

国立環境研究所特別研究報告

Report of Special Research from the National Institute for Environmental Studies, Japan

SR - 84 - 2008

環境リスク研究プログラム (中間報告)

Research Program on Environmental Risk

平成 18 ~ 19 年度

FY2006 ~ 2007

NIES



独立行政法人 国立環境研究所

NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES

<http://www.nies.go.jp/>

環境リスク研究プログラム

(中間報告)

Research Program on Environmental Risk

平成 18 ～ 19 年度

FY2006 ～ 2007

重点研究プログラム「環境リスク研究プログラム」(中間報告)
(期間 平成18～19年度)

重点研究プログラム責任者：白石寛明
重点研究プログラム研究幹事：白石寛明
報告書編集担当：米元純三

序

本報告書は、本研究所が第2期中期計画期間である平成18～22年度の5年間に実施している4つの重点研究プログラムの1つである『環境リスク研究プログラム』において、平成18～19年度の前期2年間に行った研究成果を取りまとめたものです。研究の半ばにあたり、中間報告としてこれまでの研究過程とその成果を公表することで、ご意見を仰ぎ今後の研究の推進に役だたいと考えています。

環境リスク研究センターは、環境リスク研究プログラムの実施主体として活動しています。人の健康や生態系に及ぼす有害な影響を、実態に即した調査または実験に基づいて解明することにより、環境リスクを体系的に評価する手法を見だし、人の健康と生態系に及ぼす環境からの悪影響の未然防止に貢献することを目指しています。これまで、以下の取り組みを並列的に進めつつ、研究基盤を整備し総合的かつ体系的に環境リスク研究を推進すべく活動してきました。

1. 化学物質の曝露評価手法、高感受性要因、ナノ粒子及び生態影響評価手法に関する4つの中核研究プロジェクトを中心に、リスク要因の解明を通じ、新たな評価手法を提案する。
2. 環境政策における活用を視野に入れた基盤的な調査研究を通じて、リスク評価手法を高度化する。
3. 知的基盤として、データを相互に関連付け体系的に整備するとともに情報を提供する。
4. 実践的な取り組みとして、政策ニーズを受けた化学物質の環境リスク評価を推進する。

これまで得られた成果のいくつかは、環境リスク管理の場面で活用が望まれ、提供されようとしています。今後は、リスク要因の解明に向けた課題をさらに明確にし、中期計画に示された研究課題を効果的に進めるとともに、環境リスクの未然防止・低減に貢献できるよう、さらに研究活動を強化してまいりたいと思います。

最後に、研究を進める上で、大学、自治体、民間研究機関やその他多くの方々にご協力やご助言を頂きました。ここに感謝の意を表すとともに、引き続きご支援を賜りますようお願いする次第です。

平成20年12月

独立行政法人 国立環境研究所
理事長 大塚 柳太郎

目 次

I. プログラムの概要	
1. 研究の目的と経緯	1
1.1 研究の経緯	1
1.2 プログラムの目的	1
II. 中核プロジェクト1：化学物質曝露に関する複合的要因の総合解析による曝露評価	
1. 研究の目的と経緯	4
2. 研究の成果	4
2.1 地域 GIS 詳細モデルおよび複数の空間規模階層を持つ動態モデル群の総合的構築	4
2.1.1 地域詳細 GIS モデルおよび地球規模モデルの構築	4
2.1.2 水環境を経由する曝露評価に関する研究	5
2.1.3 小児の曝露評価に関する研究	6
2.2 バイオアッセイと包括的測定との総合による環境曝露の監視手法の検討と曝露評価	7
2.2.1 <i>in vitro</i> バイオアッセイを用いる全国河川水の環境曝露調査手法の検討	7
2.2.2 <i>in vitro</i> バイオアッセイを用いる全国大気環境曝露調査手法の検討	7
2.2.3 環境水の <i>in vivo</i> バイオアッセイによる評価手法の開発	10
2.3 モデル推定、観測データ、曝露の時間的変動や社会的要因などの検討と これらの総合解析による曝露評価手法と基盤の整備	11
2.3.1 不検出データを含むモニタリング調査結果の統計解析手法の開発と実データへの適用	11
2.3.2 曝露総合解析の検討およびまとめ	12
III. 中核プロジェクト2：感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価	
1. 研究の目的と経緯	13
2. 研究の成果	13
2.1 遺伝的感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価	13
2.1.1 トルエン曝露による免疫過敏の誘導	13
2.1.2 揮発性有機化合物曝露と嗅覚閾値	14
2.1.3 トルエン曝露による神経-免疫クロストークの修飾	15
2.2 時間的感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価	17
2.2.1 脳形成への影響	17
2.2.2 マウス胎仔期・授乳期における免疫・感染指標の検討	18
2.2.3 授乳期ダイオキシン曝露の骨形成への影響	19
2.2.4 環境因子に起因する精神・神経疾患に関する研究	20
2.2.5 血管形成への影響	20
2.3 複合的感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価	21
2.3.1 <i>in vivo</i> スクリーニングによる化学物質のアレルギーへの影響評価	21
2.3.2 アレルギーへの影響評価のより簡易なスクリーニング手法の開発	22
3. まとめ	22

IV. 中核プロジェクト3：環境中におけるナノ粒子等の体内動態と健康影響評価	
1. 研究の目的と経緯	23
2. 研究の成果	23
2.1 環境ナノ粒子の生体影響に関する研究	23
2.1.1 ディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子曝露装置に関する研究	23
2.1.2 環境ナノ粒子の呼吸器内沈着及び体内動態に関する研究	25
2.1.3 環境ナノ粒子の毒性・生体影響評価に関する研究	25
2.2 ナノマテリアルの健康リスク評価に関する研究	28
2.2.1 <i>in vivo</i> の影響（カーボンナノチューブ）	28
2.2.2 <i>in vitro</i> の影響（カーボンナノチューブ）	28
2.3 アスベストの呼吸器内動態と毒性に関する研究	28
V. 中核プロジェクト4：生物多様性と生態系機能の視点に基づく環境影響評価手法の開発	
1. 研究の目的と経緯	30
2. 研究の成果	30
2.1 東京湾における底棲魚介類の個体群動態の解明と生体影響評価	30
2.1.1 東京湾における底棲魚介類の質的及び量的な変遷	30
2.1.2 東京湾における底棲魚介類群集の空間分布と水質項目の季節変化	31
2.1.3 東京湾におけるシャコの再生産特性と加入成否を規定する生活史段階	32
2.1.4 東京湾におけるマコガレイの生活史特性：資源高水準期との比較	33
2.1.5 東京湾におけるハタタテスメリの分布及び生活史特性：資源高水準期との比較	33
2.1.6 東京湾における底質中化学物質の一斉分析	34
2.2 淡水生態系における環境リスク要因と生態系影響評価	35
2.2.1 ため池生態系における環境リスク要因の解明	35
2.2.2 外来生物の侵入と生態系のレジームシフト：隔離水界実験	36
2.2.3 外来ザリガニ類の遺伝的変異と分布拡大プロセス	36
2.3 侵入種生態リスク評価手法の開発に関する研究	38
2.3.1 セイヨウオオマルハナバチの生態リスク評価	38
2.3.2 外国産クワガタムシの生態リスク評価	38
2.3.3 昆虫寄生性ダニの侵入実態調査	39
2.3.4 カエルツボカビ菌の侵入実態調査	39
2.4 数理的手法を用いた生態リスク評価手法の開発	40
2.4.1 カブトミジンコ地域個体群に対する集団遺伝モニタリング手法の開発	40
2.4.2 東京湾シャコ個体群の存続可能性分析	40
2.4.3 湖沼生態系モデルと生態系機能	41
2.4.4 生物群集における機能形質の動態モデル	43
VI. 関連プロジェクト	
1. 【特別研究】トキシコゲノミクスを利用した環境汚染物質の健康・生物影響評価法の開発に関する研究	44
2. 【特別研究】エピジェネティクス作用を包括したトキシコゲノミクスによる環境化学物質の影響評価法開発のための研究	46
3. 【特別研究】侵入生物・遺伝子組換え生物による遺伝的多様性影響評価に関する研究	47

Ⅶ. その他の活動	
1. 化学物質リスク総合解析手法と基盤の開発	50
2. 化学物質環境調査による曝露評価の高度化に関する研究	51
2.1 研究の目的と経緯	51
2.2 研究の成果	51
2.2.1 ヘッドスペース-マイクロ固相抽出(SPME)-GC/MSによる胎仔血中トルエン濃度測定法の開発	51
2.2.2 妊娠後期におけるトルエンの低濃度曝露による母獣及び胎仔への影響	52
2.3 まとめと今後の展望	53
3. 化学物質管理のための生態影響試験法および生態リスク評価法の検討	54
3.1 背景	54
3.2 研究成果	54
4. 定量的構造活性相関による生態毒性予測手法の開発	55
4.1 研究の目的と経緯	55
4.2 研究の成果	55
4.3 まとめ	58
5. 発がん性評価と予測のための手法の開発	58
5.1 研究の目的と経緯	58
5.2 研究の成果	58
5.2.1 トランスジェニックマウスを用いた3,6-ジニトロベンゾ[e]ピレン(3,6-DNBeP)の変異原性試験-突然変異頻度と突然変異のプロフィールの解析	58
5.2.2 トランスジェニックゼブラフィッシュを用いたPBTA-6の変異原性の検出	59
5.2.3 多環芳香族炭化水素の発がんプロモーション作用の測定	59
5.3 まとめと今後の展望	60
6. インフォマティクス手法を活用した化学物質の影響評価と類型化手法の開発	61
7. 化学物質の環境リスク評価のための基盤整備	64
Ⅷ. 環境リスクに関するデータベース等の作成	
1. 化学物質データベースの構築と提供	66
2. 生態系評価・管理のための流域詳細情報の整備	67
2.1 生物多様性や生態系機能を指標する情報の整備	68
2.2 環境情報の整備	68
3. 侵入生物データベースの整備	69

[資料]

I	研究の組織と研究課題の構成	73
1	研究の組織	73
2	研究課題と担当者	76
II	研究成果発表一覧	78
1	誌上発表	78
(1)	中核研究プロジェクト 1	78
(2)	中核研究プロジェクト 2	81
(3)	中核研究プロジェクト 3	84
(4)	中核研究プロジェクト 4	86
(5)	関連研究プロジェクト	89
(6)	その他の課題など	90
2	口頭発表	91
(1)	中核研究プロジェクト 1	91
(2)	中核研究プロジェクト 2	95
(3)	中核研究プロジェクト 3	99
(4)	中核研究プロジェクト 4	101
(5)	関連研究プロジェクト	106
(6)	その他の課題など	107
3	書籍	109
(2)	中核研究プロジェクト 2	109
(4)	中核研究プロジェクト 4	109

I. プログラムの概要

1. 研究の目的と経緯

1.1 研究の経緯

化学物質排出移動量届出制度の導入、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」における生態影響評価制度の導入、土壤汚染対策法の成立等の関連法制度が整備されたが、市場に流通している化学物質について有害性や曝露、環境残留性に関する情報が不足しており、また、化学物質の特性に応じてライフサイクルの各段階で様々な対策手法を組み合わせてリスク管理を行う必要がある。さらに、PCB（ポリ塩化ビフェニル）をはじめとするPOPs（残留性有機汚染物質）等の未処理の「負の遺産」、社会問題化したアスベスト問題、ナノ粒子等の生体影響、外来種等の人為的な環境ストレスによる生態系機能低下等、さまざまな環境問題はまだ解決しているとは言い難い状況にある。環境リスクに関する関係者の理解を深め、環境影響の未然防止に貢献していくためには、これらの環境要因が人及び生態系に及ぼす未解明の悪影響を評価する手法を確立するための研究を進めることが必要である。

1.2 プログラムの目的

そこで、今期中期目標においては、化学物質について、階層的環境動態モデル及び各種環境計測技術によって得られたモニタリング情報を活用した曝露評価手法を構築する。また、増加しつつあるアレルギー疾患等の疾病と環境要因の関係を感受性の観点から解明することを目指して、内分泌かく乱作用や生理、神経系及び免疫系への影響、環境におけるナノ粒子等の粒子・繊維状物質の生体影響等に関する知見をより一層充実させる。さらに、生物多様性消失等の生態学的な視点に基づく影響評価手法を提示する。これらに向けて、以下の4つ中核研究プロジェクトを実施する。

(1) 化学物質曝露に関する複合的要因の総合解析による曝露評価

多数の化学物質のそれぞれについて、リスクに応じた管理が行われつつあるが、これら多数の化学物質による複合的な曝露を把握し、将来の複合影響を含めた総合評価に結び付けることが今後の課題であると考えられる。この課題に対して、(1) 動態モデル推定により、地理分布を持つ多種物質の曝露を、地域から地球までの各種の空間スケールにおいて把握すること、(2) *in vitro* お

よび *in vivo* のバイオアッセイと網羅的分析により、環境汚染の状況を複合影響の観点から把握すること、(3) これらの成果の総合解析により、複合的な曝露の状況を提示すること、の3つのサブテーマによって取り組む。

(2) 感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価

本プロジェクトは、化学物質の高次生命機能にかかわる内分泌系、免疫系、神経系の攪乱による生体恒常性維持機構に及ぼす影響の解明を通して、環境中に存在する化学物質に対する感受性を修飾する生体側の要因を明らかにし、感受性要因を考慮した化学物質の健康影響評価手法を提案することを目的とする。具体的には、比較的低濃度の化学物質に対して過敏な要因を解明し、環境化学物質による神経系過敏状態や免疫系過敏状態を新たな有害性として評価できるモデルの開発を行う。また、胎生期、幼児期、小児期における化学物質に対する感受性の差異を定量的に明らかにし、発達段階を考慮したリスク評価、環境リスク管理対策の検討に必要な科学的知見を提供する。環境化学物質と他の要因との複合に基づく健康影響を評価するスクリーニングシステム手法を開発し、複数の化学物質に対して評価を加える。

(3) 環境中におけるナノ粒子等の体内動態と健康影響評価

粒径が50 nm以下で細胞や組織透過性が高く、これまでの粒子状物質とは異なる影響を与えると危惧されている自動車排ガス由来の環境ナノ粒子や、化学物質としてよりは粒子としての毒性研究が必要であると考えられているナノマテリアルについて、その代表物質であるカーボンナノチューブを中心に生体影響と健康影響評価に関する研究を行う。また、アスベストの体内動態と生体影響、ならびに廃棄物として熱処理されたアスベストの毒性評価に関して検討する。超微細構造を持つ粒子状物質や環境ナノ粒子の体内挙動と生体影響に関する研究を通じて、これまで実施されてきた化学物質の健康影響評価とは異なる評価手法を確立することを目的とする。

(4) 生物多様性と生態系機能の視点に基づく環境影響評価手法の開発

自然環境や自然の生態系を対象とした生態影響評価は、生物個体群や生物群集、生態系を対象とした評価に拡張して考える必要に迫られている。本プロジェクトでは、生物多様性・生態系機能の低下および生態系サービスの低下をエンドポイントとする新しい自然生態系の環

環境影響評価手法を提示することを目的としている。そのために、理論モデルの開発に加え、具体的な野外フィールドや問題となっている生物で生態影響評価の事例を提示することを目標としている。東京湾（有用魚介類の個体群）や兵庫県ため池地域などの淡水生態系（生物多様性）、外来生物種と法的規制のかからない微小な生物に対する野外フィールド調査や実験に基づいて得られた知見に対して、個体群や生物群集を対象に研究されてきた数理的な生態リスク評価手法の適用を検討する。

また、中核研究プロジェクトのほかに次の関連プロジェクトを実施する。

（１）トキシコゲノミクスを利用した環境汚染物質の健康・生物影響評価法の開発に関する研究（平成19年度終了）

遺伝子発現変化の解析によってどこまで生体の反応や生物影響を検出できるか等のトキシコゲノミクスの有効性の検証を行い、多種多様な環境汚染物質のヒトや生物への影響の新たな総合的・体系的な評価法確立に寄与することを目的として、1）トキシコゲノミクスを利用した環境汚染物質の健康影響の実験的予測法、2）トキシコゲノミクスによる生物影響の検出に基づく環境影響評価法、3）環境研トキシコゲノミクスデータベースの作成、に関して研究を実施した。

（２）エピジェネティクス作用を包括したトキシコゲノミクスによる環境化学物質の影響評価法開発のための研究

最近、ジェネティクスと並ぶ基本的な生命現象のメカニズムとして、「エピジェネティクス」の重要性が明らかにされつつあることから、環境化学物質の生体影響において「エピジェネティクス」作用がどの程度寄与するかの見通しを示すことを目的として研究を実施する。特に無機ヒ素がエピジェネティクス作用を介して発癌に関与することが示唆されていることから、実験動物において無機ヒ素による発癌の過程でエピジェネティクス作用がいかに関与するかを中心に、環境化学物質のエピジェネティクスに関して研究を進める。

（３）侵入生物・遺伝子組換え生物による遺伝的多様性影響評価に関する研究

侵入生物及び組換え生物が在来生物の遺伝的多様性へ与える影響を評価することを目的として、①遺伝子組換え植物の環境中における分布推移を調査するとともに組換え遺伝子が在来生物集団へ浸透するプロセスの研究 ②導入昆虫類がもたらす遺伝的攪乱に関する研究 ③淡水魚の地域集団外からの移殖の実態について調

査し、その多様性影響評価の研究を実施する。

これらのプロジェクトと併せて、環境政策における活用を視野に入れた基盤的な調査研究として、環境リスク評価手法の高度化に関する研究、並びに、環境リスク関連情報の蓄積及び提供を行うとともに、環境リスク評価の実施等の実践的な課題に対応する。環境リスク評価には、さまざまな環境要因とそれらによる悪影響を考慮する必要があるが、これまで以下の7つ課題を設定している。

- （１）化学物質リスク総合解析手法と基盤の開発
- （２）化学物質環境調査による曝露評価の高度化に関する研究
- （３）生態影響試験法の開発及び動向把握
- （４）構造活性相関等による生態毒性予測手法の開発
- （５）発がん性評価と予測のための手法の開発
- （６）インフォマティクス手法を活用した化学物質の影響評価と類型化手法の開発
- （７）化学物質の環境リスク評価のための基盤整備

多種類の化学物質が様々な用途に利用されている現状において、これらの化学物質の人あるいは生態系への曝露評価を効率的に実施するためには、様々な曝露経路と多様な化学物質に対応できる曝露評価手法の開発の必要がある。曝露評価には、排出経路、排出後の環境中での動態、環境からの曝露を想定し、曝露モデルにより評価する手法として「化学物質リスク総合解析手法と基盤の開発」を実施し、それぞれ排出量の推定、環境動態、曝露経路と曝露量推計のための基本情報の整備することにより、曝露評価にかかわる統合情報基盤を作成する。また、実際に化学物質を計測することにより曝露評価する手法の高度化として、「化学物質環境調査による曝露評価の高度化に関する研究」において、曝露評価に資するための環境計測手法と計測結果の評価手法の調査を実施する。化学物質の生態系への影響評価は実験室での試験生物による毒性試験をもとに評価されているが、この評価手法と実際の生態系での関係を明確にすること、そのためには、毒性試験に用いる生物種や試験方法、エンドポイントについて生態系への影響の未然防止の観点からの体系化が必要である。このため、「化学物質管理のための生態影響試験法および生態リスク評価法の検討」として、生態系を模した試験法の開発、標準試験法の検討を実施し、生態毒性試験の試験方法の体系化を検討する。多種多様な化学物質が利用されているものの、リスク評価に利用できる毒性試験が実施された物質には限りがあ

る。これは、毒性試験に多くの時間と労力を必要とすることが原因である。この状況を改善するために、既存知見を活用し化学物質の構造や毒性メカニズムにより類型化し、簡便な試験からより高次の毒性が評価できる手法の開発を実施し、影響評価の効率化を図るため、「定量的構造活性相関による生態毒性予測手法の開発」として化学物質の構造から魚類、藻類、甲殻類の急性毒性の予測、「発がん性評価と予測のための手法の開発」として変異原性試験などから発がん性への予測、「インフォマティクス手法を活用した化学物質の影響評価と類型化手法の開発」として遺伝子発現情報を活用した人健康にかかわる影響による類型化手法の検討などを行っている。環境政策において環境リスク評価が実施され化学物質の環境基準値や指針値の設定をはじめとする政策に活用されている。これらのリスク評価及びリスク管理に関する国内外の動向の把握し、リスク評価手法を比較検討するとともに、リスク評価手法やその結果を国民にわかりやすく解説するための情報をまとめ、発信するため、「化学物質の環境リスク評価のための基盤整備」を実施する。

環境リスク評価の実施やリスクコミュニケーションを促進するには、正確な情報の収集が必要である。本プログラムで得られた情報を環境リスクに関するデータベー

ス等として体系的に保存するため、以下の3つの基盤情報の整備を継続し、情報の提供を行なう。

- (1) 化学物質データベースの構築と提供
- (2) 生態系評価・管理のための流域詳細情報の整備
- (3) 侵入生物データベースの管理

「環境リスク研究プログラム」では、人健康や生態系に及ぼす有害な影響を実態に即した調査あるいは実験に基づいて解明することにより、環境リスクを体系的に評価できる手法を見だし、人健康と生態系に及ぼす環境からの悪影響の未然防止に貢献していくことを目的としている。この目的の達成のため、①リスク要因の解明、②リスク評価手法の開発、③評価の実施、④知的基盤の整備について、これまで、並行的に調査・研究を実施してきた。リスク要因の解明のうち、重点的に究明を要するものについては、中核プロジェクトで実施しており、「環境政策における活用を視野に入れた基盤的な調査研究」では、リスク評価の効率化あるいは不確実性の減少のための新たな評価手法の開発に取り組んでいる。

また政策ニーズに基づいて選定された、化学物質のリスク評価については、化学物質評価オフィスで実施している。環境リスク研究プログラムの各課題の関連を図1に示す。

環境リスク研究プログラムのめざすもの

環境リスク評価・管理手法に関する研究を行なうとともに、科学的知見を集積し、さらにリスク評価などの政策課題に対応することで、人および自然生態系に及ぼす有害影響の未然防止に貢献する

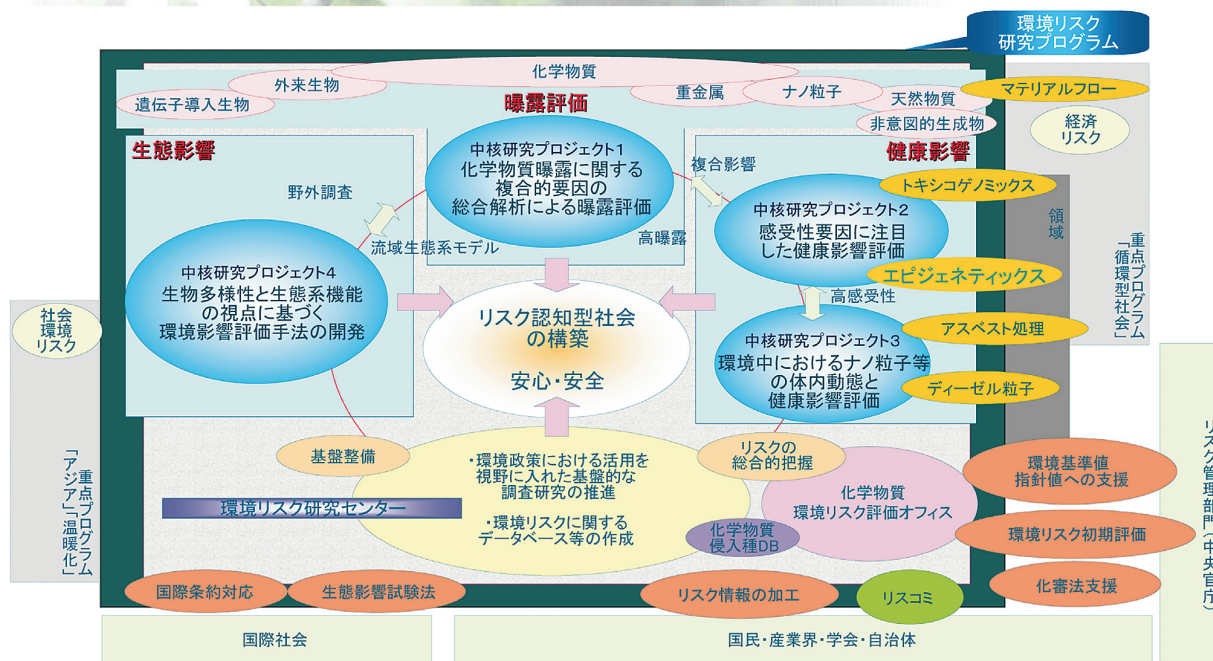


図1

Ⅱ. 中核プロジェクト1：化学物質曝露に関する複合的要因の総合解析による曝露評価

1. 研究の目的と経緯

多くの機能や用途を持つ多数の化学物質が日常的に、また、種々の工業用途など多様な目的に使用されている。現在では各種の規制、法律や管理体系によって多数の化学物質のそれぞれについて、毒性やリスクに応じた管理が行われつつあり、物質ごとの曝露評価の手法や情報も一定程度まで確立されてきていると考えられる。しかしながら、曝露評価の対象となる化学物質の種類は非常に多く、これら多数の化学物質による複合的な曝露を把握し、将来の複合影響を含めた総合評価に結び付けることが今後の課題であると考えられる。本研究プロジェクトでは、この課題に対して、(1) 動態モデル推定により、地理分布を持つ多種物質の曝露を、地域から地球までの各種の空間スケールにおいて把握すること、(2) *in vitro* および *in vivo* のバイオアッセイと網羅的分析により、環境汚染の状況を複合影響の観点から把握すること、(3) これらの成果の総合解析により、複合的な曝露の状況を提示すること、の3つのサブテーマによって取り組むこととした。本年度までに、まずサブテーマ(1)(2)については、モデル開発や種々の調査の準備と実行を進め、サブテーマ(3)については、後半年次における総合化のための考え方の整理を行った。これらの結果について報告する。

2. 研究の成果

2.1 地域 GIS 詳細モデルおよび複数の空間規模階層を持つ動態モデル群の総合的構築

2.1.1 地域詳細 GIS モデルおよび地球規模モデルの構築

化学物質の環境への排出量の値から、環境中の濃度や媒体間の輸送、発生源近傍あるいは長距離の輸送に至る種々の過程を数理モデルとして解析する研究が広く行われてきた。我々はこの中で、特に大気、水、土壌、底質また植生など複数の媒体にまたがる動態を記述する多媒体動態モデルを基礎として、地理情報システム (GIS) で記述される地理情報を組み込んだ地域間の大気や河川ネットワークを介した輸送を組み込んだ G-CIEMS モデルを開発と改良を進めてきた。同時に、国内・地域規模の詳細なモデル推定から、地球規模の広域動態までの複数の空間規模階層を、データとモデルの双方によってカ

バーする開発を進めている。

このうち、地域スケールにおける地域詳細 GIS モデルとしての G-CIEMS モデルの改良のため、いくつかの河川流域における実測とモデルの比較による検証を実施し、また新たに下水道モデルを導入した際の精度について検討を行った。図1には、G-CIEMS モデルで扱う媒体の概要と、下水道モデルの概念、および、多摩川、日光川、大和川の3河川において実施された流域動態調査との比較検証の結果を示す。モデル推定は PRTR の点源・非点源双方の結果の合計値を入力として実施した。下水道モデルにおいては、各単位流域の排出量を、流域ごとの下水道普及率によってその下水道処理を分担する下水処理場に排出量を再配分し、これに下水処理場での除去効率を考慮した後に対応する地点に放流するスキームを構築して推定を実施した。図1には、観測値と実測値の比を、各水系の観測地点ごとに計算した結果を、下水道モデル導入の有無に対応して示した。下水道モデル導入により、特にノニルフェノールの推定値はほぼ全てが観測値に対して10倍以内の幅に入るようになり、下水道モデルを導入することによって、10倍以内の地点個別精度が達成された。

G-CIEMS モデルは、計算対象領域の地理、気象、水文等の情報を外部データベースから取得するプログラムである。外部データに必要な情報を入力することで、対象領域の時空間範囲や解像度をユーザーが自由に設定できる。ただしこれまでは、処理速度を最適にするために、メモリ領域確保量の異なる複数の実行プログラムから、計算対象領域のデータ規模に最適なプログラムを計算実行時に選択していた。今年度までに、単一流域のような数十個のコンパートメントからなる小さなデータセットから、3次メッシュでの全国規模計算のような数十万個の巨大なデータセットまで最適な処理速度で実行可能なプログラムに変更し、その他の改良を含めモデルの利便性を向上させた。

地球規模で長距離輸送される POPs 等の化学物質の残留・輸送状況を G-CIEMS にて予測するために、実行プログラムを拡張開発した。全球を緯度・経度とも2.5度の解像度でメッシュ化し、土地利用情報 (U.S. Geological Survey, Land Use and Land Cover)、気象情

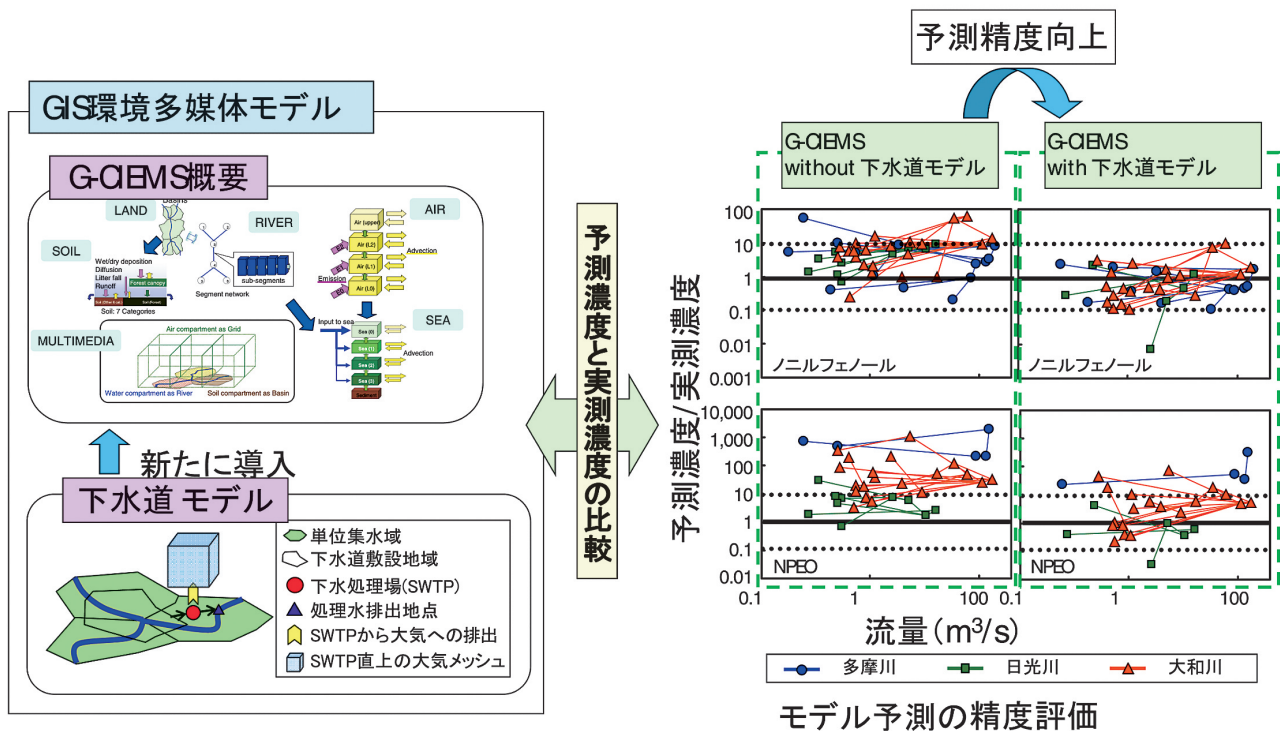


図1 GIS多媒体モデル G-CIEMS の概要と、観測値による検証、下水道モデル導入効果の検証。下水道モデルを導入することにより、観測値とより高い整合性を確保することができた。

報 (NCEP/NCAR Reanalysis) などから入力データを構築した。ケーススタディーとして実施した PCB #153 (2, 2', 4, 4', 5, 5'-hexachlorobiphenyl) の大気中濃度分布の予測結果を図2に示す。なお、モデル入力条件として、Breivik らによる国別排出量予測値 (NILU Global PCB) および国別人口分布データ (UNEP Global Population Data) から算出した PCB 排出量データを用い、気象データとして年平均値を設定し定常状態を計算した結果である。既存の調査研究より、PCBの多くは温帯や熱帯域から排出されるものの、長距離輸送されるため、極域を含めた広範な地域に拡散していることが明らかにされている。本モデルによる予測においても北極への輸送が再現されている。

2.1.2 水環境を経由する曝露評価に関する研究

環境動態モデルの改良・高精度化などにより、時空間の分布を持つ環境中化学物質濃度の把握が可能になりつつある。精密な環境中濃度分布の情報を有効に活用するためには、環境中から人へ至る経路の化学物質の動態に関しても高精度化を図る必要がある。本課題では、化学物質が人へ至る経路 (曝露経路) のうち、水環境を経由する経路に着目し、経路別および時間変動を考慮した生

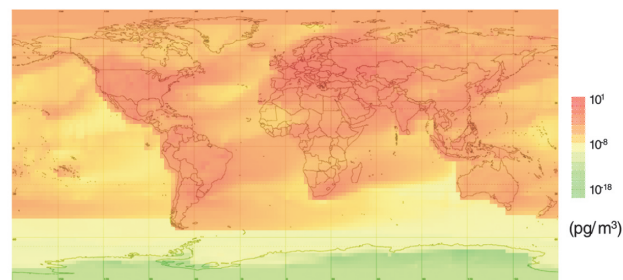


図2 地球規模モデルの開発と PCB によるケーススタディーの結果。PCBの広域拡散が観察される。

物移行の定式化について、実験室における水槽実験とフィールド観測による検証の両面から検討を進めている。

フィールド観測の対象水域として、流域への産業と人口の集中や半閉鎖性という特徴のために化学物質が蓄積されやすいと考えられる東京湾を選定した。PCB (ポリ塩化ビフェニル)、PFOS類 (ここではパーフルオロオクタンスルホン酸 [PFOS] およびパーフルオロオクタン酸 [PFOA] を指す) の2群の残留性化合物を観測対象とした。PCBは、現在生産が中止され、日本では処理が進められている状況にあるが、水環境中では特に底質に残留しており、二次発生源としての影響が懸念されている。また環境中の挙動を支配する蒸気圧やオクタ

ノール水分配係数 (K_{ow}) などの物性値の幅が広い一群の化合物からなり ($\log K_{ow}$ 4.3~8.3, 蒸気圧 $5 \times 10^{-8} \sim 2$ Pa), 広範な物質を代表するモデル化合物として適している。PFOS 類は, 環境中で非常に安定であり, アルキル基部分の撥水撥油性という独特の性質を有しており, 多用途に使用されている。東京湾全域から PCB は 10 地点, PFOS 類は 20 地点において, 海水上層と海水下層, 海底底質の表層部を採取し, PCB 全化合物と PFOS 類を定量した。その結果, PCB は湾奥ほど濃度が高い傾向にあったものの, 上層と下層の間で顕著な濃度の違いは見られなかった。PFOS 類については, 年 4 回の観測結果から, 海水上層, 下層の PFOS 濃度の中央値はそれぞれ 5.0, 2.6 (ng/L) であり, PFOA の場合は, それぞれ 15, 5.8 (ng/L) であった (図 3)。また, 海水中濃度は PFOS よりも PFOA の方が高いものの, 底質中濃度は PFOS の方が高いことが明らかになった。

底質からの化学物質生物移行の評価において, 従来の生物相底質蓄積係数 (BSAF) は, 移行プロセスに対応する係数になっていないため, 底質の性状等が異なる水域において移行状況を正確に評価することは困難である。本課題では水環境中の溶存態および食物からの移行に加え, 底質中の化学物質の寄与を明示的に加えた経路別での生物移行の定式化を進めている。対象生物として, 海産底生魚類であり東京湾にも生息しているマコガレイを選定した。東京湾で採取した底質を敷設した水槽において一定期間マコガレイを飼育し, 魚体中の化学物質濃度の経時変化に及ぼす底質の影響を調べた。PCB とそれ以外の POPs について実験した結果, 底質中の濃度が比較的高い化合物で, 底質およびその懸濁粒子が存在することで魚体中の化学物質濃度が上昇することを観察した (図 4)。予備的な解析により, 生物移行の定式

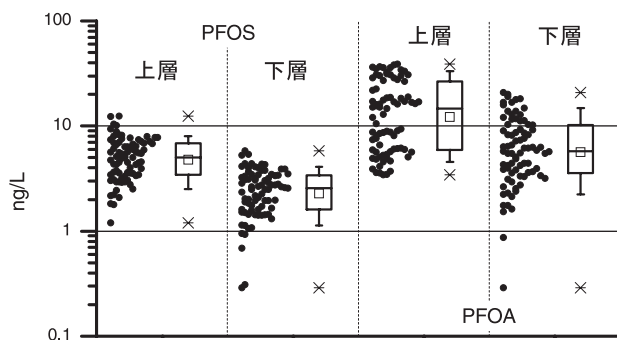


図 3 東京湾海水中の PFOS および PFOA 濃度の分布。2006 年度の結果, $n = 80$ 。上層は水深の 10%, 下層は水深の 90%。

化において, 溶存態や餌生物を経由しない, 底質からの直接的な移行を考慮する必要があることが示唆された。

2.1.3 小児の曝露評価に関する研究

汚染物質の人への曝露評価において, 大気, 水あるいは食品などの摂取量などの曝露ファクターは最も重要なパラメーターであり, これまでの多くの曝露評価において, 検討が行われてきている。しかしながら, 近年, 幼児あるいは小児などの特別な年齢層に着目したりリスク評価に関心がもたれており, このために, 小児等における正確な曝露評価が求められている。しかし, これまでの曝露評価の対象が主に成人に対するものであったため, 曝露ファクターの情報も成人中心にまとめられてきており, 小児のデータ蓄積は必ずしも十分でない。本課題では, 小児における肺換気量を求めるため, 幼稚園における調査を行った。小児の活動量は時間や生活パターンによって大きく変動するため, 加速度計による活動量の計測と換気量の測定をあわせて実施し, 実際の活動量を反映する肺換気量の推定を行った。この結果, 表 1 に示すように, 平均で $8.4 \text{ m}^3/\text{day}$, 最大~最小が $6.9 \sim 9.5 \text{ m}^3/\text{day}$ という推定結果を得た。この年齢層についての精度の高い推定は本調査が最初のものであり, 今後の小児の曝露評価に有効なデータが得られたものと考えている。

表 1 5-6 歳児の 1 日の肺換気量推定結果 (単位: m^3/day , A 幼稚園 $N=18$)

	Mean	min max
Day 1	8.4	6.7 - 10.0
Day 2	8.3	6.7 - 9.5
Weekend	7.8	6.6 - 9.2
Mean	8.2	6.9 - 9.5

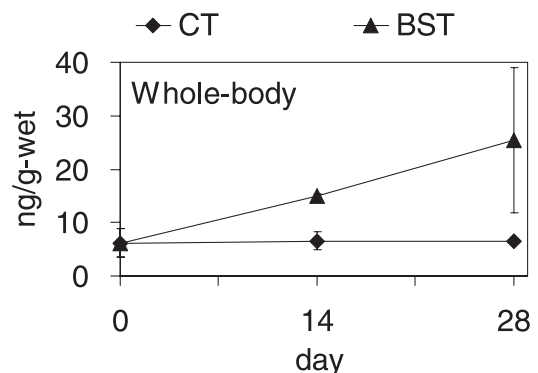


図 4 底質を敷設した水槽 (BST) におけるマコガレイ全魚体中 PCB 濃度の変化。CT は対照区 (底質無し)。エラーバーは範囲を示す。

2.2 バイオアッセイと包括的測定の総合による環境曝露の監視手法の検討と曝露評価

2.2.1 *in vitro* バイオアッセイを用いる全国河川水的环境曝露調査手法の検討

多種多様な化学物質が工場や家庭で大量に使用されており、廃水処理で処理できなかった化学物質や処理過程で二次的に分解・生成された化学物質は河川に流入し、多重的な曝露により生態系に影響を引き起こしている可能性が危惧される。我々は、河川中の化学物質の生態系生物への曝露を包括的に計測するために、多様な毒性の指標となる様々な *in vitro* バイオアッセイを用いて全国河川水的环境曝露調査を試みる研究を行っている。

2007年度は *in vitro* バイオアッセイを用いる河川水的环境曝露調査の全国展開への基礎的検討として、全国13都道府県の80カ所の河川水試料について調査を試みた。河川水試料は、主に共同研究機関である地方環境研究所の協力のもと、都道府県ごとに一級河川を含む6あるいは8カ所を採水地点として任意に設定し、9月から10月までの間で採水を行った。採取した河川水は、冷蔵で国環研に搬送後、2日以内に固相抽出法で汚染有機化学物質の抽出と濃縮を行い、バイオアッセイ用試料とした。

2007年度的环境曝露調査に用いた *in vitro* バイオアッセイ法は、一般毒性の指標である発光細菌毒性試験、内分泌かく乱作用の代表的指標であるエストロゲン（女性ホルモン）活性を計測するヒト・エストロゲン受容体（hER）酵母アッセイ及びメダカ・エストロゲン受容体（medER）酵母アッセイ、過剰の曝露により奇形が誘導されることが知られている *all-trans*-レチノイン酸（ATRA）が生体内リガンドであるレチノイン酸受容体（RAR）酵母アッセイ、肝臓など薬物代謝酵素の誘導に関連するアрилヒドロカーボン受容体（AhR）酵母アッセイの4種類の酵母アッセイと遺伝毒性の指標である発光 *umu* 試験の6種類を採用して行った。なお、いずれのバイオアッセイも数時間で計測できる迅速で簡便な試験法である。

図5は全国の河川試料80検体の河川試料ごとに各種の酵母アッセイを用いて試験した受容体結合活性（内分泌かく乱作用の指標）について、都道府県番号に従い、北海道、岩手県、宮城県、茨城県、群馬県、東京都、長野県、静岡県、京都府、奈良県、鳥取県、福岡県、及び鹿児島県の順に並べて示したものである。

エストロゲン活性の検出系である hER 酵母アッセイは、生体内リガンドの女性ホルモンとして知られる 17β-エストラジオールに対して鋭敏な応答を示すことから、多摩川や隅田川など東京都の河川など都市部の人口密集地の下水処理場排水が流れ込む河川水試料から強い活性が検出される傾向があることが示された。一方、medER 酵母アッセイは、hER 酵母アッセイに比べてビスフェノールAやノニルフェノールなど工業系エストロゲン様物質や植物エストロゲンに対して強い反応を示すことが知られている。今回、調査した河川試料のうち、medER 結合活性は豆腐加工場からの排水の流入が認められる角川や、製紙工場排水が流れ込む竜神川、沼川、及び燃焼廃プラスチックの処理水が流れ込む鉛川で比較的強い活性が示された。RAR 酵母アッセイは、生体内リガンドの ATRA 以外にスチレンダイマー、アルキルフェノールなど工業系化学物質が活性を示すとともに、アオコなど藻類に含まれる植物性成分も強い活性を示すことが知られている。十王川や桜川は比較的強い活性が見られたが、河川水中に比較的多量の藻類が確認されることから、これらは藻類から遊離した活性であることが推察された。AhR 酵母アッセイにおける活性は、肝臓の薬物代謝酵素を誘導する化学物質と関連することが知られており、PCB のようなハロゲン化多環芳香族炭化水素の主要な毒性は AhR を介して起こると言われている。今回、AhR 結合活性が強く検出された河川水試料は、製紙工場排水が流入する竜神川と沼川、燃焼廃プラスチックの処理水が流れ込む鉛川、及び織物工場排水が流れ込む大谷川などであった。

図6にはS9処理（薬物代謝化試験）による発光 *umu* 試験を用いた遺伝毒性を示した。製紙工場排水の流入する竜神川や沼川、人口密集地の荒川や隅田川、及びし尿処理場や下水処理場排水の流入する厚別川、尺岳川、熊添川で比較的強い遺伝毒性が検出された。

今回採用した *in vitro* バイオアッセイを用いる全国河川水的环境曝露調査手法は、それぞれの河川水の汚染源の推測と生態系への影響の予測性を包括的に評価できる有効な手法であることが示唆された。

2.2.2 *in vitro* バイオアッセイを用いる全国大気的环境曝露調査手法の検討

大気中に存在する多環芳香族炭化水素（PAH）の中には、変異原性や発がん性を示すものが存在しており、こ

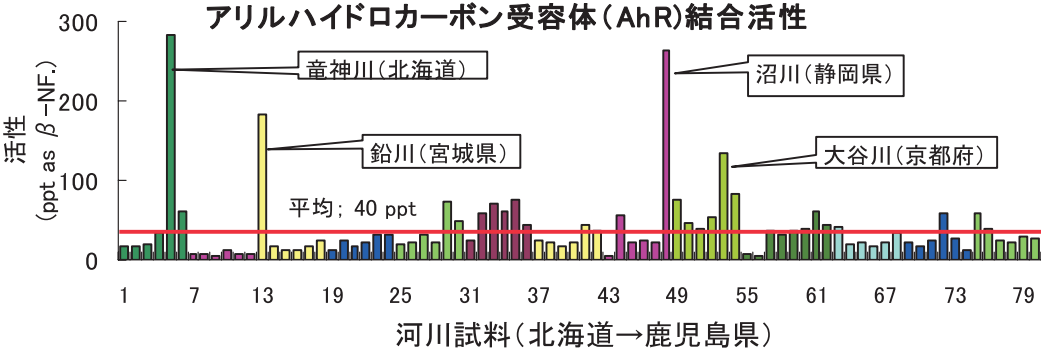
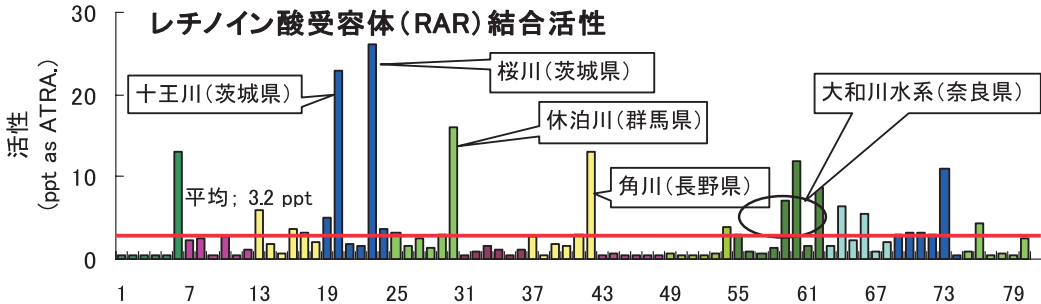
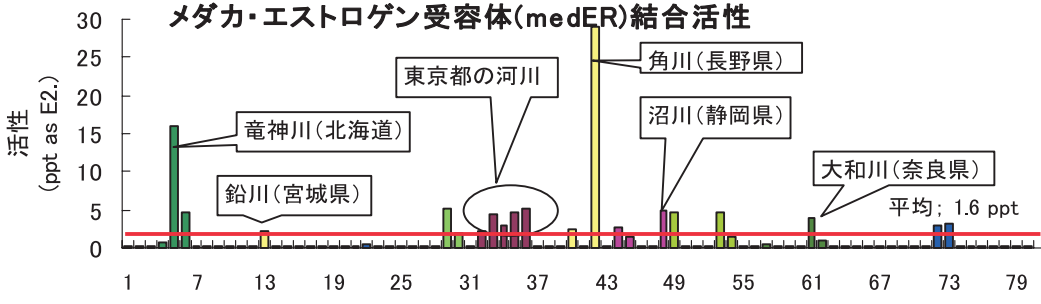
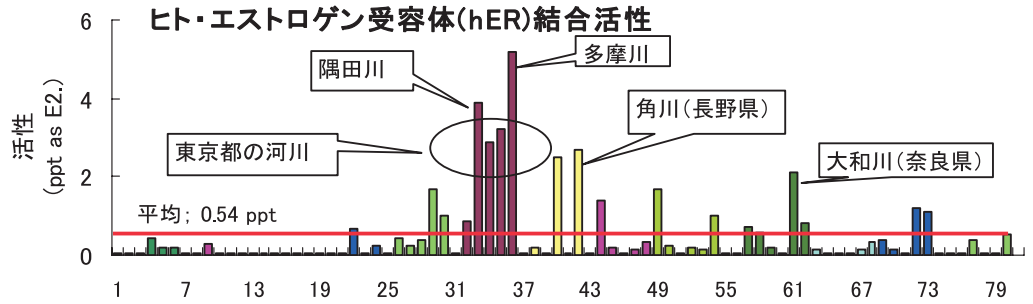


図5 河川試料80検体の酵母アッセイによる受容体結合活性

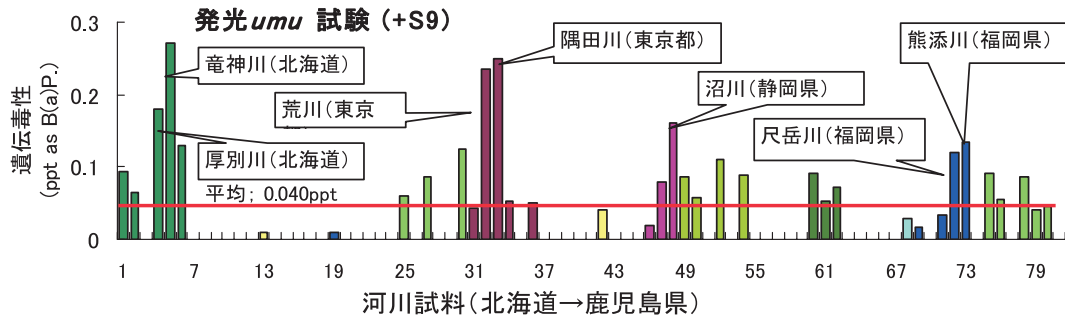


図6 河川試料80検体の発光umu試験(S9代謝化)による遺伝毒性

れまで多くの環境中濃度が測定されてきた。近年、これよりも分子量の小さいピレンやベンズ [a] アントラセンなどの半揮発性 PAH に発がんプロモーター活性が認められ、その毒性的意義が注目されてきている。本研究では、この半揮発性物質に注目し、国内における半揮発性物質の分布と、変異原性などの毒性をモニタリングすることを目的とした。そのアプローチとして、まず国内 10 地点の大気について、夏季に連続 4 日間の同時採取及び測定を行なった。

本モニタリングに先立ち、半揮発性物質の捕集と濃縮方法について検討した。捕集した大気試料を、PAH などの化学分析、変異原性試験などの *in vitro* バイオアッセイに供するためには、捕集試料量を可能な限り多く確保する必要があるため、ハイボリウムエアサンプラーを使用することにした。半揮発性物質の捕集には取り扱いの容易なポリウレタンフォーム (PUF) を採用することとし、種々検討の結果、最も高い変異原性を示したアセトン-ソックスレー抽出法を採用した。続いて、半揮発性物質の濃縮方法とその回収率について検討し、回収率を確認した。以上の前検討を踏まえ、10 地点における夏季の大気試料一斉サンプリングを行なった。

石英フィルターの後段に PUF を装着したハイボリウムエアサンプラーを使用し、流速 700 L/分で大気試料を捕集した。捕集時間は各日午前 10 時から翌日午前 9 時までの 23 時間とし、平成 19 年 7 月 23 日から 27 日までの 4 回行なった。変異原性試験用試料は石英フィルター及び PUF を秤量後、必要量を裁断し、アセトンで 24 時間ソックスレー抽出して得られた液を 40℃、300 mmHg 以上の条件で減圧濃縮して DMSO に転溶して得た。化学分析用試料には抽出前に 16 成分の d 体 PAH をサロゲーターとして添加して同様に操作し、最終試料溶液を 0.5mL のアセトン溶液として GC/MS 分析に供した。アрилヒドロカーボン受容体 (AhR) 結合活性試験用試料は捕集したフィルターをアセトンで超音波抽出後、遠心分離して上清を取り、窒素気流吹き付けによって濃縮後、DMSO に転溶して試料とした。

今回のサンプリングで得られた大気浮遊粉じん濃度が 4 日間 (東京は 3 日間) の平均で最も低かったのは鳥取で $34.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、次いで北海道、宮城の順であった。一方、最も平均濃度が高かったのは群馬の $76.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 、次いで東京の $71.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。群馬と東京では 1 日の平均粉じん濃度が $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ を越えて観測された日が

あった。

図 7 には各地点で採取された空気中の PAH 類濃度を示した。フィルター上に捕集された粉じん状 PAH と PUF に捕集されたガス状 PAH との合計を示した。大気浮遊粉じん濃度は 4 日間の間に大きく変動したが (図 7-F)、これと比べて PAH の変動は福岡を除いてさほど大きくはなかった。夏季における空気中 PAH の寄与は、粉じんよりも気相が大きいことがその要因の一つであると考えられた。いずれの地点においても 4 環以下の PAH の割合が高い傾向があった。福岡の 1 日目及び 2 日目に高い値が検出されたが、その原因は現在のところ明らかではない。この 2 日間は粉じん、気相ともに高い値となっていた。また 3 日目、4 日目は急速に濃度が低下し、ほぼ他の地点と同レベルに落ち着いた。またその他の多環芳香族化合物では、バイオマスの燃焼マーカーとして知られているレテンは東京で低く、群馬で比較的高かった (図 7-B) ほか、PAH 濃度が低い鳥取でも東京よりも高い値となった。含硫黄多環芳香族化合物類であるジベンゾチオフェン濃度は、ほとんどの試料で後段の PUF からも検出されたため正確な値とは言えないが、北海道、群馬、福岡及び鹿児島で高い傾向が認められた (図 7-C)。次に大気浮遊粉じん抽出物の AhR 結合活性について図 7-E に、変異原活性については図 1-A に示す。AhR 結合活性は群馬、茨城および東京で比較的高い値となり、関東地方で高い傾向がみとれる。また茨城県の 4 日目には強い値が検出された。

