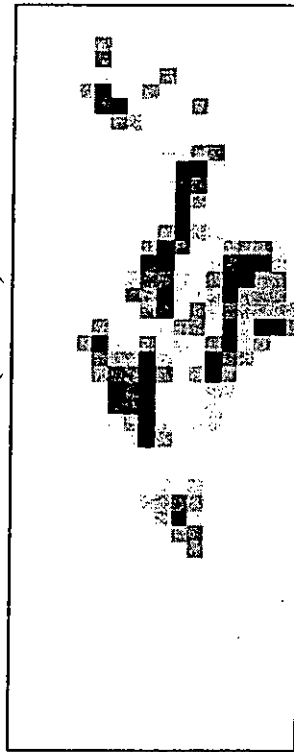
S_i : 放出速度(mg/h)

対象流域の土地利用分類

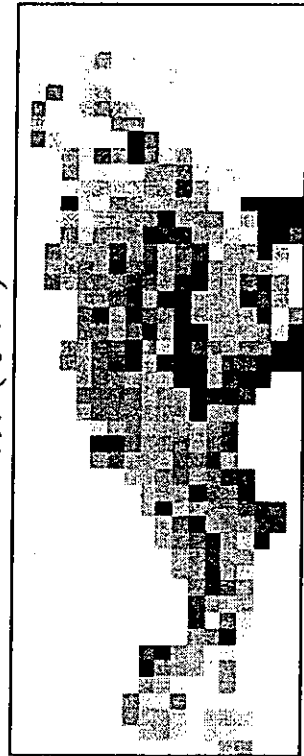
対象流域：愛知県庄内川系矢田川流域



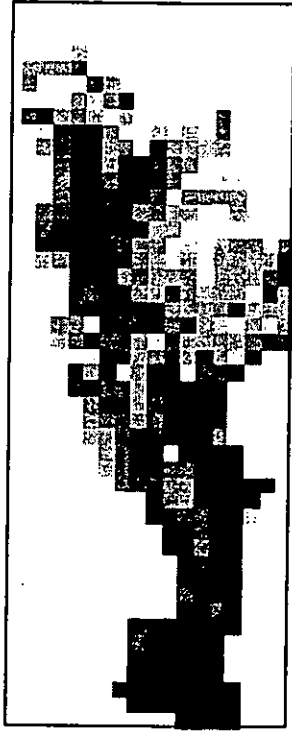
分類1(山地)



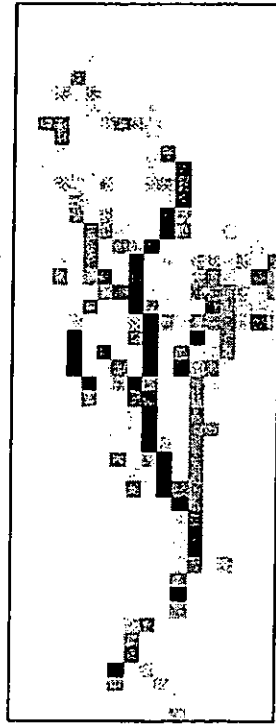
分類2(水域)



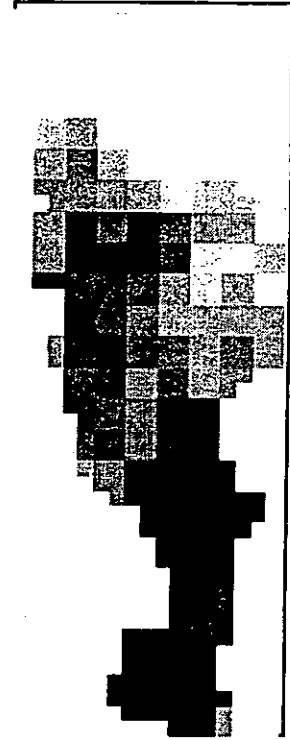
分類3(畑地)



分類4(都市)