測定地点における大気の汚染状況とその汚染要因を解析するためには、測定項目を更に増やすことが望ましい。そこで *in vitro* アッセイ系として、遺伝毒性試験 (*umu* 試験) による測定の追加を予定し、大気試料のモニタリングにも適用のための更なる簡易化・迅速化について検討した。培地を簡素化し、反応時間を 240 分に設定することで、1 日あたりに測定可能な検体数が従来法の 8 検体から 48 検体へと増大した。加えて溶媒に用いる DMSO 量を減少させたことにより、従来法よりも溶媒対照の発光量が大幅に低減した。測定に要する時間も従来の 10 時間から 7 時間へと短縮された。本法を 20 検体の大気試料に適用したところ、PUF 抽出物よりもフィルター抽出物で強い遺伝毒性が認められるなど、大気試料の遺伝毒性を評価することが十分に可能であることが示された。

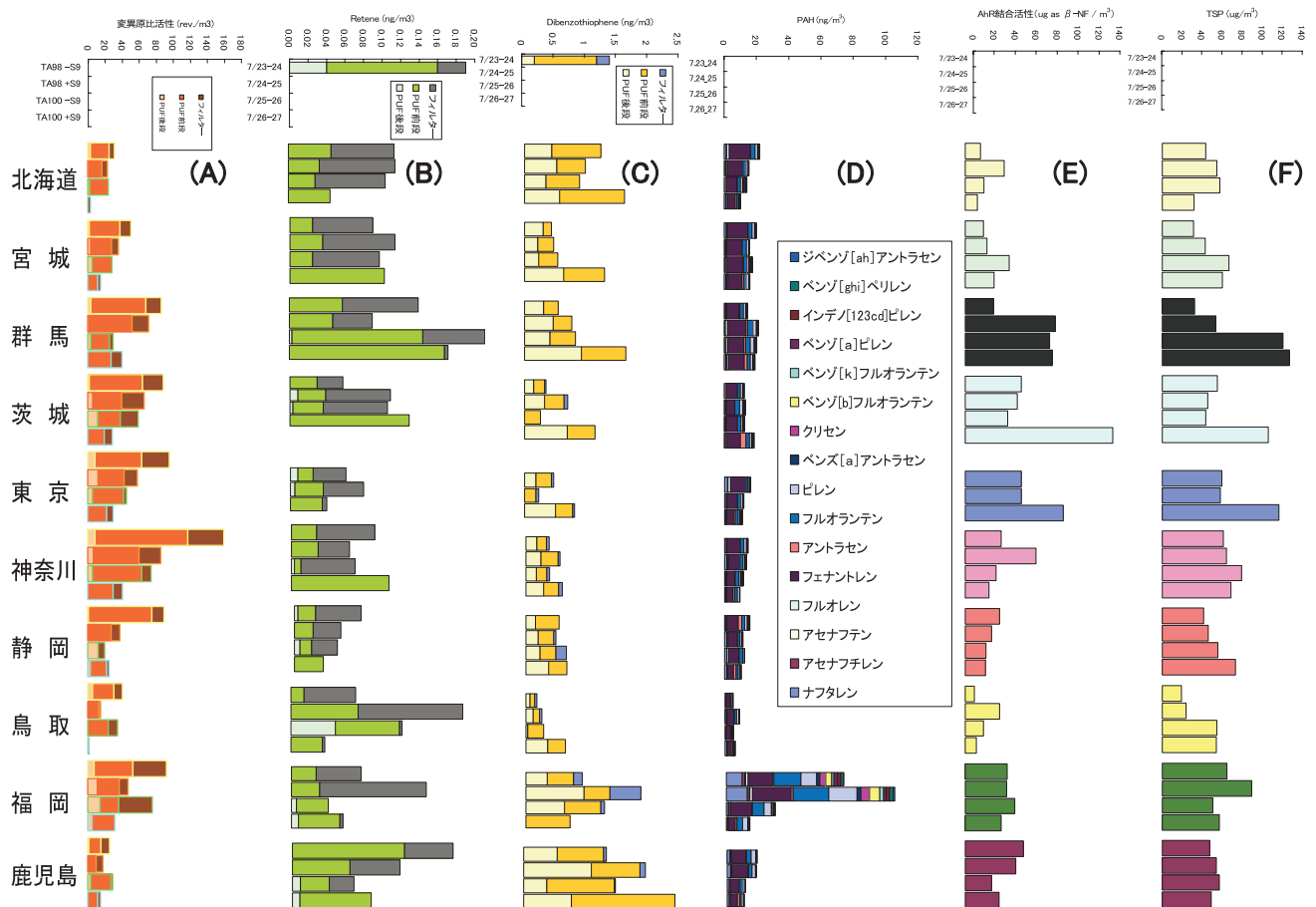


図7 全国大気中の粉じん濃度、PAH濃度及び *in vitro* バイオアッセイ結果
 (A) 変異原性、(B) レテン濃度、(C) ジベンゾチオフェン濃度、
 (D) PAH濃度、(E) AhR結合活性、(F) 粉じん濃度

2.2.3 環境水の *in vivo* バイオアッセイによる評価手法の開発

環境中に放出された工場排水や農業排水などの環境水について、その環境影響を *in vivo* と一斉機器分析を組み合わせるにより把握することを試みた。環境水は複数の化学物質からなるため、化学物質相互間の複合影響を考慮する必要がある。また、濃縮操作によって失われたり変質したりする化学物質が存在する可能性が否定できないことから、環境水になるべく手を入れずにそのまま高感度の *in vivo* バイオアッセイで試験する仕組みを提案した。この手法は米国ではWET (Whole Effluent Toxicity) テストとよばれ、既に1995年から州毎に規制が施行されている。昨年度まで、WETに用いる試験手法の導入を行い、いくつかの環境水サンプルについて予備試験を行った上で、昨年からは、東洋インキ製造㈱の協力のもとに国内4工場 (A, B, C, D) をモデル工場としてWET試験を試みた。

今回用いた試験方法は「藻類生長阻害試験」、「ミジンコ類繁殖阻害試験」、「魚類初期生活段階毒性試験」、「発光バクテリア発光阻害試験」の4試験である。「藻類生長阻害試験」は、化審法も採用しているOECDの「淡水単細胞緑藻類生長阻害試験」(OECD 201) および、ISOの「淡水単細胞緑藻類生長阻害試験」(ISO 8692) に従った。「ミジンコ類繁殖阻害試験」はOECDで採用されている *Daphnia magna* を用いた試験ではなく、*Ceriodaphnia dubia* を用いた試験を導入した。「魚類初期生活段階毒性試験」は、OECDの「魚類初期生活試験」(TG 210) の一部を利用したもので現在OECDで試験法が検討されている、「ゼブラフィッシュの卵による急性毒性試験」(ISO/FDIS 15088) を採用した。

結果を図8に示す。TU (Toxicity Units; 毒性単位、ここではLOECの逆数に100を乗じた) は影響が見られなくなるまでに必要な希釈倍率を意味している。ミジンコへの影響は $B > D > A > C \approx 0$ であった。藻類への

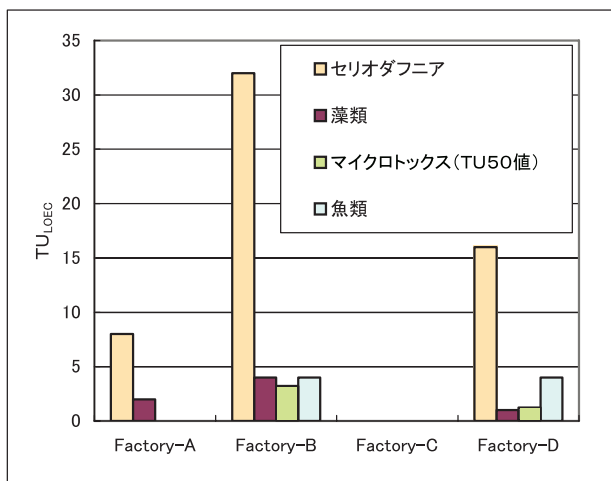


図8 工場排水に対するWET法適用の検討結果。ミジンコ繁殖阻害においてTU > 10となる結果が見られるが、他はおおむねTU < 10の結果が得られた。

影響はA, B, D > C ≒ 0であり、発光バクテリア及び魚類への影響はB, D > A, C ≒ 0とBとDに類似性が見られ、また、Cが最も影響が低かった。また、いずれのTUもB, D工場のミジンコへの影響以外はすべて10倍希釈されると検出できないレベルの影響を示しており、最も高いTUを示したB工場のミジンコへの影響もほぼ30倍に希釈すると影響がないレベルであることから、現実の放流時に受ける希釈（最低でも100倍以上）に比べると小さな値となっており、総合的な生態系への影響はほとんど無いと考えられる。

今回、日本で初めての事例として米国WETに準じた手法により実在の化学工場の排水を評価し、現実に即した希釈倍率ではほとんど生態系への影響リスクが見られないことを確認することができた。一方、無希釈から数倍までの希釈程度によっては、工場により挙動の違いが見られ、それぞれの工場が持つ生態影響リスクの特徴が示唆された。以上のことから、工場からの排水が河川に放流され希釈拡散する過程における生態系への影響度合いを総合的に測る手法として、WET法が排水規制値以下のレベルでの特徴を捉えることに有用であることから、工場排水のリスク管理への展開が期待できる。今後実際に生物影響を持つ物質の同定手法TIE (Toxicity Identification Evaluation) や影響削減手法TRE (Toxicity Reduction Evaluation) を行い、実際にバイオアッセイが環境水の評価だけでなく生態系への影響を削減する手法として有用であるかどうかを検証していきたい。

2.3 モデル推定、観測データ、曝露の時間的変動や社会的要因などの検討とこれらの総合解析による曝露評価手法と基盤の整備

2.3.1 不検出データを含むモニタリング調査結果の統計解析手法の開発と実データへの適用

環境中での濃度レベルを把握するために、多くの化学物質がモニタリングの対象になっているが、調査地点数は数十か所以下の場合が多く、さらにその一部のみが検出されるなどの情報量の違いに起因する不確実性の違いが考慮されることは少ない。ここでは、不検出データを含む観測結果のパーセンタイルの信頼区間を評価するために前中期計画期間において開発したブートストラップ手法をより広範囲に適用可能な手法に改良した。

本手法を用いて、調査地点数が少ない調査結果と地点数が多い調査結果を用いた比較検討を行った。環境省で実施された平成12、13年度非意図的生成化学物質汚染実態追跡調査、平成14～16年度モニタリング調査（以下、黒本調査）と平成11年度実施の公共用水域等のダイオキシン類調査結果（以下、一斉調査）のうちPCB類の11化合物を対象物質とした。黒本調査は20～40地点（平成14年度のみ約110地点）で、一斉調査は約750地点で実施された結果である。

黒本調査の各年度分に対して求めた95パーセンタイルの80%信頼区間に、従来法で求めた一斉調査の95パーセンタイルが含まれる割合を11化合物に関して調べた。その結果、黒本調査5年分×11化合物の計55組のデータセットに対して73%にあたる40組が信頼区間内に含まれ、黒本調査の95パーセンタイルの90%信頼上限の比（以下、黒本/一斉比）が1～2の範囲に集中していることから、真値に対して数倍誤差程度の精度で信頼区間が得られることを明らかにした。

また、モニタリングデータの検体数と検出数がパーセンタイル予測精度に及ぼす影響を調べるために、一斉調査結果を元データとして、無作為抽出により設定した検体数と検出数を有する標本群を作製し、各標本の95パーセンタイルの90%信頼上限の分布を調べた。元データの95パーセンタイルの1～2倍の範囲に90%信頼上限が含まれる確率を“高精度予測率”とし、標本の条件と“高精度予測率”の関係を調べた。PCB-77の結果を図9に示す。その結果、95パーセンタイルの予測精度を上げるためには、検出率の向上よりも検体数の増加の方が有効であることを明らかにした。

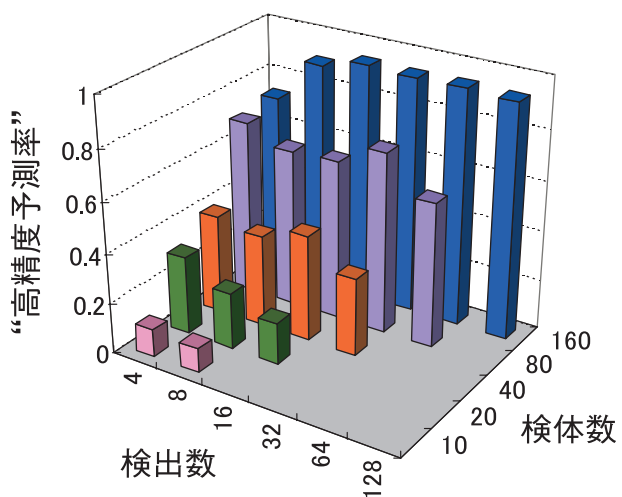


図9 標本の95パーセンタイルの90%上限が母集団の95パーセンタイルの1~2倍の範囲に含まれる確率 (PCB-77, 元データの検体数763)

2.3.2 曝露総合解析の検討およびまとめ

これまでの各サブテーマの検討で得られる、多種物質のモデル推定、*in vitro* バイオアッセイと化学分析を中心とする環境調査による実際の曝露の包括的把握、また、主に工場排水に対する *in vivo* バイオアッセイによる生物影響の把握に関するデータを集積し、この総合解析により多数の化学物質による複合的曝露の状況を GIS として全国に展開して示すことを一つのサブテーマとして検討を進めている。本課題については、まずこの目標の設定が終了した段階であり、今後、実際のデータの集積と地域分布、多種物質、バイオアッセイ等のデータを複合的に表示し、今後のリスク評価において活用可能な GIS データの集積を図るよう検討を進めていく。

Ⅲ. 中核プロジェクト2：感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価

1. 研究の目的と経緯

本プロジェクトは、化学物質の高次生命機能にかかわる内分泌系、免疫系、神経系の攪乱による生体恒常性維持機構に及ぼす影響の解明を通して、環境中に存在する化学物質に対する感受性を修飾する生体側の要因を明らかにし、さらに、感受性要因を考慮した化学物質の健康影響評価手法を提案するのが目的である。具体的には、

サブテーマ1 比較的低濃度の化学物質に対して過敏に反応する遺伝的要因を解明するために、環境化学物質による神経系過敏状態や免疫系過敏状態を新たな有害性として遺伝子レベルで解析し評価できるモデルの開発とともに鋭敏な指標の提示を行う。

サブテーマ2 小児期は、単なる大人の縮小版ではなく、神経系や免疫系を担当する臓器や器官の形成において重要な時期である。また、化学物質の代謝経路も未熟なために感受性も異なることが報告されている。本研究課題では、特に、胎生期、幼児期、小児期に代表される発達期の違いに着目し、化学物質曝露に対する感受性の差異を定量的に明らかにし、高感受性の決定要因を探索する。そして、発達段階に応じた影響を包含したリスク評価、環境リスク管理対策の検討に必要となる科学的知見を提供する。

サブテーマ3 環境ストレスに対する感受性を規定する要因として、生来の遺伝因子、臨界期等の時間因子とともに、疾患の既往、あるいは有病状態、他の環境要因との複合曝露が重要な問題となる。本研究課題では、環境化学物質と他の要因との複合に基づく健康影響を評価するスクリーニングシステム手法を開発し、複数の化学物質に対して評価を加える。

2. 研究の成果

2.1 遺伝的・感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価

2.1.1 トルエン曝露による免疫過敏の誘導

低用量の化学物質曝露による神経系、免疫系など生体高次機能への影響評価において、遺伝的・感受性要因の解明のため、マウスを用いた、低濃度トルエン吸入曝露実験系を確立し、3週間、6週間と曝露を実施し、主として免疫系への影響を比較検討した。

平成18年度は、BALB/cおよびC3H/HeNの2系統の8週齢、雄性マウスを実験に供した。トルエン曝露を0, 5, 50, 500 ppm濃度で1日昼間6時間、週5日間、3週間あるいは6週間の吸入曝露を実施した。また半数のマウスは、トルエン曝露開始時および7日目に10 µgOVA + 0.2mg alum 腹腔内投与による抗原感作を実施、その後3週間目、6週間目の解剖前日に1%OVAエアロゾルによる感作を実施した。実験は、すべて産業医科大学動物実験及び飼育倫理委員会の承認を得た上で実施した。その結果、1) 曝露系：5, 50, 500 ppm 設定曝露チャンパー内トルエン濃度は、ガスクロマトグラフィによる連続モニタリングで、 4.6 ± 0.6 , 49.5 ± 4.4 , 496.7 ± 17.9 ppm (平均値 ±SD) と安定して曝露できた。2) 体重変化：6週間曝露期間中のマウス体重増加は、BALB/c マウスにおいてはOVA感作の有無にかかわらずトルエン濃度依存的に体重増加の抑制が認められた。一方、C3H/HeN マウスにおいては50 ppm まではむしろ体重増加の促進が認められたが、500 ppm では50 ppm よりも体重増加は抑制され、特にOVA感作群でその傾向は顕著であった。3) 免疫担当細胞分画の比較：有意な変化は認められなかった。4) マウスの肺臓洗浄液中のサイトカイン産生はOVAの感作によりTh2サイトカインであるIL-4, IL-5, IL-13の産生が両系統で認められた。しかしながらトルエンによる著しい修飾作用は認められなかった。一方、抗原感作がない状態では、C3H マウスにおいてトルエン曝露によるTh2へシフトする傾向が観察された。5) 脾臓細胞の細胞増殖反応においてはLPS応答に対してトルエンの効果は総じて認められなかった。一方、ConA応答に対してトルエンによる修飾作用が観察された。6) 脾臓細胞を *in vitro* で培養し、培養上清中のサイトカイン量 (IFN- γ , IL-2) を測定したが、トルエン曝露の影響は認められなかった。7) IL-2の産生及びT細胞の活性化を示唆するSTAT5の活性化が、ゲルシフト法により観察された。これはトルエンの濃度依存性にその活性化が増強されていた。

以上、低濃度トルエン曝露は種々の指標に影響を及ぼす事が示唆された。特にゲルシフト法の結果からトルエンは細胞レベルで作用する事が示された。しかしながら、系統差により全ての指標において同傾向を示すとい

うわけではなかった。

平成19年度は、8週齢、雄性マウスでH-2コンジェニック系のC57BL/10 SnSlc(H2b)およびB10. BR/SgSnSlc(H2k)マウスで低濃度トルエン曝露の影響を検討した。その結果、1) 体重変化では、C57BL/10のOVA感作群で体重増加の抑制が観察されたが、そのほかの群を含めトルエン曝露による有意な差異は認められなかった。2) 免疫担当細胞分画の比較：有意な変化は認められなかった。3) 肺胞洗浄液中のTh 2型サイトカインIL-13の産生は、3週トルエン曝露(C57BL/10, 感作なし)の群で有意に増加していた。しかしながら6週曝露群では両系統とも有意な差は認められなかった。4) 脾臓細胞の細胞増殖反応においてはConA応答に対してトルエンの効果は総じて認められなかった。一方、LPS応答に対してトルエンによる修飾作用が観察された群があった。5) 脾臓細胞を*in vitro*で培養し、培養上清中のサイトカイン量(TNF, IFN- γ , IL-2)を測定したところ、マウスの系統により誘導されるサイトカイン量に違いがあったものの、トルエン曝露による劇的な影響は認められなかった。6) IL-2の産生及びT細胞の活性化を示唆するSTAT5の活性化が、ゲルシフト法により観察された。また活性化に必要とされるTyr 694のリン酸化もトルエン曝露により誘導された。STAT5以外の転写因子(NF- κ B, NFAT)の活性化も観察された。

以上、トルエン曝露の影響は種々の指標に影響を及ぼす事が示唆され、その影響は曝露期間、遺伝的背景により表現型に相違があった。C57BL/10マウスはB10. BRマウスよりもTh2型の誘導が高い傾向が示唆された。またゲルシフト法の結果からトルエンは細胞レベルで作用する事が示された。特にSTAT5の活性化は昨年度のBALB/c, C3Hマウスを含む、調べたマウスの全系統において観察された。このことから、STAT5などの転写因子をトルエン曝露に対するバイオマーカーとして用いる事ができる可能性が示唆された。

2.1.2 揮発性有機化合物曝露と嗅覚閾値

最近、ヒトの生活環境中に身近に存在する揮発性有機化合物(Volatile organic compounds, VOCs)と関連した健康影響がしばしば環境医学上の問題となり、「シックハウス症候群」、「化学物質過敏症」などの症候名も一般的な話題にのぼるようになった。これらの症候にはいわゆる非特異的なものが多く、明確な診断方法も確立さ

れておらず、その病態生理にも不明な点が多い。

ヒトの健康との関連が推測されるVOCの多くはヒトに嗅覚刺激をもたらすことが知られている。その健康影響の背景となる生体现象として、嗅覚刺激に対する「過敏反応」があるだろうと考えられる。すなわち、ある曝露条件のもとである個体が過敏ににおい物質を嗅覚システムで検知してしまい、生体内で情動反応やその二次反応が過剰にひき起こされるという可能性である。われわれは、マウスを用いて嗅覚系の過敏反応を検証することを目的として、そのためにまず嗅覚反応の生理的な検知閾値をマウスで調べることにした。本研究では、最初のステップとして、まず嗅覚検知閾値をマウスで計測するための実験システムを確立し、つづいて、もっとも代表的なVOCであるトルエンに対する閾値の計測を試みた。方法は、VOCガスの嗅覚検知閾値をマウスにおいて求めるために、その計測系を作製した(図1)。レバー、ランプ、ブザー、えさ供給装置などが装備された一般的なマウス用のオペラント箱に、におい嗅ぎ用の鼻先挿入ポート、および2種類のガスをポートに送り込むためのハードウェア(電磁バルブ、流量計、エアポンプ)を増設し、それらを一括制御するためのプログラムを作成した。鼻先挿入ポートにおいては、ガスが中央部より300 ml/分で流出し、周辺部より600 ml/分で排出される構造にし、鼻先挿入部分にのみ一定濃度のガスが存在するようなしくみを作った。

このオペラント箱の中でマウスにVOCガス/対照ガスを嗅がせ、ガスのちがいを嗅覚で識別して左右のレバーを押し分ける課題を訓練し、1~2週間の訓練期間につづいてテストを始めた。1回あたり5~30秒で終了するこの課題をマウスに連続100回実行させるスケジュールを1セッションとし、セッションごとに正答率を算出した。正答率が基準(80%)に達した次のセッションからは、ガス濃度を1/10にして同テストを実施した。各マウスに対しては、同セッションを基本的に1日1回実施した。ガスは、液体トルエンよりパーミエータで作製したトルエン・ガスを用いた。このガスをポリエチレンテレフタレート製の無臭性におい袋にいったん貯蔵し、このにおい袋を上記の計測系に接続して実験に用いた。3系統のマウス(①C3H/Heマウス9匹、②BALB/cマウス5匹、③C57BLマウス6匹)を用いた。

3つの系統のマウスでトルエン・ガスを用いて調べた結果、いずれの系統においても、5 ppbのトルエン・ガ

スの正答率が80%以上に達した(図2)。すなわち、系統に関わりなく、マウスのトルエンに対する嗅覚検知閾値は5 ppb以下であることがわかった。この嗅覚閾値は、先行研究により報告された、ヒトにおけるトルエンの嗅覚検知閾値(330 ppb:永田と竹内の報告(1990)による)の1/100以下の低さであることがわかった。

2.1.3 トルエン曝露による神経-免疫クロストークの修飾

これまでの研究で海馬における N-methyl-D-aspartate (NMDA) 受容体遺伝子発現や神経栄養因子 NGF 遺伝子の発現は、低濃度ホルムアルデヒド曝露により増加し、抗原刺激が付加される事によりさらに相加的に作用することを報告した。免疫刺激と化学物質とによる神経かく

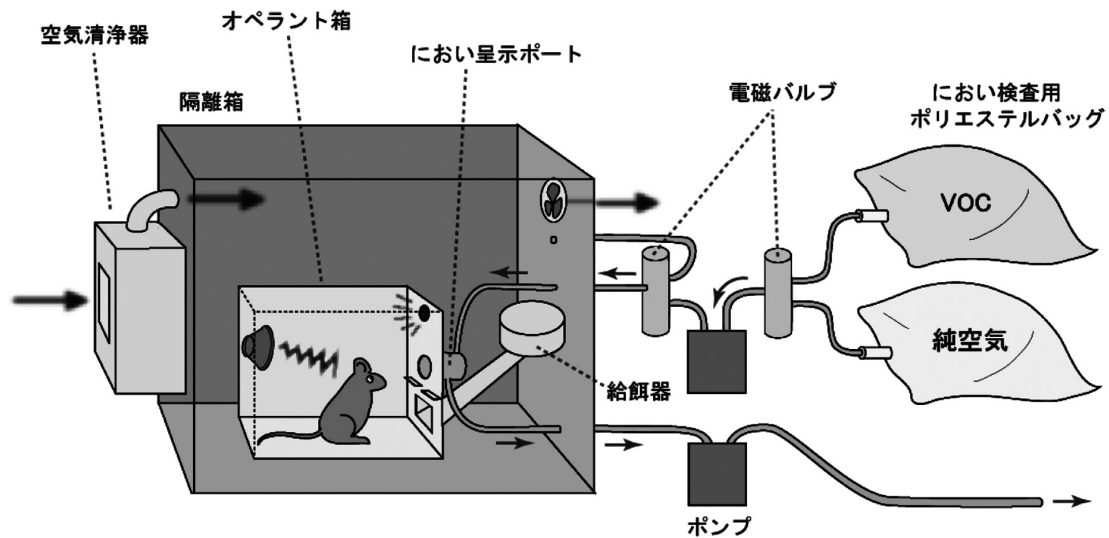


図1 VOCガスに対するマウスの嗅覚検知閾値を計測するシステム(模式図)

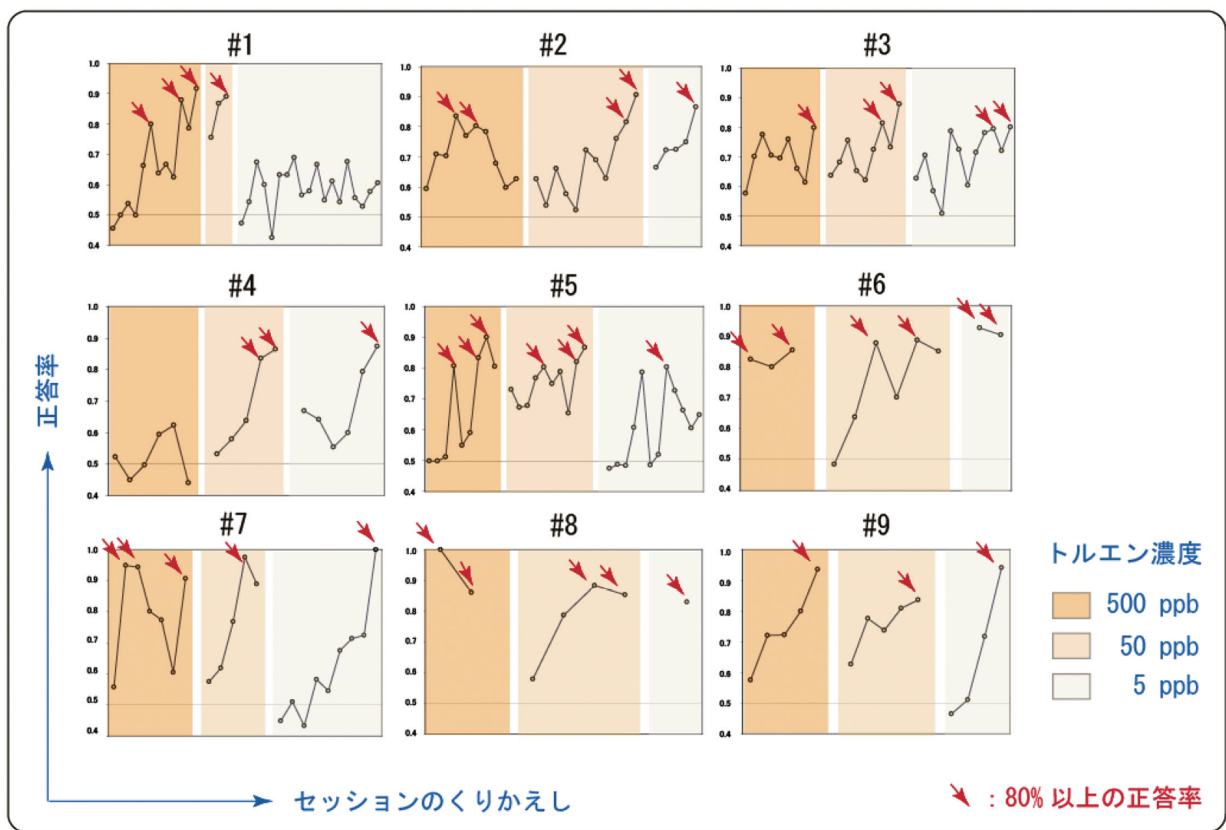


図2 9匹のC3H/Heマウスにおける計測結果

乱のメカニズムにおける感受性要因を解明するために、抗原感作と低濃度トルエン曝露を併用して異なる系統のマウス海馬における記憶関連遺伝子の発現への影響について比較検討した。

平成18年度は、C3H/HeNとBALB/cの2系統のマウスを用いて0 ppm, 5 ppm, 50 ppm, 500 ppmのトルエン濃度で3週間、6週間の全身曝露を行い、海馬における学習、記憶にかかわるNMDA受容体を介する経路の遺伝子、カプサイシン受容体TRPV1遺伝子、炎症性サイトカインTNF α 遺伝子の発現についてリアルタイムPCR法を用いて検索した。また、一部のマウスは、トルエン曝露と併用して卵白アルブミン(OVA)感作を行い、同様に検索した。その結果、NMDA受容体及びドーパミン受容体の遺伝子発現では、C3HマウスのNR1 mRNAの発現は、トルエン曝露のみでは対照群と比べ変化がみられなかったが、OVA感作と併用すると500 ppm群で有意な増強がみられた。NR2AとNR2BのmRNA発現では、トルエン曝露群、トルエン曝露+OVA感作との併用群ともそれぞれの対照群との間に有意な差はみられなかった。一方、ドーパミン受容体については、トルエンのみの曝露では差はみられなかったが、OVA感作併用群では、500 ppm群で有意な増加がD1, D2 mRNAsの発現で認められた。BALB/cマウスでは、NMDA受容体の発現は、トルエン曝露のみ、トルエン曝露+OVA感作の併用でも対照群と比べ変化がみられなかった。ドーパミン受容体D1のmRNA発現では、500 ppmトルエン曝露群と対照群との間に有意な差がみられたが、トルエン曝露+OVA感作併用群では差はみられなかった。D2 mRNAの発現でも、有意差はみられなかったが同様な傾向が示された。次に、核内転写因子の遺伝子発現では、CREB及びそのリン酸化にかかわるCaMKIV遺伝子の発現について2系統のマウスで比較した。C3Hマウスでは、CREB1 mRNAの発現が50 ppmトルエン曝露により増強し、トルエン曝露+OVA感作群では500 ppm曝露群で増加がみられた。CREB2 mRNAの発現は、500 ppmトルエン曝露+OVA感作した群で有意に増加した。CaMKIV mRNAの発現には、トルエン曝露による影響はみられなかった。一方、BALB/cマウスでは、CREB1 mRNAの発現抑制が5 ppm曝露によりみられたが、他の曝露群ではみられず、CREB2 mRNAの発現に変化はなかった。CaMKIV mRNAの発現では、50 ppmトルエン曝露+OVA感作し

た群で有意に抑制された。カプサイシン受容体およびTNF α 遺伝子の発現では、C3Hマウスにおいては、カプサイシン受容体TRPV1 mRNA発現にはトルエン曝露による変化がみられなかったが、炎症性サイトカインTNF α mRNA発現では500 ppmトルエン曝露+OVA感作群で増加がみられた。BALB/cマウスにおいては、TRPV1 mRNA発現で500 ppmトルエン曝露+OVA感作群の増加がみられた。しかしながら、TNF α mRNAの発現では、差はみられなかった。

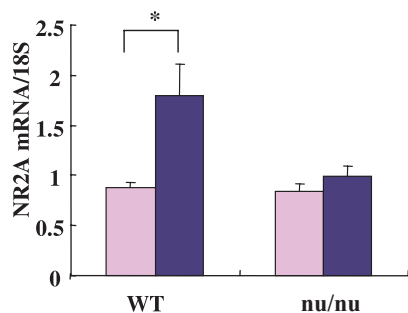
以上、低濃度トルエン曝露は、C3Hマウス海馬におけるドーパミン受容体や転写因子、及びTNF α の遺伝子レベルで増強作用を認めた。BALB/cマウスでは、転写因子の抑制、及びカプサイシン受容体遺伝子発現の増加がみられるなど、2系統間におけるトルエン及び抗原刺激に対する反応に明らかな違いのあることが検証できた。

平成19年度のH-2コンジェニック系のC57BL/10 SnSlc (H2b) およびB10.BR/SgSnSlc (H2k) マウス系統間差の解析では、C57BL/10とB10.BRでは、海馬におけるNMDA受容体及びドーパミン受容体の遺伝子発現においてトルエン曝露の影響は見られなかった。

次に、嗅球における4系統間の比較では、C3Hマウスでトルエン曝露+OVA感作の併用でNR1とNR2Bm RNAの発現の抑制が見られた。BALB/cマウスでは、NR1, NR2A, NR2B mRNAsの発現は抑制され、ドーパミン受容体D1, D2 mRNAsの発現抑制も500 ppmトルエン曝露群で認められた。C57BL/10マウスでは、NR2A mRNA発現の抑制がみられ、B10.BRでNR1, NR2A, NR2B mRNAsの発現は、トルエン曝露+OVA感作の併用で変化がみられなかったが、D1 mRNA発現がトルエン+OVA感作群で有意に増加した。

トルエン曝露による神経系への影響機構に免疫系が関与するか否かを調べるため、BALB/cマウスの野生型(WT)と免疫不全(nu/nu)マウスで影響を比較した。トルエン鼻部曝露では、WTマウスの海馬におけるNR2A, CaMKIV, CREB1 mRNAsの発現増強がみられたが、nu/nuマウス海馬での変化はみられなかった(図3)。神経細胞の免疫染色では両マウス間で数に差はみられなかったが、CD3陽性細胞数の測定では、WTマウスの海馬での有意な増加が認められた。したがって、トルエン曝露によるNMDA受容体を介した経路の修飾にはT細胞が何らかの関与をしている可能性が考えられる。

(A) NMDA NR2A



(B) NMDA NR2B

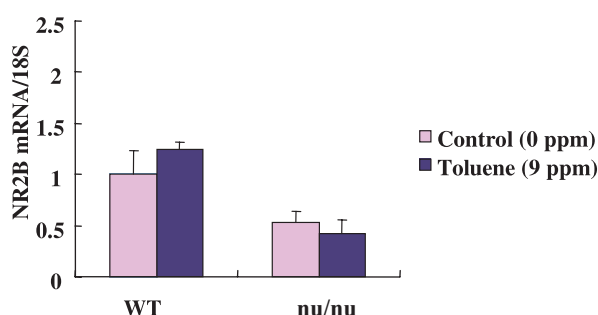


図3 トルエン曝露したマウスの海馬におけるグルタミン酸受容体の遺伝子発現の変化

以上、低濃度トルエン曝露は、海馬および嗅球における NMDA 受容体やドーパミン受容体遺伝子発現の増加、あるいは減少がみられるなど、4系統におけるトルエン及び抗原刺激に対する感受性に明らかな違いのあることが検証できた。これらの結果から、低濃度、長期の曝露が記憶形成機構にかかわる嗅球や海馬において過敏な状態を生じたことを示唆しており、さらに抗原刺激による免疫系の活性化も神経-免疫クロストークを通じてそこに関与している可能性が考えられる。

2.2 時間的感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価

2.2.1 脳形成への影響

近年、発達途上にある胎児や小児に対する環境リスクの増大が懸念され、環境中化学物質に対する子供の健康影響について関心が払われている。室内空気汚染物質であるトルエンの比較的低濃度の曝露は化学物質過敏症やシックハウス症候群との因果関係が指摘されており、曝露による成人や成獣の脳への影響が知られている。しかしながら、胎児や小児の神経系に対するトルエンの影響は不明な点が多い。発達過程において、脳は性的に分化し、性特異的な機能や男らしさ・女らしさの基盤となる組織構造が形成されてゆく。このような脳の性分化にとって、発達期の精巣から分泌されたテストステロンの働きは重要であり、テストステロンが作用した脳は雄型に分化する。これまでに、成人男性や成獣のテストステロン濃度はトルエンにより低下することが報告されているが、発達途上にあり未成熟な個体のテストステロン分泌に対する影響は不明である。そこで、脳の性分化に対するトルエンの曝露影響を明らかにするため、まずは発達期のテストステロン分泌に対するトルエン曝露の影響

を実験動物であるラットを用いて検討した。妊娠ラットの鼻部からトルエンを含有する空気を吸入させて、胎仔にトルエンを曝露した。曝露したトルエンの濃度は0.09, 0.9, 9および90 ppmであり、曝露期間は妊娠15日目から19日目の5日間(90分/日)とした。対照群の妊娠ラットには清浄空気を同一条件で曝露した。妊娠19日目の曝露直後、胎仔の血液および精巣を採取して、血中テストステロン濃度および精巣のテストステロン合成に関与するステロイド産生酵素(P450_{scc}, 3 β -HSD1, P450_{c17}および17 β -HSD3)のmRNA発現レベルを解析した。その結果、雄胎仔ラットの血中テストステロン濃度はトルエン曝露により低下した。0.09 ppmトルエン曝露群における雄胎仔のテストステロン濃度と対照群の雄胎仔の濃度との間には有意な差はみられなかったが、0.9 ppm以上の用量でトルエンを曝露した雄胎仔のテストステロン濃度は対照群に比べて有意に低かった。さらに、対照群および0.9 ppmトルエン曝露群の雄胎仔の精巣におけるステロイド産生酵素のmRNAレベルを解析した結果、3 β -HSD1のmRNA発現レベルはトルエン曝露によって有意に低下することが明らかになった。以上の結果から、トルエン曝露による雄胎仔ラットの血中テストステロン濃度の低下は、精巣における3 β -HSD1の発現低下によるテストステロン産生能の低下が原因の一つであると考えられた。胎生後期における雄ラットのテストステロンレベルの低下は雄の脳の性分化に対する影響に繋がると考えられ、脳の性分化に対するトルエン曝露の影響について、さらに実験検証をおこなった。発達途上の脳内では、アポトーシスによる細胞死が自然発生的に起こり、これにより生存細胞の選択がなされて脳が形成される。脳形成にとって必要不可欠な発達期のアポトーシスは脳の性分化においても重要で

あり、性分化して性差が形成される「性的二型核」と称される脳領域では、新生仔期での明瞭なアポトーシスの性差が確認される。そこで、ラットの性的二型核として知られるSDN-POAに着目して、新生仔期でのアポトーシスに対する周生期トルエン曝露による影響を検証した。胎生17日から出生6日にかけてトルエン（50 ppm, 8時間/日）をラットに全身曝露した。生後7日齢の雌雄仔ラットより脳を採取して組織学的解析をおこなった。その結果、周生期にトルエンを曝露した仔ラットのSDN-POAにおけるアポトーシス細胞数は、清浄空気を曝露した対照群のアポトーシス細胞数に比べて有意に多いことが明らかになった。トルエン曝露によるアポトーシス細胞数の増加は雌雄の両方においてみられ、その結果として、通常個体のSDN-POAでみられるアポトーシス細胞数の性差（雌>雄）がトルエン曝露群でも依然として確認された。しかし、トルエンを曝露した雄仔ラットのアポトーシス細胞数は対照群の雌仔ラットの細胞数と同程度にまで増加していた。これらの結果から、周生期に曝露したトルエンは新生仔期のSDN-POAにおいてアポトーシスによって死滅する細胞の数を増加させ、これによって同脳領域の形成に影響を及ぼす可能性があると考えられた。また、雄仔ラットのSDN-POAにおけるアポトーシスに対するトルエンの影響は、本来、雄型に分化するはずのSDN-POAを雌型にしてしまう可能性があり、この正否を検証するための解析を実施中である。

2.2.2 マウス胎仔期・授乳期における免疫・感染指標の検討

小児期の免疫系は発達段階にあり、大人に比べて化学物質の影響を受けやすくなる可能性が示唆されるが、小児期においてもその感受性は免疫系発達のどの時点（例えば胎児期、乳児期、幼児期、学童期）で化学物質に曝露されたかによって異なってくることが予想される。近年、小児の免疫発達は、I型ヘルパーT（Th1）細胞とII型ヘルパーT（Th2）細胞の機能の関係で議論され、その発達の過程では、Th1/Th2比の均衡がとれた状態で発達していくことが重要と考えられている。Th1/Th2比の均衡がTh2優位に傾くと花粉症やアトピー性皮膚炎、気管支喘息などのアレルギー疾患を起こしやすくなる。このTh2の機能はTh1によって相補的に抑えられるが、いくつかの細菌（又は細菌成分）はTh1反応を刺激し、Th2反応やIgE産生を減少させることが知られている。

本研究では、胎児、小児等の時間的変動による化学物質曝露に対する感受性の差異をTh1/Th2バランス形成や感染抵抗性を指標に定量的に明らかにし、高感受性の決定要因を探索することを目的とした。

平成18年度においては、グラム陽性菌細胞壁成分ペプチドグリカン（PGN）による経気道刺激がTh1機能の発達またはアレルギーの抑制へと導くか否かについて検討した。本研究では、離乳直後（3週齢）のBALB/cマウスにPGN4 $\mu\text{g}/50\mu\text{l}$ を3日おきに計5回点鼻投与した後、卵白アルブミン（OVA）をアジュバントである水酸化アルミニウムゲルと共に2週間おきに計4回腹腔内投与し、マウス成長後（12週齢時）の血中総IgE、IgG1、IgG2a抗体産生量や肺および脾臓でのTh1系（IFN- γ ）、Th2系（IL-4、IL-5）サイトカイン産生量、トール様受容体TLR2、TLR4の遺伝子発現レベルなどへのPGN刺激の効果について解析した。その結果、離乳直後からのPGN経気道刺激は、Th1機能発達やアレルギー抑制へと導かなかった。

平成19年度においては二つの実験を行ったが、1回目の実験では、胎仔期から授乳期（又は胎仔期のみ）にかけての低濃度トルエン曝露とPGN刺激がTh1/Th2バランス形成に及ぼす影響について検討した。本実験では、BALB/c系マウス（妊娠マウス又はその仔マウス）に低濃度トルエン（5 ppm, 50 ppm）を胎仔期から授乳期にかけて（又は胎仔期のみ）吸入曝露し、さらに同期間中、PGNで複数回刺激（胎仔期はエアロゾル吸入、授乳期は腹腔内投与）した。そして、Th1/Th2バランス形成への影響について、Th1、Th2反応に関係する血中Ig抗体や脾臓、肺でのサイトカイン産生（又はmRNA発現）等を指標に解析した。その結果、胎仔期から授乳期にかけてのトルエン曝露は、Th1反応を抑えてTh2反応を高める傾向を示した。PGN刺激との併用では、特に50 ppmトルエン曝露群でTh1およびTh2系両方の反応を抑制した。一方、胎仔期のみ50 ppmトルエン曝露では、Th1およびTh2系それぞれの反応をかく乱し、その影響はトルエン曝露の時期（免疫系の発達時期）によって異なることが示唆された。

2回目の実験では、細菌成分をPGNからBCG（ウシ型結核菌の無毒化株）ワクチンに変更して、授乳期でのトルエン曝露とBCG刺激がマウス成長後のTh1/Th2バランス形成に及ぼす影響について検討した。本実験では、C57BL/6系マウスの授乳期にトルエン（5 mg/10 g

bw) を複数回腹腔内投与し、同様のスケジュールで BCG ワクチン (10(6) CFU/mouse) を皮下接種した。そして、卵白アルブミン (OVA) による感作後のマウス 10 週齢時に Th1/Th2 バランス形成への影響について解析した。その結果、トルエン曝露と BCG との併用では、トルエン曝露のみに比べて血中や脾臓での Th1 反応の亢進と Th2 反応の抑制が見られた。さらに、肺ではトルエン曝露によって亢進した Th2 反応の抑制が見られた。このことから、授乳期における BCG 刺激は、マウス成長後にアレルギーに関係する Th2 反応を抑制する方向に作用することが示唆された。

2.2.3 授乳期ダイオキシン曝露の骨形成への影響

我々はこれまでに授乳期ダイオキシン (2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin : TCDD) 曝露が Arylhydrocarbon receptor (AhR) 依存的に腎臓遠位尿細管の機能と形態を特異的に障害することを明らかにしてきた。数多くある腎機能のうちであって、腎臓遠位尿細管はビタミン D を生理的活性型の 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (1,25(OH)₂D₃) に変換する場である。これにより Ca 再吸収が調節されており、その結果、体内の Ca の恒常性が維持されていることはよく知られている。活性ビタミン D はビタミン D 受容体 (VDR) のリガンドとして多くの遺伝子の発現を制御しており、Ca 代謝、骨代謝のみならず細胞の増殖・分化、免疫機能など様々な生命反応や疾患に深く関与している。ところがビタミン D 代謝や Ca の体内恒常性に対する TCDD の影響に関する研究はほとんどなされていない。そこで本研究は、授乳期ダイオキシン曝露によるビタミン D 代謝と Ca のホメオスターシスに及ぼす影響と、ダイオキシンによる骨毒性発現のメカニズムを遺伝子レベルで解明することを目的とした。

TCDD 15 μg/kg b.w. を出産後 1 日目の C57Black/6J 母鼠マウスに経口投与した。母乳を介して TCDD 曝露した仔マウスより生後 7, 14, 21 日目に各組織を採取して実験試料とした。授乳期 TCDD 曝露がマウス腎の 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (1,25(OH)₂D₃) 合成酵素である Cytochrome P450 (CYP) 27 b1, および分解酵素である CYP 24 a1 の遺伝子発現を生育初期段階で誘導することが分かった。又、生後 21 日目マウス血清の活性型ビタミン D 濃度が TCDD 曝露により対照群の 2 倍に上昇していた。このことから TCDD が腎臓におけるビタミン D

代謝の攪乱作用をもたらすことが明らかとなった。

次いで、Ca の恒常性に関与する遺伝子発現に及ぼす TCDD の影響を調べた。その結果、細胞内 Ca 輸送、Ca の細胞外排出に関与する Calbindin, NCX-1 遺伝子の発現を生後 7 日目で TCDD が有意に阻害することが明らかとなった。TCDD による Calbindin 発現抑制作用は免疫染色法により蛋白レベルで確認された。TCDD による腎臓における Ca 輸送の攪乱作用が明らかとなった。

TCDD による骨代謝への影響を調べるために血清中副甲状腺ホルモン (PTH), オステオカルシン濃度を含め骨代謝に関する各種パラメーターの変化を Real-Time RT-PCR 法と免疫組織学的方法により解析した。さらに、脛骨を用いて骨形態計測および骨構造解析を行うと共に骨組織特殊染色により骨芽細胞・破骨細胞活性に及ぼす TCDD の影響を画像解析した。

TCDD 曝露による PTH への影響については、TCDD 曝露による PTH 遺伝子発現量および血清濃度に変化が認められなかったことから、TCDD の骨毒性発現に PTH が関与していないことが示唆された。

TCDD 曝露による十二指腸での Ca²⁺ 吸収関連遺伝子の発現誘導では、腎臓とは異なり、小腸では Ca 吸収関連遺伝子の発現を TCDD は有意に促進した。TCDD 曝露により尿中 Ca の排泄増加にもかかわらず、血中 Ca の恒常性が維持されていたことから、小腸での Ca 吸収の促進が代償的に機能していることが示唆された。

TCDD 曝露によりマウス脛骨の骨密度、骨塩量はともに有意に低下した。TCDD の骨毒性の特徴的病理組織所見が類骨の特異染色により得られた。すなわち、Villanueva's Goldner 染色により、脛骨皮質骨および緻密骨において類骨の著しい増加と石灰化抑制が TCDD 曝露マウスの顕著な所見であった。

TCDD 曝露によるオステオカルシンおよびアルカリホスファターゼ (ALP) の発現抑制では、骨芽細胞より産生され、骨形成の代表的マーカーである血中オステオカルシンおよび骨中 ALP の発現に及ぼす TCDD の影響を調べた。生後 21 日目で TCDD は血中オステオカルシン濃度を有意に低下させた。また骨中オステオカルシンと ALP の mRNA 発現量も TCDD は有意に低下させた。

以上、授乳期 TCDD 曝露はマウス腎臓においてビタミン D 合成酵素遺伝子発現と活性型ビタミン濃度の有意な上昇をもたらすことが明らかとなった。TCDD がビタミン D 合成酵素の発現を亢進する結果、骨芽細胞活性の低

下をもたらす、この活性抑制が骨の石灰化を阻害する骨形成障害がその本態であるとの結論に達した。この仮説はビタミンD濃度の過剰上昇が骨芽細胞活性を抑制するとのこれまでの研究結果からも支持されると考えられる。

2.2.4 環境因子に起因する精神・神経疾患に関する研究

近年、環境に存在する化学物質の発達期中枢神経系への影響についての動物実験の報告が相次いでいる。胎生期曝露では、青班核の形態の異常、大脳皮質の層形成異常、また周産期曝露ではラット探索行動の異常、恐怖・痛みへの反応性の変化などが観察されてきている。更には、新生期曝露による空間学習の異常や多動性障害なども報告された。このような報告から、環境化学物質の生体影響は、その曝露時期に依存した生体の感受性に大きく左右されるのではないかと考えられるようになった。これまでの環境化学物質のリスク評価が大人の生理学に基づいていることから、その評価法の見直しが必要になってきている。脳・神経リスクに関する評価は、多様なエンドポイントが存在するために、更に困難が予想される。従って、環境化学物質の曝露時期に依存した影響を明らかにするための一つのアプローチとして、ラットの胎生期、新生期、そして成体期に大別した環境化学物質の影響を評価することが考えられる。

私たちは、これまでに内分泌かく乱化学物質のいくつかはラット新生期への曝露影響として多動性障害をもたらすことを報告してきている。また、その原因はドーパミン神経の発達障害であることを示してきた。中枢ドーパミンの作用は、歩行運動、情動、注意、意欲、報償、薬物依存に関わっていることから、ドーパミン神経の発達障害が、結果として多動性障害をもたらすことは容易に理解できる。

ここで提起される疑問は、ドーパミン神経の老人性神経変性疾患であるパーキンソン病との関連性である。パーキンソン病は、安静時に震えたり、筋固縮がみられたり、じっとして動けなくなったりする運動障害を示す。その原因は、黒質・線条体ドーパミン神経細胞の選択的な脱落である。行動面では、多動性障害とは全く逆の特性を示す。

そこで、本研究においては殺虫剤として用いられているドーパミン神経毒・ロテノンを用い、ラット新生期と成体期への曝露評価を行動科学的に行った。最初に、ラット新生期曝露は、生後5日齢にロテノン(1～

16 mg/kg)を経口投与し、ヒトの学童期に相当する4～5週齢で自発運動量を測定した。その結果、16 mg/kgのロテノン単回曝露は、対照ラットの自発運動量に比べ、約38%亢進し、多動性障害が認められた。1 mg/kgロテノン4回反復曝露も同様な結果をもたらした。一方、浸透圧ポンプを用いたロテノン(3 mg/kg/日)の成熟期ラットへの慢性曝露は、パーキンソン病の特徴である寡動や歩行障害をもたらした。その自発運動量を定量してみると、対照ラットのそれと比較して約49%減少した。

以上の結果は、単一環境化学物質の曝露時期に依存し、その脳・神経への影響表現型が異なる場合があることを如実に示している。従って、環境化学物質の脳・神経系へのリスク評価のためのエンドポイントは、生体の成育段階に応じて設定しなければならない場合があることを強く示唆している。

2.2.5 血管形成への影響

中枢系疾患と血管の発達の間には、密接な関連があることが以前より知られている。例えば血管の発達を抑制する作用をもつサリドマイドや、ステロイド剤に胎仔期に曝露されたラットでは、血管の発達不全が原因となって、中枢系の発達が阻害されてしまうことが報告されている。環境中の化学物質には、ステロイド様の作用をもつものや、催奇形性のあるものが知られており、脳血管の発達障害が、化学物質による脳機能異常に寄与している可能性がある。例えば、パーキンソン病は、農薬への慢性的曝露が一因となっている可能性が強く疑われているが、患者の脳血管は形態的な異常と透過能の亢進を呈し、サイトカインやホルモンにも正常に応答できないことが知られている。また、パーキンソン病の直接の原因は特定の神経の細胞死であるが、この細胞死に先立って血管の異常が生じている可能性が高いと考えられている。発達期の脳は成長を続けており、それに伴って血管も伸長や分岐を繰り返している。このような時期に化学物質に曝露されると、血管の発達異常による、脳の成長阻害や中枢機能の異常が引き起こされる可能性がある。小児の脳血管障害、脳血管奇形や脳腫瘍の発生や病態の進展にも影響を及ぼす可能性がある。

このように血管の発達と中枢系疾患の間には密接な関連がある。しかし、化学物質が血管の発達に及ぼす影響という観点から、化学物質の安全性を評価した研究はほ

とんど見あたらないのが現状である。このような背景から、環境化学物質の血管新生・形成過程に及ぼす影響の評価が必要と考えた。

疾患モデル動物における血管内皮細胞の発生・分化過程への化学物質の影響に関する研究では、妊娠10日目のICR系マウスにサリドマイドを経口投与し、妊娠17日目の胎仔の脳底血管の形態を調べた。500 mg/kgの投与群では、脳底に形成されるべき動静脈が判別不能な状態であった。50 mg/kg, 150 mg/kgにおいて血管の分岐点間の距離を測ったところ、50 mg/kgの投与群において図4で示すAB-BC間の距離が減少していることが明らかになった。また、50 mg/kg, 150 mg/kgの両投与群において、本来存在しないはずの分岐の数が増加していた。次に、妊娠10日目のICR系マウスにペルメトリンを経口投与し、妊娠17日目の胎仔の脳底血管の形態を調べた。血管の分岐点間の距離を測ったところ、10 mg/kgの投与群においてB-C間の距離が減少していることが明らかになった。また、本来存在しないはずの分岐の数が増加していた。分岐の増加は、特にB-C間で顕著であった。これらの結果より、ペルメトリンは胎仔の脳底血管の形成異常を引き起こすことが示唆された。遺伝的背景によっては、ペルメトリンへの曝露は、もやもや病、毛細血管拡張症、海綿状血管腫などの脳血管障害のリスク要因になる可能性が考えられた。

以上、妊娠動物への投与により、慢性毒性試験で示されているNOAEL 4.8mg/kg/dayより低い用量2 mg/kgで、血管の分岐数に変化が認められた。血管が発生し形成する時期での曝露により阻害影響が検出する系が確立できた。妊娠時期における農薬の曝露量に注意をする必要があることを示唆するデータが得られた。

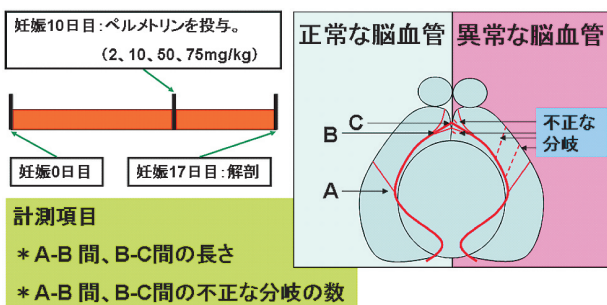


図4 ペルメトリンの脳血管の発達への影響
ペルメトリンを妊娠10日目のマウスに投与し、妊娠17日目に胎仔脳を採取した。脳底動脈のA-B間、B-C間の長さと同数の分岐数を計測した。

2.3 複合的感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価

本研究課題では、環境化学物質と他の要因（アレルゲン）との複合に基づく健康影響を評価する手法を開発し、複数の化学物質に対して評価を加えることを目的とした。

2.3.1 *in vivo* スクリーニングによる化学物質のアレルギーへの影響評価

in vivo スクリーニングモデル（アトピー素因を有するNC/Ngaマウスにダニアレルゲンを局所投与した皮膚炎モデルで、環境化学物質の影響評価に有効）を用い、複数の化学物質について検討した。対象化学物質は、4-ノニルフェノール（NP）、4-*t*-オクチルフェノール、*p*-*t*-ブチルフェノール、ベンゾ[a]ピレン（BaP）、ナフトキノロン（NQ）、フェナントラキノロン（PQ）、スチレンモノマー（ST）、アクリルアミド（AA）、フタル酸ジブチル（DBP）、フタル酸ジエチルとした。NC/Ngaマウス（♂、8週齢）を6群に分け、対象物質を4濃度設定し、週1回、計4回腹腔内投与した。ダニアレルゲン（Dp）は、化学物質投与開始の4日後から1-2日おきに、

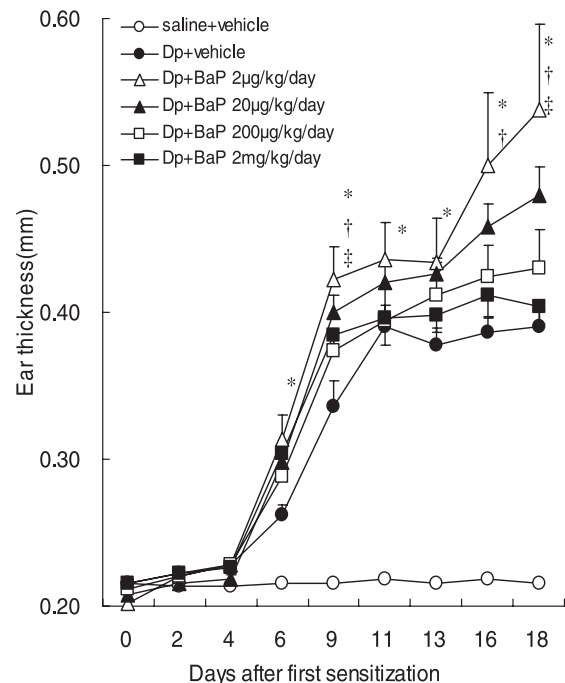


図5 BaP曝露がアトピー性皮膚炎に及ぼす影響
* ; $p < 0.05$, Dp treated groups vs. saline+vehicle group
† ; $p < 0.05$, Dp+BaP 20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ group vs. Dp+vehicle group
‡ ; $p < 0.05$, Dp+BaP 2 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ group vs. Dp+vehicle group

計8回、右耳介腹側に皮内投与し、経時的に皮膚炎症状、および耳介腫脹の変化を評価した。その結果、BaP (図5)、NQ、PQ、ST投与群において、対照群、およびDp単独投与群に比し、有意な耳介腫脹の変化を認め、症状変化も同様の傾向を示した。NP、DBPについては、増悪傾向を認めた。一方、AAは、Dp単独群に比し、有意な耳介腫脹の抑制を示した。

2.3.2 アレルギーへの影響評価のより簡易なスクリーニング手法の開発

2.3.2.1 DNAマイクロアレイを用いた短期スクリーニング手法の開発

本研究では、*in vivo*スクリーニングモデルにおいて影響が認められた化学物質について、早期影響指標の探索のため、DNAマイクロアレイを用いた遺伝子発現解析を試みた。化学物質は、皮膚炎症状の増悪が認められたフタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) を用い、病態形成の各段階における炎症局所 (耳介組織) における遺伝子発現変動を解析した。その結果、病態の形成各段階に共通して発現する遺伝子の存在を認めた。また、他の評価対象として、同モデルの顎下リンパ節組織を用い、病態完成期の遺伝子発現変動を解析した。これによりDEHP処置群において、特徴的な発現変動を示す遺伝子が存在することも確認した。顎下リンパ節組織などを用いたDNAマイクロアレイ解析は、アレルギー疾患における化学物質の影響評価に有効である可能性が考えられた。

2.3.2.2 細胞培養系を用いた簡易スクリーニング手法の開発

本研究では、免疫担当細胞を用いた環境化学物質のア

レルギー修飾影響の*in vitro*スクリーニング手法について検討した。化学物質は、*in vivo*で皮膚炎症状の増悪を誘導したDEHPとフタル酸ジイソニル (DINP)、ビスフェノールA (BPA) を先導的に対象とした。NC/Ngaマウス (♂, 12-15週齢) の脾細胞は、0.1-100 μ Mの化学物質に24時間曝露後、細胞表面分子の発現とサイトカイン産生を測定した。また、脾細胞をDpと 10^{-4} ~ 10μ Mの化学物質の存在下で72時間培養した後、細胞増殖を測定した。その結果、DEHP、DINP、BPAはいずれも、脾細胞のTCRの発現およびIL-4産生、抗原刺激による細胞増殖を顕著に増強させた。以上のことから、*in vitro*スクリーニングの指標として有用である可能性が示唆された。

3. まとめ

低濃度有機化合物に対する感受性要因について系統の異なる4種類のマウスを用いて低濃度トルエン曝露の影響を神経系 (海馬, 嗅球), 免疫系 (肺, 脾臓, 血漿など) で種々の指標を用いて検索したところ、C3H/HeNマウスを抗原刺激により活性化した状態でトルエン曝露することにより感受性を高めるいくつかの鋭敏な指標の存在が明らかとなった。発達期での影響の違いについて、脳形成, 免疫・感染防御系, 腎臓や骨形成での核内受容体遺伝子発現, 神経変性行動モデル, 血管新生・形成を指標に、それぞれの実験系を確立し、トルエン, TCDD, 農薬類の曝露に対する臨界期解明を継続している。また、複合的感受性要因の検索では、アトピー性皮膚炎様病態モデルを用いてダニ抗原と化学物質との複合影響評価についての有用性の検討, スクリーニング手法の開発をおこなった。

IV. 中核プロジェクト3：環境中におけるナノ粒子等の体内動態と健康影響評価

1. 研究の目的と経緯

粒径が50 nm以下で細胞や組織への透過性が高く、これまでの粒子状物質とは異なる影響を与えるのではないかと危惧されている自動車排ガス由来の環境ナノ粒子や、構造がナノスケールであるがゆえに物質としてよりは粒子としての毒性研究が必要であると考えられているナノマテリアルについて、呼吸器を中心とした生体影響と健康影響評価に関する研究を行う。アメリカの疫学的研究等により、粒径が2.5 μ m以下の微粒子(PM2.5)と心・循環疾患による過剰死亡率との間に非常に高い相関性があることが明らかにされた。しかし、大気浮遊粒子状物質の心臓・循環器系に及ぼす影響に関しては、これまで実験的な明確な証明はなされていないことから、ディーゼル排気由来のナノ粒子の健康影響について呼吸器のみならず循環器についても研究を進めている。一方、ナノマテリアルの生体影響に関してはほとんど知られていないが、そのほとんどがナノスケールの粒子状物質であることから、大気中のナノ粒子と同様に組織透過性が高いことが予想される。本研究課題においては、ナノマテリアルの代表物質であるカーボンナノチューブを中心にその生体影響研究を進めている。また、繊維径がナノスケールであるがゆえに組織を透過し、胸膜中皮腫を起こすと考えられるアスベストの体内動態と生体影響、ならびに廃棄物として熱処理されたアスベストの毒性評価に関しても調べている。これらの研究において、超微細構造を持つ粒子状物質や環境ナノ粒子の体内挙動と生体影響を調べることで、これまで調べられてきた有害化学物質とは異なる健康影響手法を確立することを目的とする。

2. 研究の成果

概要：環境中におけるナノ粒子等の体内動態と健康影響評価は環境リスクプログラムの中核プロジェクトとして位置づけられているが、大きく次の3つのサブ課題に分けられている。

- (1) 環境ナノ粒子の生体影響に関する研究
- (2) ナノマテリアルの健康リスク評価に関する研究
- (3) アスベストの呼吸器内動態と毒性に関する研究

課題1は、3つの課題の中でも、国立環境研究所内に

平成17年6月から稼働しているナノ粒子健康影響実験棟施設を中心に研究が進められており、最も大きな研究サブ課題である。海外からも著名な研究者を招聘して環境ナノ粒子国際ワークショップ(2008.01.18, つくば国際会議場)を開催するなど、ナノ粒子に関する議論を国際的にも深めている。本研究サブ課題には、ディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子曝露装置に関する研究、環境ナノ粒子の呼吸器内沈着及び体内動態に関する研究、環境ナノ粒子の毒性・生体影響評価に関する研究から構成されている。さらに、ガス成分の影響を把握するために、粒子を除去したディーゼルエンジン由来排ガス中の生体影響の確認実験も並行してすすめているほか、慢性吸入実験のための準備も整いつつある。

課題2では、カーボンナノチューブの細胞に対する影響として、マクロファージを用いた細胞障害性試験を進めてきた。また、動物を用いた*in vivo*の実験として、吸入チャンバー作製してカーボンナノチューブの毒性を評価するシステムの作製とともに、マウスへの胸腔内投与実験を進めてきている。また、国内外のナノ粒子やナノマテリアルの環境・生体影響に関する委員会に参画している。

課題3では、廃棄物研究プログラムと連携して各種アスベストの生体影響研究を進めている。特に熔融アスベストの*in vitro*毒性研究として粒子の表面活性と毒性との関係に関して実験が進行中である。また、マウスを用いた*in vivo*毒性研究としても、熱処理後のサンプルの毒性評価を行っている。

2.1 環境ナノ粒子の生体影響に関する研究

2.1.1 ディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子曝露装置に関する研究

ディーゼルエンジン由来ナノ粒子および工業ナノ材料であるカーボンナノチューブの吸入曝露実験の為の条件検討および曝露粒子のキャラクタリゼーションを行った。ナノ粒子を含めたディーゼル排気粒子の健康影響を吸入曝露実験によって評価する場合、ナノ粒子が高濃度で発生しやすいエンジンの運転条件を検討する事に加え、エンジンから曝露チャンバーまでの輸送過程におけるナノ粒子のロス/凝集をいかに抑えるかについて検討

する事が重要である。本研究ではナノ粒子健康影響実験棟において、20-30 nm の個数モード径となる粒子が発生し、かつ排気中のガス濃度が低濃度となるエンジンの定常運転条件を検討した。その結果、無負荷の高回転域（エンジン回転数 2000 rpm, トルク 0 Nm）が該当することが分かった。また、この運転条件ではディーゼル粒子に特徴的で比較的大きな粒径の、いわゆるスス粒子（粒径約 60-200 nm）の発生が極力抑えられ、ナノ粒子リッチなディーゼル排気の曝露が可能となる運転条件である。次に、輸送過程におけるロス/凝集を調べた。チャンバーの手前までは滞留時間が短いため、エンジン排気管内の粒子と比較して凝集成長は起きていないことが分かった。一方、チャンバー内の滞留時間が約 3 分と比較的長いために、チャンバー内の粒子数濃度によっては凝集が起きることが分かった。そこで、チャンバー内における凝集の影響をも考慮した希釈条件（チャンバー内濃度）の検討を行い、曝露実験の際の最適化を行った。最高濃度チャンバーの二次希釈倍率を 4.5 倍とした場合に、一次希釈空気中とチャンバー空気中の粒子の個数モード径の差が 10 nm 程度に収まり、チャンバー内推定重量濃度がおおむね浮遊粒子状物質の環境基準である $100 \mu\text{g m}^{-3}$ となったことから、その希釈倍率に決定した。また、ガス状物質の影響を把握する為に、粒子重量濃度と個数濃度はコントロールチャンバーと同程度でガス濃度は高濃度チャンバーと同程度という除粒子チャンバーを設けた。曝露期間中は、ナノ粒子の総個数濃度や図 1 に示すようなナノ粒子を含めた粒径分布、重量濃度、ガス濃度等の曝露空気質のモニタリングを常に行い、除粒子チャンバーを含め、安定した性状のディーゼル排気を用いて曝露実験が行われていることを確認した。また、ナノ粒子を含めた曝露空気質のモニタリング結果は影響指標の結果を考察する為のバックデータになる。曝露粒子の化学成分分析を行い、有機物と元素状炭素が粒子重量の 80 % 以上を占めていることが明らかとなった。これまでの研究により、ナノ粒子の主成分はエンジンオイルおよび未燃の軽油で構成されており、エンジンの運転条件によって、それぞれの寄与が変化することが示されている。本研究ではエンジンオイルの添加剤に含まれている元素（Zn, Ca）を指標として、粒子重量の 30-40 % がエンジンオイルの寄与であることを推定した。

ディーゼルエンジンからナノ粒子が高濃度に発生する

条件として、前出のエンジントルクや回転数が一定の定常運転だけでなく、エンジントルクと回転数が時間で変化していく過渡運転時も挙げられる。ナノ粒子の発生メカニズムが両運転で異なる為、両運転で発生粒子の化学成分が異なる可能性がある。また、過渡運転の排出粒子による吸入曝露実験はほとんど行われておらず、知見がない。そこで、過渡運転排出ナノ粒子による曝露実験の条件検討と、過渡運転排出ナノ粒子のキャラクタリゼーションを行った。トルク、回転数、継続時間等をパラメーターとする様々な組み合わせの過渡運転のパターンを作成し、発生する粒子やガスを測定した。エンジントルクは低負荷の状態とダイナモがエンジンを回す状態であるモータリングとし、エンジン回転数を 1000-3000 rpm の間で変化させれば、スス粒子の発生を抑え、ナノ粒子のみが高濃度で発生することが分かった。高濃度チャンバーにおいて、現在の曝露実験で用いている曝露空気質の平均値と比較すると、CO 濃度は半分、NO_x 濃度、粒子数濃度、粒子重量濃度、粒子個数モード径はほぼ同程度となった。二次希釈倍率を調整しなくても、同一の希釈条件で現在と同等の濃度の曝露実験が可能となる。また、定常運転の場合と同じ手法を用いて、過渡運転における粒子重量に対するエンジンオイルの寄与を推定したところ、定常運転の排出粒子に比べて、エンジンオイルの寄与が高まっている（40-100 %）ことを確認した。よって、過渡運転においても曝露実験を行うことは意義があることと考えられる。

また、工業ナノ材料であるカーボンナノチューブの鼻部吸入曝露条件の検討を行う為に、発生装置のセットアップを行った。非常に帯電しやすく、繊維状でほぐれないために、乾式によって飛散させることは難しいとされているが、本研究では、それらの問題をクリアして、乾式によって空気中に粒径 100 nm-300 nm の粒子を飛散させることができた。今後は発生量の調整、安定性の確

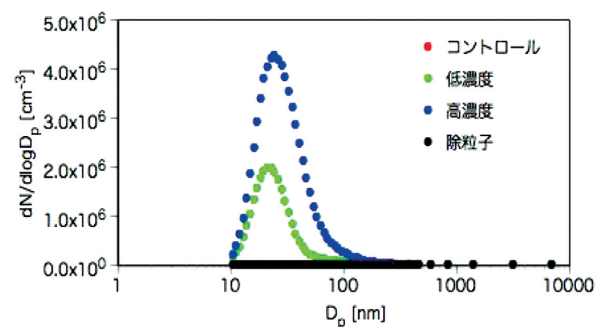


図 1 曝露チャンバー内の個数粒径

認、浮遊粒子の詳細なキャラクタリゼーションを行い、鼻部曝露実験の条件を詰めていく予定である。

2.1.2 環境ナノ粒子の呼吸器内沈着及び体内動態に関する研究

金ナノ粒子発生装置を用いたマウスへの金粒子の鼻部吸入曝露では、粒径は約 11.22 nm、濃度は 1.25 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、数濃度は 1.23 x (10) 6 個/cm³の金粒子を 2 時間曝露した結果、ICP-MS での測定により血中を含めて肝臓や腎臓などの肺外臓器への金の移行が検出された。肺に沈着した不溶性ナノ粒子は、微小粒子・粗大粒子と同様に肺胞マクロファージに貪食され、一部のマクロファージは血液循環に乗って肺以外の臓器に体内移行していた。ナノ粒子は細胞のエンドサイトーシス等の物質輸送機構を介して肺胞壁を通過して血管に移行する可能性が高いと考えられる。

元素状炭素や高級アルカンを主成分とする自動車排ガスナノ粒子の体内動態や細胞内での挙動を明らかにすることを目的として、模擬ナノ粒子の細胞内への取込みに関する研究と、模擬ナノ粒子とアイドリング運転時に排出されるディーゼル排気ナノ粒子の亜急性曝露を行った。また、マウスにアイドリング状態で発生したディーゼル排気ナノ粒子を急性曝露したマウスの肺組織を、透過走査電子顕微鏡を用いて呼吸器内に沈着した粒子の元素分析と形態解析をおこない、20~30 nm のディーゼル排気ナノ粒子は高沸点炭化水素、塩、元素状炭素から成るが、呼吸器内沈着して肺胞マクロファージや組織に取り込まれている粒子は鉄を含む元素状炭素のみであることを明かにした。肺表面被覆層に沈着したアルカンナノ粒子は、表面圧の変化を示す pai-A 曲線を変化させ、より低い表面張力においてサーファクタントのコラスプス現象（一層構造の変化）を起こす可能性が示された。

一方、肺胞壁培養系においては、20 nm の不溶性ナノ粒子は肺胞上皮細胞にエンドサイトーシスにより取り込まれ、基底膜を通過し、肺胞壁を通過して一部血管に移行することを明かにした。また、マクロファージによるナノ粒子の取り込みにスカベンジャーリセプターが関与していることを明かにした。

2.1.3 環境ナノ粒子の毒性・生体影響評価に関する研究

(a) 環境ナノ粒子の酸化ストレス評価

アイドリング状態で発生したナノ粒子を多く含む

ディーゼル排気約 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (H1), 30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (H2), 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (H3) および清浄空気 (C) を BALB/c 系雄性 5 週齢マウスに 1 日、1 週間曝露を行った。ディーゼル排気ナノ粒子約 30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の曝露を行ったマウスで特に曝露直後にごく軽度の炎症惹起が認められた。組織中のグルタチオン量の分析結果は、曝露による酸化ストレスはごく弱く、通常の生体内のグルタチオンプールでホメオスタシスを維持できる程度であるが、グルタチオン合成の律速酵素の阻害剤である BSO 投与でグルタチオンプールが減少している場合には、特に酸化ストレスに弱いとされている心臓で曝露によるグルタチオンの有意な低下が認められることがあきらかになった (図 2)。また、環境ナノ粒子成分を曝露した肺上皮細胞において、薬物代謝系酵素、あるいはストレス蛋白の遺伝子発現を誘導することを明らかにした。

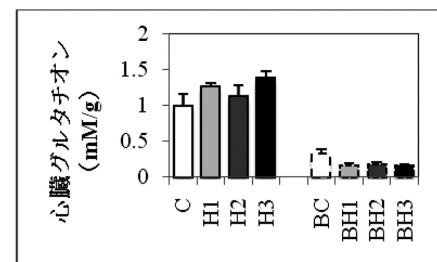


図 2 ディーゼル排気曝露 1 週間後の心臓の還元型グルタチオン (B は BSO を投与したことを示す。)

(b) 環境ナノ粒子がグラム陽性菌毒素による肺炎症状に及ぼす影響

本研究課題では、異なる条件下で合計 3 回の吸入曝露実験を行い環境ナノ粒子の影響評価を行った。1 回目吸入曝露実験では、23~27 nm 付近のナノ粒子を多く含んだ中濃度のディーゼル排気 (NRDE, 18 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) および高濃度 NRDE (88 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) を 2 週間 (5 時間/日, 5 日/週) BALB/c 系雄マウスに曝露後、グラム陽性菌成分であるリポテイコ酸 (LTA) 20 μg を点鼻投与し、NRDE (ガス成分を含む) による前曝露がグラム陽性菌性の肺炎症状に及ぼす影響について検討した。LTA 非投与の中濃度 NRDE、高濃度 NRDE では、肺での炎症性パラメーター (気管支肺胞洗浄 (BAL) 液中細胞数や肺ホモジネート液中サイトカイン・ケモカイン産生) の増加はなく、NRDE による影響は見られなかった。LTA との併用 (清浄空気 + LTA, 中濃度 NRDE + LTA, 高濃度 NRDE +

LTA) では、LTA 非投与時に比べて炎症性パラメーターの増加が見られた。この3群間の比較において、高濃度NRDE + LTA では好中球数に増加傾向が見られたが、他の炎症性パラメーターに顕著な差はなかった。2回目吸入曝露実験では、25 nm 付近の高濃度NRDE (128 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) および除粒子 (ガス成分のみ) を1回目実験と同様のスケジュールで同系統マウスに曝露後、LTA 20 μg を点鼻投与し、高濃度NRDE および除粒子による前曝露がグラム陽性菌性の肺炎症状に及ぼす影響について検討した。高濃度NRDE + LTA, 除粒子 + LTA では、清浄空気 + LTA に比べてケモカイン CCL2産生の増加と軽度の気管支上皮の肥大と増生が観察されたが、他のパラメーターについては顕著な差はなかった。CCL2や肺の病理組織学的所見の結果は、粒子の影響というよりはLTAとガス成分による複合影響と考えられた。3回目の実験においては、これまでの2週間曝露から4週間曝露に曝露期間を変更して、同様の吸入曝露実験を行った。実験では、17-19 nm 付近のナノ粒子を多く含んだ中濃度NRDE (42 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)、高濃度NRDE (159 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)、除粒子を4週間、同系統のマウスに曝露後、LTA 40 μg を点鼻投与し、中、高濃度NRDE および除粒子による前曝露がグラム陽性菌性の肺炎症状に及ぼす影響について検討した。4週間曝露ではNRDE もしくは除粒子による肺の炎症反応への影響は見られなかった。又、LTAとの併用においても相加的、相乗的な影響は見られなかった。しかしながら、肺の病理組織学的所見では、中濃度NRDE + LTA, 高濃度NRDE + LTA, 除粒子 + LTA で、軽度の気管支上皮の肥大と増生が観察され、2週間曝露と同じくLTAとガス成分による複合影響が示唆された(図3)。以上の結果をまとめると、NRDEのみの2週間および4週間曝露では、肺に顕著な炎症反応を引き起こさないことやNRDEはLTAで誘導された肺炎症状を増悪させないこと等が明らかになった。

(c) ナノ粒子が呼吸器感染による肺炎症状に及ぼす影響

本研究課題は、大きく分けて2つの実験系より構成される。実験1では、粒径の異なるナノ粒子 (14 nm, 56 nm, 95 nm) の経気道曝露が、マウスの細菌毒素誘発 (感染性) 肺傷害モデルに及ぼす影響を、気管支肺胞洗浄液中の炎症細胞所見、肺における炎症に関わる蛋白の発現、肺水腫の重症度、肺組織学的変化の重症度、肺における炎症に関わる蛋白の発現、等から評価することを目

	4-week exposure					
	M-NRDE	H-NRDE	Gas only	M-NRDE	H-NRDE	Gas only
	LTA (-)			LTA (+)		
Cell number in BALF	→	→	→	→	→	→
Cytokine in lung	→	→	→	→	→	→
Chemokine in lung	→	→	→	→	→	→
Lung histology hypertrophy	→	→	→	↑	↑	↑

↑ Increased (vs cont. + LTA)
 → No changed (vs control), → No changed (vs cont. + LTA)

図3 ディーゼル排気由来ナノ粒子4週間曝露の結果のまとめ

的とした。細菌毒素の単独投与により、肺への炎症細胞浸潤、肺水腫、肺における炎症性サイトカインのタンパク発現の増強が有意に惹起された。粒子径14 nm もしくは95 nm のナノ粒子を細菌毒素と併用して気管内投与すると、細菌毒素及びナノ粒子の単独投与と比較し、これらのパラメーターは増悪した。特に、粒子径14 nm のナノ粒子併用投与時の増悪はより著しかった。一方、粒子径56 nm のナノ粒子を細菌毒素と併用投与しても、細菌毒素単独投与と比較して、肺炎症や炎症性蛋白の発現の増悪はほとんど認められなかった。以上より、ナノ粒子の経気道曝露は、細菌毒素による肺傷害を増悪することが明らかになった。また、そのメカニズムの1つに、肺での炎症性サイトカイン・ケモカイン発現の増強が寄与していることが示唆された。しかしながら、投与重量を一定にした条件では、粒子径14 nm のナノ粒子においてこの増悪影響は最も顕著であったが、粒子径と増悪効果に必ずしも負の相関は認められなかった。実験2においては、曝露 (粒子) 濃度の異なるディーゼルエンジン由来実車ナノ粒子曝露が、同様にマウスの感染性肺傷害モデルに及ぼす影響を評価した。vehicle (Control 溶媒) を気管内投与したマウスでは、3濃度の実車ナノ粒子を5時間曝露しても、肺への白血球浸潤は、Control air 曝露と比較して変化なかった。細菌毒素を気管内投与したマウスでは、vehicle を投与したマウスと比較して肺への炎症細胞浸潤を著明に認めた。更に、細菌毒素投与マウスにおいて、実車ナノ粒子曝露群では、Control air 曝露群と比較して、これらの程度は濃度依存的に増悪していた。特に、中等及び最高濃度のナノ粒子曝露群においては、統計的有意差をもってこれらが増悪した(図4)。以上より、ディーゼルエンジン由来実車ナノ粒子曝露は、感染

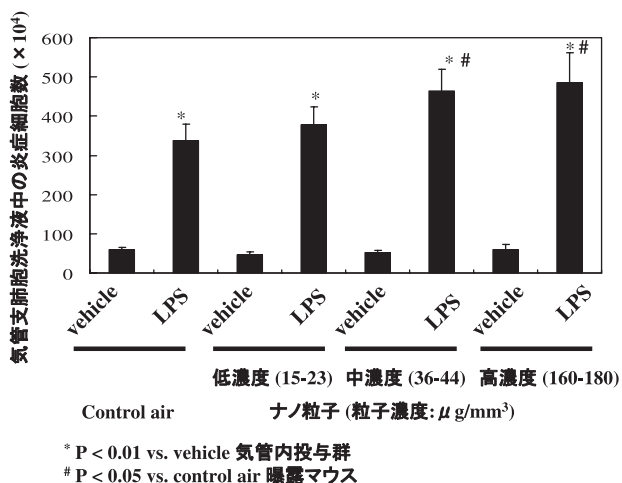


図4 ナノ粒子曝露による感染性肺炎症への影響

性肺傷害を増悪する可能性が示唆された。

(d) 環境ナノ粒子が循環器に及ぼす影響

本研究課題では2つの実験を遂行している。実験1では、全成分曝露実験 (DEP-NP, ナノ粒子を含む全粒子+ガス成分), ナノ粒子を多く含むディーゼル排気ガスの影響を明確にするために、心電図解析及び心拍変動などの循環器系の生体指標について解析した。また、実験2では、除粒子曝露実験 (fDEP-NP), これらの影響が曝露粒子に依存するのか、明確にするために、除粒子曝露と全成分曝露群の異常心電図の出現率、心拍変動解析等を行い、その結果を比較した。

実験1. 全成分曝露実験 (DEP-NP, ナノ粒子を含む全粒子+ガス成分): 本実験では8週齢のF344ラットを1群8匹として、対照チャンバー (CH10), 低濃度チャンバー (CH11), 中濃度チャンバー (CH12), 高濃度チャンバー (CH13) の4チャンバーにいた。チャンバー室は明暗12時間サイクルで調節され、餌は市販の滅菌飼料を使い、水は蒸留水を使用した。曝露時間は、夜行性動物のため夜10時から午前3時までの1日5時間とし、5日/週、12週間曝露 (3ヶ月間曝露) を行なった。1ヶ月おきに動物をチャンバーから取り出し、心電図検査や体重、臓器重量などを測定した。

今回の曝露でもっとも良く観察された典型的な異常心電図は図5に示したように心室性期外収縮 (VP) であった。この図の右上の正常な心電図と比較すると異常な波形は顕著で、容易に判別ができる。今回、高濃度曝露で観察される事は、これまでの実験の経験から予測できたが、中濃度の曝露でもこのような異常心電図が観察

された事は注目すべきことと考えられる。

実験2. 除粒子曝露実験 (fDEP-NP)

ナノ粒子DE曝露によって異常心電図の発現が多くなることが分かったが、ナノ粒子とDE粒子が異常心電図の発現増加に関与しているのか、それともガス体に関与するのかを明確にする為に、従来の全成分曝露 (DEP-NP, 粒子とガス) と除粒子曝露 (fDEP-NP, ガスのみ曝露) に分け、3ヶ月間曝露して影響を比較した。分析方法、分析基準は実験1と全く同じにした。異常心電図が比較可能な3ヶ月間曝露で異常心電図の出現率を調べたところ、全成分曝露群では対照および除粒子群と比較して有意に高かったものの、除粒子群では高い傾向を示したが、対照群と有意差は認めなかった。この曝露中の波形について分析してみると、VPの出現率は、全成分曝露群で98.2%, 除粒子曝露群で97.6%, 残りは両群とも房室ブロック (AV Block) I, II類似であり、房室乖離は0%であった。

これらの結果から、粒子の存在が異常心電図の発現に深く関与している事が示唆された。このことは、異常心電図の発現には粒子の存在が深く関与するが、自律神経系への作用や心拍変動には粒子の関与は低く、自律神経系への作用にはガス状成分の関与が強いことが推察された。しかし、ここで言うガス状成分とは、二酸化窒素のように常温で気体である物質に限らず、低温度で揮発する化学物質の関与を考える必要がある。今後、未知のガス状成分の関与も含めて、より詳細な検討が必要であると考えられる。

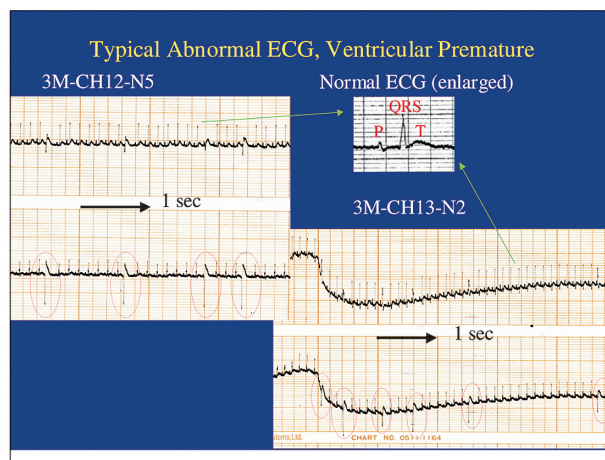


図5 高濃度 (CH13, 右下), 中濃度 (CH12, 左上) の3ヶ月曝露で観察された典型的な異常心電図 (心室性期外収縮)。(右上の心電図は正常な心電図を示す。)

2.2 ナノマテリアルの健康リスク評価に関する研究

2.2.1 *in vivo* の影響 (カーボンナノチューブ)

①繊維状であり生体内で難溶解性であるカーボンナノチューブは、アスベストと同様の生体影響を生じる可能性のあることから、胸腔内投与と気管内投与による *in vivo* 急性曝露実験と、胸腔内投与による *in vivo* 慢性曝露実験によりその影響を検討した。マウスに胸腔内投与あるいは気管内投与したカーボンナノチューブは同じ重量のクロシドライトより炎症誘導能が強いことがあきらかになった。また、胸腔内投与では15ヶ月生存動物には中皮腫の発生はなかったが、低濃度 (2 μg) 投与で生存率が低かった (図6)。現在組織標本の解析中である。また、カーボンナノチューブを標的としたナノファイバーの吸入曝露装置の開発を進めている。

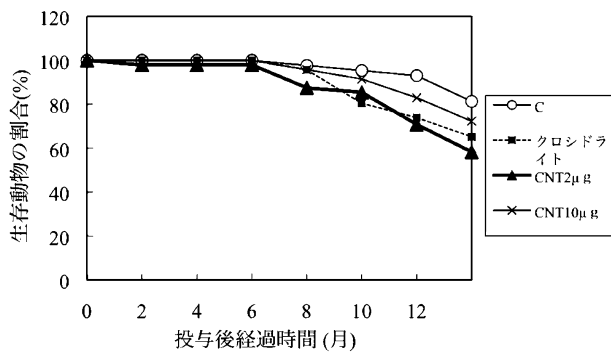


図6 カーボンナノチューブ胸腔内投与動物の生存率

2.2.2 *in vitro* の影響 (カーボンナノチューブ)

生物活性の低い界面活性剤である Pluronic F 68 を用いることにより水溶液中で凝集しやすいカーボンナノチューブの分散性を高め、*in vitro* 試験を行ったが、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上では細胞毒性がむしろ減少する傾向を示した。このことは、電荷のないナノ粒子の凝集によるものと考えられる。カーボンナノチューブのマクロファージにおける半数致死濃度は、24時間曝露で26 $\mu\text{g}/\text{mL}$ と算出されたが、このことはカーボンナノチューブはアスベストの一種であるクロシドライトに比べても細胞毒性が高いことを示唆している。また、細胞毒性が細胞内グルタチオンの影響を受けなかったことから、カーボンナノチューブの細胞毒性にチオール化合物はそれほど関与していないものと推測される。cDNA マイクロアレイの結果では、カーボンナノチューブに曝露したマクロファージにおいて、幾つかのサイトカイン関係の遺伝子発現が

昂進していたものの、低下した遺伝子はなかったことから、遺伝子発現の低下が、直接細胞毒性に影響は与えたとは考えにくい。ウェスタンブロットでは、MAPキナーゼ系や caspase-3 に大きな変化は見られなかった。走査型電子顕微鏡の観察などにより、カーボンナノチューブがマクロファージの細胞膜に対して強い親和性を持ち、細胞膜を傷害させることが分かった。

2.3 アスベストの呼吸器内動態と毒性に関する研究

アスベストの毒性は繊維状であるその形状と化学組成によるとされているが、廃棄アスベストの溶融廃棄処理などの熱処理過程は、アスベスト繊維に形状・化学形態・結晶構造の変化をおこす。これに伴う生体毒性の変化を検討することを目的として、クリソタイル、クロシドライト、アモサイト、トレモライト標準品を400℃から1300℃まで熱処理をおこない、*in vitro* と *in vivo* 毒性試験を行った。

in vitro 毒性試験としてマウス肺胞マクロファージ細胞株 (J774.1)、ラット肺胞マクロファージ、ラット肺胞上皮細胞、ヒト中皮細胞株を用いて細胞生存率への影響を検討した結果、ラット肺胞マクロファージが細胞毒性影響に鋭敏ではあるが、取り扱いの容易さと感度でマウス肺胞マクロファージ細胞株が有用であることが明らかになった。

in vitro 毒性試験の結果、クリソタイルはフォルステライトが形成され始める600℃クリソタイル熱処理物が最も毒性が強く、800℃以上の熱処理物で毒性が減少したのに対して、クロシドライトは熱処理により毒性が減少し800℃熱処理物で顕著に毒性減少が認められた。アモサイトは1100℃以上で、トレモライトは1200℃以上の熱処理物で顕著な毒性減少が認められたことから、それぞれのアスベスト繊維の毒性を減少させるのに必要な熱処理温度は異なることが明らかになった。

in vivo の毒性試験としてマウスに未処理クリソタイル、400、600、800℃熱処理物100 $\mu\text{g}/\text{匹}$ を腹腔内投与した結果では、投与24時間後の腹腔内には白血球の有意な増加が認められたが、600と800℃熱処理物投与では顕著に細胞浸潤は減少していた。白血球数の増加とよく相関して、腹腔洗浄液中の炎症性サイトカインである interleukin-1 β と monocyto chemotactic protein-1が増加することが明らかになった。

マウスに未処理 (250℃)、400、600、800℃クロシド

ライト熱処理物 100 μg を腹腔内投与あるいは気管内投与した結果では、24 時間後に腹腔洗浄液中に白血球と炎症性サイトカインの有意な増加を特徴とした炎症が認められたが、800 $^{\circ}\text{C}$ 熱処理物を投与した群ではほとんど炎症は認められなかった。気管内投与 24 時間後の肺胞洗浄液中の細胞数とサイトカイン量の増加も腹腔内投与と同様の傾向を示したが、反応は腹腔内投与より弱かった。投与 4 週間後には、800 $^{\circ}\text{C}$ 熱処理物を投与した群においても炎症の持続が認められた (図 7)。以上の結果から、*in vivo* 試験のアスベスト毒性の結果は *in vitro* 試験と同様の傾向を示し、腹腔内投与がより鋭敏であること、気管内投与は慢性影響を検討するのに適していることが明らかになった。

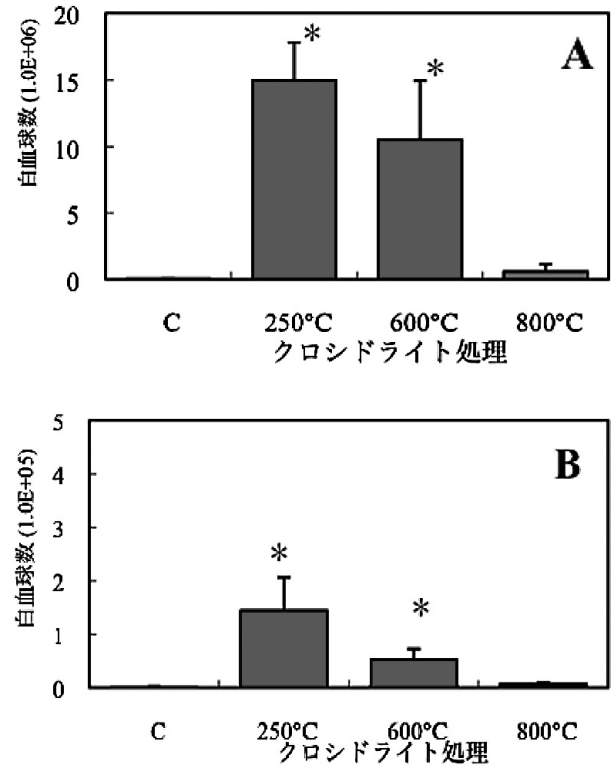


図 7 クロシドライト腹腔内投与
 (A) 気管内投与
 (B) 24 時間後の浸潤白血球数

V. 中核プロジェクト4：生物多様性と生態系機能の視点に基づく環境影響評価手法の開発

1. 研究の目的と経緯

人間社会は地球上の自然生態系とその恵みである生態系サービスなくしては成り立たない。しかし、過去半世紀にわたる開発や社会変化による著しい自然生態系の改変により、地球規模で生態系サービスは著しく低下している「ミレニアム生態系評価 2005」。

自然環境や自然の生態系を対象とした生態影響評価は、野外での複数のリスク因子を解明し、生物個体群や生物群集、生態系を対象とした評価に拡張して考える必要に迫られている。評価尺度についても、幾つかの考え方があり、これは人間社会の価値観にも左右される。

本プロジェクトでは、生物多様性・生態系機能の低下および生態系サービスの低下をエンドポイントとする新しい自然生態系の環境影響評価手法を提示するため、理論モデルの開発に加え、具体的な野外フィールドや問題となっている対象生物で生態影響評価の事例を提示することを目標としている。本プロジェクトでは、まず、東京湾（サブテーマ1）や兵庫県ため池地域などの淡水生態系（サブテーマ2）で具体的な生態影響評価の事例を提示するために、野外フィールドでの調査や実験を実施している。さらに、生物リスク因子（侵入種）については、悪影響が懸念される生物種と法的規制のかからない微小な生物に対するリスク評価を実施している（サブテーマ3）。そして、野外フィールド調査や実験に基づいて得られた知見に対して、個体群や生物群集を対象に研究されてきた数値的な生態リスク評価手法の適用を検討している（サブテーマ4）。

2. 研究の成果

2.1 東京湾における底棲魚介類の個体群動態の解明と生態影響評価

東京湾は首都圏に隣接する閉鎖性内湾であるが、「江戸前」とも呼ばれ、元来、生物生産が豊かな浅海域であった。高度経済成長期以降、埋め立てにより藻場・干潟が著しく減少したほか、人間活動に伴うさまざまな影響を被ってきた。すなわち、生活排水等由来の栄養塩の流入による富栄養化の進行、赤潮の頻発、青潮や貧酸素水塊の発生、重金属や有害化学物質による水質汚濁などである。東京湾に生息する魚介類は、こうした種々の物

理的あるいは化学的因子の影響に加え、漁業の影響も受けながら、時空間的に変化してきたと考えられる。さらに、そこには種間関係も考慮すべきである。

さまざまな環境リスク因子の現実的な生態影響を評価し、人間と自然との関係を見つめ直す際、東京湾は最適のモデル海域であろう。そこで、本研究では、1977年～2007年までの約30年間の東京湾における底棲魚介類群集の動態解析とともに、主要種であったシャコ、マコガレイ及びハタタテメリの個体群動態と生活史特性の解析、それらの個体群減少に関与している影響因子の推定を進めている。すなわち、主要種を対象に、資源量が高水準であった1980年代と低水準となった近年の生活史特性を比較し、変化した点を明らかにして、減少の背後にあった、もしくはそれと関連があると見られる現象を抽出し、それに対する物理、化学、生物的要因あるいは漁獲の影響を解析・評価する予定である。解析対象の影響因子として、貧酸素水塊、有害物質、餌生物（ベントス）及び漁獲圧などを想定している。また、フィールド調査・解析と並行して、貧酸素・有害物質流水式連続曝露試験装置を試作し、実験的な解析も行なう予定である。こうして、底棲魚介類の個体群及び群集レベルでの質的・量的変化と種々の因子との関係を解析し、評価する。

本稿では、これまでに得られた成果の概要を報告する。

2.1.1 東京湾における底棲魚介類の質的及び量的な変遷

1977年～1995年（東京大学農学部水産資源学研究室）並びに2002年～2007年（国立環境研究所）の約30年間の東京湾における底棲魚介類の資源量に関する長期モニタリング調査の結果、その質的及び量的変化について、1）1980年代末～1990年代初めにかけて複数の種が同調的に激減した、2）それらの種は現在まで低水準が続いていて、回復の兆候が見られない、3）板鰓類（サメ・エイ類）とスズキなどの大型魚類が増加している、との3つの特徴が見出された（図1-1）。

東京湾内湾部に設定した20の定点における10分間の試験底曳き調査（東京湾20定点調査）の漁獲物について、種別に個体数の算定と重量の計量を行なった。

1977年から2007年までの各年について一曳網当りの個体数及び重量（それぞれ、個体数CPUE及び重量CPUEという）を算出し、重量CPUEに基づく類似度によるクラスター解析及び座標づけ解析（多次元尺度法）を行なった結果、1977～83年（第Ⅰ期：増大期）、1984～88年（第Ⅱ期：高水準期）、1989～95年（第Ⅲ期：減少期）及び2003～2007年（第Ⅳ期：質的転換期）の4つの異なる期間に区分された（図1-1）。2000年代は、個体数CPUEが第Ⅲ期とほぼ同じレベルの低水準でありながら、重量CPUEが顕著に増大したことが特筆すべき点である（図1-1）。これは板鰓類（サメ・エイ類）とスズキという大型魚類が増大したことによる。対照的に、1980年代の優占種であったシャコ、マコガレイ及びハタタテヌメリが減少した。これより、近年、東京湾の底棲魚介類相が大きく変化することが示唆された。東京湾において、こうした著しい底棲魚介類相の変化が生じた原因の究明が必要である。

2.1.2 東京湾における底棲魚介類群集の空間分布と水質項目の季節変化

2005年2・5・8・10月の20定点調査データを用いて、底棲魚介類群集の空間分布および水質項目の季節変化を明らかにし、両者の関係を多変量解析により調べた。

その結果、夏（8月）の水温および塩分において、表層と底層の差が大きく、躍層の形成が認められた。それに伴い、底層DO（溶存酸素）濃度も夏に低下した。ま

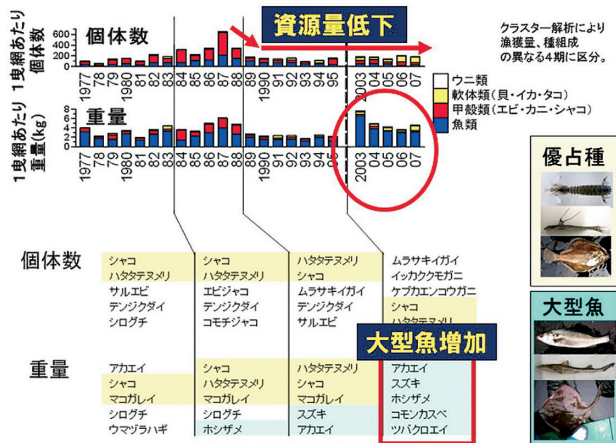


図1-1 東京湾20定点調査における一曳網当りの個体数及び重量（それぞれ、個体数CPUE及び重量CPUE）の経年推移と期間区分
1977年～1995年（東京大学農学部水産資源学研究室）、2002年～2007年（国立環境研究所）

た、夏の表層において懸濁態有機物（PON（懸濁態有機窒素）、POC（懸濁態有機炭素））およびクロロフィルaの上昇、およびDIN（溶存態無機窒素）の低下が見られ、活発な一次生産が生じているものと推察された。底層DIP（溶存態無機リン）濃度は夏に上昇した。これは、貧酸素環境下における底泥からのリンの溶出を示唆している。

底棲魚介類の種数、個体数、重量、多様度指数の季節変化について、全ての変数において、2月から5月にかけて高く、8月に低下するという季節的なパターンがみられた。個体数（ $P < 0.05$ ）と重量（ $P < 0.01$ ）において、5月と8月の間に有意差が認められた（Steel-Dwass test）。

底棲魚介類群集の個体数の季節変化について、2月と5月には湾全域に生物が出現したが、8月には、貧酸素水塊が形成されて湾北部が無生物域となった（図1-2）。10月には湾北部に生物が出現するが、湾南部に比べ個体数は少なかった（図1-2）。湾北部に出現する種は、主として遊泳力のある魚類や、貧酸素に比較的耐性のある二枚貝類であった。多次元尺度法＋クラスター解析の結果、個体数・種組成の違いから、大きく見て湾の南北で異なるグループが形成された（図1-2）。

底棲魚介類群集の重量の季節変化について、上位種は、個体数による上位種と異なり、大型魚類（スズキ・板鰓類）の寄与が大きかった。重量データについての多次元尺度法＋クラスター解析によるエリア区分は、個体数データの結果とほぼ同様であり、南北でそれぞれグループが形成された。

底棲魚介類 個体数空間分布の季節変化

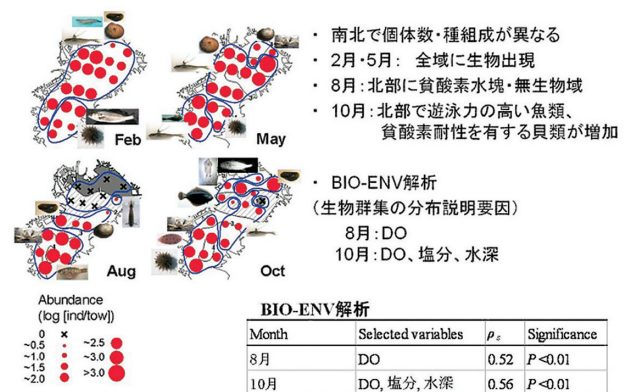


図1-2 東京湾における底棲魚介類群集の個体数の季節変化と生物の空間分布に影響する環境因子

生物の空間分布に影響する環境因子について、Clarke & Ainsworthらの BIO-ENV 解析により、生物データと同様のエリア区分が得られるような環境データの組み合わせを探索した(図1-2)。また、Classification and regression tree (CART) 解析により、生物が存在する底層酸素濃度の閾値を推定した(図1-3)。BIO-ENV 解析の結果、生物と同様の空間分布を示す環境因子として、8月においては底層 DO のみ、10月には底層塩分、底層 DO、水深が抽出された(図1-2)。CART 解析の結果、生物が存在する底層 DO 濃度の閾値は、8月には 1.7 mL L^{-1} 、10月には 1.2 mL L^{-1} と推定された(図1-3)。

2.1.3 東京湾におけるシャコの再生産特性と加入成否を規定する生活史段階

東京湾産シャコ *Oratosquilla oratoria* について、雄の成熟段階を定義した上で、雌雄の生殖周期および交尾期について明らかにした。すなわち、2004-2005年に産卵場(東京湾内湾南部)の4定点において、底曳網(目合 1.8 cm)により雌雄成体を毎月採集した。生殖器官(雄:精巣、輸精管、ペニス;雌:卵巣、受精囊)の組織学的観察を行い、生殖細胞の発達段階に基づく成熟状態の定義、ならびに雌雄成熟個体および受精囊内に精子を有する交尾後の雌の出現頻度についての経月変化を体長階級別($< 7 \text{ cm}$, $7 \leq 10 \text{ cm}$, $\geq 10 \text{ cm}$)に調査した。その結果、以下の知見を得た。

成熟を開始する体長および時期が雌雄で異なった。雄は着底後体長 4 cm 以上に達した当歳の個体から成熟を開始した。一方、雌は産まれた翌年に体長 7 cm 以上に

達した個体から成熟を開始した。精巣内において精細胞または精子が産生されている個体の輸精管およびペニス内に精子の存在が認められた。精巣内の精子産生は1-9月に活発だが、輸精管およびペニス内には精子が周年存在していた。一方、雌の成熟個体および受精囊内に精子が存在する個体の出現時期には明瞭な季節性がみられ、体長 $\geq 10 \text{ cm}$ では5-6月、 $7 \leq 10 \text{ cm}$ では7-8月にピークとなった。11-4月の期間には全ての雌個体の受精囊内において精子は存在しなかった。以上より、雄は周年成熟状態にあるが、交尾は雌が成熟して産卵可能となる期間にのみ行われることが示唆された。

一方、加入の成否を規定する生活史段階を明らかにすることを目的として、初期生活史(産卵、幼生、着底)に関するフィールド調査を実施した。すなわち、2004-2007年に湾全域に設定した定点において、底曳網(目合 1.6 cm または 1.8 cm)により成体と稚シャコを毎月採集した。同期間に、ノルパック(NORPAC)ネット(目合 0.33 mm)の鉛直曳網により幼生を採集した。成体の卵巣の組織学的観察を行い、成熟状態の経月変化を調査した。産卵量指数、幼生および稚シャコの個体数密度を算出し、経年変化について調査した。その結果、以下の知見を得た。産卵量指数は2005年に著しく減少したが、2007年には増加する傾向がみられた(図1-4)。産卵盛期に年変化はみられず、大型個体は5-6月、小型個体は7-8月であった。幼生の個体数密度は2005-2006年において著しく低く、2007年に増加した(図1-4)。一方、稚シャコの個体数密度は、2004-2006年において低く、2007年に増加した(図1-4及び図1-5)。

生物が存在するDO濃度閾値 (CART解析)