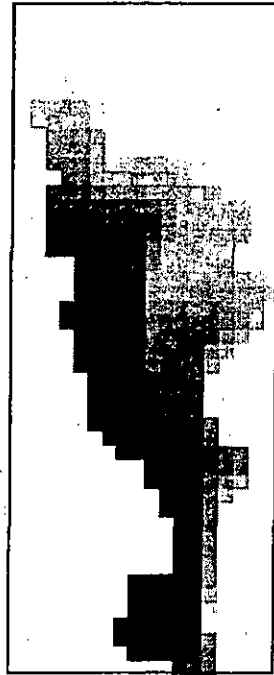
分類5(水域)



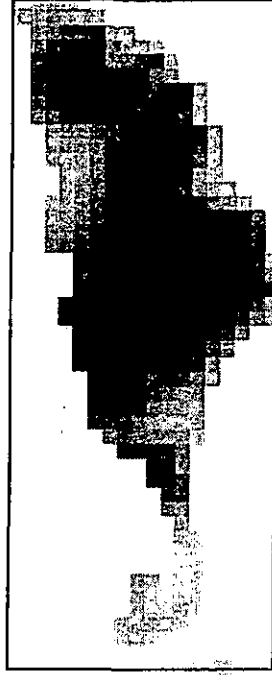
人口の分布

化学物質多媒体間動態モデルの適用

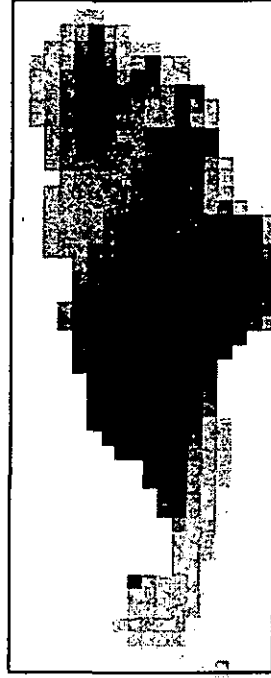
化学物質濃度の空間的分布



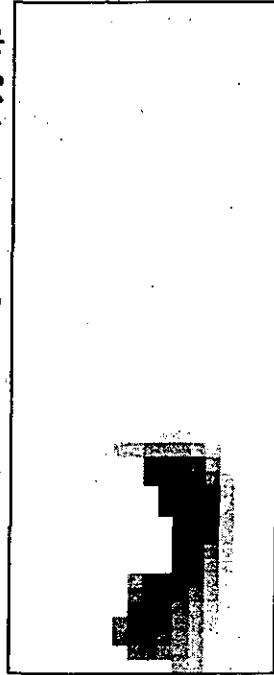
大気中LASの分布



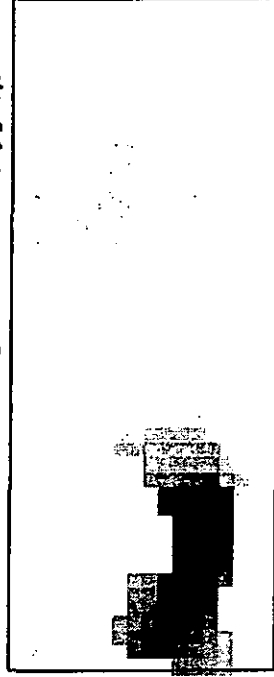
土壌中LASの分布



大気中ベンチオカーブの分布



土壌中ベンチオカーブの分布

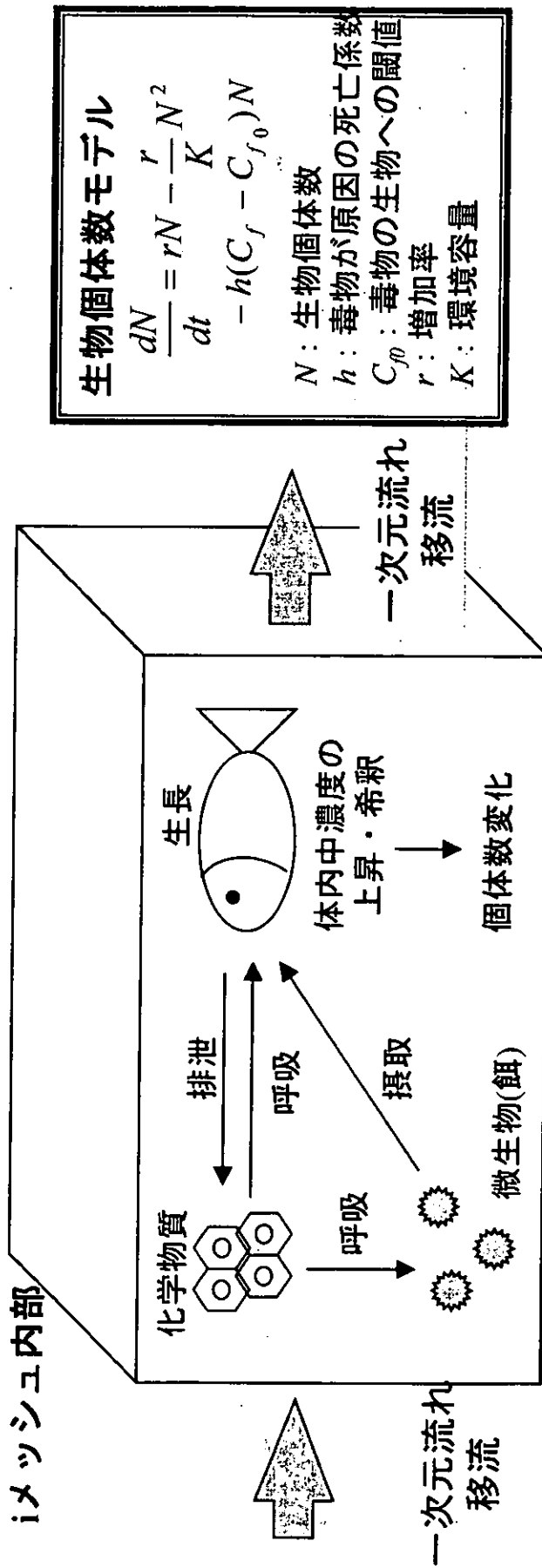


大気中ダイオキシンの分布

土壌中ダイオキシンの分布

図-9

生物濃縮モデル・生物個体数モデル



生物個体数モデル

$$\frac{dN}{dt} = rN - \frac{r}{K}N^2 - h(C_f - C_{f_0})N$$

N : 生物個体数
 h : 毒物が原因の死亡係数
 C_{f_0} : 毒物の生物への閾値
 r : 増加率
 K : 環境容量

生物濃縮モデル

$$\frac{dC_{fi}}{dt} = K_u C_w + \sum_{j=1}^n \alpha X_{ij} C_b - (K + G) C_{fi}$$