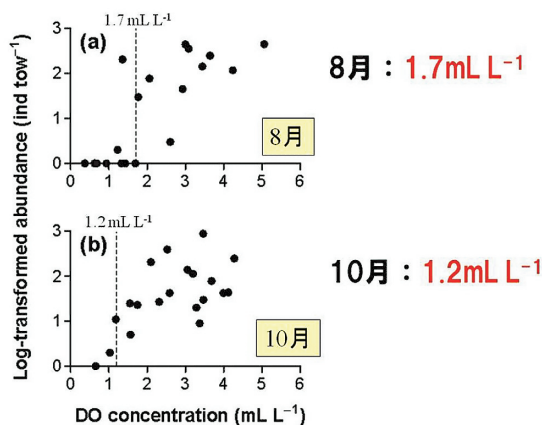


図1-3 東京湾の底棲魚分類が存在することができ
る底層 DO 濃度の推定閾値

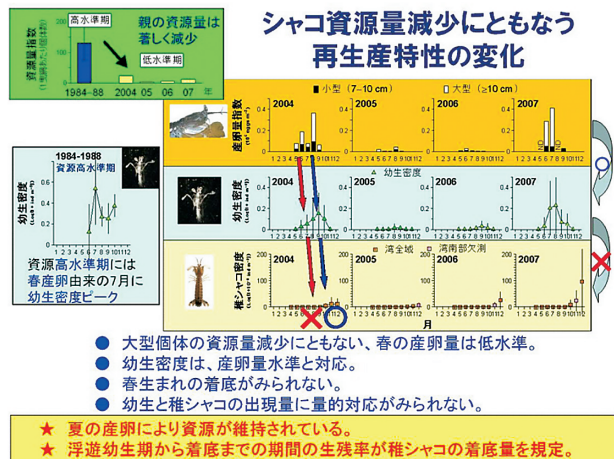


図1-4 東京湾におけるシャコの資源量減少にとも
なう再生産特性の変化

幼生および稚シャコの個体数密度の双方において、2005～2006年と2007年の間に有意差が検出された。しかし、2004年と2007年の間に、幼生個体数密度には有意差は認められなかったのに対し、稚シャコ個体数密度には有意差が検出された。また、稚シャコの空間分布は年により異なり、貧酸素水塊が存在する水域の分布密度は著しく低かった(図1-5)。以上の結果から、①浮遊幼生期から着底までの間の生残が着底量を規定、②生活史初期の死亡率が年により異なる、および③幼生の分散経路と着底場における貧酸素水塊の存在が幼生と稚シャコの死亡率に影響し当歳の資源量を規定する可能性が示唆された。

2.1.4 東京湾におけるマコガレイの生活史特性：資源高水準期との比較

マコガレイ *Pseudopleuronectes yokohamae* を対象に、2002-2004年及び2006-2007年に東京湾20定点調査の試験底曳きで得られた個体と横須賀市東部漁協(刺網)で水揚げされた個体を用いて、耳石による年齢査定と胃内容物の観察・同定を行い、成長曲線の推定と胃内容物重量指数や Ranking Index (RI) 等の算出を行った。その結果、以下の知見を得た。

従来の耳石観察法(表面観察法)では、特に高齢魚の年齢を過小推定する可能性があり、横断切片観察法の方がより精度の高い年齢推定が可能であると考えられた。横断切片観察法に基づいて得られた年齢と標準体長のデータに von Bertalanffy の成長曲線を適用し、次の成長式を得た。雌: $L_{\infty} = 359.2(1 - \exp[-0.043\{t + 2.592\}])$;

雄: $L_{\infty} = 311.3(1 - \exp[-0.046\{t + 2.530\}])$ 。雄より雌で成長がよく、寿命も長いと考えられた(最高齢は雄5歳、雌10歳)。資源が低水準の2000年代は、80年代の資源高水準期より成長がよくなった。一方、近年の胃内容物重量指数は、80年代よりも有意に低下していた(図1-6)。空胃率に有意差はなかった。また、摂餌生態の指標である RI について、80年代と顕著な差が見られた(図1-6)。80年代には環形動物が優占したものの軟体動物や棘皮動物も観察されたが、近年はほとんど環形動物のみで占められ、軟体動物や棘皮動物が顕著に減少した(図1-6)。80～90年代にかけての生物相の急激な変化に伴う餌環境の変化を反映したと考えられる。今後、近年の雌雄における性成熟特性を解析し、80年代のそれと比較するとともに、近年の個体群減少との関連性を調べる予定である。

2.1.5 東京湾におけるハタタテヌメリの分布及び生活史特性：資源高水準期との比較

2006年4月～2007年3月まで、東京湾内湾部の10定点で毎月実施したフィールド調査によって得られた水・底質、ベントス及びハタタテヌメリ *Repomucenus valenciennei* のサンプルを処理した。1年を通してベントス及びハタタテヌメリの空間分布の経月変化と貧酸素水塊の出現・分布との関係を考察した。①2006年には、貧酸素水塊は主として湾奥～中央部において6～11月の期間に継続的に発生していた。②マクロベントスの種数・豊度は湾南部で調査期間を通して高かった。一方、湾奥～中央部では種数が少なく、豊度は貧酸素水塊の発



図1-5 東京湾における稚シャコと貧酸素水塊の空間分布

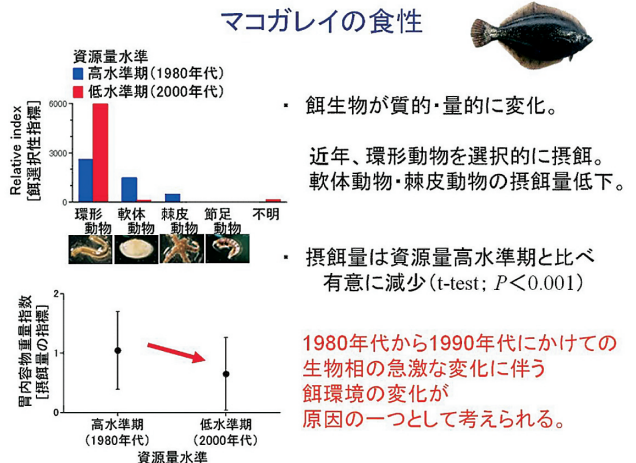


図1-6 東京湾におけるマコガレイの食性

生に伴い激減した。特に8月と9月には湾奥～中央部は無生物域となった(図1-7)。**③**ハタタテヌメリの湾内における空間分布を明らかにし、貧酸素水塊がこれらの分布を制限するだけでなく、大量斃死をもたらししている可能性が示唆された(図1-8)。**④**ハタタテヌメリの成長及び成熟について調べ、資源量水準が高かった時と比較した結果、資源量水準が低い近年において平均体長の低下と初回成熟体長の低下が生じていることが明らかと

マクロベントスの空間分布

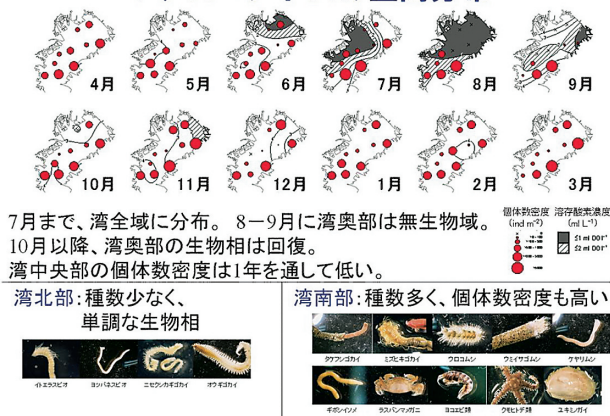


図1-7 東京湾におけるマクロベントスの空間分布

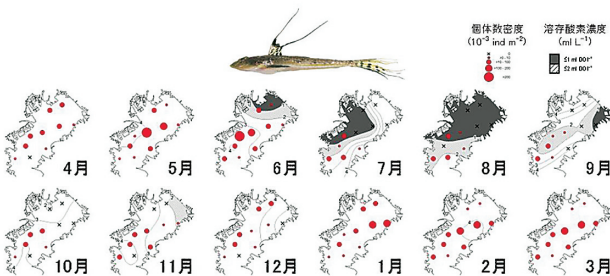


図1-8 東京湾におけるハタタテヌメリの空間分布

生活史特性の変化

ハタタテヌメリの成長・成熟 1990年代と2000年代の比較

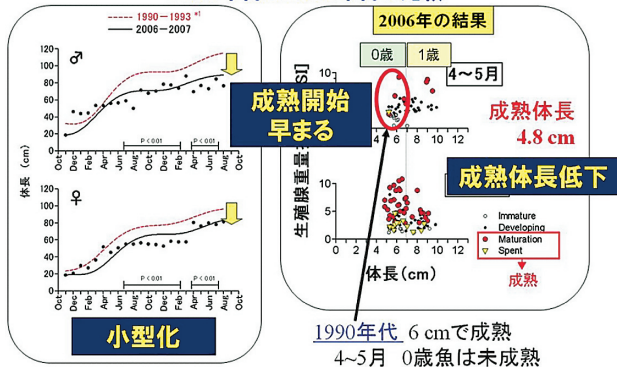


図1-9 東京湾におけるハタタテヌメリの生活史特性の変化

なった(図1-9)。**⑤**ハタタテヌメリの着底個体は貧酸素水塊が縮小・解消する11月以降に出現した。これらは夏(8月前後)に孵化したものと推測される。夏以前に孵化した個体の着底がみられない現象について、貧酸素水塊の存在が着底を妨げていた可能性もあるが、2006年には春(4, 5月)産卵由来の浮遊仔魚がみられず、春の産卵資源量が著しく低いことも大きな要因と考えられる。貧酸素水塊が着底時期を制限する可能性について、現場調査によるデータの積み重ねと飼育実験による検証が必要である。

耳石による年齢査定法(横断切片法)を、マコガレイと同様に確立した。今後、年齢と成長、性成熟の特性を再解析し、近年の魚体の小型化、成熟体長の低下、成熟開始時期の早まりなどについて改めて確認し、食性解析も進める。

2.1.6 東京湾における底質中化学物質の一斉分析

2007年8月の東京湾20定点調査で採取された底質試料を用いて、北九州市立大学(門上希和夫教授)との共同研究として、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)による一斉分析を行い、942種の化学物質の同定と定量を行なった。その結果、120物質を検出した。総検出濃度は、乾重量換算で5.22～49.9mg/kg dry wt(平均20.8mg/kg dry wt)と地点間で最大10倍の差があり、湾口において低かった。検出濃度とTOC(全有機炭素)には正の関係がみられ、TOC換算では661～2108mg/kg TOC(平均1031mg/kg TOC)と地点間の差は3倍まで縮まったが、東京港から袖ヶ浦にかけて高い傾向が見られた。検出物質を発生源分類した結果、主要な発生源は家庭や商業活動によるもので工業由来の寄与率は1～2割であった。特に、高濃度で検出されたのはステロイド類であり、湾周辺の人口の影響を強く反映した結果と考えられた。

一方、米国の National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) が公表している底質ガイドライン¹⁾を用いて、検出濃度の底棲生物への影響評価を試みた結果、PAHsは底棲生物に悪影響を与えている可能性が低いことがわかった。また、PCBに関しては、本調査ではPCB # 28のみが検出されたため、市販PCB中のPCB # 28の比率(約7%)から総PCBsの濃度を推定して底質ガイドラインと比較した。その結果、DDT類やPCB類の影響は少ないと考えられたが、DDE、総

DDT 及び総 PCB に対するガイドラインの信頼性が他の物質より低いとされているため、念のため、さらに精査する必要がある。

今後、LC/MS 及び ICP/MS による底質分析も行い、近年の東京湾の底質中の有機及び無機化合物に関する知見を整理して、底棲魚介類の増殖阻害要因として関与が疑われる物質（群）の選定が必要である。これと併行して、1990 年前後の東京湾で採取された環境試料中の重金属などの濃度を測定し、近年の東京湾における重金属汚染などの経年推移を明らかにして、既存の文献情報も参照しながら、1980 年代末～1990 年代初めにかけて生じた複数種の底棲魚介類の顕著な減少と関連性が疑われる物質（群）の絞込みも進める予定である。

1. National Oceanic Atmospheric Administration, Sediment quality guidelines developed for the national status and trends program, 1999.

2.2 淡水生態系における環境リスク要因と生態系影響評価

日本の陸水には、湖沼、湿地、河川などの天然水域のほかに、古くから稲作のために造られ管理されてきた「ため池」がある。現在、日本にある約 20 万個のため池には、かつて氾濫原湿地に生息していた生物が移り棲み、独自の生態系を形成してきた。天然水域の生物多様性が著しく低下している現在、ため池は希少種にとってレフュージサイト（避難場所）を提供するとともに、生物多様性の宝庫となっている。しかし、そのため池もまた、近年の人間活動の影響や社会の変化を受けて、生物多様性の低下が懸念されている。

ここでは、淡水生態系の生物多様性を保全するために重要な管理手法を提言することを最終目標に置いて、1) ため池生態系の生物多様性の低下をもたらす生物学的リスク因子と非生物学的リスク因子、2) 生物学的リスク因子（外来生物）が在来生態系に及ぼす影響とそのプロセス、および 3) 在来生態系への影響が甚大な外来生物の分布拡大プロセス、を明らかにした研究を報告する。

2.2.1 ため池生態系における環境リスク要因の解明

ため池などの浅い湖沼は、水草が優占する透明な水の系と、植物プランクトンの優占する濁った水の系といった二つの安定状態を持つ。本研究では、「濁った水の系」

の指標であるアオコの発生要因を明らかにした。

兵庫県の 64 のため池における野外調査と、GIS を用いた土地利用面積の解析（6 空間スケール：半径 10 m, 50 m, 250 m, 500 m, 1000 m, 3000 m）を併用し、一般化線形モデルを用いてアオコの発生要因を解析した結果、アオコの発生する・しないは、半径 3000 m の土地利用面積を用いてモデルを構築した際にもっとも説明力が高い（AIC がもっとも低い）ことが明らかとなった（図 2-1）。

アオコの発生は、生物的要因ならびに非生物的要因（ため池周辺の 3000 m 半径の土地利用面積を含む）を用いて以下のモデル式で説明される。

$$\text{アオコ発生} = 1.89 \text{ 外来ザリガニ (出現)} + 0.039 \text{ コンクリート護岸面積} - 0.0003 \text{ 浮葉植物被度} + 2.24 \text{ 全窒素含量} - 1.22 \text{ 淡水域面積} + 0.57 \text{ 水田面積} + 0.18 \text{ 市街地面積} - 23.58$$

アオコの発生は、外来ザリガニの出現、コンクリート護岸面積、全窒素含有量、水田面積および市街地面積と正の相関を示し、淡水域の面積（河川など）ならびに浮葉植物（アサザ、ヒシなど）と負の相関を示した（モデルの正判別率 = 97 %）。このことから、外来ザリガニ、コンクリート護岸、全窒素、水田面積および市街地化などが淡水生態系のレジームシフトを誘発する環境リスク要因であると考えられる。

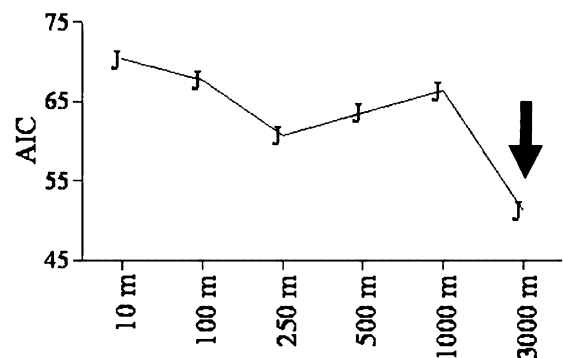


図 2-1 ため池周辺の土地利用面積を 6 つの空間スケール（半径 10 m, 50 m, 250 m, 500 m, 1000 m, 3000 m）ごとに算出し、アオコの発生を独立変数としてモデルを構築した際の最適モデルの AIC（赤池情報指数）。AIC の値が低いほどモデルの当てはまりが良いことを示す（矢印）。

2.2.2 外来生物の侵入と生態系のレジームシフト：隔離水界実験

浅い湖沼生態系において、侵略的外来種である導入型コイ (*Cyprinus carpio*, 以下コイ) やアメリカザリガニ (*Procambarus clarkii*) は、透明な水の系から濁った水の系への生態系のレジームシフトを引き起こす要因となりうる。両種は世界中で導入されており、代表的な外来エコシステム・エンジニア種 (環境改変者) であるが、両種の生態系影響を比較し、レジームシフトとの関係をしらべた研究はない。

本研究では、隔離水界を用いた野外操作実験とメタ解析から、コイとアメリカザリガニが、沈水植物、水質、栄養塩、植物プランクトン、動物プランクトン、底生無脊椎動物へ及ぼす生態系影響を比較した。実験では、コイとアメリカザリガニそれぞれ天然の密度を反映させた4段階 (対照区, 低, 中, 高密度) の処理区を設定し、密度にともなって生態系影響がどのように変わるかを調べた。その結果、低密度であっても、コイは懸濁物量、植物プランクトン、栄養塩、底生無脊椎動物に影響を与えた。また中密度から高密度では、沈水植物が減少した (図2-2)。一方、アメリカザリガニは低密度でも沈水植物に強い影響を及ぼし、その影響はコイよりも大きかった。いずれの処理区でも沈水植物の系から植物プランクトンの系へのシフトが見られた。

次に、メタ解析によってコイとアメリカザリガニの生態系影響を調べた。24の既存研究から、“effect size” (影響の大きさ) を算出した。その結果、コイもアメリカザリガニも沈水植物、植物プランクトン、水質、栄養塩、底生無脊椎動物に影響を及ぼすことが明らかになった (図2-3)。沈水植物への影響は、アメリカザリガニのほうが有意に大きかった。したがって、メタ解析の結果は、隔離水界の実験結果を支持した。

実験とメタ解析から、アメリカザリガニは沈水植物を直接切断することによって負の影響を与え、コイは水質を改変することで、間接的に沈水植物の利用する光を減少させるエンジニア効果の方が大きいことが明らかになった。したがって、コイとアメリカザリガニは、異なるエンジニアリング様式を通して、生物群集や生態系プロセスに大きな影響を及ぼすことが考察された。以上より、今後、浅い湖沼で侵略的外来種であるコイやアメリカザリガニの管理を行う必要があるが、優先順位が必要な場合は、沈水植物に強い影響を及ぼすアメリカザリガ

ニを優先的に駆除することが望ましいと考えられた。

2.2.3 外来ザリガニ類の遺伝的変異と分布拡大プロセス

外来ザリガニは、水草の切断を通じて生態系のレジームシフトを誘発する、淡水生態系の外来キーストーン種である。本研究では、ミトコンドリア DNA 解析を用いて2種の外来ザリガニ類 (シグナルザリガニ (ウチダザリガニ/タンカイザリガニ) *Pacifastacus leniusculus*, アメリカザリガニ *Procambarus clarkii*) の遺伝的変異と分

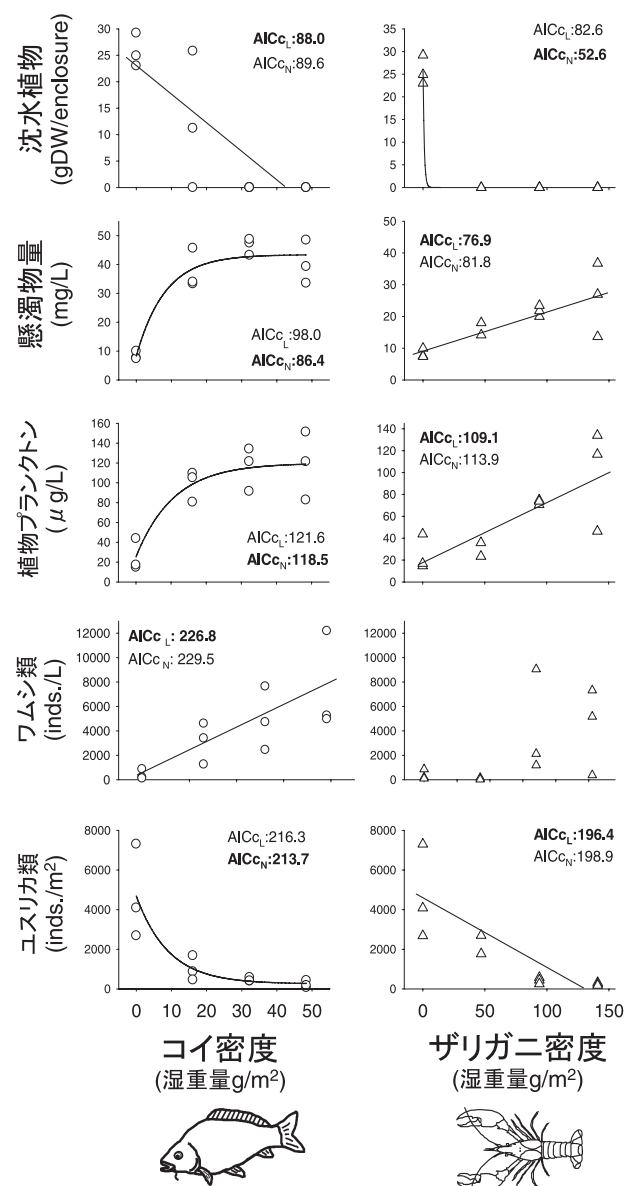


図2-2 隔離水界実験の結果。コイもしくはザリガニの密度と、沈水植物量、懸濁物量、植物プランクトン (クロロフィル) 量、ワムシ類、ユスリカ類との関係を示す。また、図中の AICcL は、線形モデルの AICc 値を示し、AICcN は、非線形モデルの AICc 値を示す。直線もしくは曲線は、モデル選択により選ばれたモデル式を示す。

布拡大プロセスを明らかにした。

国内各地の侵入集団（19 集団 156 個体）と在来集団（北米）（20 集団 537 個体）の遺伝子型（16S 領域ミトコンドリア DNA の 450 塩基配列に基づく）を比較した結果、シグナルザリガニ（ウチダザリガニ/タンカイザリガニ）は、原産地の様々な地域から異なる遺伝子型が運ばれ、それらが混ざり合っ、少なくとも国内 3 地域（北海道摩周湖、長野、滋賀）に移植された後、摩周湖集団が北海道各地と福島県に分布を拡大したことが示された（図2-4）。また、洞爺湖では、2005年に新たにシグナルザリガニの生息が確認されているが、外来生物法の施行（2006年2月）以降の1年間の間に遺伝子型構成が変化していることから、複数回侵入があったことが推察される。一般に ϕ_{st} は 0 から 1 までの値をとり、値が 1 に近いほど、集団内に比べて集団間の遺伝的分化が高いことが示唆される。遺伝的分化が高い（ $\phi_{st} = 1$ に近い）ということは、地域集団間での遺伝的交流が少ない（移動性が低い）ことを意味する。シグナルザリガニは、原産地では、集団間の遺伝的変異が集団内の遺伝的変異より高い（ $\phi_{st} = 0.82$ ）のに対し、日本では、集団内の遺伝的変異が集団間の遺伝的変異より高いこと（ $\phi_{st} = 0.44$ ）から、本来は自力拡散能力が低い種であるにもかかわらず、日本

では頻繁な意図的・非意図的導入により、分布拡大が進んでいると考えられる。シグナルザリガニは、2006年2月に特定外来生物に指定されたことから、今後、意図的導入は減っていくと思われるが、非意図的導入についてはその経路を明らかにする必要がある。

一方、アメリカザリガニは、日本全国の集団（6 集団 77 個体）が同じ遺伝子型構成（COI 領域ミトコンドリア DNA の 472 塩基配列に基づく）であったことから（図2-5）、

シグナルザリガニ（ウチダザリガニ/タンカイザリガニ）
Pacifastacus leniusculus

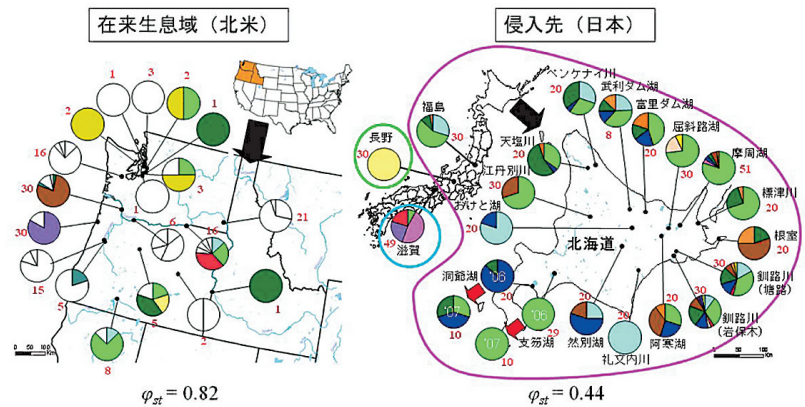


図2-4 在来生息域（北米北西部：19 集団 156 個体）ならびに侵入先（日本：20 集団 537 個体）におけるシグナルザリガニ（ウチダザリガニ/タンカイザリガニ）（*Pacifastacus leniusculus*）の遺伝子型構成（ミトコンドリア DNA の 16S 領域の 450 塩基配列に基づく）。異なる色は異なる遺伝子型を表す。在来生息域の有色の遺伝子型は日本で認められた遺伝子型を示す。 ϕ_{st} は集団間の遺伝的分化の指標で、0（遺伝的分化なし）から 1（完全分化）の値をとる。赤字は標本数を表す。

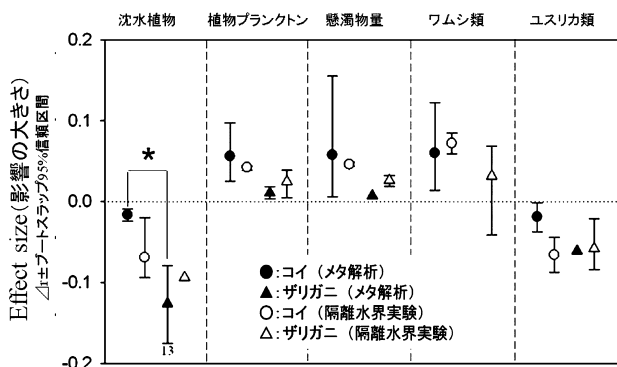


図2-3 メタ解析の結果。コイとザリガニの沈水植物量、懸濁物量、植物プランクトン（クロロフィル）量、ワムシ類、ユスリカ類に対する Effect size（影響の大きさ）とブートストラップ 95 % 信頼区間を示す。
*は、ランダム化検定の結果、有意な差（ $p < 0.05$ ）が検出されたことを示す。

アメリカザリガニ
Procambarus clarkii

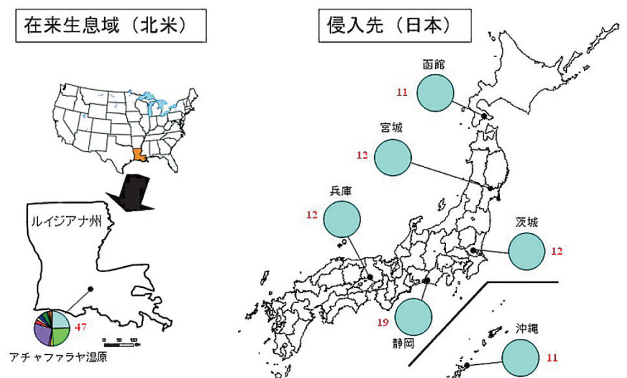


図2-5 在来生息域（北米北西部：1 集団 47 個体）ならびに侵入先（日本：6 集団 77 個体）におけるアメリカザリガニ（*Procambarus clarkii*）の遺伝子型構成（ミトコンドリア DNA の COI 領域の 472 塩基配列に基づく）。日本の侵入集団は単一の遺伝子型で構成されている。赤字は標本数を表す。

原産地ルイジアナ州から過去に1度だけ持ち込まれたものが全国的に広がった、もしくは単一の遺伝子型に選択圧がかかったことが示された。本種は自力拡散能力が極度に高い種であることから、沖縄島嶼など未侵入域への新たな移入を未然に阻止することが重要である。また、アメリカザリガニは、今後、温暖化に伴い北海道で分布を拡大することが懸念される。

2.3 侵入種生態リスク評価手法の開発に関する研究

生物多様性を脅かす重要な人為的要因として侵略的外来生物（侵入生物）がある。本来の生態系は進化的歴史を経て形成された生物間相互作用によって、様々な生物が共生し、その多様性と機能を維持しているが、侵略的外来生物は人為的に移送されることにより、進化的時間及び生物地理学的空間を超越して生態系に浸食して、生物間相互作用のバランスを崩し、生物多様性の減少と生態系機能の改変をもたらすと考えられる。本サブテーマでは、侵入生物の生態影響機構を実験及び調査に基づき解明するとともに、侵入生物の侵入ルートおよび分布拡大プロセスを予測し、さらに、得られた成果を外来生物法における外来生物管理に応用することにより、我が国における外来生物防除に貢献することを目的とする。

2.3.1 セイヨウオオマルハナバチの生態リスク評価

意図的侵入生物の生態リスク評価として、輸入昆虫であるセイヨウオオマルハナバチおよび外国産クワガタムシが在来種に及ぼす生態影響を調査した。セイヨウオオマルハナバチはヨーロッパ原産のハナバチで、農業作物の花粉媒介用に1992年より商品コロニーが導入されているが、野性化の進行が問題となっている。特に野性化が著しい北海道を中心に分布域を調査した結果、野性化個体群の分布が年ごとに拡大しており、ワーカー（働き蜂）の分布より、大雪山国立公園などの自然環境にまで野性化コロニー（巣）が存在することが示唆された。セイヨウオオマルハナバチ訪花個体の有無に対して、周囲250 m から 3500 m の 14 スケールにおける景観要素と商品コロニー数の影響を多重ロジスティック回帰分析によって解析した結果、セイヨウオオマルハナバチの空間分布は半径 3 km という広域の景観要素が影響していることが明らかになった。ただし、それらの景観要素（森林率、牧草地面積、市街地面積、使用商品コロニー数）がセイヨウオオマルハナバチの分布に及ぼす影響は地域

によって大きく異なっており、特定地域での環境要素と野外分布の関係を他の地域での分布予測にそのまま外挿することは難しいことが示唆された。次に室内交雑実験を行った結果、セイヨウオオマルハナバチの雄は在来種オオマルハナバチと交尾可能であり、雑種（受精）卵も生まれることが示された。しかし、雑種卵は孵化せず、全て胚発育の途中段階で死亡したことから、種間交雑は在来種の生殖能力を奪うリスクがあることが示された。実際に野外で種間交雑が起こっているのかを確認するために、北海道において営巣前の野生オオマルハナバチ越冬女王を採集し、それらの体内から受精囊（交尾で得た精子をストックしておく器官）を摘出した。受精囊内の精子DNAを分析することにより交尾相手を判定した結果、平均30%のオオマルハナバチ女王がセイヨウオオマルハナバチ雄と交尾していることが示された（図3-1）。さらに、北海道固有植物エゾエンゴサクにセイヨウオオマルハナバチが訪花すると在来マルハナバチが訪花した場合と比較して、花粉媒介が適正に行われず、種子生産が低下することが示され、セイヨウオオマルハナバチの野性化は在来植物の繁殖に悪影響をもたらすことが明らかとなった。なお、これらの成果に基づき、セイヨウオオマルハナバチは2007年4月から外来生物法特定外来生物として規制を受けることとなった。

2.3.2 外国産クワガタムシの生態リスク評価

外国産クワガタムシは1999年からペット用に主に東

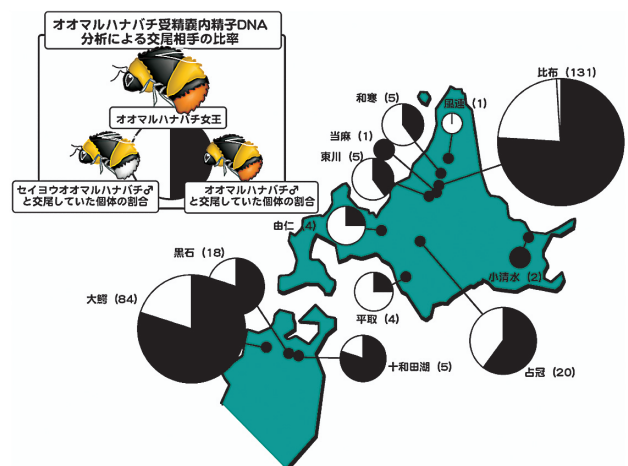


図3-1 野外の在来マルハナバチ（オオマルハナバチ、エゾオオマルハナバチ）女王の種間交雑率。各円の大きさは採集調査したサンプル数を反映している。白色部分がセイヨウオオマルハナバチと交雑していた女王の割合を表す。

南アジアから輸入されている。年間輸入個体数は100万匹を超えており、野性化による生態影響が懸念されている。特に輸入量の大きいヒラタクワガタは日本国内にも在来系統が生息しており、外国産系統と日本産系統の間で交雑が生じて、遺伝的浸食をもたらす恐れがある。当研究グループで、日本産系統のツシマヒラタ、オキナワヒラタ、アマミヒラタ、サキシマヒラタ、およびホンドリヒラタ各系統と外国産系統のスマトラオオヒラタ、パラワンオオヒラタ、およびセレベスオオヒラタ各系統の間で室内交雑実験を行った結果、いずれの組み合わせでも交尾が成立して雑種個体が正常に生まれることが判明した。楕円フーリエ解析によりヒラタクワガタの大アゴの輪郭を記述して解析を実施したところ、種によって固有の大アゴ形状が保持されていることが、数値的にも明らかになった。一方、雑種は両親の系統のほぼ中間的な形状を示したが、かけ合わせの組み合わせによりどちらの親に似るかが異なる傾向が示された。次に日本産系統同士あるいは外国産系統同士を交雑させた結果、交尾が成立して雑種卵が生まれても、成長段階で全個体が死亡して、正常な雑種個体を得ることはできなかった。ミトコンドリアDNAに基づく遺伝距離によれば日本産系統と外国産系統の間の分化年代は500万年以上と推定され、日本産系統間および外国産系統間では400万年より短いと推定される。ヒラタクワガタの場合、500万年以上も分化した系統間のほうが分化年代の短い系統間より交雑和合性が高いという、これまでの種分化プロセスの概念が通用しない現象が認められたことになる。と同時に、外国産系統の野性化は遺伝的浸食を招くリスクが高いことが示された。

2.3.3 昆虫寄生性ダニの侵入実態調査

非意図的侵入生物の生態リスク評価として、輸入動物に随伴して侵入してくる寄生ダニ類、および野生生物感染症のひとつであるカエルツボカビ菌の生態影響調査を行った。哺乳類および鳥類を除く外国産動物の多くは検疫を一切受けずに輸入されており、様々な外来寄生生物を国内に持ち込む恐れがある。外国産クワガタムシおよび日本産クワガタムシに寄生するダニの一種クワガタナカセを、アジアの様々な地域およびクワガタムシ種から採集してミトコンドリアDNAを分析した。宿主クワガタムシと寄生生物クワガタナカセのDNA系統樹を比較した結果、クワガタナカセはクワガタムシと同等に深い

遺伝的分化を果たしており、宿主-寄生生物間には共分化と宿主転換が繰り返されて複雑な共生系が構築されていることが示された。寄生生物にも遺伝的多様性と固有性が存在することが示され、生物の人為移送が複雑な共生系を崩壊させる恐れがあることが示唆された。

2.3.4 カエルツボカビ菌の侵入実態調査

カエルツボカビ菌は真菌の一種で、近年、世界の両生類の急激な減少を招いている病原体とされる。2006年12月に日本に輸入されたペット用のカエルから本菌が発見され、日本国内における感染拡大と在来種に対する生態影響が懸念される。本課題では、カエル個体から効率的にカエルツボカビ菌を検出する手法を開発して、日本国内およびアジア地域における本菌の分布状況を明らかにすることを目指した。さらに全世界のカエルツボカビ菌の遺伝的変異より起源と分布拡大ルートを明らかにすることを目指した。DNAデータベースに登録されているカエルツボカビ菌および近縁種の塩基配列情報に基づきプライマーを設計した。種間差の小さいconservative領域としてribosomal RNA subunit 18Sおよび28S遺伝子領域の増幅を試みた。種間差の大きな領域としてInternal Transcribed Spacer (ITS)領域の増幅を試みた。また、低濃度のDNAでも増幅可能なPCR法の開発を試みた。その結果、 1×10^{-3} ng/uLのDNA濃度で、かつ夾雑物が混入した状況でも高感度・高特異性のPCR検出法の開発に成功した。国立環境研究所を中核として、地方自治体、獣医師会、NGO、環境省地方事務所、大学との間にネットワークを構築して、両生類飼育個体および野外個体からのカエルツボカビ菌検査サンプルを収集する検査体制を整え、採材方法・送付方法のマニュアル化を図った。収集したサンプルを開発したPCR検査法にかけることによりカエルツボカビの分布実態を明らかにするとともに、得られたDNA断片の塩基配列情報を収集して変異を解析した。その結果、両生類の室内飼育個体約1,000、野生個体約5,200のサンプルが採集され、開発された検出法に基づき検査を行った結果、感染個体が確認された。さらに得られたDNA断片の塩基配列に変異が存在することが確認された。まず、海外から輸入され、室内で飼育されているカエルからは海外で報告されているものと同じのDNAをもつカエルツボカビが多数発見された。次に、野外採集個体の皮膚サンプルからは、1~2%という低率ではあるがカ

エルツボカビ DNA が発見されており、さらに DNA の塩基配列情報から、我が国のカエルツボカビには既報の系統以外にも多数の系統が存在し、両生類の種によって異なる系統が存在することが示唆された (図3-2)。これらの状況から、カエルツボカビ菌にも多様性が存在し、一部の系統は日本にもともと生息していたという可能性が示された。今後はカエルツボカビの遺伝的系統ごとの生態的特性や両生類に対する毒性の違い等を評価するとともに、カエルツボカビの起源を明らかにして、宿主である両生類との共進化関係を念頭に置いたリスク評価を検討する必要がある。

2.4 数理的手法を用いた生態リスク評価手法の開発

自然生態系は、それを構成する生物的要素である生物群集、生物群集を構成する種個体群、個体群内の遺伝的組成といった、多重の階層構造からなっている。人為的攪乱要因の生態系への影響も、階層ごとに異なった様相で現れるので、総合的かつ定量的な評価は困難である。本研究では、種個体群の存続可能性および生物群集攪乱による生態系機能変化の2つの側面を影響評価の基準ととらえ、生態リスク評価手法の開発を試みている。

遺伝子レベルのリスク評価としては、ミジンコ個体群の薬剤耐性変異に基づく集団遺伝モニタリング手法、個体群レベルでは、東京湾シャコ個体群の生活史モデルに基づく存続可能性分析、群集・生態系レベルでは形質ベース群集モデルおよび湖沼生態系モデルの開発に関する研究成果を報告する。

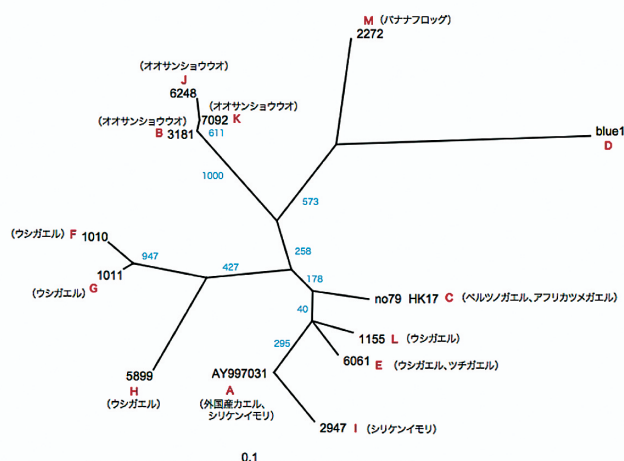


図3-2 カエルツボカビ ITS 遺伝子の最節約系統樹の一例。
これまでに国立環境研究所では日本国内で20以上のITS遺伝子ハロタイプを検出している。この系統樹はその一部データを示す。

2.4.1 カプトミジンコ地域個体群に対する集団遺伝モニタリング手法の開発

化学物質の野外生物への影響を直接検出する1つの方法として、汚染地域の個体群における耐性遺伝子の増加に基づくリスク評価法の研究をおこなった。カプトミジンコ (*Daphnia galeata*) の野外個体群の間でフェンバレート耐性を比較した結果、急性毒性値で最大10数倍の変異が個体群間で存在した。クローンごとの急性毒性値は、同じ地域で採集された個体でも大きな変動があることが判明した。個体群の解析で最も感受性が高かった大膳池集団で採集された個体は他と比べて薬剤感受性が最も高かった (図4-1)。

マイクロサテライト遺伝子8座について遺伝子型をタイプ化し、集団遺伝構造解析を実施した。ベイジアンクラスタリングを実施した結果、霞ヶ浦の2個体群 (恋瀬川, 湖心) は互いに遺伝的類似性が低く、遺伝的交流が極めて低いことが示唆された。また毒性試験と遺伝解析の結果から、中立マーカーであるマイクロサテライト変異と化学物質に対する耐性の進化が独立に生じていると考えられた。

タマミジンコで将来集団遺伝構造解析を実施するため、新たに8座のマイクロサテライト遺伝子をスクリーニングし、多型性を確認すると共に、特異的に遺伝子増幅を行なえるプライマーを開発した。

2.4.2 東京湾シャコ個体群の存続可能性分析

東京湾のシャコ (*Oratosquilla oratoria*) 個体群は、近

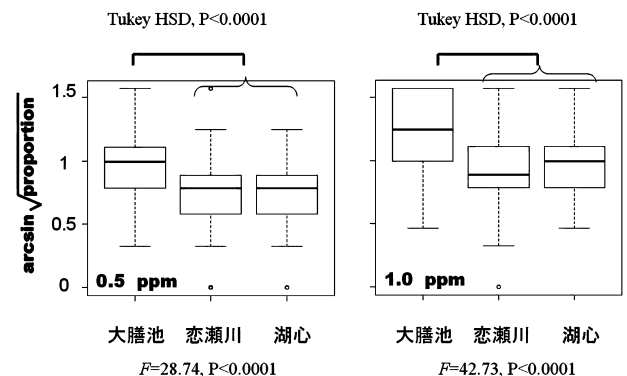


図4-1 カプトミジンコのフェンバレート感受性の集団間変異。それぞれ0.5ppm, 1.0ppmのフェンバレート曝露時の遊泳阻害および死亡の率をクローンごとに集計し、アークサイン変換値を示してある。ボックスは95%信頼区間、ボックス内太実線は平均値、上下の破線バーは標準偏差を示す。

年著しい減衰が観測され、体サイズの小型化と成熟開始齢の低下が報告されている。本種は大型成熟個体（春産卵）と小型成熟個体（夏産卵）で産卵期が異なり、大型個体から生まれた春生まれの稚シャコは夏の貧酸素水塊の影響でほとんど生残できないのが現状である。本研究では、このような制約条件の下で、どの生活史パラメータの低下を阻止することが存続可能性を維持する上で重要かを、サイズ-生活史構造を持つ行列個体群モデルによって明らかにした。

本種的生活史に関する既存データに基づくコンピュータシミュレーションの結果、夏生まれの未成熟個体の生存率を高く維持することと、小型成熟個体の死亡率を低下させることが個体群存続可能性に最も寄与することがわかった（図4-2）。大型成熟個体の生存率は、現状では繁殖による加入に寄与していないことから、大きな影響を与えなかった。本研究の解析結果は、サイズ選択的な漁獲方法の有効性を示唆するものだが、すでに禁漁が実施されている本種の資源量が回復しない事実は、貧酸素水塊の出現やその他の環境攪乱因子の改善がもたらす大型成熟個体の繁殖による加入の回復が、本種個体群の原状回復に欠かせない要因であることをも示唆する。

2.4.3 湖沼生態系モデルと生態系機能

生態系機能として、1次生産者から高次捕食者への物

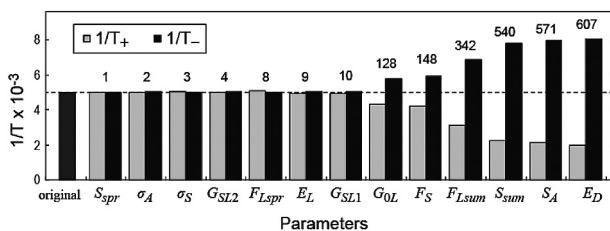


図4-2 絶滅リスクに対するモデルパラメータの感受性。

モデルパラメータを5%増減させた場合の、絶滅リスク（平均絶滅待ち時間の逆数）の変化。図中数字は変化分の絶対値。

S_{spr}: 春生まれの個体が定着まで生存する率, σ_A: 成体生存率の環境変動, σ_S: 稚シャコ生存率の環境変動, G_{SL2}: 2歳の小型個体が大型個体に成長する率, F_{Lspr}: 大型個体の春の期待産卵数, E_L: 水揚げに対する生存率, G_{SL1}: 1歳の小型個体が大型個体に成長する率, G_{OL}: 当歳個体が大型個体に成長する率, F_S: 小型個体の期待産卵数, F_{Lsum}: 大型個体の夏の期待産卵数, S_{sum}: 夏生まれの個体が定着まで生存する率, S_A: 生存率, E_D: 投棄に対する生存率。

質転移効率を取り上げ、藻類（植物プランクトン）、動物プランクトン、魚類からなる3栄養段階のモデルに基づいて、各栄養段階の機能形質と栄養素転移効率との関係を推定した。群集動態を表す連立微分方程式は次の通りである。

$$\frac{dN}{dt} = (Q - N) f - \gamma \{r(N)x - \beta x^2\}$$

$$\frac{dx}{dt} = r(N)x - \beta x^2 - g(x)y$$

$$\frac{dy}{dt} = cg(x)y - p(y)F - my$$

藻類は、栄養素（可溶性リンを想定した）の濃度とともに増加するが、Monod関数にしたがって最大成長率に漸近すると仮定した： $r(N) = \frac{r_{\max}N}{h_a + N}$ 。半飽和定数 h_a は、植物プランクトンのリン取り込み速度や要求性などのより詳細な生理的パラメータを包括したものである。半飽和定数が低いほどリンの取り込み効率が高く、貧栄養な環境にも耐えられることを意味している。動物プランクトン特にDaphnia属は、植物プランクトンの濾過能力が高く、摂食率は植物プランクトン量に対してMonod関数より高い曲率を示す。数学的単純さとのバランスから、本研究ではHolling III型の機能反応曲線を採用した： $g(x) = \frac{G_{\max}x^2}{h_g^2 + x^2}$ 。

最大摂食率 G_{\max} は、単位バイオマス単位時間当たりの藻類摂食量の最大値である。半飽和定数は、摂食できる限界の植物プランクトン濃度を示し、低いほどミジンコの摂食能力が高いことを意味する。パラメータの説明は次の通りである。N: 栄養塩濃度（リン濃度 mg L⁻¹）、x: 藻類濃度（クロロフィル濃度 mg Chla L⁻¹）、y: ミジンコ（動物プランクトン）密度（mg L⁻¹）、Q: 流入する塩類濃度、f: 流入・流出率（平均滞留時間の逆数 flow rate）、γ: 栄養塩から藻類への転換効率の逆数（藻類の単位バイオマスの生産に必要な栄養塩）、r(N): 藻類の内的自然増加率（栄養塩濃度の関数）、b: 藻類の密度効果係数、g(x): ミジンコの摂食関数（単位バイオマスのミジンコが単位時間当たり摂食する量）、c: 転換効率、p(x): 魚の捕食関数、m: ミジンコの死亡率、r_{max}: 藻類最大成長率、h_a: 藻類成長における栄養素濃度の半飽和定数、G_{max}: ミジンコの藻類に対する最大摂食率、h_g: ミジンコの藻類に対する摂食における半飽和定数、P_{max}: 魚類のミジンコに対する最大摂食率、h_p:

魚類のミジンコに対する捕食における半飽和定数, f : 魚類による捕食のミジンコ密度に対する感度 (飽和型捕食関数の曲率)。

系の動的正確性を大まかに把握するために、栄養素流入負荷が低い場合と高い場合について、イソクラインによる解析を行った。黒実線は、異なる魚密度レベルにおける動物プランクトンの0イソクラインを、灰色実線は、藻類の0イソクラインを示す。栄養素流入負荷が低い(貧栄養)のとき、動物プランクトンによるトップダウンの摂食効果が有効なため、藻類の平衡密度が低く抑えられ(「透明な状態 (clear state)」)、藻類と動物プランクトンの平衡密度には単調な負の相関関係がある。一方、藻類の増殖ポテンシャルが大きい富栄養の状態では、魚類の密度が増加すると、平衡点は不安定となり、リミットサイクル(局限周期軌道)を経て、鞍点と安定平衡点の多重平衡が現れる。このときの安定平衡点は、藻類が密度効果のみによって制御される、「緑の状態 (green state)」である。このように、栄養段階間の相互作用を持つ湖沼生態系では、富栄養化や捕食者バイオマスの増加に対して不連続な状態変化を呈する(レジームシフト; 図4-3参照)。

4つの代表的な湖沼状態(貧栄養-低魚密度, 貧栄養-高魚密度, 富栄養-低魚密度, 富栄養-高魚密度)について、モデルパラメータと栄養素転移効率との関係を調査した。

藻類の内的自然増加率 r_{max} は、栄養素転移効率に大きな影響を与えなかった。動物プランクトンの最大摂食率 G_{max} は、富栄養-高魚密度の湖沼条件で栄養素転移効率と強い正の関係があった(図4-4)。動物プランクトンの同化転換効率 c は、どの湖沼条件においても栄養素転移効率と高い正の関係があり、物質循環を促進する働きがあることが示唆された(図4-5)。

以上を要約すると、(1)植物プランクトンの増殖能力に関するパラメータと栄養素転移効率との関係が見出せない、(2)動物プランクトンの最大摂食率は富栄養-高魚密度の条件では重要である、(3)動物プランクトンの同化転換効率はどの湖沼条件でも栄養素転移効率に寄与する、(4)動物プランクトンの捕食耐性(逃避能力)は、富栄養-高魚密度では栄養素転移効率を促進するが、その他の場合はわずかに低下させる傾向がある。

よって、魚類の平衡密度が高い通常の富栄養湖を対象にする場合、動物プランクトンの最大摂食率と同化転換

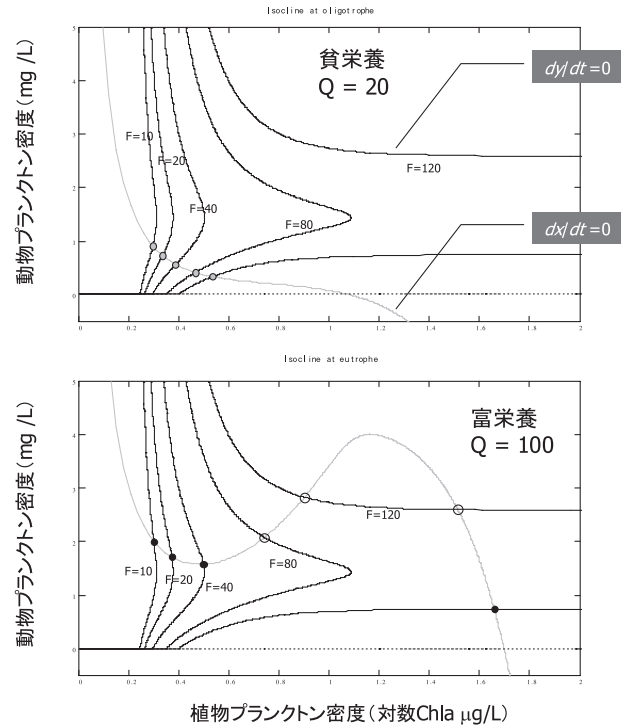


図4-3 植物プランクトンと動物プランクトンのゼロイソクライン。上図は栄養素負荷量が少ない場合、下図は栄養素負荷量が多い場合。黒実線は動物プランクトンのゼロイソクラインを、灰色実線は植物プランクトンのゼロイソクラインを示す。黒丸は安定平衡点、白抜き丸は不安定平衡点を示す。Fは様々な魚類密度。

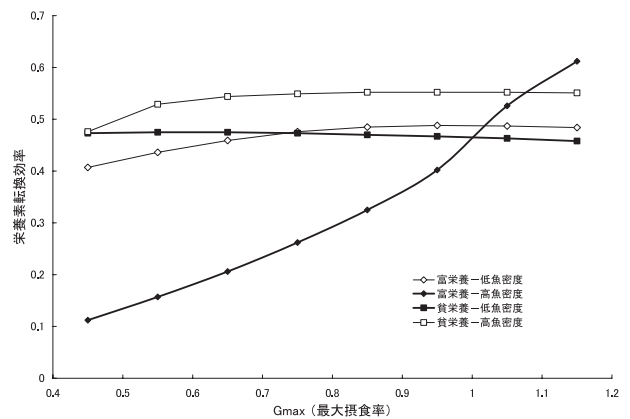


図4-4 動物プランクトンの最大摂食率の栄養転移効率に対する影響。4本の曲線は、4つの異なる湖沼状態における関係性を示す。説明は本文。

効率を高め、動物プランクトンの捕食耐性を高める形質が機能効果形質として有効であることが示された。

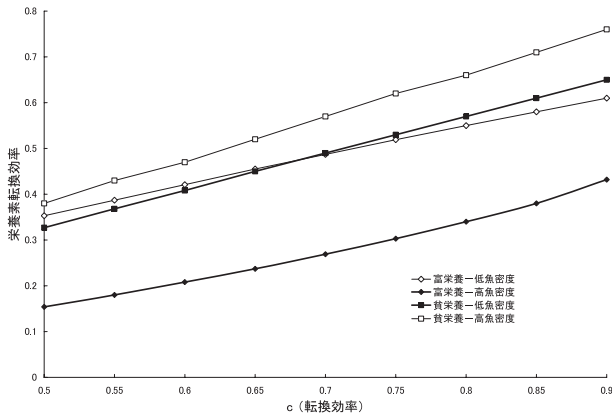


図4-5 動物プランクトンの同化転換効率の栄養転移効率に対する影響。4本の曲線は、4つの異なる湖沼状態における関係性を示す。説明は本文。

2.4.4 生物群集における機能形質の動態モデル

群集の状態変量としての、群集内における種の機能形質（体サイズ、摂食能力など生態系機能に関係のある種の実験値のこと）の分布が、環境要因によってどのように変化するかを予測する数理モデルの基礎的研究を行った。群集の平均形質は、各構成種の形質値を種の相対頻度で重み付けした平均として定義した。群集の平均形質に基づいて、群集の生態系機能の変化を予測するためには、種数や種間競争の強さが群集の形質変化に与える影響がわかっている必要はない。そこで、種間競争が群集内の形質動態に与える効果を解析的に調べた。

多種競争系を一般的に表す一般ロトカ・ボルテラ系が平衡状態にある場合については、環境効果 ε が各種の個体数を増減させることによって生じる群集内平均形質値の変化は、環境要因と種の形質値の共分散に比例すること、種間競争は形質変化に影響を与えるが、種間競争が単一の主なニッチ軸によって説明される場合は、種間競争の

影響はほとんどないことがわかった。

より特殊な場合として、等質な資源をめぐる資源競争群集を取り上げた。生物の増殖にとって必要な資源（光、栄養塩など）が、それを最も効率よく消費できる個体の特性値 x で特徴付けらるとする。資源の供給量が $S(x)$ とする。各種の個体群の維持に必要な資源量が $Q_i(x)$ であるとき、個体群の増加に分配される資源量 $R(x)$ は、

$$R(x) = S(x) - \sum_{i=1}^s n_i Q_i(x)$$

と表わされる (s は種数)。よって、 i 番目の種の個体群増加は、

$$\frac{dn_i}{dt} = n_i c_i \int u_i(x) R(x) dx$$

と表わされる。ここで、 $u_i(x)$ は資源利用関数で、種が利用できる資源の分布を示す。ここで、種の形質はその種が最も効率よく利用できる資源の特性（光強度、栄養塩濃度など）として定義される。 i 番目の種は、資源 x を $u_i(x)R(x)$ の率で利用できる。 c_i は獲得した資源を増殖に変換する効率を示す係数である。このような資源競争群集では、資源供給の変化による、種の形質の平均変化は、群集内の形質レンジ（範囲）の平方に比例し、種数や種間競争の影響はほとんどないことが解析的に証明された。よって、群集における形質動態（平均値）は、種数や競争係数に制約されることなく、群集の状態を表す状態変数として有効であることが示唆された。さらに、モデルの解析結果は、バイオマニュピレーション実験におけるプランクトン群集変化のデータ解釈に応用し、実地データへの適用可能性を検討した。

VI. 関連プロジェクト

1. 特別研究（平成 16-18 年）：トキシコゲノミクスを利用した環境汚染物質の健康・生物影響評価法の開発に関する研究

近年のアレルギー増加の例にみられるように、ヒトの健康は環境の影響を受けて変化していると考えられる。その主たる原因は明らかにされていないが、環境中の有害化学物質や大気汚染物質もその原因の一つとして関与することが示唆されている。そこで環境汚染物質からヒトの健康を守るために、汚染物質の毒性評価を行い必要に応じた管理を行うことが必要である。しかし、多種類の環境汚染物質の生体影響を検出し個々に評価するためには莫大な労力が必要であり、実際には影響評価が行われていない多くの化学物質や環境汚染物質が存在する。近年開発され、めざましく進歩しているゲノミクス技術の利用は、従来不可能であった多種類の汚染物質の影響検出や影響評価を可能とすることが期待される。同じく多種類の汚染物質は大気や水、土壌を汚染し、生態系にも深刻な影響を及ぼすことが考えられる。トキシコゲノミクスの活用は、これらの悪影響の検出を大きく効率化し体系化することを可能にするばかりでなく、悪影響が顕在化する以前に影響を検出し予測することも可能とすることが期待される。

そこで本プロジェクトは、遺伝子発現変化の解析によってどこまで生体の反応や生物影響を検出できるか等のトキシコゲノミクスの有効性の検証を行い、多種多様な環境汚染物質のヒトや生物への影響の新たな総合的・体系的な評価法確立に寄与することを目的とした。国立環境研究所の複数の領域においてゲノム研究に携わる研究者が連携し、大きく 3 つのサブテーマ、1) トキシコゲノミクスを利用した環境汚染物質の健康影響の実験的予測法、2) トキシコゲノミクスによる生物影響の検出に基づく環境影響評価法、3) 環境研トキシコゲノミクスデータベースの作成、に関して研究を実施した。

サブテーマ 1 では、環境化学物質の免疫系への悪影響の遺伝子発現変化からの検出・予測に関する研究を行った。多種類の環境化学物質の免疫毒性をできるだけ簡単な実験系で検出するために、私たちは胸腺という免疫臓器に着目した。胸腺は、重要な免疫細胞である T リンパ

球の分化・成熟の場であると同時に、環境からの影響を受けやすい臓器でもあり、多くの環境化学物質が胸腺を萎縮させる。すなわち胸腺細胞を減少させ胸腺重量を低下させる作用をもつことが知られている。胸腺萎縮作用をもつ化学物質の多くは免疫機能抑制作用を示すことが報告されている。そこで、各種環境化学物質による免疫系への悪影響を、トキシコゲノミクスを利用した胸腺の遺伝子発現の網羅的解析から予測する方法の有効性について検討した。

マウスに胸腺萎縮作用を持つことが知られているダイオキシシン、無機ヒ素、perfluorooctane sulfonate (PFOS)、有機スズなどの環境汚染物質や、 17β -エストラジオール (E2)、合成グルココルチコイド (GC) ホルモンであるデキサメタゾン (DEX) を投与し、Affimetrix 社のマイクロアレイを用いて胸腺の遺伝子発現変化の網羅的解析を行った。その結果、無機ヒ素は転写因子 E2F1、および E2F1 によって発現制御される細胞周期進行に必要な遺伝子群の発現を低下させることが明らかとなった (図 1)。リンパ球細胞株での検討を含めて、無機ヒ素が転写因子 E2F1 の機能を抑制し胸腺 T リンパ球の細胞周期を抑制することによって胸腺萎縮を誘導するという分子経路をあらたに明らかにした。その他、各汚染物質やホルモンがそれぞれ特徴的な遺伝子群に影響することが

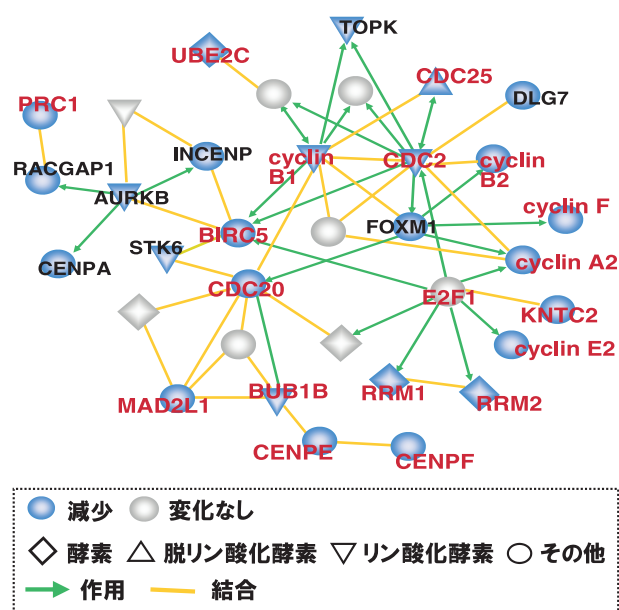


図 1 亜ヒ酸で発現が低下した遺伝子群ネットワーク
赤字は細胞周期進行に関与する遺伝子

示された。これらの結果から、胸腺での遺伝子発現変化の網羅的解析が、環境汚染物質の胸腺および免疫系への悪影響の検出や、影響の分子経路や標的となる細胞群の同定に有効であることが示された。また免疫系への影響が未知の環境汚染物質の影響予測にも有効であることが示唆された。

このほかサブテーマ1では、ヒト、マウス、ラットのリンパ球における遺伝子発現を指標としたダイオキシン感受性の比較を行い、ヒトリンパ球がダイオキシンに対する感受性が高いことを明らかにした。またヒトとマウスにおけるダイオキシン感受性の種差決定に関与する因子を明らかにした。

サブテーマ2では、DNAアレイを用いた植物への環境ストレス影響評価手法の開発を行った。シロイヌナズナにオゾン、紫外線、酸性雨、SO₂の各ストレスを与え、Affimetrix社のマイクロアレイを用いて遺伝子発現の網羅的解析を行い、各ストレスに対して特異的に発現する遺伝子を選抜した。上記で選抜された遺伝子のcDNAをシロイヌナズナから単離し、カスタムメイドのサブセットcDNAマイクロアレイを作製し、これを用いて各ストレスにตอบสนองする遺伝子の詳細な発現解析を行った。その結果から、さらに各ストレスで無処理の植物に対して発現上昇の割合が高い上位3-4種類の遺伝子を選抜してミニ

マクロアレイを作製した(図2)。本研究の結果から、少なくともオゾン、SO₂及び紫外線に特異的に発現応答する遺伝子を明らかにすることができた。これにより遺伝子発現による植物の環境ストレス診断の精度が上昇することが期待される。

このほかサブテーマ2では、微生物群集構造解析用DNAマイクロアレイの作製、DNAマイクロアレイを用いた直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩(LAS)の微生物に対する影響評価、培養可能な微生物遺伝子の網羅的解析による土壌生態系への影響評価法の開発、メダカにおいて残留性有機汚染物質perfluorooctanoic acid(PFOA)により特異的に発現される遺伝子群の同定を行った。

サブテーマ3では、ダイオキシン類曝露による遺伝子発現変動解析を集積し、外部閲覧者が容易に実験データを検索できるシステムを公開データベースとして構築することを目的として、ダイオキシン応答性遺伝子データベースの開発を行った。また、本特別研究で得られた成果を中心に、環境汚染物質の生体・生物影響研究におけるトキシコゲノミクスの利用例やその有効性をインターネットで紹介するためのサイト、NIESトキシコゲノミクスサイト(図3)を作成し、国立環境研究所ホームページにサイトをもつ公式ホームページとして公開した。

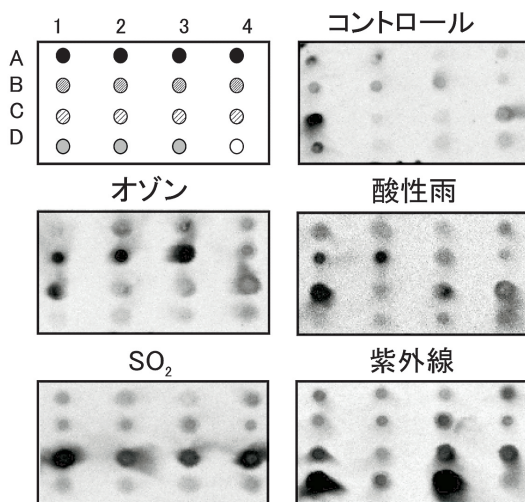


図2 ミニマイクロアレイによるストレス診断ミニマイクロアレイを用いた様々なストレスにおける遺伝子発現パターンを示す。
A1~4: 酸性雨誘導性遺伝子, B1~4: オゾン誘導性遺伝子, C1~4: SO₂誘導性遺伝子, D1~3: 紫外線誘導性遺伝子, D4: コントロール遺伝子



図3 NIESトキシコゲノミクスサイトのトップページ

本研究の成果は、今後さらに、環境汚染物質の生体・生物影響の系統的・網羅的評価システム構築を可能とするための重要なステップになると私たちは考えている。

2. 特別研究（平成 19-22 年）：エピジェネティクス作用を包括したトキシコゲノミクスによる環境化学物質の影響評価法開発のための研究

各種の環境化学物質について、胎児期曝露の影響が成長後に現れるなどの後発影響や、経世代影響の存在が疑われているが、そのメカニズムや曝露と影響の因果関係は多くの場合不明である。最近、ジェネティクスと並ぶ基本的な生命現象のメカニズムとして、また後発・経世代影響のメカニズムとして、「エピジェネティクス」の重要性が明らかにされつつあり、ライフサイエンスの分野で大きな注目を集めている。エピジェネティクス作用の主なメカニズムは、遺伝子（DNA）のメチル化と DNA を支持しているヒストンのメチル化やアセチル化修飾による遺伝子発現調節である。

最近の研究で、無機ヒ素がエピジェネティクス作用によって癌を発症させることが示唆されている。無機ヒ素はアジアをはじめとした世界各国で地下水汚染をひきおこしており、中でも曝露後 30 年ほど後に癌を発症することが深刻な問題となっている。無機ヒ素による発癌にエピジェネティクスが関与するか否かが明らかになることによって、影響検出や影響予測が大きく進歩することが予想されるが、無機ヒ素のエピジェネティクス作用に関してはまだ不明の点も多く残されている。

このような背景から、本研究では無機ヒ素、および最近同じくエピジェネティクスの関与が示唆されている残留性環境汚染物質であるダイオキシンに着目し、実験動物においてエピジェネティクス作用の影響を受ける時期、臓器・細胞や標的遺伝子を明らかにし、これらの化学物質の生体影響においてエピジェネティクス作用がどの程度重要であるかの見通しを示すことを目的として、本プロジェクトを開始した。

妊娠中に無機ヒ素（亜ヒ酸）曝露を受けた C3H マウスの仔が 18 ヶ月齢以降に肝がんを高率に発症することが報告されている。そのメカニズムとして、無機ヒ素の胎児期曝露によってエストロゲンレセプター- α (ER α) 遺伝子プロモーター領域の DNA 低メチル化がおり、その結果 ER α の発現が上昇し、癌につながることを示唆されている。この結果を追試し、無機ヒ素による DNA メチル化変化のメカニズムや、さらに他の臓器への影響、他の遺伝子の発現変化に関して詳細な検討を行うために、マウスの繁殖・曝露実験を開始した。

これまでに出産直前の胎児および生後 4 ヶ月齢の仔の肝臓および肺について、ER α や DNA メチル化修飾によって発現が変化することが報告されている癌関連遺伝子の DNA メチル化の検討を行った。その結果、4 ヶ月齢までは対照群と無機ヒ素曝露群で顕著な差は見いだされないことを明らかにした。一方、無機ヒ素曝露によってオス胎仔脳の ER α の mRNA 発現量が低下すること、雌雄胎仔それぞれの脳で発現量が変化するタンパク質のあることを明らかにした。これらの結果から、胎生期の無機ヒ素曝露が ER α に影響を及ぼすことによって脳の発達と性分化に影響を及ぼす可能性が示唆され、エピジェネティクスを含む作用メカニズムの詳細な解析が必要であると考えられた。

今後無機ヒ素の胎児期曝露を受けたマウスについて、約 18 ヶ月齢以降に発癌率や DNA メチル化の関与、病理検査等を行い、無機ヒ素曝露の影響を検討する予定である。

マウスへの飲水による無機ヒ素長期曝露では肺がんが増加し、癌抑制遺伝子である p16^{INK4a} のプロモーター領域 DNA メチル化の亢進と p16^{INK4a} の発現低下が報告されている。この報告は無機ヒ素が DNA メチル化変化を介して癌抑制遺伝子の発現を抑制し、癌を誘導することを示唆しているとも考えられるが、実際に無機ヒ素が p16^{INK4a} のプロモーター領域 DNA メチル化変化の原因となったのか、または無機ヒ素による発癌の結果 DNA メチル化変化がおこったのかは明らかにされていない。そこで本研究において、C57 BL/6 マウス雌雄に 50 週間無機ヒ素を含む飲水を投与し、肝臓と肺の遺伝子発現変化を調べた。

その結果、無機ヒ素によって雄の肝臓でのみ p16^{INK4a} の発現が大きく減少することが明らかとなった（図 1）。

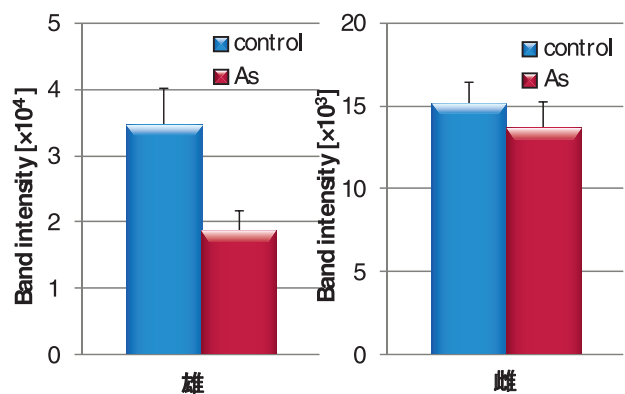


図 1 p16^{INK4a} mRNA の発現変化

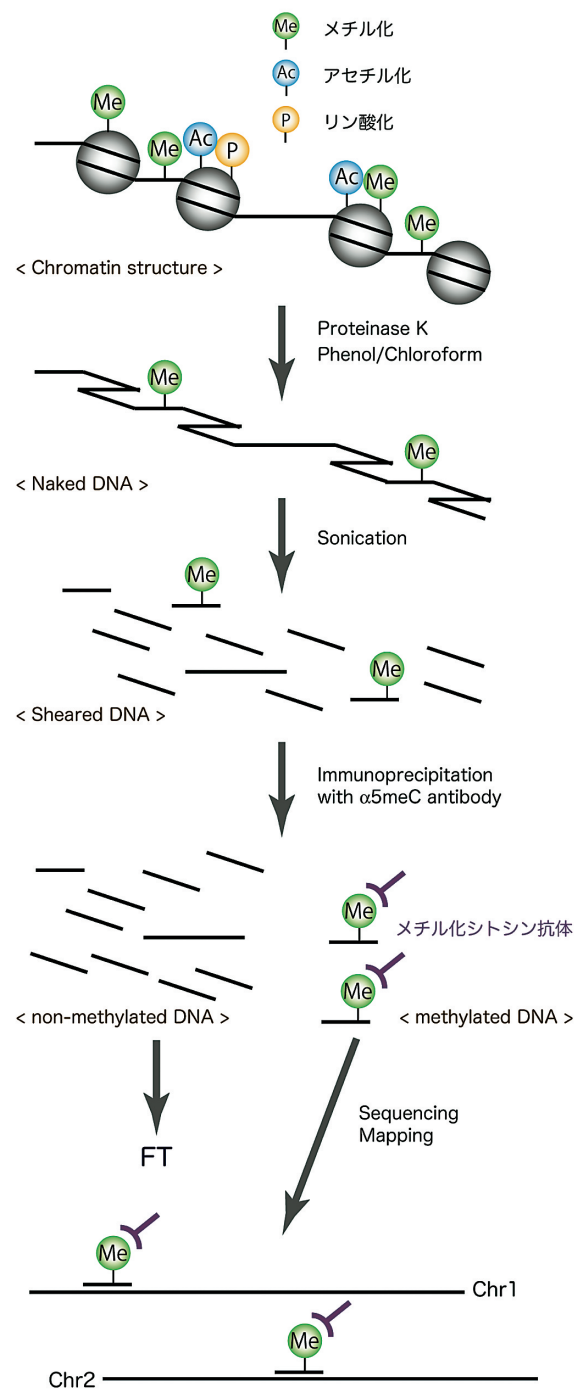
しかし p16^{INK4a} プロモーター領域のメチル化状態は無機ヒ素曝露により変化していなかった。以上の結果から、無機ヒ素は DNA メチル化変化を介さずに p16^{INK4a} の発現を減少させること、およびその作用には性差があることが示された。無機ヒ素による p16^{INK4a} 発現変化のメカニズムに関して、さらにヒストン修飾や転写因子の関与について検討を行っている。無機ヒ素によって誘導されるこれらの変化と発癌との関連についても検討が必要である。

さらに無機ヒ素の長期曝露による生体影響を検索するために、各種臓器の病理学的検討を行っている。この他、無機ヒ素が DNA メチル基供与体である S-アデノシルメチオニン (SAM) を消費することによって DNA メチル化に変化を及ぼすことが報告されていることから、無機ヒ素長期曝露を行ったマウスの各種臓器における SAM の測定を行っている。

また無機ヒ素によって DNA メチル化変化を受ける遺伝子を明らかにするために、MeDIP (Methylated DNA Immunoprecipitation)-Seq 法 (図 2) によるゲノムワイドな解析に着手したところである。

3. 特別研究 (平成 18-20 年) : 侵入生物・遺伝子組換え生物による遺伝的多様性影響評価に関する研究

地球上の生態系は、地域ごとに固有な遺伝子組成を持った多様な生物から構成されている。遺伝的多様性を低下させる大きな要因の一つとして生物学的侵入 (侵入生物) がある。特に注目されるのは、侵入生物と在来生物との交雑による雑種形成や侵入生物自体が優占種となることで、在来生物集団の遺伝的多様性に対して影響を与える場合である。実際に人為的な移動により、セイヨウオオマルハナバチやタイリクバラタナゴなどの外来生物が導入された結果、在来生物と交雑し、在来生物の固有性を脅かしていることが問題となっている。また、輸入された遺伝子組換え植物が野外で生育を始めており、除草剤耐性遺伝子が近縁種集団へ移行することが懸念されている。このように侵入生物及び組換え生物が遺伝的多様性に与える影響は、学術的にも社会的にも関心を集めているが、これらの生物の交雑実態や遺伝的多様性への影響はまだ十分に明らかとなっていない。一方、我が国は生物多様性条約を批准しており、生物多様性の保全に努めることは国際的な責務である。条約履行を裏付



配列決定されたメチル化 DNA 断片のゲノムへの Mapping (イメージ)

図 2 MeDIP-Seq 法の原理

け、生物の輸出入等による生物多様性への悪影響を防止するために「カルタヘナ法」や「外来生物法」がすでに施行されており、侵入生物に関する研究や情報収集が急務とされる。本研究では侵入生物及び組換え生物が在来生物の遺伝的多様性へ与える影響を評価することを目的として、(1) 遺伝子組換え植物の環境中における分布推移を調査するとともに組換え遺伝子が在来生物集団へ浸透するプロセスの研究 (2) 導入昆虫類がもたらす遺

伝的攪乱に関する研究 (3) 淡水魚の地域集団外からの移殖実態について調査し、その多様性影響評価の研究をおこなった。

(1) 輸入されているセイヨウアブラナ (*Brassica napus* L) の種子に混在する除草剤耐性遺伝子組換えセイヨウアブラナ (以下 GM セイヨウアブラナ) が一般環境中に生育しているかどうかの調査をおこない、遺伝子組換え植物の拡散状態の現状把握を行うことを目的として、関東地方の幹線道路沿いに生育している GM セイヨウアブラナの調査を行った。2005 年度から 2007 年度までの調査の結果、国道 51 号線沿いに生育しているセイヨウアブラナの数、2005 年度において 2162 個体であったが 2007 年度には 278 個体に減少していた。組換えナタネについても同様の傾向が見られ、2005 年度においては 35 個体生育していたものが、2007 年度は 5 個体に減少していた (図 1)。調査を 1 km ごとに区切って分布の頻度を調べたが、組換え体、非組換え体とも一カ所をのぞいて、分布の偏りはみられなかった。以上のことから、国道 51 号線に分布しているセイヨウアブラナは、世代交代した種子が発芽したのではなく、毎年こぼれ落ちた種子が発芽している可能性が高いと推定された。

(2) 特定外来生物に指定されている農業用花粉媒介昆虫セイヨウオオマルハナバチの代替種として商品化が進められている在来種クロマルハナバチのアジア地域における進化的重要単位を探るために、中国、韓国、および日本各地よりサンプルを採集してミトコンドリア DNA チトクロムオキシダーゼ遺伝子領域 (mtDNA-CO) の 1000 塩基配列を解析した。その結果、日本列島のクロマルハナバチは大陸産個体群を起源として 17 万年前までに日本列島に渡り、その後大陸から孤立して独自の遺伝子組成を持つ集

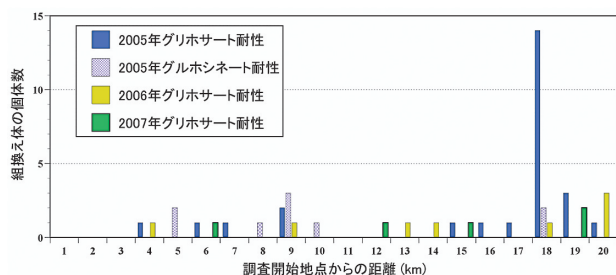


図 1 国道 51 号線沿いにおける GM セイヨウアブラナの分布

団に分化していることが明らかとなった (図 2)。またヒラタクワガタについては、中国産のサンプルが入手できて、アジア地域の DNA 系統樹が完成した。それに基づけば日本列島のヒラタクワガタ個体群は中国を起源として約 150 万年かけて島ごとに分化を果たしたことが示された。さらに東南アジア地域における遺伝的分化プロセスも明らかとなり、スラランド大陸が列島として分化した地史的順序も明らかとなった。さらに交雑実験を繰り返した結果、分化して 100 万年以下の個体群同士の場合は交雑和合性が低く、100 年以上の場合は交雑和合性が高くなる傾向が示され、通常、負相関関係を示す交雑和合性と遺伝的距離がクワガタの場合、正の相関を示すことが明らかとなった。

(3) 淡水魚オイカワ *Zacco platypus* の琵琶湖系統は近年琵琶湖産アユ放流が盛んになるにつれて、全国的に分布するようになった。脊椎骨数などの形態調査によれば、琵琶湖系統は他水系のものとは明確な違いがあり、地理系統が本来の分布域外に定着する同種内外来に当たると考えられる。関東地方河川では琵琶湖系統定着以前からオイカワの生息が確認されているため、現在では異なる地理系統が混在しているとみなされていたが、遺伝子による確認はなされていなかった。そこで本研究では遺伝子情報にもとづいて両系統を判別し関東地方河川における分布実態を調査している。その結果、第一の成果として、関東・琵琶湖両系統がミトコンドリア DNA 塩基配列

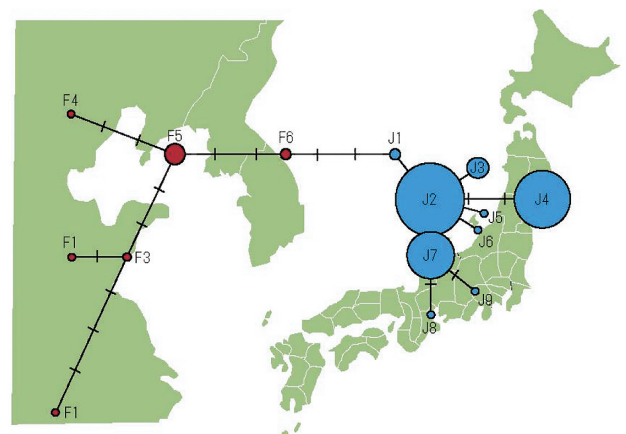


図 2 クロマルハナバチの mtDNA-CO1 遺伝子ハプロタイプネットワーク系統樹。F1~F 6 が中国・韓国産個体で、J1~J9 が日本列島産個体。日本産個体が大陸産個体から派生して分化していることがわかる。

変異を用いて確認され（図3）、系統の出現頻度に河川による違いが認められた。次に両系統がどの程度交雑しているかを確かめるために、仔魚の系統判別により両系統の繁殖時期を調べたところ、系統の出現頻度に季節的な違いはなく、仮に繁殖集団が分かれているとしても季節的ではないことがわかった。したがって、実際には交雑している可能性が高まった。一方、仔魚でも河川による系統出現頻度の違いが認められ、それは成魚における系統出現頻度の違いと一致していた。これは河川への侵入量の違いが反映されたとも考えられるが、侵入源の琵琶湖産アユ放流量には明確な違いが認められなかった。両系統の間には元々の生息環境を反映した生態の差異が想定されるため、今後河川環境条件との関連を検討する予定である。

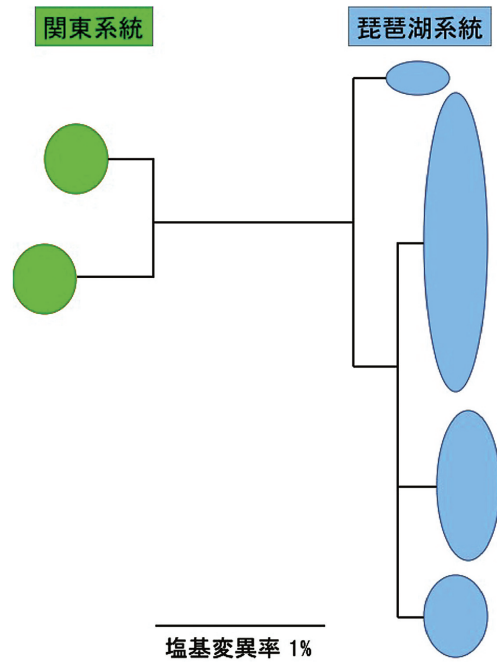


図3 関東河川産オイカワから見つかったミトコンドリア DNA 塩基配列変異群の系統樹 関東系統（緑色）・琵琶湖系統（水色）は各々2群・4群にまとめられた。横軸は塩基変異率（%），楕円の高さは各群に含まれる変異配列の概数を表わす。

VII. その他の活動

1. 化学物質リスク総合解析手法と基盤の開発

近年、化学物質の問題は複雑化・多様化している。対象となる化学物質自体の数が増加しており、各化学物質はそれぞれ主要な用途や排出経路が異なるため、様々な化学物質のリスクを考慮するには、化学物質特有の情報以外にも、社会経済、地理情報など様々な情報を利用しなければならない。特にリスクの地域特性を把握するなど、より高精度の曝露評価を達成するためにはそれらの情報を有効活用する必要がある。また、環境中での実測調査は様々な地点、媒体で実施されており、サンプリング方法の違いなどによりその時間スケールも異なる。モデル予測も対象とする空間的・時間的スケールが大きく異なる手法が利用されつつある。これに対し、空間データを扱う手法であるGISの技術は様々な分野で活用されており、情報化社会の進展に伴い、多くの社会基盤情報が電子化され平易に扱えるようになってきた。このように複雑化・大容量化する関連情報を効率的に蓄積し、利用することによりリスク解析の総合化と高精度化を進める必要がある。そこで、曝露関連情報の蓄積と、これを用いた曝露量の解析・評価を効率的に実施するシステムを開発し、これを事例としてリスク総合化の一つの手段として貢献することを目的としてデータの蓄積とシステムの開発を行った。

関連情報として、土地利用区分、年齢層別人口、産業種類別従業者数事業所数などの社会基盤データ、流量、気温、降水量などの気象関連データ、モデル予測結果などの予測データを、メッシュや市町村の地理区分情報として収集・蓄積した。地理区分や時間特性が異なる様々な形式のデータに対応できるように、データ形式等を集約したメタデータ情報として収録するデータベース構造を設計し、情報の集約に努めている。収録データを、参照元別、データ構造別、時間区分・地理区分別に階層的に管理し、各階層におけるメタデータをそれぞれ管理することにより複雑なデータに対応可能な構造とした(図1)。メタデータとして地理区分の種類や時間区分の種類を管理することにより、異なるデータベースのデータ間での情報の自動結合を可能にした。

収録したデータを扱うために、基本的な操作を行うインターフェイスを開発した。基本的な操作として、時間

的地理的に範囲指定して抜粋データを表示・出力する機能や、選択フィールドの基礎統計量の算出表示、選択データのヒストグラムや累積確率分布図、円グラフを表示する機能を構築した。また、市区町村とメッシュ間、流域界とメッシュ間など異なる地理区分間のデータを相互に利用するために、地理区分の変換機能を設計し、Webインターフェイスから操作可能にした(図2)。多媒体モデルであるG-CIEMSモデルの出力結果に関しては、社会基盤情報などの他の収録データを地理区分変換後に結合して表示する機能を構築しモデル予測結果のより簡便な解析を可能にした。その機能により、例えば単位流域内の河川濃度とその流域の人口を一覧表として出力することが可能である。

曝露評価において食品経由の曝露は重要な経路の一つであり、その化学物質濃度が地理特異性を有する場合は、流通フローを介して曝露に至る経路を解析することは重要な課題である。そこで、モデル予測結果や実測結果を濃度データとして用いて、環境中濃度から食品中濃度を計算し、流通フローを介して消費地ベースでの食品中濃度の地理分布を計算するシステムの構築を実施している。

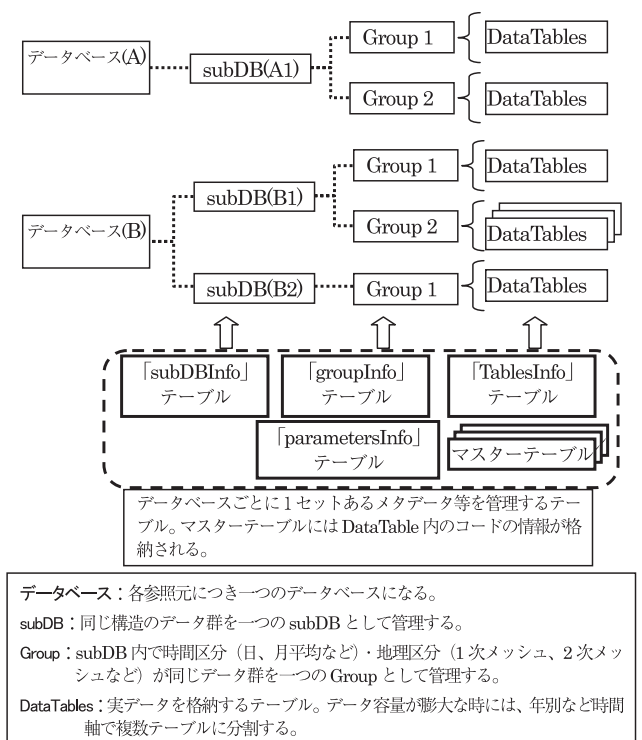


図1 様々なデータに対応可能なデータベースの設計

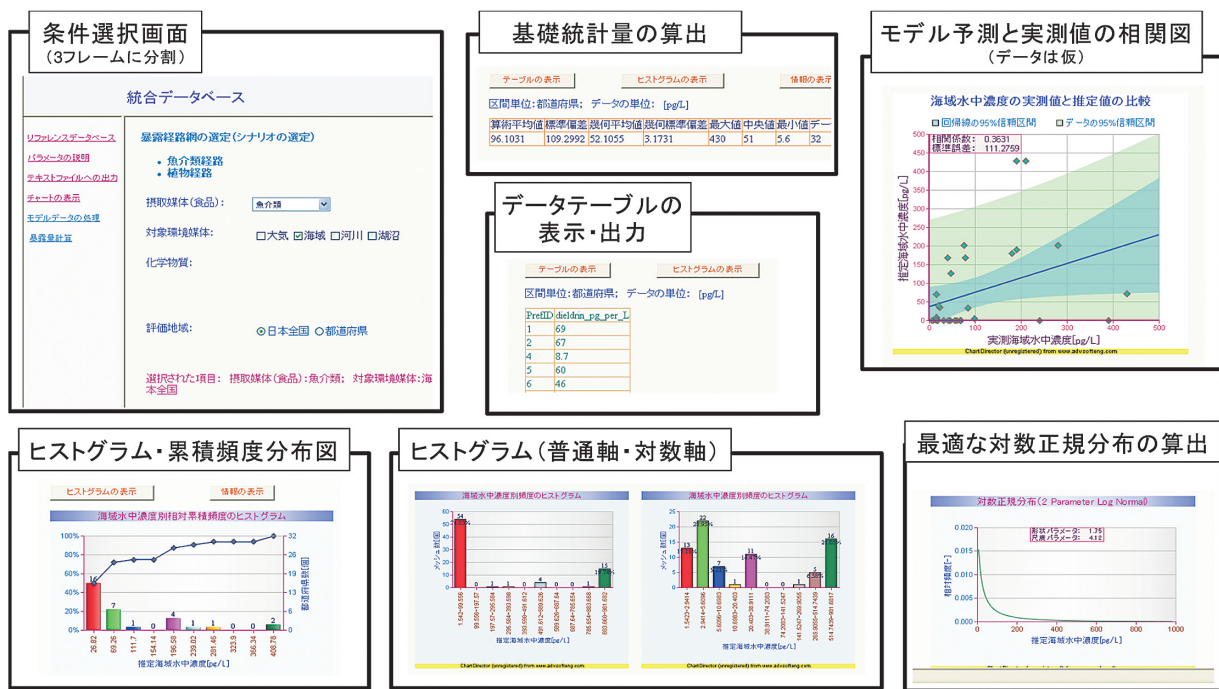


図2 Web インターフェイス出力例

2. 化学物質環境調査による曝露評価の高度化に関する研究

2.1 研究の目的と経緯

化学物質の曝露評価には、環境中の濃度を調査するだけでなく、実際に生体が受けた量（曝露量）を測定することが重要である。曝露された化学物質は生体内で代謝を受けるため、全体の曝露量を把握するためには、代謝物を含めた測定・評価が必要である。本研究では、化学物質環境調査による曝露評価の高度化を目指し、生体試料中における有機毒性物質、特に揮発及び半揮発性有機化合物などについてその代謝物を含めた簡易分析法の開発を行うものとする。即ち、血液や尿などの生体試料から、生体が受けた曝露量を評価するとともに、体内動態解析に適用する。本課題の前半では、実験動物を使用した高感度・簡易分析法の開発を行い、後半ではその分析法を体内動態解析や曝露評価への適用を試みる計画である。本年度までに、微量血液中のトルエン濃度測定法を開発し、また低濃度トルエン曝露の生体影響についても知見を得たので報告する。

2.2 研究の成果

2.2.1 ヘッドスペース-マイクロ固相抽出 (SPME)-GC/MS による胎仔血中トルエン濃度測定法の開発

トルエンは最も一般的な有機溶剤であり、化学物質排出移動量届出制度 (PRTR) における排出量も最も多い

化合物である。トルエンは室内空気汚染物質の代表のひとつであり、新築住宅や増改築時にその室内濃度が高い傾向があることが知られているため、小児や胎児に対する影響評価も重要であると考えられる。

本研究では、胎児及び幼児のトルエン曝露評価法の開発研究に必要な、モデル動物を用いた体内動態研究のための、微量血液中トルエン濃度測定法の開発を行なった。

まず、2 mL の超純水にラットの血液を 5 μ L 加え、20 mL のバイアル中で測定を行った。1 ng のトルエンと、内部標準として 1 ng の d_8 -トルエンを添加して測定したところ、 d_8 -トルエンから算出した回収率は 16 % に過ぎなかった。一方、トルエンの回収率は 267 % になり、実験室内空気からのトルエンの混入が考えられた。そこで 2 mL のセプタム付きバイアルを使用し、試料の希釈に用いる超純水を 400 μ L として測定したところ、 d_8 -トルエンの回収率は 61 %、トルエンの回収率は 101 % と良好な値となった。今回測定する胎仔の血液のように、微量な試料量しか得られず、また試料中トルエン濃度が希薄の場合は、回収率の向上やバックグラウンドの低減が重要であり、そのためには、容量の小さなバイアルを用いることが有効であることが認められた。上記の他種々検討の結果、血中トルエンの定量には、あらかじめ GC のインジェクションポートにキャリアーガスを流しながら 250 $^{\circ}$ C で 20 分間以上加熱処理した SPME ファ

イバー (Stable Flex fiber) (10 mm of length, 85 μ m PDMS/DVB) を用い、5 μ L の血液をガラス製定量キャピラリーを用いて採取し、400 μ L の超純水、ヘパリン及び攪拌子を入れた 2 mL のセプタム付きバイアルに、採取した血液と内部標準 (d_8 -トルエン, 10 μ g/mL \times 1 μ L) を添加し、ヘッドスペース法に供した。即ち、試料の入ったバイアルを室温で攪拌しながら SPME ファイバーを刺し、2 分間バイアル内気体に曝して揮発したトルエンを捕集した。SPME ファイバーは捕集後直ちに GC/MS で定量分析した。なお、実験毎に血液を加えないブランクを用意し、測定値からブランク値を減じた値を定量値とした。

図 1 には、Long Evans ラットを妊娠 15 日目から 5 日間、9 ppm のトルエンを一日に 1 回 90 分間それぞれ吸入曝露し、トルエンの最終曝露後に開腹して測定した胎仔及び母獣の血中トルエンを測定した際のクロマトグラム の例を示す。SIM モードで測定した場合、妨害なく良好なクロマトグラムが得られた。表 1 には、9 ppm 及び 90 ppm のトルエンを曝露した場合の母体及び胎仔血中トルエン濃度をまとめて示した。血中トルエン濃度は曝露

終了後すみやかに減少することが予想されたため、1 母体あたり 4~6 検体の胎仔血液を採取することとし、母体血液採取の順番は胎仔検体の中間とした。しかし 1 母体及び 6 胎仔からの血液採取に要した時間は 10 分以内であり、胎仔の血液濃度からは、採取順序による濃度の差は認められなかった。表 1 に示した通り、母体・胎仔ともに血中濃度は曝露したトルエン濃度の増加に伴って大きくなることが認められた。また、母体血液の方が胎仔血液よりも高いトルエン濃度を示す傾向がみられた。

2.2.2 妊娠後期におけるトルエンの低濃度曝露による母獣及び胎仔への影響

妊娠 Long-Evans ラットにトルエン (0, 0.09, 0.9, 9, 90 ppm) を鼻部吸入曝露し (妊娠 15-19 日の 5 日間, 90 min/day), 妊娠 19 日目の曝露終了後、ネブタールにより深麻酔し、解剖に供して母体および胎仔の体重、脳・肝臓の重量測定、胎仔数の計測を行なったところ、母体の体重、脳および肝臓重量、胎仔数は清浄空気を曝露した対照群とトルエン曝露群との間に有意差は認められなかった。一方、胎仔の体重、脳および肝臓重量に対

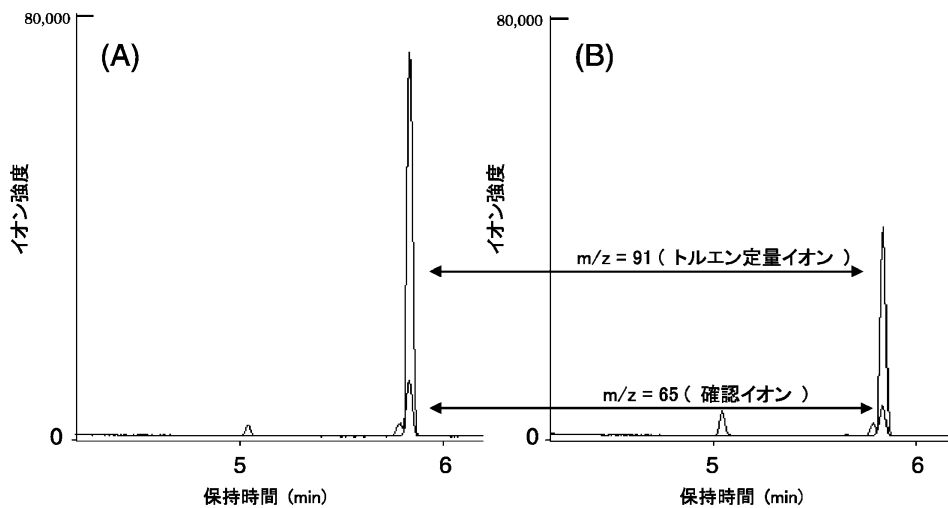


図 1 ヘッドスペース-SPME 法による胎仔及び母獣血液中毒ルエン測定時のクロマトグラム : (A) 90 ppm トルエンを曝露した母獣の血液, (B) 90 ppm トルエンを曝露した母獣ラットから抽出した胎仔の血液

表 1 妊娠後期にトルエンを吸入曝露した母獣及びその胎仔血中毒ルエン濃度

曝露濃度 (ppm)	血中毒ルエン濃度			
	母ラット	n	胎仔	n
対照群	0.1 \pm 0.06	3	0.02 \pm 0.02	12
9	0.1 \pm 0.03*	3	0.07 \pm 0.03*	17
90	3.5 \pm 1.5*	4	2.0 \pm 0.51*	16

* 対照群に対する有意差あり (P < 0.01)

表2 胎仔の体重、脳重量および肝臓重量へのトルエン曝露の影響

トルエン曝露濃度 (ppm)	胎仔性別	体重 (g)	脳重量 (mg)	肝臓重量 (mg)
0	F	1.82 ± 0.085 a	139.9 ± 6.34 a	164.9 ± 9.47 a
0.09	F	1.35 ± 0.026 b	92.7 ± 1.94 b	131.9 ± 3.17 b
0.9	F	1.44 ± 0.027 b	120.1 ± 1.70 c	133.9 ± 3.70 b
9	F	1.35 ± 0.020 b	125.0 ± 2.31 ac	118.8 ± 3.54 b
90	F	1.39 ± 0.019 b	127.5 ± 1.65 ac	133.6 ± 3.56 b
0	M	1.89 ± 0.073 a	142.0 ± 6.26 a	166.2 ± 6.70 a
0.09	M	1.45 ± 0.020 b	96.7 ± 2.11 b	141.6 ± 2.71 b
0.9	M	1.44 ± 0.029 b	120.1 ± 1.65 c	128.2 ± 3.99 b
9	M	1.42 ± 0.018 b	124.9 ± 2.01 c	127.1 ± 3.38 b
90	M	1.46 ± 0.017 b	130.2 ± 1.47 ac	139.9 ± 2.91 b

異なるアルファベットで示される値の間には有意差 (p < 0.05) がみられる

してはトルエン曝露による有意な影響が認められた (表2)。トルエン曝露群の雌雄胎仔の体重および肝臓重量は対照群に比べて有意に少なかった。脳重量も0.09, 0.9あるいは9 ppmのトルエン曝露によって有意に減少したが、90 ppmトルエン曝露群と対照群の間には有意差はなかった。胎仔の体重、脳および肝臓重量へのトルエン曝露の影響の性差は見られなかった。前項で述べた通り、母体および胎仔の血中トルエン濃度は曝露量依存的に増加し、母体のトルエン濃度は胎仔よりも高かった。吸入曝露したトルエンの生体内濃度は曝露直後より急速に低下するが、脂質含量が高い組織には蓄積され易い。胎仔は成体に比べて脂質量が少ないことが、母体と胎仔の血中トルエン濃度の違いの原因と考えられた。

次にトルエン代謝を触媒するシトクロム P 450 2E1 (CYP2E1) の肝臓におけるタンパク質発現をウェスタンブロット法により解析した結果、母体の肝臓ではCYP2E1のタンパク質発現が確認されたが、胎仔の発現量は極めて低レベルであり、母体との間に有意差が認められた (図2)。CYP2E1タンパク質発現に対するトルエン曝露の影響はなく、雌雄胎仔との間にも違いはみられなかった。これらのことから、曝露したトルエンを代謝する能力は胎仔では低く、その代謝は母体に依存していることが示唆された。

2.3 まとめと今後の展望

微小血液中トルエン濃度の簡易測定法として、ヘッドスペース-SPME-GC/MS法を適用した。今後は更に低濃度曝露実験に対応できるだけの定量下限値を得るために改良を進める必要がある。一方、生体影響については、胎仔の体重、脳・肝臓重量がトルエン曝露によって

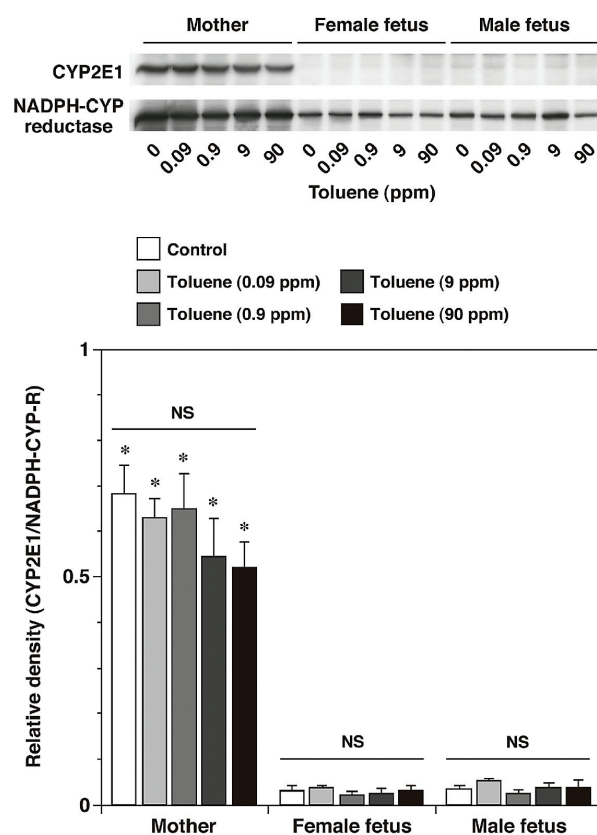


図2 母体および胎仔の肝臓におけるCYP 2 E 1タンパク質発現

有意に減少することをみとめたが、母体の体重、脳・肝臓重量への影響はみられなかった。母体の肝臓では高レベルのCYP2E1発現を確認したが、胎仔での発現は殆ど見られず極めて低レベルであった。

今後は代謝物の定量法の確立を進める予定であり、羊水中当該物質の代謝物濃度のLC/MS/MS及びGC/MS等による測定法を検討しているところである。また妊娠ラットへのVOCの長時間曝露実験の準備も進め、鼻部曝露よりも物理的なストレスが少ない全身曝露チャン

バーの試作品を製作したところである。1日あたり8時間、50 ppm 及び 10 ppm 濃度のトルエン連続曝露を試行したところ、比較的安定した曝露濃度を保つことが可能であった。以降は本チャンバーを利用し、曝露動物の生体試料中トルエン濃度及び代謝物濃度測定法の開発を進める予定である。また同時に対象化学物質を広げて検討を進めてゆく予定である。

3. 化学物質管理のための生態影響試験法および生態リスク評価法の検討

3.1 背景

化学物質の生態リスク評価の精度を高めるためには、広範な生態系や種群への生態毒性データの拡充とともに、生態学的に妥当な解析法の開発が必要である。本研究では、OECD生態毒性試験ガイドライン策定の動向を踏まえ、土壌動物（陸生ミミズ、トビムシ等）の利用による生態毒性試験法の土壌生態系への拡張、魚類胚毒性試験による生態毒性試験簡易化の可能性の検討を行った。さらに、生態影響の定量的リスク推定の高精度化を目指して、数理生態学モデルの適用による水域生態系の生態リスク評価手法に関する研究を行った。

3.2 研究成果

土壌動物を用いた生態毒性試験法の検討

シマミミズ (*Eisenia fetida*) を用いた試験法については OECD テストガイドライン (以下 TG) 222 に従い、推奨される参照物質を用いてシマミミズの繁殖試験の検討を行った。殺菌剤ベノミルをモデル系とした繁殖試験では、良好な用量反応関係が得られ (図 1)、試験の再

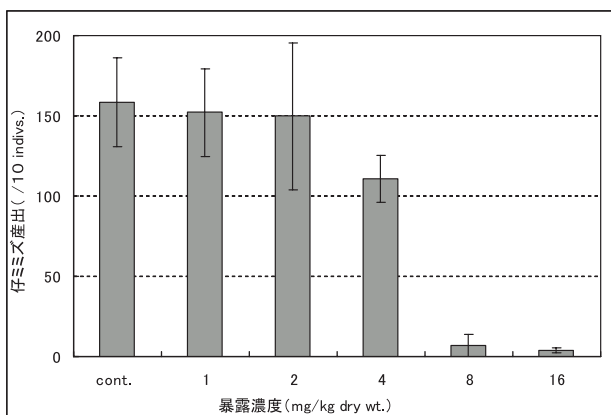


図 1 OECD テストガイドライン 222 (ミミズ繁殖試験) に準拠したベノミル (殺菌剤 Benomyl) の試験結果：ばく露濃度 (土壌中ベノミル濃度) と生まれた仔ミミズの総数との関係

現性は国際リングテストの結果ともよく一致した。シマミミズ繁殖試験法の概要は次の通りである。

- 1) ミミズ繁殖試験の餌として、押麦・ハウレンソウ粉末 (4 : 1 混合) が適している。
- 2) 繁殖影響試験の成立基準として、仔ミミズ数の産出数が少なくとも 60 個体以上であることが妥当と考えられる。
- 3) 親ミミズ曝露後の孵化仔ミミズへの給餌の方法として、最初の給餌を 1 g とし、カビ発生の防止のため、その後は摂食量を見ながら適宜適量を与えること。
- 4) 繁殖試験は 8 週間を要する。OECD テストガイドラインでは、試験開始の 4 週間後に親ミミズを除去し、その後の 4 週間でコクーンから孵化する仔ミミズの数为主要なエンドポイントとしている。これ以外に、卵 (コクーン在中) の孵化率、1 コクーン当たりの孵化数などが妥当なエンドポイントとして考えられ、繁殖試験の付加的な情報として検討した。

上記検討を参照しつつ、シマミミズ繁殖試験標準試験手順書 (案) 作成した。

トビムシ繁殖試験について既存データの収集を行った。また国際リングテストの結果が当該専門家グループ事務局 (OECD, デンマークがリード国) から示され、日本での同試験の実施可能性について検討した。

魚類胚毒性試験 (FET) の魚類急性毒性試験法としての妥当性を実験的に検証した。その結果、(a) 試験期間がゼブラフィッシュでは短縮できるもののメダカでは魚類急性毒性試験の 96 時間より延長すること、(b) 卵膜の透過性の違いに基づくと考えられる毒性値の違いが見られること、(c) 胚期および後胚期それぞれに特異的に効く (効かない) 薬剤が存在すること、(d) ドラフトテストガイドラインで設定されたエンドポイントでは把握できない毒性 (反応) があること、などの結果が得られた。結果は、OECD 生態毒性専門家会合で発表し、FET 試験は 48 時間試験とすること、既存の魚類を用いたテストガイドラインとの関係を明確にすることなど、が合意された。このような動向を踏まえ、魚種による試験法詳細および (試験条件・急性毒性値との比) の比較データのまとめ、さらにカテゴリー化した上で、FET と TG 203 毒性値との相関を検討した。

淡水生態系 3 栄養段階モデルによる解析

藻類-ミジンコ-メダカを念頭に置いた 3 種系モデル

を作成し、メダカ個体群の絶滅を最終的な評価基準とする生態リスク評価手法の研究を行った。従来の個体群モデルによる解析では、対象種の生存率や繁殖力の対する毒性効果の生活史段階による違いは解析に組み込むことはできても、食うものとの食われるものの関係に代表される種間相互作用を解する効果は解析できない。一方、実際の生態系における種間相互作用をすべて組み込むことはモデル解析の不確実性を増長する。本研究では種間相互作用と生活史ステージ（卵 [孵化率]、仔魚 [生存率]、稚魚 [生存率]、成魚 [生存率および繁殖率]）を組み込んだ最小モデルとして、藻類とミジンコに対するロトカボルテラ方程式と、メダカに対するレスリー行列モデルとの混合モデルを作成した（6次元遷移行列に基づく確率的マルコフ連鎖モデル）。これによって、化学物質の餌生物（ミジンコ、藻類）に対する作用を介する間接効果と、メダカの各生活史に対する化学毒性の違いを反映させることができる。いくつかの農薬および界面活性剤における時系列実測濃度（つくば市小貝川および桜川 SR-19-95）に対して、生態毒性データに基づいたメダカ個体群の確率的シミュレーションをおこなった。その結果、藻類増殖阻害に対する除草剤のボトムアップ効果が大きいことが示唆された（図2）。ただし、ボトムアップ効果の大きさは、藻類の減衰に対する摂食者や捕食者の反応（数の反応）に大きく左右されるため、実証データによる今後の検討が必要である。