n : 餌の種類の数
 X_{ij} : 1日あたりの水生生物*i*による餌*j*の消費割合 (gwet/gwet水生生物・day)
 C_b : 餌の体内中化学物質濃度 (mg/gwet)
 K : 1日あたりの水生生物の排泄速度定数 (1/day)
 G : 1日あたりの水生生物の生長速度定数 (gwet/gwet・day)

C_{fi} : i 年目の水生生物体内中濃度 (mg/gwet)
 t : 日 (day)
 K_u : 1日あたりのえらからの摂取速度係数 (1/gwet・day)
 α : 化学物質吸収効率

図-10

影響の指数化

生物への評価

暴露区と未暴露区における
生物個体数の変化率 (R_e)

$$R_e = \frac{N_0 - N}{N_0}$$

R_e : 生物への影響指数
 N_0 : 未暴露区の生物個体数

人に対する評価

摂取量を許容摂取量で割った値 (R_h)

$$Intake = C_w Q_{hw} + C_a Q_{ha} + C_f Q_{hf}$$

$$R_h = \frac{Intake}{ADI}$$

R_h : 人に対する評価指数

Intake : 暴露量 (mg/day)

Q_{hi} : i の摂取量 (m^3/day)

ADI : Acceptable Daily Intake
(許容一日摂取量)