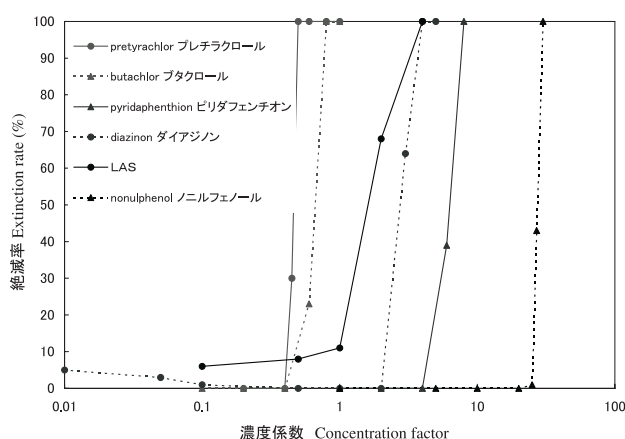


図2 3種系モデルによる絶滅リスク算定結果。各化学物質の各濃度区に対し、100世代の個体数シミュレーションを100回繰り返した。縦軸は、メダカ成魚個体数が100世代以内に0以下となった比率、横軸は観測濃度の倍数（濃度係数）として示した仮想的曝露濃度（1の場合は実測濃度）を示す。

4. 定量的構造活性相関による生態毒性予測手法の開発

4.1 研究の目的と経緯

多種類の化学物質が製造・使用されているなかで、個々の化学物質のリスク評価は精力的になされているものの、用いるデータの不足などさまざまな制約からすべての物質のリスク評価がなされた物質の数には限りがある。全ての化学物質を人の健康や環境への影響を最小化する方法で生産・消費するというWSSD 2020年目標を達成するには、動物実験など試験によらない何らかの影響評価手法の導入が必要である。この中で定量的構造活性相関（(Quantitative) Structure-Activity Relationship: (Q) SAR）への化学物質のリスク評価・管理への適用ニーズは高く、第三次環境基本計画においても「構造活性相関等の簡易・迅速な化学物質の安全性評価手法を開発し、人の健康及び生態系に与える影響について科学的知見に基づき評価を行い、適切な管理を促進します。」とされている。国際的にもQSARに対する期待は大きく、OECDにおいても(Q) SARのバリデーションのためのガイダンスドキュメントの作成や、この概念に基づいたツールボックスの配布が積極的になされている。生態毒性のQSARを開発している本課題のこれまでの成果を踏まえ、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）」改正法（改正化審法という）の生態毒性試験のエンドポイントを予測するためのシステム開発を実施し、生態毒性予測システム「KATE (Kashinhou Tool for Ecotoxicity)」として、平成20年1月31日にインターネット上で試用版 <http://kate.nies.go.jp> を公開した。

4.2 研究の成果

生態毒性の構造活性相関モデルを検討するにあたり、均一なデータセットとして環境省生態影響試験結果の魚類（メダカ）275物質、甲殻類（オオミジンコ）347物質、藻類247物質（平成7年～17年度、限度試験を除く）、ならびにEPA Fathead Minnow データベースの魚類（ファットヘッドミノー）580物質を用いることとした。改正化審法の生態毒性試験のエンドポイントは魚類で96時間半数致死濃度、甲殻類は48時間半数遊泳阻害濃度である。毒性と物質の性状の関係を全体として見ると、魚類および甲殻類の急性毒性値（ $\log(1/\text{毒性(モル濃度)})$)は図1に示すように脂溶性の指標である水-オクタノール分配係数（LogP）に良い相関があること

が知られている。図1の下辺を構成する物質群は麻酔作用による毒性を示すものであり、上方に分散する物質は麻酔作用以外の毒性を有するものと仮定し、特徴的な部分構造の有無による化合物のクラス分類と、クラス毎のLogPと毒性値の単回帰式の導出を検討課題としてモデル構築を実施した。

KATEでの毒性予測は図2に示すように、物質の構造

がSMILES, MOL形式あるいは作図の形で入力され、①部分構造の検索、②部分構造の組み合わせによるクラスの検索、③再定義されたクラス (Neutral Organics など) の検索、④毒性値の計算、⑤適用ドメイン判定が下される。構造解析のプラットフォームに米国 daylight 社のツールを利用し、毒性 (基本 SF : 129 種類, 修飾 FQ : 46 種類), LogP (基本 FG : 259 種類, 補正 FC : 378 種

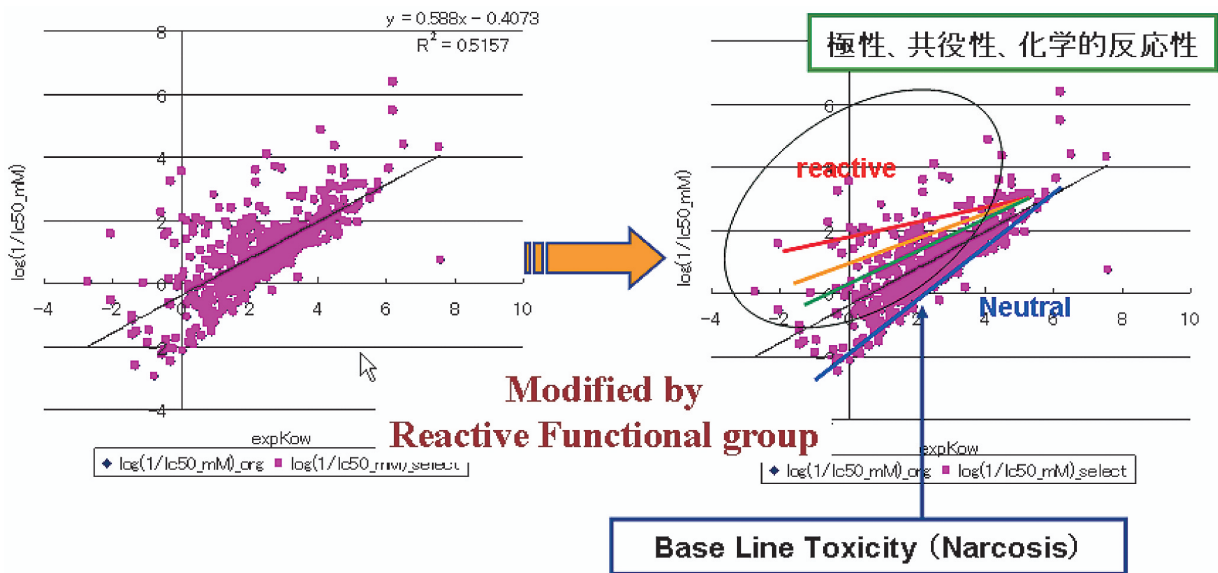


図1 A) 魚類 96 hLC 50 と水一オクタノール分配係数 (実測値) との関係, B) KATE モデルの構築方針

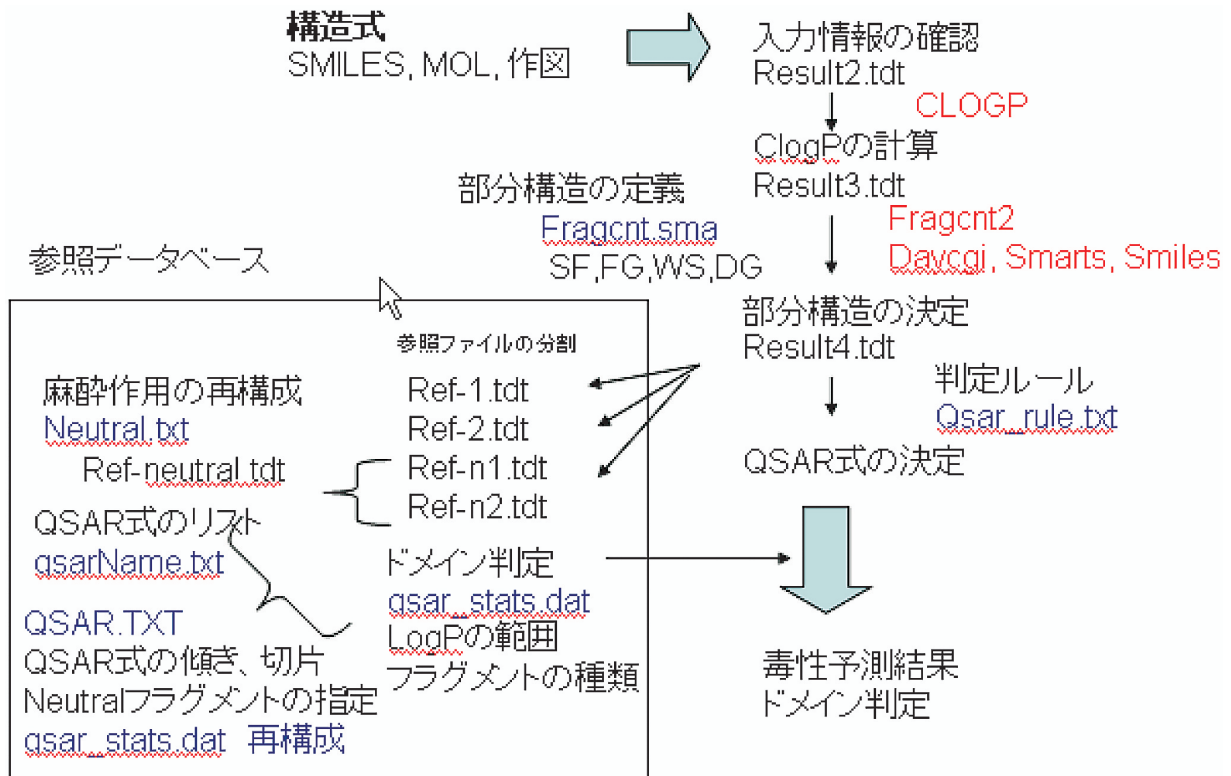


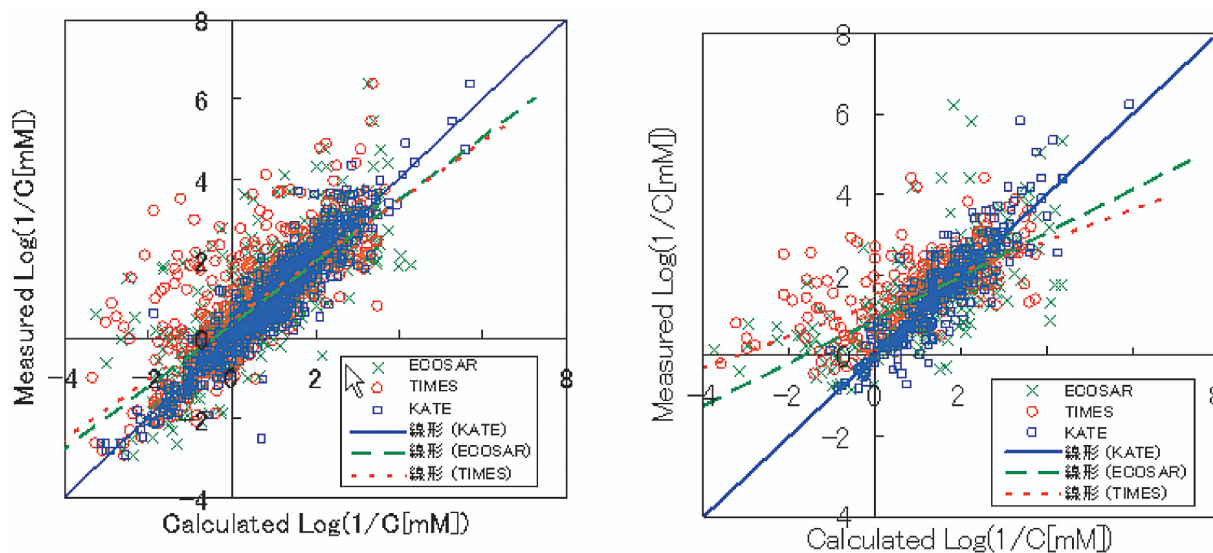
図2 KATE におけるアルゴリズム

類), 生分解性 (補正 BD: 84 種類), 水溶解度 (補正 WS: 31 種類) に重要と考えられる部分構造の定義を作成した。即ち, これら部分構造に対して, LogP, 水溶解度, 生分解性に関する数値を定めてそれぞれ与えれば, これらの特性も予測できるシステムとなっている。毒性に係るクラスは, 基本 SF と修飾 FQ の組み合わせと順位付けを記載したルール (QSAR_Rule. TXT) に基づいて分類される。麻酔作用などの同一のメカニズムが毒性の要因であると思われるクラスは再定義ルール (Neutral. txt) により統合される。このようにクラスの再定義することにより該当クラスの参照物質数が増え, 同時に部分構造の種類, logP の範囲 (適用ドメイン) の拡大を通じて, 予測可能な物質の増加につながる。現在ある再定義ルールは麻酔作用 (Neutral Organics) のみであるが, 予測精度を落とさずにさらに再定義が可能か検討中である。

KATE で考慮する適用ドメイン判定は以下のものである。構造 N 判定: 入力された構造の中に Neutral Organics クラスを構成する参照物質および該当クラスを構成する参照物質には含まれない部分構造がある場合にエラーを示す。構造 C 判定: 入力された構造の中に該当

クラスを構成する参照物質には含まれない部分構造がある場合にエラーを示す。LogP 判定: 入力された構造が当該クラスを構成する参照物質の LogP 上限と下限の間に無い場合にエラーを示す。溶解度判定: 溶解度が別途入力されたときのみ判定され, これが毒性値以下の場合にエラーを示す。既知 F 判定: 入力された構造に LogP の基本 FG にない構造がある場合にエラーを示す。複数のクラスに分類される場合は, 判定の項目がドメイン内のクラスを優先し, すべてドメイン内の場合, より細分化されたクラスを採用することになる。

魚類 96 時間半数致死濃度, 甲殻類 48 時間半数遊泳障害濃度のエンドポイントを予測する既存モデルはいくつか知られている。KATE と既存モデル (ECOSAR: 米国 EPA で開発され, 部分構造等によるクラス分類, 主に LogP との単相関による予測を行うもの, Times: Univ. of Burgas 大学で開発され, 17 種の生物種への生態急性毒性を予測する多変量モデルに基づく予測を行う) の予測性能の評価を実施した。評価は実測値と各モデルによる予測値との相関解析により行い, 傾き, 切片, 決定係数を計算した (図 3)。ECOSAR の決定係数は魚類で 0.5 であった。ECOSAR では, 魚類 400 物質 (予測可能



QSARモデル	魚類		甲殻類	
	決定係数	RMSE	決定係数	RMSE
ECOSAR	0.63	0.79	0.45	0.84
TIMES	0.58	0.84	0.40	0.88
KATE	0.86	0.48	0.79	0.53

図3 KATE, ECOSAR, TIMES による予測値と実測値の比較 (左: 魚類, 右: 甲殻類)

な物質数)を24クラスに分類しており、そのうち、該当物質が5物質以上で解析可能なクラスが11クラスあった。Aromatic Amines, Metahcrylates, Neutral Organicsなどは比較的、実測値と予測値が一致した。甲殻類では146物質を18クラスに分類し、そのうち、該当物質が5物質以上で解析可能なクラスが5クラスであった。Neutral Organicsは比較的、実測値と予測値が一致した。Timesでの結果は、決定係数は魚類で0.44、甲殻類で0.32であり、比較的悪い結果であったが、強い毒性を示すが作用機序の不明であるクラスに対して、最も毒性の低い麻酔作用のQSAR式で代用している点を考慮する必要がある。KATEでの結果は、決定係数は魚類で0.86、甲殻類で0.79であり、誤差も他と比較して小さな結果を得ている。

4.3 まとめ

生態毒性予測システム「KATE (Kashinhou Tool for Ecotoxicity)」として、平成20年1月31日にインターネット上で試用版を公開した。他のモデルと比較しても同等の性能が期待できるが、外部参照物質によるQSAR式の検証などの作業が必要である。現在のKATEのクラス分類の定義はエキスパートの判断に大きく依存しており、今後は部分構造の定義、クラス分類のためのルールや再定義ルールに対してより理論的な意味づけを与える研究や、LogP以外の記述子の検討や警告部分構造 (Structural Alerts, SA) の導入など、予測性能の向上させるための研究も必要である。

5. 発がん性評価と予測のための手法の開発

5.1 研究の目的と経緯

環境中に非常に多く存在している化学物質のリスクを迅速に評価することが求められつつある。本研究では、化学物質曝露による発がん作用等の人に対する有害作用のリスクをトランスジェニック動物、バクテリア等を用いた変異原性試験や、動物培養細胞を用いた発がんプロモーション試験などの簡便な測定法の活用により予測できるかどうかについて代表的な汚染物質を例に検討する。特に、環境からの化学物質曝露による健康リスクを評価する上で今後重要となると考えられる、非意図的の生成物の影響を重点的に検討するものとした。

試験管内変異原性試験法 (Ames 試験) で強い変異原性が確認されている非意図的の生成物について、変異原検

出用のトランスジェニック動物を用いて、*in vivo*での変異原性の検出を試みた。これまでに、土壌等から検出された3,6-Dinitrobenzo [e] pyrene (3,6-DNBeP) のトランスジェニックマウスを用いた変異原性試験と、河川水中で検出されたアゾ色素由来の化合物であるPBTA-6のトランスジェニックゼブラフィッシュ (Tg-ZF) を用いた変異原性試験を実施した。

サルモネラ菌を用いて変異原性を検出する Ames 試験は発がん物質のスクリーニングに用いられるが、Ames 試験の結果と発がん性の相関は低い。それに対して、変異原検出用の標的遺伝子を導入したマウスを用いる変異原性試験の結果は、Ames 試験に比べて、発がん性との相関が高いという報告もある。

トランスジェニック動物を用いる変異原性試験は、化学物質を曝露した動物から突然変異検出用の標的遺伝子を取り出し、特定の株の大腸菌に導入し、誘発された変異をコロニーとして検出するものである。この方法は、動物が化学物質を生体内に取り込むところから試験が開始されており、生体濃縮、臓器特異性、有害物質に対する防御機構などを含み、代謝活性化、DNA 損傷の修復を経た上での個体での曝露による変異原性を検出できる。

これまでに試験を実施したいくつかの物質を例として、トランスジェニック動物を用いた試験と Ames 試験の結果の違いについて比較検討した。

また、発がんの重要な一過程であるプロモーション活性については、近年比較的簡便な *in vitro* assay 法である Bhas 試験が開発されている。Bhas 試験により代表的な発がん関連物質であるいくつかの多環芳香族炭化水素についてプロモーション活性の測定を行った。

5.2 研究の成果

5.2.1 トランスジェニックマウスを用いた3,6-ジニトロベンゾ [e] ピレン (3,6-DNBeP) の変異原性試験—突然変異頻度と突然変異のプロフィールの解析

3,6-ジニトロベンゾ [e] ピレン (3,6-DNBeP) は表層土壌および大気中より検出された化合物で、Ames 試験で非常に強い変異原性を示すことが確認されている。この物質の *in vivo* での変異原性検出を試みた。

実験は、9週齢の雄の *gpt delta* マウスの気管内に、3,6-DNBeP を 0, 0.025, 0.05, 0.1mg/mouse (各群 5 匹、およそ 0, 1, 2, 4 mg/kg bw に相当) の濃度で投与し、

14日後に肺組織を採取し、ゲノムDNAを抽出し、変異頻度を求め、変異のシーケンスを解析した。

3,6-DNBePは *gpt* delta マウスの肺にわずかに変異を起こしたが、有意な上昇は観察されなかった。以前に調べた1,6-ジニトロピレン (1,6-DNP) による結果と比較したものを図1に示した。1,6-DNPのように用量に依存した変異頻度の上昇は観察されなかった。また、3,6-DNBePと1,6-DNPについて、Ames試験と *gpt* アッセイの結果を比較した表1を示した。Ames試験では1,6-DNPと同等以上の強い変異原性を示す3,6-DNBePも *gpt* アッセイでは有意な変異頻度の上昇が観察されなかった。

単回投与では変異を誘発しなかったため、次の段階では複数回投与などにより投与量を増加して試験を行い、変異原性の検出を試みる予定である。

5.2.2 トランスジェニックゼブラフィッシュを用いたPBTA-6の変異原性の検出

河川水中で検出されたアゾ色素由来の化合物群のひとつ、PBTA-6も Ames試験で強力な変異原性を示すこと

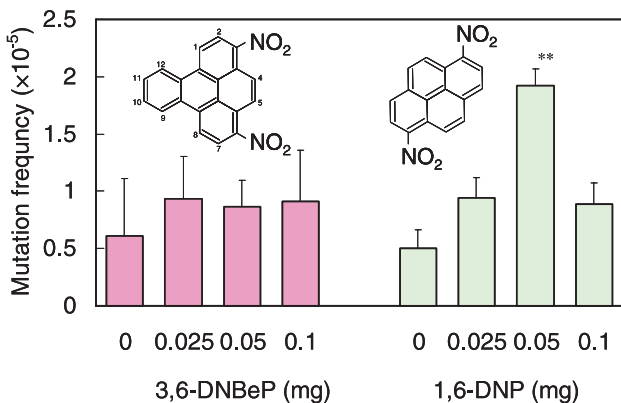


図1 3,6-ジニトロベンゾ[e]ピレンを投与した *gpt* delta マウス肺における突然変異頻度 - 1,6-ジニトロピレン投与マウスとの比較 - (***p* < 0.01)

表1 3,6-ジニトロベンゾ[e]ピレン (3,6-DNBeP) とベンゾ[a]ピレン (BaP) の変異原性 - *in vitro* 試験 (サルモネラ菌) と *in vivo* 試験 (マウス) の比較 -

Chemical	Ames test revertants/nmol		<i>gpt</i> mutation assay MF × 10 ⁻⁵ /nmol
	TA 98	TA 100	
3,6-DNBeP	285000 (163)	14000 (65)	1.76 (21)
1,6-DNP	175000 (100)	21600 (100)	8.35 (100)

MF: mutation frequency

が分かっている。魚個体に曝露したときの変異原性を変異原検出用の Tg-ZF を用いて調べた。

PBTA-6を0, 7, 10 mg/Lでゼブラフィッシュに96時間水浴曝露 (各群6-7匹) した後、定着期間を3週間おき、エラにおける突然変異頻度を観察した結果、変異頻度の上昇は観察されなかった。

ベンゾ [a] ピレンについて調べた結果と比較すると、PBTA-6はフレームシフト変異を検出する TA 98 株による Ames 試験ではベンゾ [a] ピレンよりはるかに強い変異原性を示すが、Tg-ZF アッセイでは変異を誘発しなかった。(図2, 表2)

5.2.3 多環芳香族炭化水素の発がんプロモーション作用の測定

代表的な発がん関連物質群であるいくつかの多環芳香族炭化水素について、Bhas試験を用い発がんプロモーション活性の測定を行った (図3)。その結果、ベンゾ

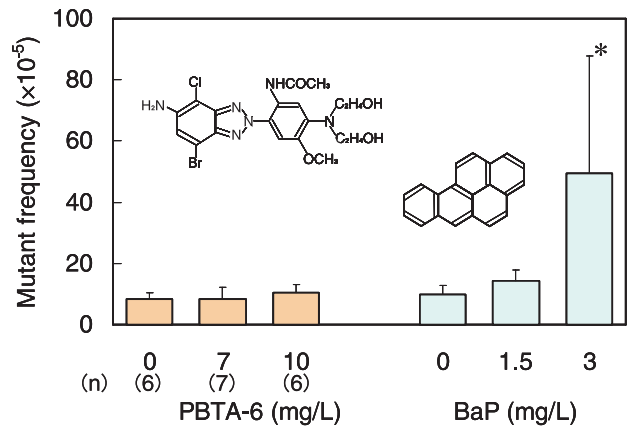


図2 PBTA-6を曝露した *rpsL* トランスジェニックゼブラフィッシュのエラにおける突然変異頻度 - ベンゾ[a]ピレン処理ゼブラフィッシュとの比較 - (**p* < 0.05)

表2 3,6-ジニトロベンゾ[e]ピレン (3,6-DNBeP) とベンゾ[a]ピレン (BaP) の変異原性 - *in vitro* 試験 (サルモネラ菌) と *in vivo* 試験 (ゼブラフィッシュ) の比較 -

Chemical	Ames test* revertants/nmol		<i>rpsL</i> Tg fish mutation assay MF × 10 ⁻⁵ /10 μ M**
	TA98	TA100	
PBTA-6	9180 (30000)	74.9 (58)	1 (3)
BaP	30.6 (100)	128 (100)	33 (100)

MF: mutation frequency

* with S9 mix

** MF was calculated from the data of 96h-exposed fish

[a] ピレンについては、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ においても溶媒対照群のフォーカス数に対して有意な増大が認められなかったが、ピレン及びベンズ [a] アントラセンについては、有意なフォーカス数の増大が認められた (図 4)。

5.3 まとめと今後の展望

本研究において *in vivo* 試験を実施した 2 物質はいずれも、Ames 試験では変異原性が検出されたが、*in vivo* 試験系では検出されなかった。これは、*in vivo* 変異原性試験系の感度が低いのではなく、Ames 試験の感度が高すぎるとも考えられるが、動物体内では投与した化学物質が代謝・解毒されるなど、バクテリア内とは違った動態をとるため突然変異が誘発されなかった可能性もある。もし後者であれば、化学物質の発がん性を定量的に予測することはバクテリアを用いた試験のような *in vitro* 試験のみでは困難であると考えられ、引き続きトラ

ンスジェニック動物を用いた *in vivo* 試験の発がん性評価への活用について検討していく。

3,6-DNBp については、前述のように複数回投与により投与量を増加したトランスジェニックマウスによる *in vivo* 変異原性試験を実施し、変異原性の検出を試みる予定である。また、将来的には本物質の発がん試験についても検討する。

当研究室で開発したトランスジェニックゼブラフィッシュを用いる試験系に関しては、現在変異検出遺伝子がヘテロで魚に導入されており、感度の上昇と実験方法の改良のために、ホモで導入された系を確立することを検討する。

今後は、非意図的生成物を中心に環境からの曝露が懸念される化学物質についてトランスジェニック動物を用いた *in vivo* 変異原性や培養細胞を用いた発がんプロモーション作用試験等の簡易試験を実施し、文献データ

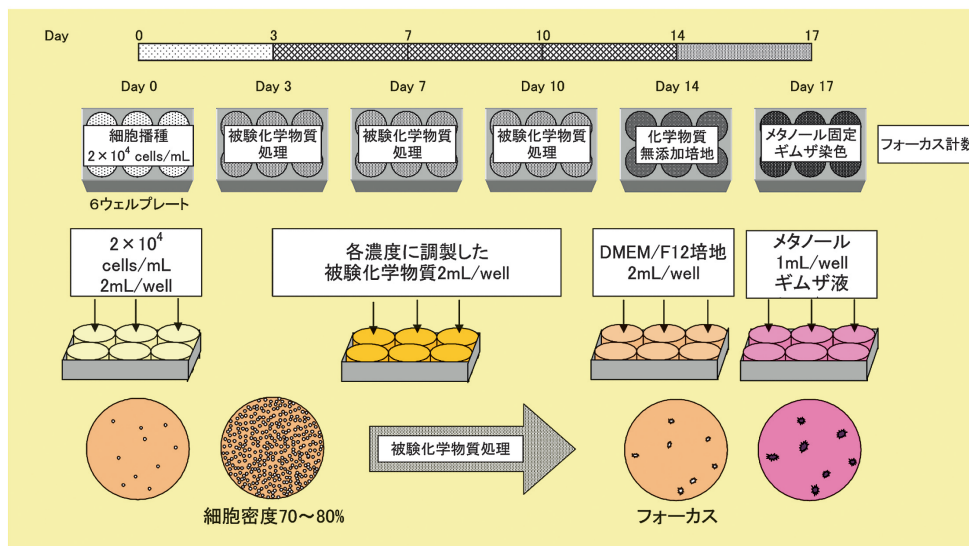


図 3 形質転換試験 (Bhas 試験) 方法

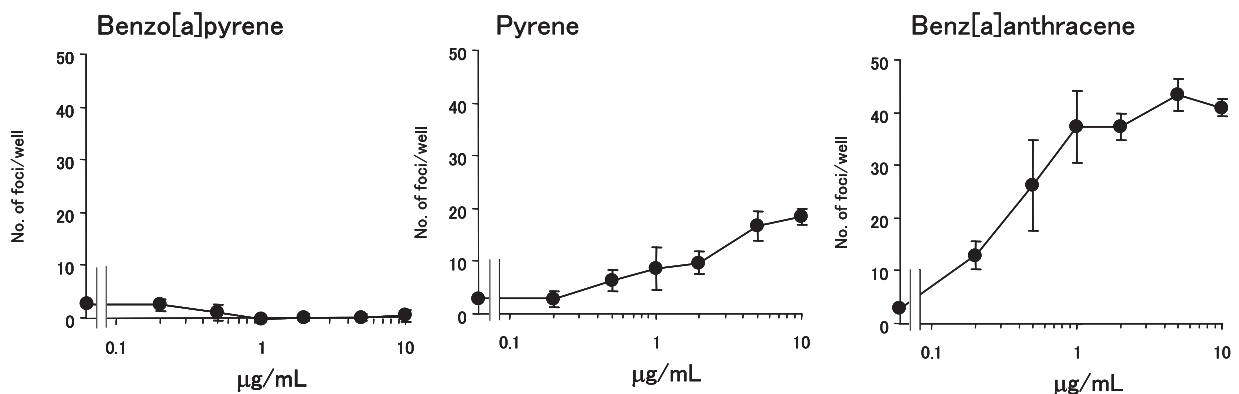


図 4 多環芳香族炭化水素の Bhas 42 細胞形質転換活性

とも合わせ、試験結果と発がん性の関係を明らかにしたい。また、都市大気試料よりの抽出物、河川水の濃縮試料や底質からの抽出試料について、*in vivo* 変異原性や発がんプロモーション作用を評価することにより、環境からの化学物質曝露による発がんリスク等の健康リスクを推測する可能性についても検討を開始したい。

本課題は国立がんセンター研究所・若林敬二博士，国立医薬品食品衛生研究所，能美健彦博士，京都薬科大学・渡辺徹志博士との共同研究である。

6. インフォマティクス手法を活用した化学物質の影響評価と類型化手法の開発

これまで、化学物質をはじめとする環境因子への曝露が、ヒトを含む生物の健康に、どれぐらい、どのように影響しているかについて様々な角度から研究がなされてきた。それらの研究は、大概、研究者の興味やその時々の問題に応じて、個体・臓器・細胞レベルにおける影響についての断片的なデータであり、曝露の量、経路も一定の基準で計画、実行されたものではない。一方で、環境中に存在する化学物質は、その種類、量とも、産業の発展と生活の向上とともに増加し続けている。また、化学物質をめぐる国際的潮流は、リスクの観点からの化学物質管理の推進へと進んでいる。このような状況の中で、第一に行わなければならないことは、既存の毒性に関わる情報の収集と整理である。近年コンピューターサイエンスの発展とともに情報技術の影響、利用、応用、デザインなどを学際的に扱う分野と定義されているインフォマティクスが発展し、環境毒性分野においてもバイオインフォマティクスをはじめとしたトキシコインフォマティクスやケモインフォマティクスという新しいアプローチ（技術と概念）が確立されつつある。散在している化学物質の毒性情報を収集し、整理・分類する作業すなわち化学物質の類型化の構築は急務と考えられる。そこから得られる成果は、生命現象のネットワークに基づいた環境因子の影響の予測であり、少ない情報に

基づくリスク評価手法の開発である。そのためには、現段階で入手可能な化学物質についてのさまざまな次元での影響情報をそれらの作用機構ごとに分類し、疾患影響との関連性を予測できる情報を整備することが必要である。

このような必要性に答えるために、本研究では、化学物質の生体影響予測のため、ゲノム情報、化学物質の毒性情報、メカニズム分類、疾患情報等を収集、整理して、化学物質の生体影響に関する類型化を行う。それにより、毒性反応メカニズムの解明、化学物質の毒性予測、リスク評価への応用に結び付けることが目的である。この目的の達成のため、研究の内容は、3種のシステムの構築を考えた（図1）。第1の基盤システムは、大量データから特徴ある遺伝子発現情報や種々のエンドポイントの毒性情報を抽出するための手法を搭載したソフトウェア、毒性大量データ取得システム（Chemical Toxicity & Gene expression, ChemToxGen）である（図2）。ChemToxGenは、National Center for Biotechnology Information (NCBI) のTOXNET (Toxicology Data Network, <http://toxnet.nlm.nih.gov/>) にリンクしている生

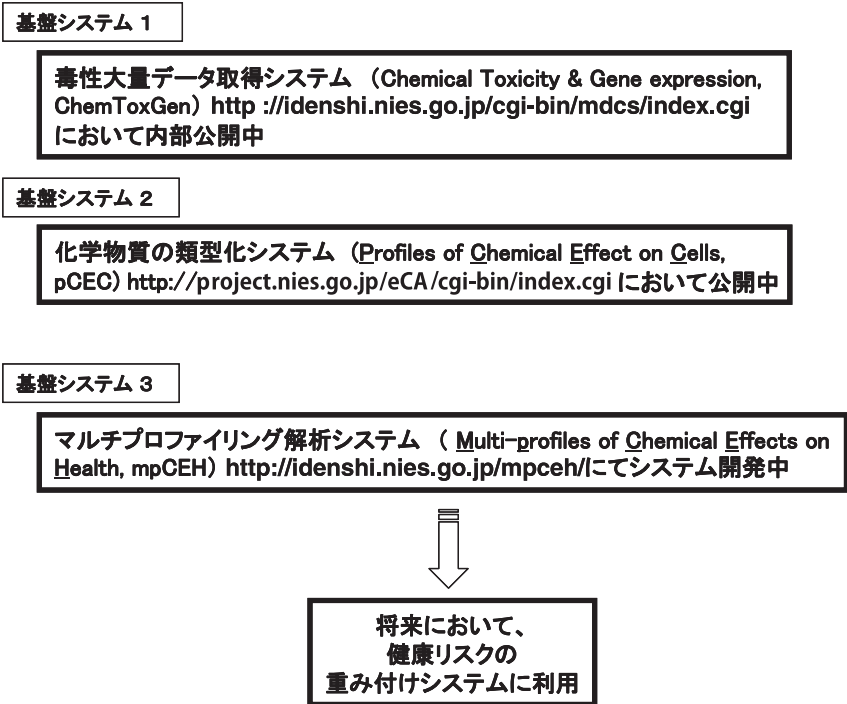


図1 化学物質の毒性予測及び新たなリスク評価手法確立のための基盤システムの構築。
ヒトゲノム情報、動物や細胞実験における化学物質の毒性情報、作用メカニズム情報、化学物質の曝露による健康影響情報（疫学情報や疾患情報）等に関するデータベースを構築し、影響の種類ごとによる化学物質の分類を行う。

物医学文献検索システムである PubMed から毒性に分類された論文である Tox [Sub] データを取得し、そこから化学物質と毒性の種類ごとに自動的に分類するシステムである。一般的なワードと CAS No. による検索に対応して GEO (Gene Expression Omnibus, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) に搭載されている公開マイクロアレイデータと PubMed に入っている毒性文献が自動で取得できるように構築した。同時に、影響の類型化のために毒性の作用機構がどれぐらいの種類があり、どのようなカテゴリに分類できるかといった調査も必要である。そのため、既存の毒性影響情報からテキストマイニングの

手法により、毒性の種類に特徴的な用語を抽出し、これら用語は、毒性を検索する言葉として類型化し、Chem Tox Gen のカテゴリ検索に搭載した。この Chem Tox Gen とウェブ文献調査から化学物質の発達神経毒性が懸念されている物質 206 (Grandjean, P. & Landrigan, P.J. 2006. LANCET 368: 2167-78), 米国環境健康科学研究所 (NIEHS) の CEBS (Chemical Effects in Biological Systems URL: <http://cebs.niehs.nih.gov/cebs-browser/cebsHome.do>) の実験動物における毒性影響が認められている物質 134, 米国食品医薬品局における公開データベース (URL: http://www.fda.gov/cder/Offices/OPS_IO/

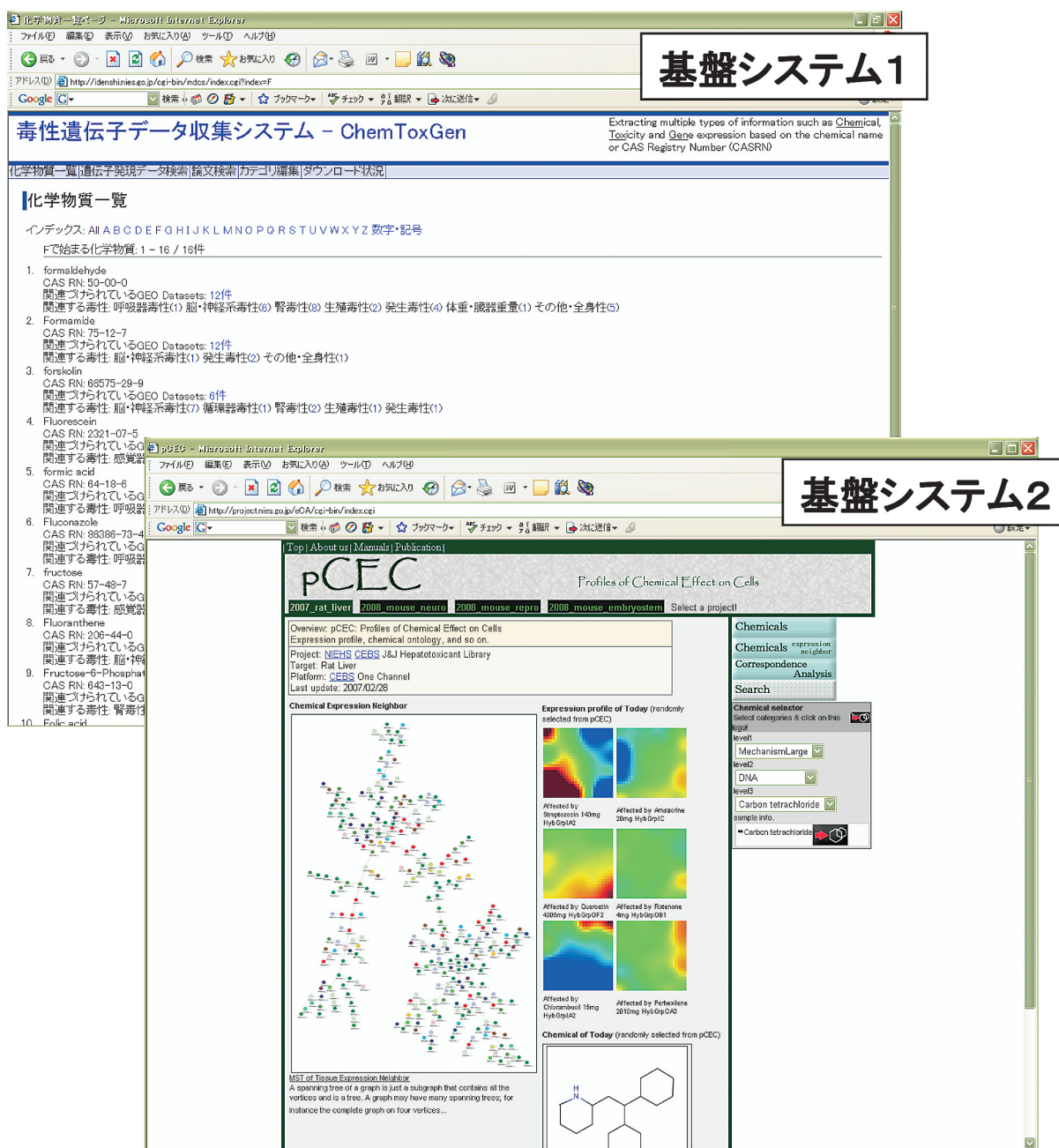


図2 構築した毒性大量取得システム ChemToxGen 及び化学物質の影響による類型化システム pCEC のトップページ。

default.htm) の7067化学物質, 米国環境省の公開データベース DSSTox Standard Chemical Fields(URL: <http://www.epa.gov/ncct/dsstox/MoreonStandardChemFields.html>) 1158化学物質, 同じく, ToxCAST 搭載11141物質, 日本既存化学物質毒性データベース (URL: http://dra4.nihs.go.jp/mhlw_data/jsp/SearchPage.jsp) 264物質, 別途, 当研究室でリストアップしたIARC 2 B以上の化学物質, PRTR リスト化学物質を含む Environmental Health Watch database 1554の重複を除く21214について, 遺伝子発現データの有無をChemToxGenで調査した。その結果, 21214のうち, 遺伝子発現データが存在するのは, 259化学物質のみであった。

第2の基盤システムは, 化学物質の影響による類型化システム(Profiles of Chemical Effect on Cells, pCEC)である(図2)。pCECは, 産業技術総合研究所との共同研究において開発した, 遺伝子発現情報及び毒性情報の類型を搭載するシステムである。本システムは, 競合学習にもとづくニューラルネットワークを用いたクラス分けアルゴリズムである自己組織化マップによって, 遺伝子発現変動の特徴づけを行い, 分類する化学物質の遺伝子発現プロファイリングの類似性を最小全域木アルゴ

リズムによって分類した。この分類に母骨格の化学構造, 作用メカニズム及び病理所見などの毒性情報を付帯し, 遺伝子発現プロファイリングとの関係を示すようにシステムを構築した。先述したChem Tox Genで調査した遺伝子発現データを有する259化学物質のうち, 肝毒性を示すことが知られている102化学物質に関する総計964個マイクロアレイについて, 再度, 正規化, 規格化を行い, 類型化システムpCECに搭載した。さらに, この102個の化学物質に関する毒性情報をTOXNETおよびChem Tox Genより収集整理し, pCECに搭載可能な形式にデータを加工し, 搭載した。さらに, 生殖・発生毒性を示す報告のある化学物質6個, 及び神経毒性を示すことが知られている化学物質5個について, 構造, 毒性, 遺伝子発現に関する情報を格納した。

第3の基盤システムは, マルチプロファイリング解析システム(Multi-profiles of Chemical Effects on Health, mpCEH)である。mpCEHは, 分子レベルでの遺伝子発現情報と形態, 動態及び行動などの異なるデータを同じく統合的にプロファイリングする解析を行うシステムである。これら3つのシステムによって, 化学物質のゲノムレベルの情報, 細胞レベルの情報, 個体の毒性・病

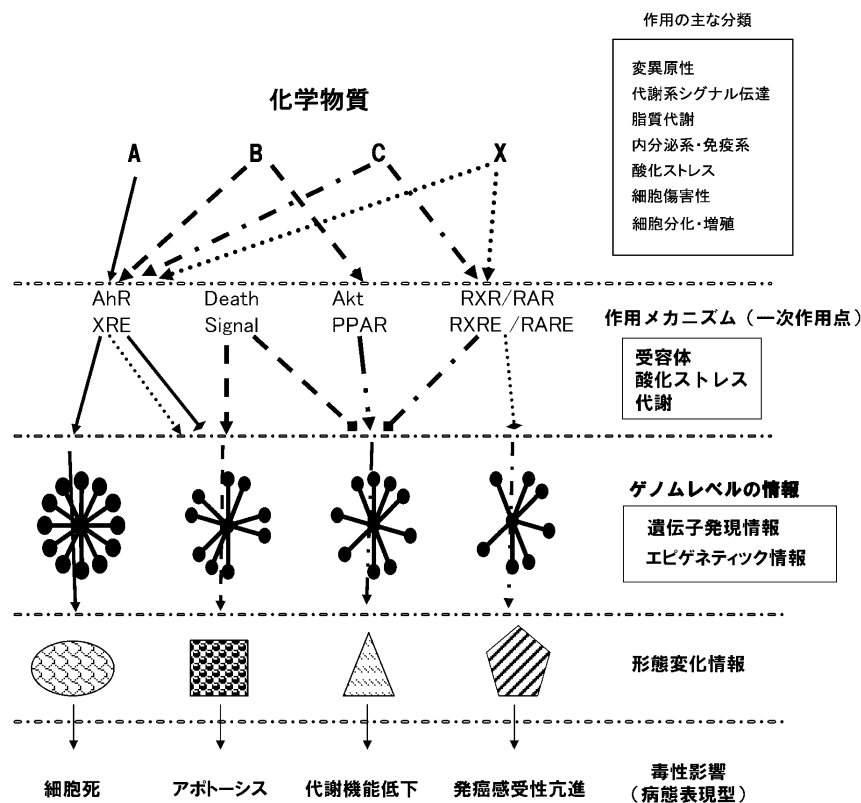


図3 化学物質のゲノムレベルの情報, 細胞レベルの情報, 個体の毒性・病態レベルの情報を用いた未知物質の予測に関する概念・理論。

態レベルの情報を用いた未知物質の予測が可能になると考えている(図3)。今後、このシステムを完成させ、健康リスクのスコアリング化を行える情報を整える予定である。

7. 化学物質の環境リスク評価のための基盤整備

本課題は、環境基準値や指針値の設定を始めとする環境政策に向けた環境リスク評価の実施を念頭に置いて、化学物質の毒性、生態毒性等に関する知見の集積、リスク評価及びリスク管理に関する動向の把握、リスク評価手法の総合化及びリスクコミュニケーション手法に関する検討等を行うことを目的とするものである。本中期計画期間の前半は、リスク評価手法の総合化及びリスクコミュニケーションに関する検討を中心に研究を進めた。課題の設定にあたっては、現実の環境政策ニーズを受けたりリスク評価等の進展に寄与しうるものとなるよう留意するとともに、化学物質環境リスク評価オフィスにおいて、主として環境省からの受託調査研究として環境政策ニーズを受けたりリスク評価を進めているので、それとの連携を図るよう努めた。

(1) リスク評価手法の総合化

① 施策検討に向けた生態リスク評価手法の総合化

化学物質の生態リスク評価は、平成9年度に開始された化学物質の環境リスク初期評価の中で既に採用されていたが、平成15年頃より化学物質の生態リスク評価が環境行政上のさまざまな制度に位置付けられ始めた。平成15年の化学物質審査規制法の改正による生態影響評価の採用、15年11月に亜鉛を対象として初めて設定された水生生物を保全するための環境基準の導入、水産動植物の被害防止を目的として始められた生態影響の視点からの農薬登録保留基準の検討等があるが、評価手法間の整合性等に関する配慮が必ずしも十分でないという印象を受ける。そこで本課題では、環境施策の検討に向けたリスク評価手法の総合化の観点から、環境行政の中で行われている生態リスク評価の総合化、整合化に向けた検討を行っている。

水生生物保全環境基準の設定の考え方については、15年度に中央環境審議会より「水生生物の保全に係る水質環境基準の設定について(答申)」の中でまとめられている。現在の目標値導出スキームでは限られた情報から目標値を機械的に算出できることを意図した導出スキ-

ームが採用されていると考えられるが、この答申で示された8物質の水質目標値を見ると、偶然的に得られる知見の有無によって目標値が大きく左右されており、根拠情報の追加に伴う目標値の頑健性に疑問が残ることが明らかになった。この環境基準では、保全対象である水生生物として主要魚介類を中心に位置付けているため、代表的な魚介類をミニマムデータセットとして位置付け、水質目標の導出の際に揃えるべき必要項目とすることが適当であることを指摘した。また現在の導出スキームでは、手順を踏んで導出された目標値について、妥当な水準であるか否かの検証を総合的に行うこととされているが、逆に機械的な導出手順を固定的なものとせず、得られた知見を総合的に勘案して目標値を導出することとすべき点につき指摘を行った。

② 環境基準の体系の検討

わが国の環境基準は、環境基本法に基づき人の健康の保護と生活環境の保全の観点から「維持されることが望ましい基準」として位置付けられ、基準値の科学的な導出が前提とされており、さらに政府が総合的に環境保全施策を講じることにより維持達成に努めるべき目標値としての性格を併せ持っている。このように環境基準は環境行政上リスク評価とリスク管理の接点にあたるものであるが、環境施策の検討に向けた環境リスク評価の課題を整理するためには、環境基準の体系を明らかにすることが重要である。

水生生物保全のための環境基準については、水質目標値導出プロセスにおける保全対象生物について確認を行った。水環境中の多様な水生生物の保全を狙いつつも、生活環境項目の環境基準として整理されたことに伴い、主要魚介類及び餌生物を対象とした導出プロセスが構築されたが、保全対象生物に主眼を置く形で運用すべき点について指摘した。また、類型区分ごとに異なる基準値を採用し得る環境基準に対し、水質汚濁防止法では全国一律の排水基準を前提としていることによる規制の実効性の確認の必要性について指摘した。

「騒音に係る環境基準」については、道路交通騒音を対象して含む環境基準が平成10年に全面改定された。科学的推奨値、行政上の目標値、環境影響評価の実質的規制値という性格を併せ持つ前提の下で騒音環境基準の改定が進められ、その改定を巡りさまざまな議論が行われた。これは化学物質を対象とするものではないが、環

境リスクの評価と管理の接点にあたる環境基準の内包する諸課題を検証する対象として適当と判断して選定したものである。平成15年度に全国の地方公共団体で行われた道路交通騒音の測定データを解析し、新旧環境基準値の超過状況の比較を行った。新旧環境基準で異なる評価方法が採用される中で、一定の前提の下ではあるが全国規模では初めて行われた比較であり、等価騒音レベルの採用により夜間の道路交通騒音が従来より確実に捕捉されるようになったことが明らかになった。また、対策を促す観点から改定されたとされる騒音環境基準の現実の運用状況等を広く把握するため、地方公共団体を対象とするアンケート調査を実施した。

(2) リスクに基づくコミュニケーションに向けた検討

地域において化学物質のリスク管理のための施策を自ら実施するだけでなく、リスクコミュニケーションの場で、環境リスク及びリスク評価に関する理解を広める役割を果たすという点で、地方公共団体は重要である。しかし、地方公共団体が基準値等の設定されていない化学物質について自らリスク評価を行い、環境施策に反映させた例は数少ない。また、各地方公共団体には地方環境研究所が設置され、環境汚染状況の把握等に関する研究を進めてきているが、今後化学物質の環境リスクの分野においても重要な役割を果たすことが期待される。

このような地方公共団体における化学物質の環境リスクに関する情報の活用状況等を把握し、環境リスク評価に関する情報の一層の活用を図る際の潜在的ニーズを探ることを目的として、地方公共団体の環境担当行政部局

と地方環境研究所を対象とするアンケート調査を実施した。化学物質の環境リスクに関する専門的な情報の活用については、行政部局よりも地方環境研究所の方がより広範であること、多くの行政部局が化学物質の情報について照会、相談する相手として地方環境研究所を挙げており、化学物質の環境リスクに関する分野で、地方環境研究所が行政部局に頼られる存在になってきていることが明らかになった。また、リスク評価の方法及び評価結果を解説する情報に対する潜在的ニーズは、行政部局、地方環境研究所の双方に認めることができた。

これらを前提として、地域における環境リスクの理解を高め、リスク管理施策やコミュニケーションを促す観点から、地方公共団体の環境担当行政部局及び地方環境研究所における活用を意図しつつ、「化学物質の環境リスク初期評価」を読み解くための「ガイドブック」を作成することとし、作業を進めている。

(3) 知見の集積、動向の把握等

化学物質の毒性、生態毒性等に関する知見の集積は、化学物質環境リスク評価オフィスにおいて、主として環境省からの受託調査研究として化学物質の環境リスク初期評価等を進める中で行った。また、リスク評価及びリスク管理に関する動向の把握については、主として環境省からの受託調査研究に関連する分野の欧米の動向の把握に努めたほか、OECDの環境保健安全プログラムにおける化学物質のリスク評価に関連する検討の動向の把握に努めた。

VIII. 環境リスクに関するデータベース等の作成

1. 化学物質データベースの構築と提供

目的と経緯

リスク情報の集積と効率的な情報発信基盤の整備は重要な課題である。当研究センターでは前中期計画より化学物質データベース（以下 Webkis-plus と略す）を公開しており、その整備および機能拡張を行ってきた。継続的な公開情報の更新および内容の拡充が必要不可欠であり、同時に、より広範な人々に対してリスク情報を平易に伝える方法の検討が必要である。それらの検討を通して、化学物質の環境リスクに関するリスクコミュニケーションの推進に向けた基盤整備を行うことを目標とする。

研究成果

化学物質の情報（一般情報、物性情報、毒性情報等）を搭載したデータベースとして Webkis-plus が平成 9 年よりインターネット上で公表されている。近年、インターネットにおける情報伝達において、様々なセキュリティ上の対策が必要とされてきており、基幹となるデータベースサーバやオペレーティングシステムの変更、不適正な入力への排除といった大幅な変更が必要となった旧システムの運用を停止し、新たなシステムに移行した。このシステム変更に当たり、化学物質の最新の情報を、容易に検索でき、さらに統合的な情報が得られるデータベースを目指して、データの更新、物質の同定（CAS 番号など）と画面の表示形式の改善を継続した（図 1）。

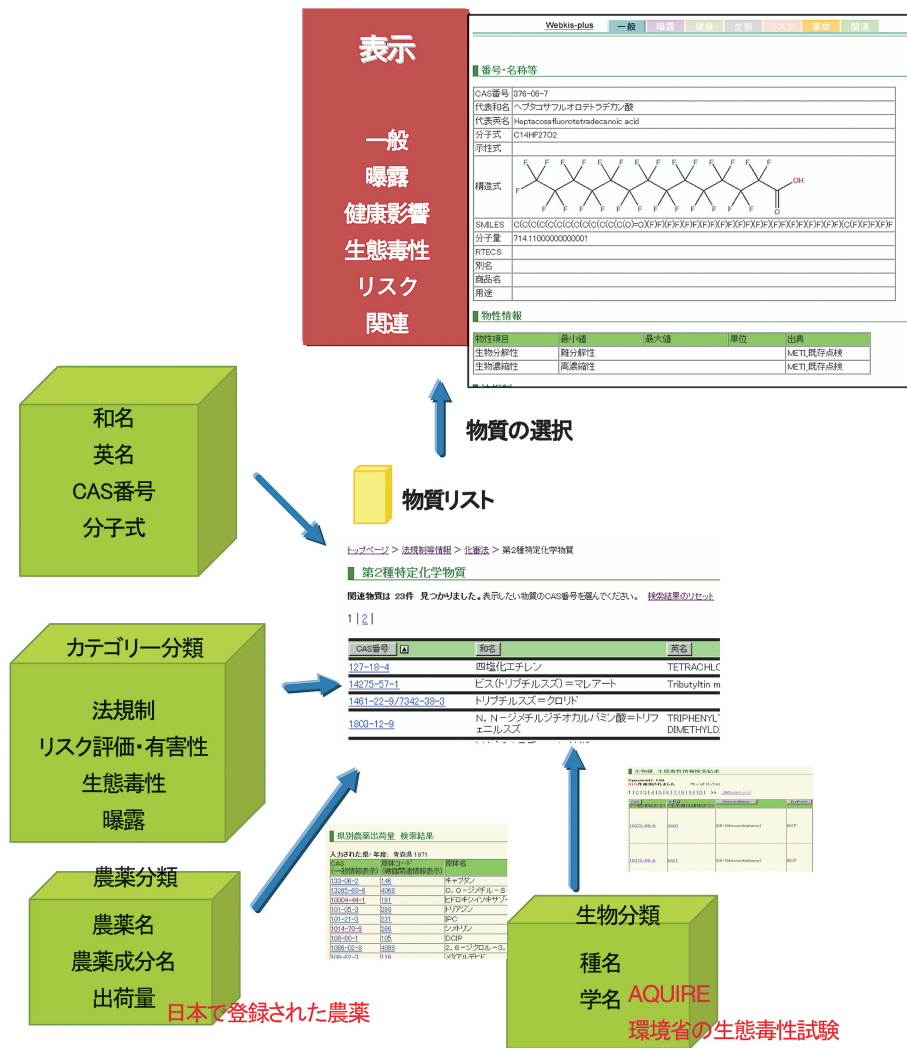


図 1 Webkis-Plus での化学物質の検索と情報の表示

具体的には、物質の同定はこれまでCAS番号（アメリカ化学会が発行しているChemical Abstracts誌で使用される化合物を特定するための番号）により行ってきたが、化合物群として評価されている化学物質などの同定が困難になることから、できる限りCAS番号で統一を図るものの、独自の番号も合わせて使用するようデータベースを変更し、化合物群に対しては個別物質のリストを関連情報として提示することとした。PRTRの第一種指定化学物質でありかつ登録農薬である物質など、化学物質の各カテゴリー間での横断的な関係を把握できるようにカテゴリーの和集合、積集合を選択できるように改良を加えた。また、CAS番号や物質名称などによる検索に絞り込みの機能を追加することにより、必要な情報に容易に到達することができるよう改善を進めた。

これまでのカテゴリー分類（法規制、曝露関連、リスク評価・有害性）に生態影響試験を追加し、環境省が実施した生態影響試験情報（平成20年3月版 生態影響試験結果一覧）およびEPA米国における水生生物に関する生態影響試験情報を更新し、生態影響関連のデータの充実をはかった。リスク評価・有害性情報に環境リスク初期評価（第1巻～第6巻）などの環境リスク評価関連の評価文書などの資料と外部リンク作成し、容易にリスク評価書などを閲覧できるようにした。曝露関連情報では、農薬の用途、農薬出荷量、化審法告示数量、環境中濃度測定値として2005年までの環境省で実施された化学物質環境調査結果、有害大気汚染物質モニタリング調査結果など現時点で入手可能な最新の値で最大、最小、平均値などの統計値を算出し収録した。法規制等情報では、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律の第一種監視化学物質、第二種監視化学物質、第三種監視化学物質、農薬取締法の登録農薬有効成分、毒劇法関連の物質について、現時点で最新の状態に整備した。更新履歴を明示し更新の状況を把握できるように改善した。

また、構造式情報を整備することで、別途公開している生態毒性予測システム（KATE）との連携を図っている。

まとめ

より幅広いニーズへの対応をはかるため、データの新規整備および既存データの更新を進めた。化学物質の検索が出来るように情報をカテゴリー分類するとともに、

各カテゴリー間での横断的な関係を把握できるよう改良を加えた。現時点でデータベースに登録されている物質数は45219物質であり、このうちカテゴリー分類されたものは22607物質（内訳：法規制11430物質、リスク評価・有害性6387物質、曝露関連4433物質、生態影響883物質）である。

2. 生態系評価・管理のための流域詳細情報の整備 目的と経緯

地球規模での生物多様性の減少を食い止めるために、1993年に生物多様性条約が発効され、現在、アメリカ合衆国を除くほぼ全ての国連加盟国が締結している。「締結国は現在の生物多様性の損失速度を2010年までに顕著に減少させる」という目標が2002年オランダ・ハーグで採択されたが、すでに、目標達成が困難な見通しになっている。

わが国では、生物多様性条約のもとに、1995年に生物多様性国家戦略、2002年に新・生物多様性国家戦略、さらに2007年に第3次生物多様性国家戦略を策定し、生物多様性の保全に取り組んでいる。特に、第3次戦略では、わが国の生物多様性の総合評価を行う中で、生物多様性の危機の状況を具体的に地図化し、生物多様性の保全上重要な地域（ホットスポット）を選定することを通じて、優先的に生物多様性の保全を図るべき地域での取り組みを進め、生物多様性の損失速度を顕著に減少できるよう努めることが、明文化された。

稲作の灌漑用水供給のために人が造ったため池には、現在、淡水域の多くの絶滅危惧種が生活することが知られるようになってきている。しかし、ため池本来の生物相も、農家の高齢化や農業の衰退、ダムの整備、都市化、管理手法の近代化、外来種の侵入などで危機的な状況にある。

ここでは、ため池が日本一多い兵庫県南西部をモデル地区とし、生物多様性および生態系機能が高いにも関わらず、人為的な影響により損なわれるリスクの高い地域を地図化し、生物多様性の損失を防ぐための科学的知見を、視覚的に把握しやすい形で提供することを目的として、流域詳細情報の整備を実施している。

内容

淡水生態系における水生植物種や植生群落は、他の多くの生物の生息基盤を提供するだけでなく、水質浄化な

どの高い生態系機能を有する。一方、植生がなくなり、富栄養化などが進行するとアオコが大発生して生物多様性や生態系サービスの低下を引き起こす。そこで、ため池に生育する水生植物種、種多様度、植生群落の被度、アオコの発生などを生物多様性や生態系機能を評価する指標として取り上げ、これらを現地調査、調査情報の収集、空中写真の判読からデータベース化する作業を実施している。一方、生物多様性および生態系機能を指標する変数を規定する要因、およびそれらの低下をもたらすリスク要因と考えられる環境の情報も空間情報として整備している。以下に、おのおのについて、その内容を述べる。

2.1 生物多様性や生態系機能を指標する情報の整備

水生植物種の情報は2006年夏～秋に325個のため池の現地調査により取得した。全ての池にゴムボートもしくは胴長で入り確認した種を記録した。深い池や透明度の低い池では必要に応じて鋤簾を用いた。また兵庫県立人と自然の博物館から、1990年代に対象域内において実施した現地調査データの提供受け、統一フォーマットにて整備した。

水生植物群落の被度およびアオコ発生の面的な把握は、空中写真や衛星画像を画像解析することで取得することとした。しかし、目的の画像解析に耐えうる対象域全域のカラー空中写真が、近年撮影されていなかったため、2007年夏に新たに384枚の空中写真を撮影し、オルソ幾何補正を施すことで、画像解析に利用できる形式の空中写真を整備した。さらに、高精度で画像解析を実施するに必要となる、全ての池の輪郭のデータは、本研究で整備した空中写真と市町村から別途購入した1/2500地形図の判読により、対象域内に存在する約6000個の池の全てに対し作成した。現在、これら整備した空中写真、池の輪郭データを用いて、水生植物の被度およびアオコの発生の有無の画像解析に取組中である。

2.2 環境情報の整備

我が国でも、様々な行政機関などにより、空間情報の蓄積、整備が行われてきた。しかし、ファイルの形式が利用しやすい形で統一して提供されているとは言い難い。またデータが散在しており所在が周知されていなかった例もあるため、複数の空間データが積極的に統合利用されているとは言えないのが現状である。そこで本

業務では、利用する可能性のある空間情報を一括して、以下のように統一様式で整備した。

- ・標高・傾斜・斜面方位の情報は、国土地理院発行の数値地図（標高）を用い補完計算等を施し整備した。
- ・植生情報は、生物多様性センター発行の自然環境情報GISの項目を整理して用意した。
- ・気象情報は、気象庁発行のアメダスデータを対応する基準地域メッシュにそれぞれ結合させることで、面データとして整備した。
- ・基盤情報である地形図は、1・25000地形図は、国土地理院から発行されている数値地図（地図画像）に、地理座標を付与し、GIS上で利用できるよう整備した。1/2500地形図については、デジタル化した地図がなかったため、各自治体から計450枚の紙の地形図を購入し、全てデジタル化した上で、地理座標を付与しGISデータとした。
- ・市街化調整区域、農業振興地域の指定地域の情報は、各市町村から購入した都市計画図をGIS上で利用できるよう整備したものを参照して、新たに作成した。
- ・人畜害農薬使用地域と魚毒農薬使用地域の情報は、対象域内の全ての農協の栽培指導暦の資料から、使用農薬の有効成分の情報を選別し、GISデータ化した。
- ・ダム用水の補給対象であるため池の位置情報は、関係土地改良区から提供を受けた配水計画一覧表と管轄区域図をもとに、1/2500地形図を参照し作成した。
- ・行政界、道路、市街地、鉄道路線：各市町村に個別に整備されている国土地理院発行の数値地図2500を統合し、一括して利用できるよう整備した。
- ・その他、人口、土地被覆、土壌、衛星画像に関しても、統一の様式で空間情報として整備している。下水道や浄化槽の整備状況についての情報も整備する。生物多様性の時間的な変化については、ため池の位置や数、土地利用の変化に関して、過去にさかのぼり、時間軸にそったデータも整備する予定である。

今後、整備した情報を基にし、生物多様性および生態系機能の高い地域が、どのような立地環境に成立しているかを解析する。解析結果を地図化することで、生物多様性や生態系機能の高い地域を明確にし、優先的に保全すべき地区の提示や、開発などの候補地についての自然環境のリスク評価などに資する科学的情報を提供する予定である。

3. 侵入生物データベースの整備

目的と経緯

生物の多様性に関する条約が1992年リオでの地球サミットにおいて締結されて以来、生物多様性の保全は地球環境問題の国際的な重要課題としての位置づけを得た。我が国でも、1995年に生物多様性国家戦略が策定され、2007年11月には第3次生物多様性国家戦略に改訂される等、生物多様性保全は環境行政の重点施策の一つとされる。生物多様性を脅かす要因として、開発による生息地の破壊、環境汚染物質による生息環境の悪化の他に、本来の生息地以外に生物種が人為的要因により運ばれ、定着する生物学的侵入があげられる。前二者はダイレクトに生物の死滅を招く要因であり、一般にもよく認識されているが、生物学的侵入については、社会的認知が相対的に低い。しかし、生物学的侵入は一度起こると生物間相互作用により生態系に不可逆的な変化をもたらす、回復を非常に困難にする。

本研究業務の目的は、日本において在来生物や生態系、あるいは人間生活に悪影響を及ぼしている、あるいは及ぼす可能性のある侵略的外来生物＝侵入生物の生態学的特性、侵入ルート、分布域、生態影響、形態の特徴(写真)および資料となる文献等を網羅した電子データベースを構築し、国立環境研究所web-siteを通じて一般に公開することにより、侵入生物に対する意識を向上し、侵入生物の早期発見・防除に役立てることを目的としている。

内 容

<情報の追加・修正・拡張>

地球環境研究総合推進費2002～2004年度課題「侵入種による生物多様性影響機構に関する研究」の一環として作成され国立環境研のwebサイトにて一般に公開されている侵入生物データベース(<http://www.nies.go.jp/biodiversity/invasive/index.html>)は、2004年の推進費課題終了以降、内容の更新が進んでいなかったため、その改定・更新作業を行った。

大きな変更点は、2005年に施行された外来生物法により、本データベースで紹介していた外来生物の多くが「特定外来生物」に指定されたことである。これに伴い、法適用の項目についての改定を優先的に行った。

動物236種中28種、植物100種中9種についての情報を変更し、最新の分布状況も記載した。なお、これら指

定種のうち分布地図については、急速に分布拡大している種や一時的に野外に放逐され目撃された個体情報(新聞報道等)については、適宜分布図を作成したものの、生息が確認できないこと、及び地方自治体等の環境政策に影響を及ぼす可能性等に配慮し、情報の精度と根拠を明確にする必要性から、直ちにホームページ(HP)に公開することはせず、これらの種については主に学術論文や公式な報告所等を基本に十分検討した上で順次公開することとした。

2004年から2006年度現在までに新たに問題となった外来生物については生態データを集積・整理を行い、特に影響の大きく、かつHPのコンテンツ追加の必要のある種については新たに追加を行った。既存のデータベースのコンテンツ(生物情報、写真等の内容)の更新が主な目的の業務であったが、既存のプログラムでは頻繁なデータの更新がしにくい構造であることが判明し、HTML作成プログラムの書き換え作業を行った上で、試験的に昆虫類から1種、維管束植物5種について新たに追加を行った。

生態写真が欠如している種については、写真の補充を行った。哺乳類1種、昆虫類4種、維管束植物7種についての補充を行ったため、全体的な写真の欠損状況は改善された。しかし、補充が必要な種の7割近くが魚類に偏っており、これはデータベース作成初期でのバランスが魚類に偏っていた点が反映されているもので、NORNAC(自然系調査研究機関連絡会議)、および千葉県立自然史博物館・国立科学博物館・大阪市立自然史博物館・徳島県立自然史博物館などの自然史系博物館学芸員等からも写真・情報提供を得た。これらネットワーク構築を行ったことで、情報の信頼性と品質のレベルアップに留意できた。

<カエルツボカビ最新情報の提供>

2006年末に両生類の重要病害カエルツボカビ菌が国内で初めて発見されたことを受けて、国立環境研究所・環境リスク研究センター・五箇主席研究員室では、環境省・研究機関・日本動物園水族館協会・日本獣医師会・NGOなどの協力を得て、中核研究機関として全国カエルツボカビ感染調査を実施している。本データベースにおいても、カエルツボカビ感染予防の普及啓発を推進するとともに、検査体制および検査システムについての通知、および国内外の最新情報を公開することを目的とし

て、特別サイトページの拡張を行った。

カエルツボカビ菌の生物学的基礎情報を提供するとともに、PCR検査の概要と検査受付の手順についての解説を掲載した。またカエルツボカビ症の診断にあたる地方機関として、各都道府県のコア獣医師制度の紹介とコア獣医師リストを掲載した。

本ページの活用頻度は高く、全国感染実態調査においてもスムーズなサンプル収集が図られ、2007年度以降、8,000を超える検体が集められた。

<分布予測への適応>

侵入生物データベースを拡張するにあたり、専用のソフト ESRI ArcGIS シリーズを用いて地理情報システムの構築を行い、侵入生物分布域予測用の環境ベースマップも同時に作成した。HP 公開種とは別に、分布拡大予測図作成候補種リストを作成し、侵入種、および影響を受ける在来種の分布域情報について、地質、緯度、経度、標高、植生、流域区分情報、侵入年などの地理的情報をデータベース化し、空間位置関係に基づく分布域予測アルゴリズムを定量化した。これをもとに、特定外来生物のアルゼンチンアリの分布拡大予測・防除対策マップの作成、外来ヒラタクワガタの分布拡大危険地域マップ、カエルツボカビ症対策用の在来種分布地図作成等、各種の政策用に適用した。

一般に普及している ArcMap（主に ArcView）を個人・研究室レベルで購入する例もあるが、本システムは

随時開発が続いており、頻繁な更新作業が伴うため、正規の保守サポートに加入している国立環境研究所の環境情報センターが保有する利用ライセンスを活用した。電子記憶媒体はバックアップ体制を含めて約1テラバイト分を準備した。

ホームページ用は格納形式が Microsoft Access を利用した CSV や HTML 形式のデータ、JPG 形式の画像が大部分を占めるため、出力用の実際使用量は1GB以下に抑えられているが、地図画像の加工に GIS を使用する場合は相当の空き容量が必要となるため、ハイスペックの入力用機器を使用した。

<国際的ネットワークとの共同>

本ホームページは英語版の作成がまだ進んでいないが、既に国際的な認知が進んでおり、これまでに CABI International および韓国 National Institute for Environmental Research との情報共有ネットワーク構築が進行中である。

<今後の展望>

侵入生物データベースは国内外で活用場面が広がっており、今後、英語版も含めて国際対応を重点的に進めて行く必要がある。また侵入生物は時代とともに変遷しており、常に最新情報を収集して分析を進め、予防のためのデータベースとしての位置づけも確保していく必要がある。

[資 料]

I 研究の組織と研究課題の構成

1 研究の組織

[A 研究担当者]

環境リスク研究センター

センター長

白石寛明

副センター長

米元純三

山崎邦彦

曝露評価研究室

鈴木規之

櫻井健郎

今泉圭隆

小林 淳

Solovieva Elena

健康リスク評価研究室

米元純三

西村典子

松本 理

曾根秀子

河原純子

天沼喜美子

永野麗子

今西 哲

座波ひろ子

生態リスク評価研究室

田中嘉成

菅谷芳雄

立田晴記

中嶋美冬^{*)}

真野浩行

環境曝露計測研究室

白石不二雄

鑪迫典久

中島大介

鎌田 亮

平井滋恵

小田重人

小塩正朗

影山志保

柏田祥策^{*)}

高感受性影響研究室

藤巻秀和

石堂正美

山元昭二

黒河住香

塚原伸治

Tin-Tin-Win-Shwe

鈴木純子

黒田淑子

福島 篤

北條理恵子^{*)}

環境ナノ生体影響研究室

平野靖史郎

鈴木 明

古山昭子

種田晋二

藤谷雄二

菅野さな枝

李 春梅

生態系影響評価研究室

高村典子

西川 潮

赤坂宗光

松崎慎一郎

(主席研究員)

後藤純雄^{*)}

堀口敏宏

児玉圭太

五箇公一

郡 麻里

米田昌浩

今藤夏子

国武陽子

(化学物質環境リスク評価オフィス)

白石寛明

山崎邦彦

松崎加奈恵

長尾明子

藤原 好

蓮沼和夫

鈴木広子

今井葉子^{*)}

樋田竜男

杉山佳世

西川 希^{*)}

環境健康研究領域

高野裕久

小林隆弘^{*)}

分子細胞毒性研究室

野原恵子

大迫誠一郎^{*)}

小林弥生

鈴木武博

伊藤智彦

	Castle Jill Funatake
	粟生佳奈
	立石幸代
生体影響評価研究室	井上健一郎
	柳澤利枝
	小池英子
社会環境システム研究領域	
交通・都市環境研究室	小林伸治
生物圏環境研究領域	
個体群生態研究室	高村健二
	中原真裕子
生態遺伝研究室	中嶋信美
	玉置雅紀
	西沢 徹
生理生態研究室	佐治 光
水圏環境研究領域	
水環境質研究室	岩崎一弘
	浦川秀敏*
地球環境研究センター	小熊宏之

(注) 所属・役職は年度終了時点のもの。また、*印は過去に所属していた職員等を示す。

[B 特別客員研究員]

内山巖雄	(京都大学)	平成 18 年度～ 19 年度
遠山千春	(東京大学)	平成 18 年度～ 19 年度
中杉修身	(上智大学)	平成 18 年度～ 19 年度
森田昌敏	(愛媛大学)	平成 18 年度～ 19 年度
若林明子	(淑徳大学)	平成 18 年度～ 19 年度

[C 客員研究員]

永洞真一郎	(北海道環境科学研究センター)	平成 18 年度～ 19 年度
高橋 悟	(岩手県環境保健研究センター)	平成 18 年度～ 19 年度
大谷仁己	(群馬県衛生環境研究所)	平成 18 年度～ 19 年度
原口公子	(北九州市環境科学研究所)	平成 18 年度～ 19 年度
寺崎正紀	(静岡県立大学環境科学研究所)	平成 18 年度～ 19 年度
肥田嘉文	(志賀県立大学環境科学部)	平成 18 年度～ 19 年度
沢辺昭義	(近畿大学農学部)	平成 18 年度～ 19 年度
西川淳一	(武庫川女子大学薬学部)	平成 18 年度～ 19 年度
門上希和夫	(北九州市立国際環境工学部)	平成 18 年度～ 19 年度
伏脇裕一	(神奈川県衛生研究所)	平成 18 年度～ 19 年度
辻 清美	(神奈川県衛生研究所)	平成 18 年度～ 19 年度
大森清美	(神奈川県衛生研究所)	平成 18 年度～ 19 年度

陰地義樹	(奈良県保健環境研究センター)	平成 18 年度～ 19 年度
大金仁一	(宮城県保健環境センター)	平成 18 年度～ 19 年度
杉田和俊	(ダイヤ分析センター)	平成 18 年度～ 19 年度
田中憲穂	(食品薬品安全センター)	平成 18 年度～ 19 年度
峯木 茂	(東京理科大学薬学部)	平成 18 年度～ 19 年度
中島晴信	(大阪府立公衆衛生研究所)	平成 18 年度～ 19 年度
後藤純雄	(麻布大学環境保健学部)	平成 18 年度～ 19 年度
嵐谷奎一	(産業医科大学)	平成 18 年度～ 19 年度
市川眞澄	(東京都神経科学総合研究所)	平成 18 年度～ 19 年度
小川園子	(筑波大学大学院)	平成 18 年度～ 19 年度
小田嶋博	(国立病院機構福岡病院)	平成 18 年度～ 19 年度
掛山正心	(東京大学大学院)	平成 18 年度～ 19 年度
川崎勝義	(星薬科大学)	平成 18 年度～ 19 年度
坂部 貢	(北里大学薬学部)	平成 18 年度～ 19 年度
角野康郎	(神戸大学)	平成 18 年度～ 19 年度
野波 寛	(関西学院大学)	平成 19 年度
三橋弘宗	(兵庫県人と自然の博物館)	平成 18 年度～ 19 年度
青木康展	(内閣府)	平成 18 年度～ 19 年度
大迫誠一郎	(東京大学大学院医学研究科)	平成 18 年度～ 19 年度
浦川秀敏	(東京大学海洋研究所)	平成 18 年度
吉岡義正	(大分大学)	平成 18 年度～ 19 年度
丹野恵一	(神戸市立看護大学)	平成 18 年度～ 19 年度

[D 共同研究員]

東 典子	(COE 博士研究員)	平成 18 年度～ 19 年度
------	-------------	-----------------

2 研究課題と担当者 (*客員研究員等)

(1) 中核研究プロジェクト 1 : 化学物質曝露に関する複合的要因の総合解析による曝露評価

鈴木規之・櫻井健郎・今泉圭隆・河原純子・小林 淳・Solovieva Elena・白石不二雄・鎌迫典久・中島大介・後藤純雄*・鎌田 亮・平井滋恵・小田重人・小塩正朗・影山志保・柏田祥策*

(2) 中核研究プロジェクト 2 : 感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価

藤巻秀和・山元昭二・黒河住香・塚原伸治・Tin-Tin-Win-Shwe・福島 篤・石堂正美・西村典子・曾根秀子・河原純子・中島大介・鈴木純子・北條理恵子*・黒田淑子・高野裕久・井上健一郎・野原恵子・柳澤利枝・小池英子・今西 哲

(3) 中核研究プロジェクト 3 : 環境中におけるナノ粒子等の体内動態と健康影響評価

平野靖史郎・藤谷雄二・小林伸治・古山昭子・菅野さな枝・小林隆弘*・山元昭二・Tin-Tin-Win-Shwe・井上健一郎・高野裕久・柳澤利枝・鈴木 明・種田晋二・李 春梅

(4) 中核研究プロジェクト 4 : 生物多様性と生態系機能の視点に基づく環境影響評価手法の開発

高村典子・堀口敏宏・児玉圭太・西川 潮・赤坂宗光・松崎慎一郎・五箇公一・今藤夏子・国武陽子・

郡 麻里・米田昌浩・田中嘉成・菅谷芳雄・立田晴記・中嶋美冬*・真野浩行

(5) 関連プロジェクト

- ① トキシコゲノミクスを利用した環境汚染物質の健康・生物影響評価法の開発に関する研究
野原恵子・鈴木武博・伊藤智彦・粟生佳奈・Castle Jill Funatake・佐治 光・玉置雅紀・岩崎一弘・浦川
秀敏*・青木康展*・大迫誠一郎*・玉置雅紀
- ② エピジェネティクス作用を包括したトキシコゲノミクスによる環境化学物質の影響評価法開発のための研究
野原恵子・鈴木武博・小林弥生・西村典子・塚原伸治・柳澤利枝・立石幸代
- ③ 侵入生物・遺伝子組換え生物による遺伝的多様性影響評価に関する研究
中嶋信美・玉置雅紀・西沢 徹・五箇公一・米田昌浩・高村健二・中原真裕子

(6) その他の課題

- ① 化学物質リスク総合解析手法と基盤の開発
鈴木規之・今泉圭隆・Solovieva Elena
- ② 化学物質環境調査による曝露評価の高度化に関する研究
白石不二雄・鎌迫典久・中島大介・塚原伸治・櫻井健郎・白石寛明・鎌田 亮
- ③ 化学物質管理のための生態影響試験法および生態リスク評価法の検討
田中嘉成・菅谷芳雄
- ④ 定量的構造活性相関による生態毒性予測手法の開発
白石寛明・樋田竜男
- ⑤ 発がん性評価と予測のための手法の開発
松本 理・天沼喜美子
- ⑥ インフォマティクス手法を活用した化学物質の影響評価と類型化手法の開発
米元純三・曾根秀子・座波ひろ子・永野麗子
- ⑦ 化学物質の環境リスク評価のための基盤整備
山崎邦彦・鈴木広子

(7) 知的研究基盤の整備

- ① 化学物質データベースの構築と提供
白石寛明・西川 希*
- ② 生態系評価・管理のための流域詳細情報の整備
高村典子・赤坂宗光・小熊宏之
- ③ 侵入生物データベースの管理
五箇公一・郡 麻里

II 研究成果発表一覧

1 誌上発表

(1) 中核研究プロジェクト1：化学物質曝露に関する複合的要因の総合解析による曝露評価

発表者・(刊年)・題目・掲載誌・巻(号)・頁

Imaizumi Y., Suzuki N., Shiraishi H. (2006) Bootstrap methods for confidence intervals of percentiles from dataset containing nondetected observations using lognormal distribution, *Journal of Chemometrics*, 20, 68-75

今泉圭隆, 吉池信男, 白石寛明, 鈴木規之 (2007) 一律基準を組み入れた食品残留農薬リスク評価と残留農薬実, 測結果の不確実性を加味した曝露評価, *環境化学*, 17, 435-441

Oda S., Tatarazako N., Watanabe H., Morita M., Iguchi T. (2006) Genetic differences in the production of male neonates in *Daphnia magna* exposed to juvenile hormone analogs, *Chemosphere* 63, 1477-1484

Kato Y., Kobayashi K., Oda S., Tatarazako N., Watanabe H., Iguchi T. (2007) Cloning and characterization of the ecdysone receptor and ultraspiracle protein from the water flea *Daphnia magna*, *Journal of Endocrinology*, 193, 183-194

Oda S., Tatarazako N., Dorgerloh M., Johnson R., Kusk K.O., Leverett D., Marchini S., Nakari T., Williams T., Iguchi T. (2007) Strain difference in sensitivity to 3, 4-dichloroaniline and insect growth regulator, fenoxycarb, in *Daphnia magna*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67, 399-405

Watanabe H., Takahashi E., Nakamura Y., Oda S., Tatarazako N., Iguchi T. (2007) Development of a *Daphnia magna* DNA microarray for evaluating the toxicity of environmental chemicals., *Environ Toxicol Chem.*, 26 (4), 669-676

Kato Y., Kobayashi K., Oda S., Colbourn JK., Tatarazako N., Watanabe H., Iguchi T.: Molecular cloning and sexually dimorphic expression of DM-domain genes in *Daphnia magna*., *Genomics*, 91, 94-101

Osaki K., Kashiwada S., Tatarazako N., Ono Y. (2006) Toxicity testing of leachate from waste landfills using medaka (*Oryzias latipes*) for monitoring environmental safety, *Environ. Monit. Assess.* 117, 73-84

柏田祥策 (2006) 環境安全のためのバイオアッセイ, *安全工学*, 45, 319-327

柏田祥策 (2006) Current environmental pesticide sciences with fish, *環境毒性学会誌*, 9(2), 69-80

Kamata R., Takahashi S., Shimizu A., Shiraishi F. (2006) Avian transgenerational reproductive toxicity test with in ovo exposure, *Arch Toxicol.*, 80, 846-856

Kamata R., Takahashi S., Shimizu A., Morita M., Shiraishi, F. (2006) In ovo exposure quail assay for risk assessment of endocrine disrupting chemicals, *Arch Toxicol.*, 80, 857-867

Yoshikane M., Kay W.R., Shibata Y., Inoue M., Yanai T., Kamata R., Edmonds J.S., Morita M. (2006) Very high concentrations of DDE and toxaphene residues in crocodiles from the Ord River, Western Australia: an investigation into possible endocrine disruption, *Journal of Environmental Monitoring*, 8(6), 649-661

Kamata R., Shiraishi F., Nishikawa J., Yonemoto J., Shiraishi H. (2008) Screening and detection of the in vitro agonistic activity of xenobiotics on the retinoic acid receptor, *Toxicol. in Vitro*, 22, 1050-1061

Goto S., Xiong JF., Nakajima D., Inaba K., Ohata M., Yoshizawa S., Yajima H., Sakai S. (2007) A method for removing copper from carbonized waste wood using an electrical current. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 79, 126-129

Murayama R., Goto S., Nakajima D., Fujimaki H., Watanabe I., Arashidani K., Uchiyama I. (2006) Measurements of exposure concentrations of benzene, toluene and xylene, and amounts of respiratory uptake, *J. UOEH*, 28(2), 173-183

Terasaki M., Kazama T., Shiraishi F., Makino M. (2006) Identification and estrogenic characterization of impurities in commercial bisphenol A diglycidyl ether (BADGE), *Chemosphere*, 65, 873-880

Hashimoto S., Ueda Y., Kurihara R., Shiraishi F. (2007) Comparison of the estrogenic activities of seawater extracts from Suruga Bay, Japan, based on chemical analysis or bioassay, *Environ. Toxicol. Chem.*, 26(2), 279-286

Kubo T., Matsumoto H., Shiraishi F., Normachi M., Nemoto K., Hosoya K., Kaya K. (2007) Selective separation of hydroxy polychlorinated biphenyls (HO-PCBs) by the structural recognition on the molecularly imprinted polymers: Direct separation of the thyroid hormone active analogues from mixtures., *Anal. Chim. Acta*, 589, 180-185

- Tada N., Saka M., Shiraishi F., Kamata Y. (2007) A field study on serum vitellogenin levels in male Reeves' pond turtles (*Chinemys reevesii*) from estrogen-contaminated sites and a reference site., *Sci. Total Environ.*, 384, 205-213
- Kurihara R., Watanabe E., Ueda Y., Kakuno A., Fuji K., Shiraishi F., Hashimoto S. (2007) Estrogenic activity in sediments contaminated by nonylphenol in Tokyo Bay (Japan) evaluated by vitellogenin induction in male mummichogs (*Fundulus heteroclitus*)., *Mar. Pollut. Bull.*, 54, 1315-1320
- Kurihara R., Shiraishi F., Rajendran R.B., Tao H., Horiguchi F., Nakata K., Hashimoto S. (2007) Evaluation of ecotoxicity and fate of methylated butyltins in sediments and seawater from Tokyo Bay, Japan., *Environ. Toxicol. Chem.*, 26(12), 2560-2566
- Terasaki M., Shiraishi F., Fukazawa H., Makino M. (2007) Occurrence and estrogenicity of phenolics in paper-recycling process water: Pollutants originating from thermal paper in waste paper., *Environ. Toxicol. Chem.*, 26(11), 2356-2366
- 白石不二雄 (2007) 酵母ツーハイブリッドアッセイ法による新規環境ホルモン様物質の探索, 第5版 実験化学講座 20-2 環境化学, 479-483, 丸善, 東京
- Allinson G., Allinson M., Salzman S., Shiraishi F., Myers J., Theodoropoulos T., Hermn K., Wightwick A. (2007) Hormones in recycled water., Final Report, Dept of Primary Industries, 64
- Yasukawa T., Nagamine K., Horiguchi Y., Shiku H., Koide M., Itayama T., Shiraishi F., Matsue T. (2008) Electrophoretic cell manipulation and electrochemical gene-function analysis based on a yeast two-hybrid system in a microfluidic device., *Anal. Chem.*, 80(10), 3722-3727
- 鈴木規之 (2007) 化学物質の環境動態とリスク評価, *YAKUGAKU ZASSHI*, 127, 437-447
- 鈴木規之 (2007) 有害化学物質の曝露評価への検討と情報統合への課題と取り組み, 電気評論
- 鈴木規之 (2007) 多媒体モデルによる化学物質の環境動態のモデル化, 第5版 実験化学講座 20-2 環境化学, 488-493, 丸善, 東京
- Cao H., Suzuki N., Sakurai T., Matsuzaki K., Shiraishi H., Morita M. (2007) Probabilistic estimation of dietary exposure of the general Japanese population to dioxins in fish, using region-specific fish monitoring data. *J. Exposure Science and Environ. Epidemiol.* 18, 236-245
- Cao H., Suzuki N., Sakurai T., Matsuzaki K., Shiraishi H., Morita M. (2007) Probabilistic estimation of dietary exposure of the general Japanese population to dioxins in fish, using region-specific fish monitoring data, *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, advance online publication 5 December 2007; doi, 10.1038/sj.jes.7500608
- 鑑迫典久 (2006) 環境水のバイオアッセイ～Whole Effluent Toxicityの考え方, *水環境学会誌*, 29, 426-432
- 鑑迫典久 (2006) 環境バイオモニタリングの実際－免疫化学測定法を中心として－, *環境技術*, 35, 15-19
- 鑑迫典久 (2006) 平成17年度化学物質の内分泌かく乱作用に関する日米二国間協力業務, 環境省・請負業務報告書
- 鑑迫典久 (2006) 平成17年度化学物質の内分泌かく乱作用に関する無脊椎動物試験に係る業務, 環境省・請負業務報告書
- 鑑迫典久 (2006) 平成17年度化学物質の内分泌かく乱作用に関する魚類試験実施及び魚類試験法に関する検討に係る業務, 環境省・請負業務報告書
- Tatarazako N., Oda S.: The water flea *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera) as a test species for screening and evaluation of chemicals with endocrine disrupting effects on crustaceans, *Ecotoxicology*, 16, 197-203
- Tatarazako N., Katoh M., Kadokami K. (2007) Evaluation of environmental impact of tire chips by bioassay., *Scrap Tire Derived Geomaterials Opportunities and Challenges*, 109-114
- 鑑迫典久 (2007) 第6回国際動物実験代替法会議参加報告記, *環境毒性学会誌*, 10(2), 77-79
- 鑑迫典久 (2007) 平成18年度化学物質の内分泌かく乱作用に関する無脊椎動物試験に係る業務, 環境省・請負業務報告書
- 鑑迫典久 (2007) 平成18年度農薬による水生生物影響実態把握調査業務, 環境省・請負業務報告書
- 鑑迫典久, 森田昌敏 (2008) 残留性有機汚染物質 (POPs) と内分泌かく乱化学物質, *エンバイオ*, 44(6), 31-34

- 山本裕史, 中村友紀, 木谷智世, 中村雄大, 関澤 純, 鑑迫典久 (2008) 非ステロイド系医薬品類 8 種の慢性影響を考慮した生態リスク評価, 環境衛生工学研究, 22, 38-47
- 山本裕史, 関澤 純, 鑑迫典久, 平井慈恵, 石橋弘志, 有菌幸司 (2008) 医薬品類とパーソナルケア製品 (PPCPs) の水棲生物への影響, 用水と廃水, 50, 594-602
- 鑑迫典久 (2007) 環境ホルモン様物質曝露指標としてのビテロジェニン測定, 第 5 版実験化学講座 20-2 環境化学, 475-478, 丸善, 東京
- 鑑迫典久 (2008) 平成 19 年度化学物質の内分泌かく乱作用に関する無脊椎動物試験に係る業務, 環境省・請負業務報告書
- 鑑迫典久 (2008) 平成 19 年度化学物質の内分泌かく乱作用に関する OECD における魚類試験法開発に係る業務, 環境省・請負業務報告書
- 鑑迫典久 (2008) 平成 19 年度農薬による水生生物影響実態把握調査業務, 環境省・請負業務報告書
- Onodera S., Hayashi T., Fujiyama T., Ohi T., Mori Y., Kuwahara M., Ezoe Y., Nakajima D., Goto S. (2006) TLC fractionation and characterization of Ames mutagenic substances in chlorine-treated 4-methylphenol solution in the presence of bromide ion., *Journal of Environmental Chemistry*, 16(2), 229-237
- 滝口 裕, 津田 紋, 吉川沙央里, 中島大介, 後藤純雄, 小野寺祐夫 (2006) 水中における酸化防止剤 (BHA, BHT) と塩素との反応及び生成物の変異原性試験, *環境化学*, 16(2), 219-228
- Kuramotochi H., Nakajima D., Goto S., Kawamoto K., Maeda K. (2006) Water solubility of solid solution of phenanthrene and anthracene mixture., *Polycyclic Aromatic Compounds*, 26(4), 299-312
- Nakajima D., Asada S., Kageyama S., Yamamoto T., Kuramochi H., Tanaka N., Takeda K., Goto S. (2006) Activity related to carcinogenicity of plastic additives in the benzophenone group., *J. UOEH*, 28(2), 143-156
- Murayama R., Goto S., Nakajima D., Fujimaki H., Watanabe I., Arashidani K., Uchiyama I. (2006) Measurements of exposure concentrations of benzene, toluene and xylene, and amounts of respiratory uptake., *J. UOEH*, 28(2), 173-183
- Nakajima D., Nagame S., Kuramochi H., Sugita K., Kageyama S., Shiozaki T., Takemura T., Shiraishi F., Goto S. (2007) Polycyclic aromatic hydrocarbon generation behavior in the process of carbonization of wood., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 79, 221-225
- Goto S., Xiong JF, Nakajima D., Inaba K., Ohata M., Yoshizawa S., Yajima H., Sakai S. (2007) A method for removing copper from charcoal of waste wood using an electrical current., *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 79, 126-129
- 中島大介, 影山志保, 白石不二雄, 鎌田 亮, 永洞真一郎, 高橋 悟, 大金仁一, 大谷仁己, 堀内孝信, 渡邊雅之, 濱根貴志, 山根一城, 原口公子, 陣矢大助, 門上希和夫, 後藤純雄, 鑑迫典久, 白石寛明, 鈴木規之 (2007) 河川水中の遺伝毒性物質モニタリングへの発光 *umu* 試験の適用性について, *環境化学*, 17(3), 453-460
- Nakashima H., Nakajima D., Takagi Y., Goto S. (2007) Volatile Organic Compound (VOC) analysis and Anti-VOC measures in water-based paints., *J. Health Sci.*, 53 (3), 311-319
- Manabe T., Ohata M., Yoshizawa S., Nakajima D., Goto S., Uchida K., Yajima H. (2007) Effect of carbonization temperature on the physicochemical structure of wood charcoal., *Transactions of the Materials Research Society of Japan*, 32(4), 1035-1038
- Mineki S., Kawakami Y., Nakajima D., Shiozaki T., Sugita K., Shiraishi F., Takagi Y., Goto S. (2008) Recovery rate in the concentration of semivolatile Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH) solutions., *Journal of Environmental Chemistry*, 18 (1), 43-50
- 平井慈恵 (2006) メダカを用いた化学物質の内分泌かく乱作用に関する研究 - 環境学における内分泌研究の一例として -, *日本比較内分泌学会ニュース*, 121, 17-20
- Hirai N., Nanba A., Koshio M., Kondo T., Morita M., Tatarazako N. (2006) Feminization of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 17 β -estradiol: Formation of testis-ova and sex-transformation during early-ontogeny., *Aquatic Toxicol.*, 77, 78-86
- Hirai N., Nanba A., Koshio M., Kondo T., Morita M., Tatarazako N. (2006) Feminization of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to 17 β -estradiol: Effect of exposure period on spawning performance in sex-transformed females., *Aquatic Toxicol.*, 79, 288-295

江口さやか, 菅原志穂美, 中川加奈子, 三谷直子, 大沼良子, 松岡須美子, 平井慈恵, 山本義和 (2007) メダカピテロジェニンアッセイによる下水高度処理のエストロゲン様物質低減効果の評価, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 73(4), 726-733

Yamamoto H., Nakamura Y., Nakamura Y., Kitani C., Imari T., Sekizawa J., Takao Y., Yamashita N., Hirai N., Oda S., Tatarazako N. (2007) Initial ecological risk assessment of eight selected human pharmaceuticals in Japan., *Environ Sci*, 14(4), 177-93

Yamamoto H., Watanabe M., Hirata Y., Nakamura Y., Nakamura Y., Kitani C., Sekizawa J., Uchida M., Nakamura H., Kagami Y., Koshio M., Hirai N., Tatarazako N. (2007) Preliminary Ecological Risk Assessment of Butylparaben and Benzylparaben_1. Removal Efficiency in Wastewater Treatment, Acute/Chronic Toxicity for Aquatic Organisms, and Effects on Medaka Gene Expression., *Environ. Sci.*, 14, 073-087

Nakamura Y., Yamamoto H., Sekizawa J., Kondo T., Hirai N., Tatarazako N. (2008) The effects of pH on fluoxetine in Japanese medaka (*Oryzias latipes*): Acute toxicity in fish larvae and bioaccumulation in juvenile fish., *Chemosphere*, 70(5), 865-73

(2) 中核研究プロジェクト2 : 感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価

Hashimoto A.H., Amanuma K., Hiyoshi K., Takano H., Masumura K.I., Nohmi T., Aoki Y. (2006) In vivo mutagenesis in the lungs of gpt-delta transgenic mice treated with 1,6-dinitropyrene, *Environ. Mol. Mutagen.*, 47, 277-283

Aoki Y., Hashimoto A.H., Amanuma K., Matsumoto M., Hiyoshi K., Takano H., Masumura K., Itoh K., Nohmi T., Yamamoto M. (2007) Enhanced Spontaneous and Benzo (a) pyrene-Induced Mutations in the Lung of Nrf2-Deficient gpt Delta Mice, *Cancer Res.*, 67, 5643-5648

Hashimoto A.H., Amanuma K., Hiyoshi K., Sugawara Y., Goto S., Yanagisawa R., Takano H., Masumura K.I., Nohmi T., Aoki Y. (2007) Mutations in the lungs of gpt-delta transgenic mice following inhalation of diesel exhaust, *Environ. Mol. Mutagen.*, 48, 682-693

Ishido M. (2006) Prevention by melatonin of maneb-induced mitochondrial dysfunction in rat pheochromocytoma cells, *Antioxidant*, 149-157

Adachi T., Satoh M., Pramanik R., Kuroda S., Ishido M., Kunimoto M. (2006) Region-dependent differences and alterations of protective thiol compound levels in cultured astrocytes and brain tissues, *Biol. Pharm. Bull.*, 29 (7), 1466-1469

Ishido M. (2007) Melatonin inhibits maneb-induced aggregation of α -synuclein in rat pheochromocytoma cells, *J. Pineal Res.*, 42 (2), 125-130

Ishido M. (2007) Apoptosis induced by environmental factors, *Cell Apoptosis.*, 141-156

Ishido M., Yonemoto J., Morita M. (2007) Mesencephalic neurodegeneration in the orally administered bisphenol A-caused hyperactive rats, *Toxicol. Lett.*, 173, 66-72

Ishido M., Masuo Y., Niki E., Morita M. (2007) The long-term neuroeffects of neonatal bisphenol A treatment in adult rats, *Organohalogen Compounds*, 69, 2999-3001

Ishido M. (2007) Interaction of melatonin with environmental factors, *Melatonin*, 849-861

Masuo Y., Ishido M., Morita M., Sawa F., Nagashima K., Niki E. (2007) Behavioral characteristics and gene expression in the hyperactive wiggling (Wig) rat, *Euro. J. Neurosci.*, 25, 3659-3666

増尾好則, 石堂正美 (2007) 環境ホルモン, *Clinical Neuroscience*, 25(8), 874-876

石堂正美 (2007) 環境毒性の分子生物学, *物性研究*, 88(4), 572-579

Takano H., Yanagisawa R., Inoue K., Ichinose T., Sadakane K., Yoshikawa T. (2006) Di-(2-ethylhexyl) phthalate enhances atopic dermatitis-like skin lesions in mice, *Environ. Health Persp.*, 114, 1266-1269

- Inoue K., Takano H., Hiyoshi K., Ichinose T., Sadakane K., Yanagisawa R., Tomura S., Kumagai Y. (2007) Naphthoquinone enhances antigen-related airway inflammation in mice. *Eur. Respir. J.*, **29**, 259-267
- Inoue K., Takano H., Ichinose T., Tomura S., Yanagisawa R., Sakurai M., Sumi D., Cho A.K., Hiyoshi K., Kumagai Y. (2007) Effects of naphthoquinone on airway responsiveness in the presence or absence of antigen in mice, *Arch Toxicol.*, **81**, 575-581
- Inoue K., Takano H., Yanagisawa R., Sakurai M., Abe S., Yoshino S., Yamaki K., Yoshikawa T. (2007) Effects of components derived from diesel exhaust particles on lung physiology related to antigen, *Immunopharmacol Immunotoxicol*, **29**, 403-412
- Takano H., Yanagisawa R., Inoue K. (2007) Components of diesel exhaust particles diversely enhance a variety of respiratory diseases related to infection or allergy -Extracted organic chemicals and the residual particles after extraction differently affect respiratory diseases-, *J. Clin. Biochem. Nutr.*, **40**, 101-107
- 高野裕久 (2006) シックハウス症候群・化学物質過敏症の診療とその課題, *環境技術*, **35**, 245-250
- Tsukahara S., Yamamoto S., Shwe T.T., Ahmed S., Kunugita N., Arashidani K., Fujimaki H. (2006) Inhalation of low-level formaldehyde increases the Bcl-2/Bax expression ratio in the hippocampus of immunologically sensitized mice, *Neuroimmunomodulation*, **13**, 63-68
- Maekawa F., Fujiwara K., Tsukahara S., Yada T. (2006) Pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide neurons of the ventromedial hypothalamus project to the midbrain central gray, *Neuroreport*, **17**(2), 221-224
- Tsukahara S., Kakeyama M., Toyofuku Y. (2006) Sex differences in the level of Bcl-2 family proteins and caspase-3 activation in the sexually dimorphic nuclei of the preoptic area in postnatal rats, *Journal of Neurobiology*, **66**(13), 411-419
- Tsukahara S. (2006) Increased Fos immunoreactivity in suprachiasmatic nucleus before luteinizing hormone surge in estrogen-treated ovariectomized female rats, *Neuroendocrinology*, **83**(5-6), 303-312
- Warita K., Sugawara T., Yue Z-P., Tsukahara S., Mutoh K., Hasegawa Y., Kitagawa H., Mori C., Hoshi N. (2006) Progression of the dose-related effects of estrogenic endocrine disruptors, an important factor in declining fertility, differs between the hypothalamo-pituitary axis and reproductive organs of male mice, *Journal of Veterinary Medical Science*, **68** (12), 1257-1267
- Maekawa F., Nakamori T., Uchimura M., Fujiwara K., Yada T., Tsukahara S., Kanamatsu T., Tanaka K., Ohki-Hamazaki H. (2007) Activation of cholecystokinin neurons in the dorsal pallium of the telencephalon is indispensable for the acquisition of chick imprinting behavior, *Journal of Neurochemistry*, **102** (5), 1645-1657
- Tsukahara S., Hojo R., Kuroda Y., Fujimaki H. (2008) Estrogen modulates Bcl-2 family protein expression in the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area of postnatal rats, *Neuroscience Letters*, **432**, 58-63
- Shwe T.T., Tsukahara S., Ahmed S., Fukushima A., Yamamoto S., Kakeyama M., Nakajima D., Goto S., Kobayashi T., Fujimaki H. (2007) Athymic nude mice are insensitive to low-level toluene-induced up-regulation of memory-related gene expressions in the hippocampus, *Neurotoxicology*, **28**, 957-964
- Ahmed S., Tsukahara S., Shwe T.T., Yamamoto S., Kunugita N., Arashidani K., Fujimaki H. (2007) Effects of low-level formaldehyde exposure on synaptic plasticity related gene expression in the hippocampus of immunized mice, *J. Neuroimmunol.*, **186**, 104-111
- 塚原伸治, 石堂正美, 黒河佳香, 藤巻秀和 (2008) 揮発性有機化合物および農薬の発達期曝露による中枢神経系への影響についての調査研究, *大気環境学会誌*, **43**, 180-190
- Nishimura N., Yonemoto J., Nishimura H., Tohyama C. (2006) Localization of cytochrome P450 1A1 in a specific region of hydronephrotic kidney of rat neonates lactationally exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, *Toxicology*, **227**, 117-126
- Nishimura N., Yonemoto J., Nishimura H., Tohyama C. (2006) Alterations of gene expression during development of hydronephrosis caused by lactational exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachloro-dibenzo-p-dioxin in the neonate of rats, *Organohalogen Compounds*, **68**, 568-571

- Nishimura N., Miyata C., Ito T., Izumi K., Fujimaki H., Nishimura H. (2007) Up-regulation of 25-hydroxyvitamin D3 1-hydroxylase and disruption of calcium metabolism by 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in developing mouse kidney, *Organohalogen Compounds.*, 69, 1079-1082
- Vogel C., Nishimura N., Sciallo E., Wong P., Li W., Matsumura F., Nishimura N. (2007) Modulation of the chemokines KC and MCP-1 by 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin in Mice, *Arch. Biochem. Biophys.*, 461, 169-175
- Nishimura N. (2007) Administration of nonsteroidal anti-inflammatory drug prevents the kidney from hydronephrosis induced by 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in mice, *Proceedings of International Forum for Public Health, Shanghai*, 26
- Nishimura N., Matsumura F., Vogel C., Nishimura H., Yonemoto J., Yoshioka W., Tohyama C. (2008) Critical role of cyclooxygenase-2 activation in pathogenesis of hydronephrosis caused by lactational exposure of mice to dioxin, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, (in press)
- Nishimura N., Ito T., Fujimaki H., Nishimura H. (2008) Defect of mineralization as a possible cause of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced bone toxicity in early postnatal development in mice, *Organohalogen Compounds*, (in press)
- 西村典子 (2006) 化学物質と健康－胎児期および授乳期ダイオキシン曝露によるラット甲状腺 過形成とその毒性メカニズム, *生物物理化学*, 50(2), 54-58
- 西村典子 (2006) 周産期ダイオキシン曝露の生体影響—甲状腺への影響と毒性発現メカニズム, *Endocrine Disrupter NEWS LETTER*, 9(2), 6
- 遠山千春, 大迫誠一郎, 石村隆太, 西村典子, 吉岡 亘 (2008) ダイオキシンの生殖発生影響とその病態発症のメカニズム, *細胞工学*, 26(12), 1380-1385
- 西村典子 (2008) 母体へのダイオキシン曝露が新生児に影響をもたらすメカニズム, *Biophilia*, 4(1), 30-34
- Nishimura N. (2007) Administration of nonsteroidal anti-inflammatory drug prevents the kidney from hydronephrosis induced by 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in mice, *Proceedings of International Forum for Public Health, Shanghai*, 26
- 西村典子 (2007) 内分泌攪乱化学物質の骨形成への影響, *Endocrine Disrupter NEWS LETTER*, 10(3)
- Fujimaki H., Kurokawa Y., Yamamoto S., Satoh M. (2006) Distinct requirements for IL-6 in airway inflammation induced by diesel exhaust in mice, *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 28, 703-714
- Murayama R., Goto S., Nakajima D., Fujimaki H., Watanabe I., Arashidani K., Uchiyama I. (2006) Measurements of exposure concentrations of benzene, toluene and xylene, and amounts of respiratory uptake, *J. UOEH*, 28, 173-183
- Yamaguchi T., Nakajima D., Ezoe Y., Fujimaki H., Shimada Y., Kozawa K., Arashidani K., Goto S. (2006) Measurement of volatile organic compounds (VOCs) in new residential buildings and VOCs behavior over time, *J. UOEH*, 28, 13-27
- Sari D.K., Kuwahara S., Tsukamoto Y., Hori H., Kunugita N., Arashidani K., Fujimaki H., Sasaki F. (2006) Effects of Subchronic Exposure to Low Concentration of Toluene on the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Gland Axis of Female Mice. *J. Jpn. Soc. Atmos. Environ.*, 41, 38-43
- Nakajima D., Shwe T.T., Kakeyama M., Fujimaki H., Goto S. (2006) Determination of Toluene in Brain of Freely Moving Mice using Solid-Phase Microextraction Method, *Neurotoxicology*, 27, 615-618
- Fujimaki H., Yamamoto S., Shwe T.T., Hojo R., Sato F., Kunugita N., Arashidani K. (2007) Effect of long-term exposure to low-level toluene on airway inflammatory response in mice, *Toxicol. Lett.*, 168, 132-139
- Ito T., Inouye K., Nohara K., Tohyama C., Fujimaki H.: TCDD exposure exacerbates atopic dermatitis-related inflammation in NC/Nga mice, *Toxicol. Lett.* (in press)
- 藤巻秀和, 市川眞澄, 佐々木文彦, 嵐谷奎一 (2006) シックハウス症候群の発症—中枢神経と揮発性化学物質, *臨床免疫・アレルギー科*, 46, 182-187
- Yanagisawa R., Takano H., Inoue K., Sakurai M., Ichinose T., Sadakane K., Yoshino S., Yamaki K., Yoshikawa T., Hayakawa K. (2006) Components of diesel exhaust particles differentially affect Th1/Th2 response in a murine model of allergic airway inflammation, *Clin. Exp. Allergy*, 36, 386-395

Yanagisawa R., Takano H., Inoue K., Koike E., Sadakane K., Ichinose T.: Effects of maternal exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate during fetal and/or neonatal periods on atopic dermatitis in male offspring, *Environ. Health Persp.* (in press)

Ahmed S., Shwe T.T., Yamamoto S., Tsukahara S., Kunugita N., Arashidani K., Fujimaki H. (2007) Increased hippocampal mRNA expression of neuronal synaptic plasticity related genes in mice chronically exposed to toluene at a low-level human occupational-exposure, *Neurotoxicology*, **28**, 168-174

Shwe T.T., Yamamoto S., Nakajima D., Furuyama A., Fukushima A., Ahmed S., Goto S., Fujimaki H. (2007) Modulation of neurological related allergic reaction in mice exposed to low-level toluene, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **222**, 17-24

Shwe T.T., Mitsushima D., Nakajima D., Ahmed S., Yamamoto S., Tsukahara S., Takeyama M., Goto S., Fujimaki H. (2007) Toluene induces rapid and reverse of hippocampal glutamate and taurine neurotransmitter levels in mice, *Toxicol. Lett.*, **168**, 76-82

Shwe T.T., Mitsushima D., Yamamoto S., Fukushima A., Funabashi T., Kobayashi T., Fujimaki H. (2008) Changes in neurotransmitter levels and proinflammatory cytokine mRNA expressions in mice olfactory bulb following nanoparticle exposure, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **226**, 192-198

Ahmed S., Shwe T.T., Yamamoto S., Tsukahara S., Kurokawa Y., Nakajima D., Goto S., Fujimaki H. (2006) Modulation of neural activity-related gene expression in the olfactory bulb of mice exposed to toluene. 8th International Congress of neuroimmunology, Medimond, International Proceedings, 361-367

(3) 中核研究プロジェクト3：環境中におけるナノ粒子等の体内動態と健康影響評価

Inoue K., Takano H., Yanagisawa R., Hirano S., Sakurai M., Shimada A., Yoshikawa T. (2006) Effects of airway exposure to nanoparticles on lung inflammation induced by bacterial endotoxin in mice, *Environ. Health Perspect.*, **114**, 1325-1330

Inoue K., Takano H., Yanagisawa R., Ichinose T., Sakurai M., Yoshikawa T. (2006) Effects of nano particles on cytokine expression in murine lung in the absence or presence of allergen. *Arch. Toxicol.*, **80**, 614-619

ChunMei Li., Takahashi S., Taneda S., Furuta C., Watanabe G., Suzuki K.A., Taya K. (2006) Impairment of testicular function in adult male Japanese quail (*Coturnix japonica*) after a single administration of 3-methyl-4-nitrophenol in diesel exhaust particles. *J. Endocrinol.*, **189**, 555-564, IF: 3.072

ChunMei Li., Taneda S., Suzuki K.A., Furuta C., Watanabe G., Taya K. (2006) Anti-androgenic activity of 3-methyl-4-nitrophenol in diesel exhaust particles., *Eur. J. Pharmacol.*, **543**, 194-199, IF: 2.522

ChunMei Li., Taneda S., Suzuki K.A., Furuta C., Watanabe G., Taya K. (2006) Estrogenic and anti-androgenic activities of 4-nitrophenol in diesel exhaust particles, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **217**, 1-6, IF: 4.722

ChunMei Li., Taneda S., Suzuki K.A., Furuta C., Watanabe G., Taya K. (2007) Effects of 3-methyl-4-nitrophenol in diesel exhaust particles on the regulation of testicular function in immature male rats. *J. Androl.*, **28**, 252-258, IF: 2.035

ChunMei Li., Takahashi S., Taneda S., Furuta C., Watanabe G., Suzuki K.A., Taya K. (2007) Effects of 3-methyl-4-nitrophenol in diesel exhaust particles on the regulation of reproductive function in immature female Japanese quail (*Coturnix japonica*), *J. Reprod. Develop.*, **53**, 673-678, IF: 1.149

Chul-Ho Lee., Kamijima M., ChunMei Li., Taneda S., Suzuki K.A., Nakajima T. (2007) 3-Methyl-4-nitrophenol metabolism by uridine diphosphate-glucuronosyltransferase and sulfotransferase in liver microsomes of mice, rats and Japanese quails (*Coturnix japonica*), *Environ. Toxicol. Chem.*, **26**, 1873-1878, IF: 2.035

ChunMei Li., Taneda S., Suzuki K.A., Furuta C., Watanabe G., Taya K. (2007) Effects of 3-methyl-4-nitrophenol on the suppression of adrenocortical function in immature male rats., *Biol. Pharm. Bull.*, **30**, 2376-2380, IF: 1.522

Furuta C., Noda S., ChunMei Li., Suzuki K.A., Taneda S., Watanabe G., Taya K. (2008) Nitrophenols isolated from diesel exhaust particles regulate steroidogenic gene expression and steroid synthesis in the human H295R adrenocortical cell line., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **229**, 109-120, IF: 4.722

- Noya Y., Mikami Y., Taneda S., Mori Y., Suzuki K.A., Ohkura K., Yamaki K., Yoshino S., Seki K. (2008) Improvement of an efficient separation method for chemicals in diesel exhaust particles: Analysis for nitrophenols, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 15, 318–321, IF: 1.980
- Furuta C., Suzuki K.A., Watanabe G., ChunMei Li., Taneda S., Taya K. (2008) Nitrophenols isolated from diesel exhaust particles promote the growth of MCF-7 breast adenocarcinoma cells., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, Published online Mar 10, 2008. DOI: 10.1016/j.taap.200802.027 IF: 4.722
- Hirano S., Kanno S., Furuyama A. (2008) Multi-walled carbon nanotubes injure the plasma membrane of macrophages., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, (in press)
- 平野靖史郎 (2008) ナノ粒子・ナノ材料の健康問題「ナノ粒子健康影響の動向」日本衛生学雑誌 63, 36–41
- 藤谷雄二, 平野靖史郎, 小林伸治, 田邊 潔, 鈴木 明, 古山昭子, 小林隆弘 (2006) 国立環境研究所 ナノ粒子健康影響実験施設, *Engine Technology*, 8, 34–39
- Fujitani Y., Hasegawa S., Fushimi A., Kondo Y., Tanabe K., Kobayash S., Kobayashi T. (2006) Collection characteristics of low-pressure impactors with various impaction substrate materials., *Atmospheric Environment.*, 40, 3221–3229
- Fujitani Y., Ideno Y., Fushimi A., Tanabe K., Kobayashi S., Kobayashi T. (2007) Generation of nanoparticles of lubricating motor oil for inhalation studies., *Aerosol Science and Technology*, 41, 14–23
- Fujitani Y., Murao N., Ohta S., Endoh T., Yamagata S. (2007) Optical and chemical properties of marine aerosols over the central equatorial Pacific Ocean during the 2003 R/V Mirai cruise. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres*, 112, D11213, doi:10.1029/2006JD008354
- Fujitani Y., Kobayashi T., Arashidani K., Kunugita N., Suemura K. (2008) Measurement of the Physical Properties of Aerosols in a Fullerene Factory for Inhalation Exposure Assessment. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*. 5, 380–389
- Fujitani Y., Kobayashi T.: Measurement of Aerosols in Engineered Nanomaterials Factories for Risk Assessment. *Nano*, Accepted.
- 藤谷雄二, 平野靖史郎, 小林伸治, 田邊 潔, 鈴木 明, 古山昭子, 小林隆弘 (2006) 国立環境研究所 ナノ粒子健康影響実験施設, *Engine Technology*, 8, 34–39
- Fujitani Y., Ideno Y., Fushimi A., Tanabe K., Kobayashi S., Kobayashi T. (2007) Generation of nanoparticles of lubricating motor oil for inhalation studies, *Aerosol Science and Technology*, 41, 14–23
- Furuyama A., Hosokawa T., Mochitate K. (2008) Interleukin1- β and tumor necrosis factor- α have opposite effects on fibroblasts and epithelial cells during basement membrane formation., *Matrix Biology.*, 27(5), 429–440
- Kanno S., Furuyama A., Hirano S. (2007) A murine scavenger receptor MARCO recognizes polystyrene nanoparticles., *Toxicol. Sci.*, 97, 398–406
- Kanno S., Furuyama A., Hirano S. (2008) Effects of Eicosane, a Component of Nanoparticles in Diesel Exhaust, on Surface Activity of Pulmonary Surfactant Monolayers., *Arch. Toxicol.*, (in press)
- Kanno S., Furuyama A., Hirano S. (2007) A murine scavenger receptor MARCO recognizes polystyrene nanoparticles., *Toxicol. Sci.*
- Tin-Tin-Win-Shwe., Mitsushima D., Yamamoto S., Fukushima A., Funabashi T., Kobayashi T., Fujimaki H. (2008) Changes in neurotransmitter levels and proinflammatory cytokine mRNA expressions in the mice olfactory bulb following nanoparticle exposure, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 226 (2), 192–198
- 山元昭二 (2007) 環境ナノ粒子による健康影響, カーボンナノ粒子がグラム陽性菌細胞壁成分による肺の炎症反応に及ぼす影響, 岡山実験動物研究会報, 24, 22–27
- Yamamoto S., Tin-Tin-Win-Shwe., Ahmed S., Kobayashi T., Fujimaki H. (2006) Effect of ultrafine carbon black particles on lipoteichoic acid-induced early pulmonary inflammation in BALB/c mice, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 213, 256–266
- Tin-Tin-Win-Shwe., Yamamoto S., Ahmed S., Kakeyama M., Kobayashi T., Fujimaki H. (2006) Brain cytokine and chemokine mRNA expression in mice induced by intranasal instillation with ultrafine carbon black, *Toxicol. Letters.*, 163, 153–160

Yamamoto, S., Tin-Tin-Win-Shwe., Ahmed S., Kobayashi T., Fujimaki H. (2006) Effect of ultrafine carbon black particles on lipoteichoic acid-induced early pulmonary inflammation in BALB/c mice., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 213, 256-266

Tin-Tin-Win-Shwe., Yamamoto S., Ahmed S., Kakeyama M., Kobayashi T., Fujimaki H. (2006) Brain cytokine and chemokine mRNA expression in mice induced by intranasal instillation with ultrafine carbon black, *Toxicol. Lett.*, 163, 153-160

Tin-Tin-Win-Shwe., Yamamoto S., Kakeyama M., Kobayashi T., Fujimaki H. (2007) Effect of intratracheal instillation of ultrafine carbon black on proinflammatory cytokine and chemokine release and mRNA expression in lung and lymph nodes of mice, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 209, 51-61

(4) 中核研究プロジェクト4：生物多様性と生態系機能の視点に基づく環境影響評価手法の開発

Goka K., Okabe K., Yoneda M. (2006) Worldwide migration of parasitic mites as a result of bumblebee commercialization, *Population Ecology*, 48, 285-291

Kokubo N., Toquenaga Y., Goka K. (2007) A simple visualization method to reconstruct nest-mate patterns among bumble bees using genetic data. *Applied Entomology and Zoology*, 42, 137-141

Kuranouchi T., Nakamura T., Shimamura S., Kojima H., Goka K., Okabe K. Mochizuki A. (2006) Nitrogen fixation in the stag beetle, *Dorcus (Macrodercus) rectus* (Motschulsky) (Col., Lucanidae), *Journal of Applied Entomology*, 130, 471-473

Okabe K., Goka, K. (2007) Potential impacts on Japanese fauna of canestriniid mites (Acari: Astigmata) accidentally introduced with pet lucanid beetles from Southeast Asia, *Biodiversity and Conservation*, 17(1), 71-81

Yoneda M., Furuta H., Tsuchida K., Okabe K., Goka K. (2008) Commercial colonies of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) are reservoirs of the tracheal mite *Locustacarus buchneri* (Acari: Podapolipidae), *Applied Entomology and Zoology*, 43(1), 73-76

Yoneda M. (2008) Induction of colony initiation of Japanese native species by using cocoons of the exotic bumblebee, *Bombus terrestris*, *Entomological Science*, 11(1), 123-126

Yoshida T., Goka K., Ishihama F., Ishihara M., Kudo S. (2007) Biological invasion as a natural experiment of the evolutionary processes: introduction of the special feature, *Ecol. Res.*, 22, 849-854

五箇公一 (2006) セイヨウオオマルハナバチと外来生物法, *昆虫と自然*, 41(13)

五箇公一 (2007) セイヨウオオマルハナバチの侵入種問題, *生活と環境*, 52(1)

五箇公一 (2006) 昆虫輸入に見る日本の外来生物問題. *関西自然保護機構会誌*, 28(1), 37-47

五箇公一 (2007) 日本に忍び寄る目に見えない侵入生物, *ベストコントロール*, 2007(4)

五箇公一 (2007) 日本の生物多様性を脅かす目に見えない外来生物, *資源環境対策*, 43, 47-52

五箇公一 (2006) 法律による外来生物の取締について, *農林水産先端技術産業振興センター STAFF news letter*, 17(4)

国武陽子, 五箇公一 (2006) 農業用導入昆虫の生態リスク管理と将来展望-セイヨウオオマルハナバチの特定外来種指定-, *植物防疫*, 60(4)

国武陽子, 五箇公一 (2006) 花粉媒介昆虫クロマルハナバチの利用とその問題点? 外来生物法と国内外来種問題, *昆虫と自然*, 41(5)

国武陽子, 今藤夏子 (2007) セイヨウオオマルハナバチの外来種問題に生態学は何ができるか?, *Wildlife forum*, 12(2)

米田昌浩, 横山 潤, 土田浩治, 大崎哲也, 糸屋新一郎, 五箇公一 (2007) 北海道平取町におけるネット展帳を用いたセイヨウオオマルハナバチ *Bombus terrestris* の逃亡防止策の検討, *日本応用動物昆虫学会誌*, 51, 39-44

- 米田昌浩, 土田浩治, 五箇公一 (2008) 商品マルハナバチの生態リスクと特定外来生物法, 応用動物昆虫学会誌, 52(2), 47-62
- Manabe T., Takahashi Y., Yoshimi T., Miura T., Sugaya Y. (2007) Development of an acute toxicity test for first-instar larvae of a Midge (*Chironomus yoshimatsui*) using a Teflon Sheet, *Jpn. J. Environ. Toxicol.*, 10, 51-57
- 高橋美加, 松本真理子, 川原和三, 菅野誠一郎, 菅谷芳雄, 広瀬明彦, 鎌田栄一, 江馬 眞 (2007) OECD 化学物質対策の動向 (第 12 報-第 20 回, 第 21 回 OECD 高生産量化学物質初期評価会議 (2005 年パリ, ワシントン DC)), 化学生物総合管理学会誌, 3, 43-55
- 松本真理子, 山本展裕, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 江馬 眞 (2007) OECD 高生産量化学物質点検プログラム: 第 24 回初期評価会議概要, 化学生物総合管理学会誌, 3, 180-189
- 松本真理子, 大井恒宏, 宮地繁樹, 菅谷芳雄, 江馬 眞 (2007) OECD 高生産量化学物質点検プログラム: 第 23 回初期評価会議概要, 化学生物総合管理学会誌, 3, 56-65
- Jang M.-H., Ha K., Jung J.-M., Lee Y.-J., Takamura N. (2006) Increased microcystin production of *Microcystis aeruginosa* by indirect exposure of nontoxic cyanobacteria, Potential role in the development of microcystin bloom, *Environ. Contam. Toxicol.*, 76, 957-962
- Jang M.-H., Ha K., Takamura N. (2007) Reciprocal allelopathic interactions between toxic cyanobacteria (*Microcystis aeruginosa*) and duckweed (*Lemna japonica*), *Toxicon*, 49, 727-733
- Jang M.-H., Jung J.-M., Takamura N. (2007) Changes in microcystin production in cyanobacteria exposed to zooplankton at different population densities and infochemical concentrations, *Limnology and Oceanography*, 52, 1454-1466
- Matsuzaki S S., Usio N., Takamura N., Washitani I. (2007) Effects of common carp on nutrient dynamics and littoral community composition: roles of excretion and bioturbation, *Fundamental and Applied Limnology, Archiv fur Hydrobiology*, 168, 27-38
- Nakamura K., Kayaba Y., Nishihiro J., Takamura N. (2007) Effects of submerged plants on water quality and biota in large-scale experimental ponds, *Landscape Ecological Engineering*, 10.1007/s, 11355-007-0033-0
- 宇田川弘勝, 高村典子 (2007) 霞ヶ浦における湖水白濁現象の原因物質の特定, 陸水学雑誌, 68, 425-432
- 五十嵐聖貴, 高村典子, 中川 恵, 辻 ねむ, 若菜 勇 (2007) 釧路湿原達古武沼における動物プランクトンの季節変化と水平分布, 陸水学雑誌, 68, 123-129
- 高村典子, 中川 恵, 若菜 勇, 五十嵐聖貴, 辻 ねむ (2007) 達古武沼の水質分布特性および水質分布に影響する要因について, 陸水学雑誌, 68, 81-95
- 高村典子, 中川 恵, 仲島広嗣, 若菜 勇, 伊藤富子, 五十嵐聖貴 (2007) 炭素・窒素安定同位体比による達古武沼生態系の評価, 陸水学雑誌, 68, 169-186
- 針生 勤, 仲島広嗣, 高村典子 (2007) 達古武沼と流入河川における魚類, 陸水学雑誌, 68, 157-167
- 中川 恵, 高村典子, 金 白虎, 辻 ねむ, 五十嵐聖貴, 若菜 勇 (2007) 達古武沼における植物プランクトンの季節変化と分布特性, 陸水学雑誌, 68, 109-121
- 中島久男, 高村典子 (2007) 数理モデルによる達古武沼生態系のレジームシフトの解析, 陸水学雑誌, 68, 187-194
- 渡辺貴史, 高村典子 (2006) 兵庫県東播磨地域における生物保全に対するため池管理者の意識, 農村計画学会誌, 25, 353-358
- Bugrov A.G., Karamysheva T.V., Perepelov E.A., Elisaphenko E.A., Rubtsov D.N., Warchalowska-Sliwa E., Tatsuta H., Rubtsov N.B. (2007) DNA content of the B chromosomes in grasshopper *Podisma kanoi* Storozh. (Orthoptera, Acrididae), *Chromosome Res.*, 15, 315-325
- Koshio C., Muraji M., Tatsuta H., Kudo S. (2007) Sexual selection in a moth: effect of symmetry on male mating success in the wild, *Behav.Ecol.*, 18, 571-578
- Tatsuta H., Fujimoto K., Mizota K., Akimoto S. (2008) Distinctive developmental variability of genital parts in the sexually dimorphic beetle, *Prosopocoilus inclinatus* (Coleoptera : Lucanidae), *Biol.J.Linn.Soc.*, 90, 573-581

- 立田晴記, 吉尾政信, 浅田正彦, 落合啓二, 宮下 直 (2008) 景観遺伝学的解析に基づく野生生物集団における遺伝的不連続性の検出手法. 生物科学, 59, 174-181
- Tanaka Y. (2007) Introgressive hybridization as the breakdown of postzygotic isolation: a theoretical perspective, *Ecol Res.*, 22, 929-939
- Matsuzaki S., Usio N., Takamura N., Washitani I. (2007) Effects of common carp on nutrient dynamics and littoral community composition: roles of excretion and bioturbation, *Fundamental and Applied Limnology. Archiv fur Hydrobiologie*, 168(1), 27-38
- Usio N, 中田和義, 川井唯史, 北野 聡 (2007) 特定外来生物シグナルザリガニ (*Pacifastacus leniusculus*) の分布状況と防除の現状, 陸水学雑誌, 68, 471-482
- Usio N. (2007) Endangered crayfish in northern Japan: Distribution, abundance and microhabitat specificity in relation to stream and riparian environment, *Biol. Conserv*, 134, 517-526
- Usio N., Nakajima H., Kamiyama R., Wakana I., Hiruta S., Takamura N. (2006) Predicting the distribution of invasive crayfish (*Pacifastacus leniusculus*) in a Kusiro Moor marsh (Japan) using classification and regression trees, *Ecological Research*, 21, 271-277
- Usio N., Suzuki K., Konishi M., Nakano S. (2006) Alien vs. endemic crayfish: roles of species identity in ecosystem functioning, *Arch Hydrobiol*, 166, 1-21
- Horiguchi T. (2006) Masculinization of female caused by organotin compounds in gastropod mollusks, focusing on the mode of action of tributyltin and triphenyltin on the development of imposex. *Environ. Sci.*, 13(2), 77-87
- Horiguchi T., Kojima M., Hamada F., Kajikawa A., Shiraishi H., Morita M., Shimizu M. (2006) Impact of tributyltin and triphenyltin on ivory shell (*Babylonia japonica*) populations. *Environ. Health Perspectives* 114, 13-19
- Horiguchi T., Nishikawa T., Ohta Y., Shiraishi H., Morita M. (2007) Retinoid X receptor gene expression and protein content in tissues of the rock shell *Thais clavigera*. *Aquat. Toxicol.*, 84, 379-388
- Horiguchi T., Ohta Y., Nishikawa T., Shiraishi F., Shiraishi H., Morita M. (2007) Exposure to 9-cis retinoic acid induces penis and vas deferens development in the female rock shell, *Thais clavigera*. *Cell Biol. Toxicol.* doi, 10. 1007/s10565-007-9051-9
- Iguchi T., Katsu Y., Horiguchi T., Watanabe H., Blumberg B., Ohta Y. (2007) Endocrine disrupting organotin compounds are potent inducers of imposex in gastropods and adipogenesis in vertebrates. *Mol. Cell Toxicol.* 3, 1-10
- Isobe T., Serizawa S., Horiguchi T., Shibata Y., Managaki S., Takada H., Morita M., Shiraishi H. (2006) Horizontal distribution of steroid estrogens in surface sediments in Tokyo Bay. *Environ. Pollut.*, 144, 632-638
- Kodama K., Horiguchi T., Kume G., Nagayama S., Shimizu T., Shiraishi H., Morita M., Shimizu M. (2006) Effects of hypoxia on early life history of the stomatopod *Oratosquilla oratoria* in a coastal sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 324, 197-206
- Kodama K., Kume G., Shiraishi H., Morita M., Horiguchi T. (2006) Relationship between body length and processed-meat length, and seasonal change in net yield of processed-meat of Japanese mantis shrimp (*Oratosquilla oratoria*) in Tokyo Bay, Japan. *Fish. Sci.*, 72, 804-810
- Kodama K., Shiraishi H., Morita M., Horiguchi T. (2006) Verification of lipofuscin-based crustacean ageing: Seasonality of lipofuscin accumulation in the stomatopod *Oratosquilla oratoria* in relation to water temperature. *Mar. Biol.*, 150, 131-140
- Kume G., Horiguchi T., Goto A., Isobe T., Serizawa S., Shiraishi H., Morita M. (2006) Lethal effects of nonylphenol on fertilized eggs and larvae of marbled sole *Pleuronectes yokohamae*. *Fish. Sci.* 72, 217-219
- Kume G., Horiguchi T., Goto A., Shiraishi H., Shibata Y., Morita M., Shimizu M. (2006) Seasonal distribution, age, growth, reproductive biology of marbled sole *Pleuronectes yokohamae* in Tokyo Bay, Japan. *Fish. Sci.*, 72, 289-298
- Leung K.M.Y., Kwok R.P.Y., Ng W.C., Horiguchi T., Qiu J.W., Yang R., Song M., Jiang G., Zheng G.J., Lam P.K.S. (2006) Ecological risk assessment of endocrine disrupting organotin compounds using marine neogastropods in Hong Kong. *Chemosphere* 65, 922-938
- Managaki S., Takada H., Kim D.M., Horiguchi T., Shiraishi H. (2006) Three-dimensional distributions of sewage markers in Tokyo Bay water: fluorescent whitening agents (FWAs). *Mar. Pollut. Bull.*, 52, 281-292

Morishita E, Minakata H., Takeshige K., Furukawa Y., Takata T., Matsushima O., Mukai S.T., Saleuddin A.S.M., Horiguchi T. (2006) Novel excitatory neuropeptides isolated from a prosobranch gastropod, *Thais clavigera*: The molluscan counterpart of the annelidan GGNG peptides. *Peptides* 27, 483-492

Rhee J.S., Raisuddin S., Hwang D.S., Horiguchi T., Cho H.S., Lee J.S. (2008) A Mu-class glutathione S-transferase (GSTM) from the rock shell *Thais clavigera*. *Comp. Biochem. Physiol., Part C* (in press)

Yamada R., Kodama K., Yamakawa T., Horiguchi T., Aoki I. (2007) Growth and reproductive biology of the small penaeid shrimp *Trachysalambria curvirostris* in Tokyo Bay. *Mar. Biol.* 151, 961-971

今井利為, 滝口直之, 堀口敏宏 (2006) 城ヶ島におけるアワビ漁獲量減少要因の推定, 神奈川県水産技術センター研究報告, (1), 51-58

柴田康行, 堀口敏宏, 田中 敦, 高澤嘉一, 植弘崇嗣, 廣田正史, 吉兼光葉 (2007) 野生生物保護と環境汚染の監視-環境モニタリングと環境スペシメンバンカー-. *野生動物医学雑誌*, 12, 19-26

堀口敏宏 (2008) 有機スズによる巻貝類のインボセックス誘導メカニズム レチノイドX受容体関与説の提唱. *化学と生物*, 46(6), 370-373

堀口敏宏 (2007) 腹足類の内分泌系とインボセックスの発症機構. *Biomed. Res. Trace Elements*, 18, 231-240

(5) 関連研究プロジェクト

Tsukahara S., Hojo R., Kuroda Y., Fujimaki H. (2008) Estrogen modulates Bcl-2 family protein expression in the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area of postnatal rats, *Neuroscience Letters*, 432, 58-63

Suzuki T., Nohara K. (2007) Regulatory factors involved in species-specific modulation of arylhydrocarbon receptor (AhR)-dependent gene expression in humans and mice, *J. Biochem.*, 142, 443-452

Nohara K., Ao K., Miyamoto Y., Suzuki T., Imaizumi S., Tateishi Y., Omura S., Tohyama C., Kobayashi T. (2008) Arsenite-induced thymus atrophy is mediated by cell cycle arrest :A characteristic down-regulation of E2F-related genes revealed by a microarray approach, *Toxicol. Sci.*, 101, 226-238

Ito T., Inouye K., Nohara K., Tohyama C., Fujimaki H. (2008) TCDD exposure exacerbates atopic dermatitis-related inflammation in NC/Nga mice, *Toxicol. Lett.*, 177, 31-37

Kimura A., Naka T., Nohara K., Fujii-Kuriyama Y., Kishimoto T. (2008) Aryl hydrocarbon receptor regulates Stat1 activation and participates in the development of Th17 cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 105, 9721-9726

Nakajima N., Teramoto T., Kasai F., Sano T., Tamaoki M., Aono M., Kubo A., Kamada H., Azumi Y., Saji H. (2007) Glycosylation of bisphenol A by freshwater microalgae, *Chemosphere*, 69, 934-941

Ogawa D., Nakajima N., Tamaoki M., Aono M., Kubo A., Kamada H., Saji H. (2006) The isochorismate pathway is negatively regulated by salicylic acid signaling in O₃-exposed *Arabidopsis*, *Planta*, 226, 1277-1285

Ogawa D., Nakajima N., Seo S., Mitsuhara I., Kamada H., Ohashi Y. (2006) The phenylalanine pathway is the main route of salicylic acid biosynthesis in Tobacco mosaic virus-infected tobacco leaves, *Plant Biotechnology*, 23, 395-398

Aono M., Wakiyama S., Nagatsu M., Nakajima N., Tamaoki M., Kubo A., Saji H. (2006) Detection of feral transgenic oilseed rape with multiple-herbicide resistance in Japan, *Environ. Biosafety Res.*, 5, 77-87

Okabe K., Goka K. (2007) Potential impacts on Japanese fauna of canestriniid mites (Acari: Astigmata) accidentally introduced with pet lucanid beetles from Southeast Asia, *Biodiversity and Conservation*, 17(1), 71-81

Takamura K. (2007) Performance as a fish predator of largemouth bass [*Micropterus salmoides* (Lacepede)] invading Japanese freshwaters: a review, *Ecol. Res.* 22, 940-946, doi: 10.1007/s11284-007-0415-7

Saji S., Bathula S., Kubo A., Tamaoki M., Kanna M., Aono M., Nakajima N., Nakaji T., Takeda T., Asayama M., Saji H. (2008) Disruption of Atlg12480, a gene encoding C4-dicarboxylate transporter-like protein, enhances stomatal aperture and ozone sensitivity in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Cell Physiol*, 49 (1), 2-10

Kaneko T., Nakajima N., Okamoto S., Suzuki I., Tanabe Y., Tamaoki M., Nakamura Y., Kasai F., Watanabe A., Kawashima K., Kishida K., Ono A., Shimizu Y., Takahashi C., Minami C., Fujishiro T., Kohara M., Kato M., Nakazaki N., Nakayama S., Yamada M., Tabata S., Watanabe M.M. (2007) Complete genomic structure of the bloom-forming toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* NIES 8435, *DNA Res.*, 14 (6), 247-256

五箇公一 (2006) セイヨウオオマルハナバチと外来生物法, *昆虫と自然*, 41 (13)

五箇公一 (2007) 日本に忍び寄る目に見えない侵入生物, *ペストコントロール*, 2007 (4)

五箇公一 (2007) 日本の生物多様性を脅かす目に見えない外来生物, *資源環境対策*, 43, 47-52

(6) その他の課題など

青木康展 (2006) 第12章 環境リスク評価の対策, *環境衛生科学* (大沢基保, 内海英雄編), 南江堂, 439p., 345-357

Hashimoto A.H., Amanuma K., Hiyoshi K., Takano H., Masumura K-i., Nohmi T., Aoki Y. (2006) In vivo mutagenesis in the lungs of gpt-delta transgenic mice treated intratracheally with 1,6-dinitropyrene, *Environ. Mol. Mutagen.*, 47, 277-283

Hashimoto A.H., Amanuma K., Hiyoshi K., Sugawara Y., Goto S., Yanagisawa R., Takano H., Masumura K., Nohmi T., Aoki Y. (2007) Mutations in the lungs of gpt delta transgenic mice following inhalation of diesel exhaust, *Environ. Mol. Mutagen.*, 48, 682-693

青木康展 (2006) 環境中の化学物質と健康, *ポピュラー・サイエンス* 277, 裳華房, 東京

青木康展 (2007) 栄養と化学物質と健康の接点, *薬学雑誌*, 127 (3), 397-398

Aoki Y., Hashimoto A.H., Amanuma K., Matsumoto M., Hiyoshi K., Takano H., Masumura K-i., Itoh K., Nohmi T., Yamamoto M. (2007) Enhanced spontaneous and benzo(a)pyrene-induced mutations in the lung of nrf2-deficient gpt delta mice, *Cancer Res.*, 67(12), 5643-5648

青木康展 (2007) ベンゼンはなぜ動物には有害か—毒性研究を広く自然界を見渡して考える, *科学* 77, 986-989

Li L., Shoji W., Takano H., Nishimura N., Aoki Y., Takahashi R., Goto S., Kaifu T., Takai T., Obinata M. (2007) Increased susceptibility of MER5 (peroxiredoxin III) knockout mice to LPS-induced oxidative stress, *Biochem Biophys Res Commun.* 2007 355, 715-21

松本 理, 青木康展 (2006) ベンチマークドース法を用いた1,2-ジクロロエタンの吸入曝露による発がんユニットリスクの算出, *大気環境学会誌*, 41 (4), 196-208

松本 理, 青木康展, 兜 真徳 他 49 名 (2008) リスク学用語小辞典, 日本リスク研究学会編, 丸善, 330p

山崎邦彦 (2006) 農薬の環境リスク初期評価, *化学物質の生態リスク評価と規制—農薬編—*, 日本環境毒性学会監修, アイピーシー

山崎邦彦 (2007) 亜鉛の水生生物保全環境基準設定に向けたリスク評価と管理方策の検討, *日本リスク研究学会誌*, 17 (2), 67-76

2 口頭発表

(1) 中核研究プロジェクト1：化学物質曝露に関する複合的要因の総合解析による曝露評価

発表者・(暦年)・題目・学会等名称・開催都市名

今泉圭隆, 鈴木規之, 白石寛明 (2006) POPs の総括残留性・長距離移動性評価におけるモデル間比較と感度解析, 第15回環境化学討論会, 仙台

Imaizumi Y., Suzuki N., Sakurai T., Matsuhashi K., Tanabe K., Nakasugi O., Morita M., Isobe K., Murakami O., Shiraishi H.(2007) Model validation of Geo-Referenced multimedia environmental fate model (G-CIEMS) for three river basins in Japan, SETAC Eur. 17th Annu. Meet., Porto, Portugal

今泉圭隆, 鈴木規之, 中杉修身, 磯部 慶, 村上 治, 白石寛明 (2007) 国内3水系を対象とした化学物質 GIS 環境多媒体モデル (G-CIEMS) の検証, 第16回環境化学討論会, 第16回環境化学討論会, 北九州

Imaizumi Y., Suzuki N., Shiraishi H (2008) Comparison among environmental surveys by bootstrap methods for confidence intervals of percentiles from dataset containing nondetected observations, SETAC Eur.18th Annu. Meet., Warsaw, Poland

今泉圭隆, 鈴木規之, 白石寛明 (2008) 不検出データを含むモニタリングデータのパーセンタイル値信頼区間評価の試みと実測結果への適用, 第17回環境化学討論会, 神戸

Oda S., Tatarazako N., Iguchi T. (2006) Effect of atrazine exposure to male neonate induction in *Daphnia magna* (Cladocera, Crustacea) by a juvenile hormone analog., SETAC North America 27th Annual Meeting, Montréal

Oda S., Tatarazako N., Dorgerloh M., Johnson R.D., Kusk K., Leverett D., Marchini S., Nakari T., Williams T., Iguchi T. (2006) Strain difference in sensitivity to 3, 4-dichloroaniline and insect growth regulator, fenoxycarb, in *Daphnia magna*., SETAC North America 27th Annual Meeting, Montréal

Kato Y., Kobayashi K., Oda S., Tatarazako N., Watanabe H., Iguchi T. (2007) Development of a reporter gene assay system using the ecdysone receptor and ultraspiracle protein from the water flea, *Daphnia magna*., 日本内分泌攪乱化学物質学会第10回研究発表会, 大宮

渡邊 肇, 井口泰泉, 小田重人, 鎌迫典久 (2007) 水環境評価とエコトキシコジェノミクス., 日本内分泌攪乱化学物質学会第10回研究発表会, 大宮

鎌田 亮, 白石不二雄, 西川淳一, 米元純三, 白石寛明 (2006) 酵母アッセイ法によるレチノイン酸受容体 (RAR) 活性化学物質のスクリーニング, 日本内分泌攪乱化学物質学会第9回研究発表会, 東京

鎌田 亮, 白石不二雄, 高橋慎司, 清水 明, 白石寛明 (2007) ウズラ受精卵を用いた化学物質の発生・繁殖毒性試験: o,p'-DDD による輸卵管の異常発達と卵殻形成不全, 第16回環境化学討論会, 北九州

鎌田 亮, 白石不二雄, 泉 徳和, 高橋慎司, 清水 明, 白石寛明 (2007) 化学物質の経卵曝露による鳥類の発生・繁殖毒性試験: 検査項目の創出と o, p'-DDD の毒性評価, 日本内分泌攪乱化学物質学会第10回研究発表会, 埼玉

鎌田 亮, 白石不二雄, 西川淳一, 白石寛明 (2007) 酵母アッセイ法による水酸化PCB類のレチノイン酸受容体 (RAR) 結合活性スクリーニング, 日本内分泌攪乱化学物質学会第10回研究発表会, 埼玉

鎌田 亮, 白石不二雄, 西川淳一, 白石寛明 (2007) 酵母アッセイ法による水酸化PCB類のレチノイン酸受容体 (RAR) 結合活性スクリーニング, 日本内分泌攪乱化学物質学会第10回研究発表会, 埼玉

生嶋一貴, 竹田竜嗣, 松嶋信元, 河内洋輔, 鎌田 亮, 影山志保, 中島大介, 白石不二雄, 米虫節夫, 澤邊昭義 (2008) 奈良県における環境水の環境分布と in vitro バイオアッセイを用いたモニタリング, 第17回環境化学討論会, 神戸

鎌田 亮, 白石不二雄, 中島大介, 滝上英孝, 白石寛明 (2008) 酵母アッセイによる水酸化PCBのアリルヒドロカーボン受容体 (AhR) 結合活性スクリーニング, 第17回環境化学討論会, 神戸

寺崎正紀, 鎌田 亮, 牧野正和, 白石不二雄 (2008) 酵母アッセイを用いた塩素化パラベン受容体結合活性, 第17回環境化学討論会, 神戸

小林 淳, 堺 聖午, 桜井健郎, 鈴木規之 (2006) 水槽実験における底質懸濁粒子から魚類へのPCBの移行について, 第15回環境化学討論会, 仙台, (第15回環境化学討論会講演要旨集, 434-435)

- 小林 淳, 櫻井健郎, 鈴木規之 (2007) 水槽実験における底質から底性魚類への PCB の移行について (2), 第 16 回環境化学討論会, 北九州, (第 16 回環境化学討論会講演要旨集: 456-457)
- Kobayashi J., Sakurai T., Suzuki N. (2007) Transfer of polychlorinated biphenyls from sediment to benthic fish in laboratory tanks, 27th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, Tokyo, Japan, (Organohalogen Compounds 69: 1645-1648)
- 小林 淳, 櫻井健郎, 鈴木規之 (2008) 海域における底質から底性魚への PCB の移行に関する基礎的検討, 第 42 回日本水環境学会年会, 名古屋
- 小林 淳, 青山徳久, 櫻井健郎, 鈴木規之 (2008) 水槽実験における底質から底性魚類への PCBs の移行について (3), 第 17 回環境化学討論会, 神戸
- Kobayashi J., Sakurai T., Suzuki N. (2008) Direct transfer of polychlorinated biphenyls from sediment to marine benthic fish in laboratory tanks, SETAC Eur.18th Annu.Meet., Warsaw, Poland
- 櫻井健郎, 小林 淳, 鈴木規之 (2007) 水槽実験における底質から底性魚類への残留性有機化合物の移行, 第 16 回環境化学討論会, 北九州
- Sakurai T., Kobayashi J., Suzuki N. (2007) Transfer of persistent organic pollutants from sediment to benthic fish in laboratory tanks, 27th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutants, Tokyo, Japan, (Organohalogen Compounds 69: 1653-1656)
- 櫻井健郎, 小林 淳, 鈴木規之 (2007) 水槽実験における底質から底性魚類への残留性有機化合物の移行, 第 16 回環境化学討論会, 北九州, (第 16 回環境化学討論会講演要旨集, 414-415)
- 櫻井健郎, 小林 淳, 鈴木規之 (2008) 水槽実験における底質から底生魚類への残留性有機化合物の移行 (2), 第 17 回環境化学討論会, 神戸
- 櫻井健郎, 小林 淳, 青山徳久, 鈴木規之, 堀口敏宏 (2008) 水生生物への化学物質の移行および影響研究のための底質メゾコズム実験装置, 第 17 回環境化学討論会, 神戸
- 白石不二雄 (2006) PCB の解毒機構は生体に悪影響をもたらす? - 内分泌かく乱物質の可能性 -, 第 15 回環境化学討論会, 仙台
- 寺崎正紀, 山田健太, 深澤 均, 白石不二雄, 牧野正和 (2006) 河川底質から検出されるエストロゲンレセプターアゴニストの特徴について, 第 15 回環境化学討論会, 仙台
- 深澤 均, 渡邊雅之, 白石不二雄, 白石寛明, 寺尾良保 (2006) 製紙工場排水のエストロゲン活性測定におけるフロリジルカラム処理の効果とその要因, 第 15 回環境化学討論会, 仙台
- 白石不二雄, 鎌田 亮, 深澤 均, 渡邊雅之, 大谷仁己, 中嶋智子, 丸尾直子, 堀口敏宏, 白石寛明 (2006) 環境水のエストロゲン活性モニタリングのための新しい試料調製法の提案, 第 15 回環境化学討論会, 仙台
- 久保拓也, 松本秀之, 白石不二雄, 能町真実, 彼谷邦光 (2006) 分子インプリントポリマーを用いた水酸化 PCB の選択的分離, 第 15 回環境化学討論会, 仙台
- 寺崎正紀, 深澤 均, 白石不二雄, 牧野正和 (2006) 紙再生行程処理水の流入する底質中に存在する化学物質とエストロゲン作用能について, 日本内分泌攪乱化学物質学会第 9 回研究発表会, 東京
- 高橋 悟, 伊藤朋子, 齋藤憲光, 金 一和, 白石不二雄 (2006) 中国・瀋陽市の大気試料に含まれるエストロゲン活性物質, 日本内分泌攪乱化学物質学会第 9 回研究発表会, 東京
- 武内伸治, 小島弘幸, 白石不二雄, 藪下尚智, 飯田 満 (2006) 高応答性レポーター細胞を用いた環境化学物質における AhR アゴニスト活性のスクリーニング, 日本内分泌攪乱化学物質学会第 9 回研究発表会, 東京
- 小島弘幸, 武内伸治, 飯田満, 白石不二雄 (2006) 哺乳動物細胞を用いた水酸化 PCB (91 物質) の甲状腺ホルモン受容体・レチノイド X 受容体を介する転写活性化試験, 日本内分泌攪乱化学物質学会第 9 回研究発表会, 東京
- 武内伸治, 白石不二雄, 鎌田 亮, 中島大介, 小島弘幸, 滝上英孝, 鈴木規之, 白石寛明 (2007) 迅速で簡便な酵母を用いる AhR アゴニスト活性のアッセイ法について, 第 16 回環境化学討論会, 北九州
- 寺崎正紀, 深澤 均, 白石不二雄, 牧野正和 (2007) 製紙廃水に含まれるエストロゲンレセプターアゴニストの特徴について, 第 16 回環境化学討論会, 北九州

白石不二雄, 中島大介, 鎌田 亮, 武内伸治, 永洞真一郎, 高橋 悟, 大金仁一, 大谷仁己, 堀内孝信, 渡辺雅之, 濱根貴志, 山根一城, 原口公子, 陣矢大助, 門上希和夫, 後藤純雄, 鑑迫典久, 白石寛明, 鈴木規之 (2007) 河川水の *in vitro* バイオアッセイによる曝露モニタリングに関するパイロット研究 その1: 酵母アッセイを用いた河川水の受容体結合活性, 第16回環境化学討論会, 北九州

白石不二雄 (2007) 酵母 Two-Hybrid アッセイ法による環境ホルモンの評価手法の開発に関する研究, 第16回環境化学討論会 (受賞講演), 北九州

Colville A., Shiraishi F., Horiguchi T., Nakajima D., Brown H., Lovell A., Warne M., Chapman J., Carruthers A-M., Lim R. (2007) Nature and sources of EDCs in Breakfast Creek, western Sydney., What's in Our Water Symposium, Australia

寺崎正紀, 深澤 均, 白石不二雄, 牧野正和 (2007) ジテルペンのエストロゲン・アンタゴニスト活性, 日本内分泌攪乱化学物質学会第10回研究発表会, 埼玉

多田哲子, 坂 雅宏, 白石不二雄, 鎌田洋一 (2007) 環境エストロゲンはクサガメ雄に影響を及ぼしているのか?, 日本内分泌攪乱化学物質学会第10回研究発表会, 埼玉

武内伸治, 小島弘幸, 北村繁幸, 黒木広明, 白石不二雄 (2007) PCB水酸化体100物質におけるアンドロゲン受容体活性のスクリーニング, 日本内分泌攪乱化学物質学会第10回研究発表会, 埼玉

白石不二雄, 中島大介, 鎌田 亮, 影山志保, 小塩正朗, 大谷仁己, 永洞真一郎, 高橋 悟, 大金仁一, 堀内孝信, 河合 渉, 一二三純子, 福田武史, 原口公子, 末吉恵子, 生嶋一貴, 沢辺昭義, 門上希和夫, 後藤純雄, 滝上英孝, 鑑迫典久, 白石寛明, 鈴木規之 (2008) *In Vitro* バイオアッセイを用いる河川水の曝露モニタリングに関する基盤的研究-その1: 日本の13都道府県80河川水試料の調査-, 第17回環境化学討論会, 神戸

大谷仁己, 下田美里, 須藤和久, 白石不二雄, 中島大介, 後藤純雄, 滝上英孝, 富岡 淳 (2008) *In Vitro* バイオアッセイによる利根川上流域の水質評価, 第17回環境化学討論会, 神戸

Suzuki N., Imaizumi Y., Sakurai T., Tanabe K., Shiraishi H., Shibata Y. (2006) Multi-scale multimedia environmental fate model for the simulation of organic chemicals including POPs for GIS-based regional to global environmental scales. SETAC Asia-Pacific 2006, Beijing, Rep. of China, 18-20

鈴木規之, 今泉圭隆, 櫻井健郎, 田邊 潔, 柴田康行, 白石寛明 (2007) グローバル多媒体モデルによるPCBの地球規模動態と東アジア地域の寄与に関する考察, 第16回環境化学討論会, 北九州

Suzuki N., Morita M.: Potential Needs on The Global Framework For The Control Of Chemical Pollution (2007) Existing International Framework and Expected Perspectives For The IPCP-International Panel On Chemical Pollution, Tokyo, Japan, (Organohalogen Compounds 69: 532-535)

Suzuki N., Imaizumi Y., Sakurai T., Shiraishi H., Shibata Y. (2007) Global Multimedia Fate Model Simulation for PCBs by Geo-Referenced Multimedia Environmental Fate Model (G-CIEMS) and its implication to the region-specific contribution to the global contamination, Proc, SETAC Europe 17th Annu. Meet., Porto, Portugal

Suzuki N. (2008) Global multimedia fate model simulation for mercury species by geo-referenced multimedia environmental fate model (G-CIEMS), SETAC Eur.18th Annu.Meet., Warsaw, Poland

鈴木規之, 今泉圭隆, 櫻井健郎, 田邊 潔, 柴田康行, 白石寛明 (2008) グローバル多媒体モデルによる形態別水銀の地球規模動態と大気観測値との比較, 第17回環境化学討論会, 神戸

Suzuki N. (2008) Preliminary estimation of relative contribution of distant and nearby sources by fate model simulation, 17th Symp. Environ.Chem., Kobe

鑑迫典久 (2006) 複合リサイクル材中の環境影響物質の同定 バイオアッセイと一斉機器分析を組み合わせた新規TIE法, 第12回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会, 東京

鑑迫典久 (2006) ミジンコの雄仔虫発生誘導化学物質の探索, 第12回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会, 東京

Hirano M., Ishibashi H., Watanabe N., Tatarazako N., Arizono K. (2006) Biological effects of fenoxycarb on estuarine mysid shrimp (*Americamysis bahia*), SETAC North America 27th Annual Meeting, Montréal,

鑑迫典久 (2007) 環境技術としてのバイオアッセイの将来展望, 生物化学的測定研究会 第12回学術集会, 広島

鑑迫典久 (2007) 生態毒性評価についての現状と展望, 第34回日本トキシコロジー学会学術年会, 東京

- 鑑迫典久 (2007) 霞ヶ浦における内分泌かく乱化学物質の影響について－霞ヶ浦におけるヒメタニシの生態調査－, 日本陸水学会第 72 回大会, 水戸
- Watanabe H., Iguchi T., Tatarazako N., Oda S. (2007) Use of *Daphnia* genomics for aquatic ecotoxicology., SETAC North America 28th Annual Meeting, Milwaukee
- Watanabe M., Hirata Y., Yamamoto H., Tatarazako N. (2007) Preliminary ecotoxicological risk assessment of benzylparaben using Japanese medaka and medaka cDNA microarray., SETAC North America 28th Annual Meeting, Milwaukee
- Tatarazako N., Oda S., Abe R., Iguchi T. (2007) Validation report for an Enhancement of OECD TG 211 *Daphnia magna* Reproduction Test., 学会第 10 回研究発表会, 大宮
- 平田佳子, 渡辺美佳子, 中村雄大, 山本裕史, 関澤 純, 鏡 良弘, 鑑迫典久 (2007) 防腐剤パラベン類による生態系への影響, 日本内分泌攪乱化学物質学会第 10 回研究発表会, 大宮
- 鑑迫典久 (2007) DNA マイクロアレイによるメダカ遺伝子発現解析技術を環境化学物質評価手法として確立させるために 座長, 日本内分泌攪乱化学物質学会第 10 回研究発表会, 大宮
- 中島大介, 影山志保, 大森清美, 伏脇裕一, 白石不二雄, 鈴木規之, 後藤純雄 (2006) 大気中に存在するガス状変異原性物質について, 日本環境変異原学会第 35 回大会, 堺
- 川上由紀子, 中島大介, 杉田和俊, 峯木 茂, 白石不二雄, 鈴木規之, 高木敬彦, 遠藤 治, 後藤純雄 (2006) 半揮発性 PAH 類抽出溶液の濃縮法について, 平成 18 年度室内環境学会研究発表会, 東京
- 山内恒幸, 竹内靖人, 村山留美子, 内山巖雄, 中島大介, 後藤純雄, 河合俊夫, 櫻井治彦 (2007) 作業環境における硫化水素曝露 1. 個人曝露濃度測定用パッシブサンプラーの開発, 第 80 回日本産業衛生学会, 大阪
- 影山志保, 中島大介, 諸岡信久, 白石不二雄, 後藤純雄 (2007) 大気の変異原の測定について, 日本家政学会大 59 回大会, 岐阜
- 中島大介, 白石不二雄, 鎌田 亮, 影山志保, 永洞真一郎, 高橋 悟, 大金仁一, 大谷仁己, 堀内孝信, 渡辺雅之, 濱根貴志, 山根一城, 原口公子, 陣矢大助, 門上希和夫, 後藤純雄, 鑑迫典久, 白石寛明, 鈴木規之 (2007) 全国河川水の *in vitro* バイオアッセイによる曝露モニタリングに関するパイロット研究 その 2: umu 試験による河川水の変異原性測定, 第 16 回環境化学討論会, 北九州
- 影山志保, 中島大介, 高木敬彦, 遠藤 治, 大森清美, 伏脇裕一, 白石不二雄, 鈴木規之, 後藤純雄 (2007) 大気中の粒子状及びガス状変異原の測定, 第 16 回環境化学討論会, 北九州, 2007.6
- 川上由紀子, 塩崎卓哉, 中島大介, 杉田和俊, 峯木 茂, 白石不二雄, 鈴木規之, 後藤純雄 (2007) 半揮発性多環芳香族炭化水素類溶液の濃縮法の検討及び環境試料への適用, 第 16 回環境化学討論会, 北九州
- Ohmori K., Nakajima D., Fushiwaki Y., Mori Y., Shiraiishi F., Takeda K., Goto S. (2007) Practical applications of Bhas promotion assay for evaluation of tumor promoting potentials of urban air particulate matter, food contaminants and food additives., 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Tokyo
- Endo O., Matsumoto M., Sugita K., Nakajima D., Goto S., Ogata H., Suzuki G. (2007) Mutagenicity of mainstream smoke condensate of major cigarettes in Japan with smoking machine., 1st Asian Conference on Environmental Mutagens & 36th Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society, Kitakyushu
- 杉田和俊, 小谷野道子, 松本真理子, 中島大介, 後藤純雄, 緒方裕光, 遠藤 治, 鈴木 元 (2007) 喫煙装置を用いて捕集されたたばこ煙中多環芳香族炭化水素の分析, 平成 19 年度室内環境学会研究発表会, 仙台
- 松本真理子, 杉田和俊, 中島大介, 後藤純雄, 小谷野道子, 遠藤 治, 鈴木 元: 喫煙装置を用いて捕集されたたばこ煙中の水分分析 (2007) 平成 19 年度室内環境学会研究発表会, 仙台
- 中島大介, 影山志保, 白石不二雄, 鎌田 亮, 永洞真一郎, 佐久間隆, 大谷仁己, 矢島博文, 河合 渉, 福田武史, 原口公子, 門上希和夫, 上大園智徳, 滝上英孝, 後藤純雄, 鑑迫典久, 白石寛明, 鈴木規之 (2008) 大気中半揮発性 PAH 類の国内 10 地点における分布, 第 17 回環境化学討論会, 神戸
- 影山志保, 中島大介, 鎌田 亮, 白石不二雄, 鈴木規之, 後藤純雄 (2008) 発光 umu 試験の簡易化と環境試料の適応, 第 17 回環境化学討論会, 神戸

Hirai N., Nanba A., Abe R., Koshio M., Tatarazako N. (2006) How can we evaluate the sensitive period of toxicity? – An approach for the evaluation of exposure length using ‘Point of no return’ in life-cycle testing of medaka., SETAC North America 27th Annual Meeting, Montréal

Mikako W., Yamamoto H., Nakamura Y., Sekizawa J., Yamashita N., Hirai N., Koshio M., Oda S., Tatarazako N. (2006) Preliminary Environmental Risk Assessment of Butylparaben and Benzylparaben -Fate in the Aquatic Environment and Effects on Aquatic Organisms., SETAC North America 27th Annual Meeting, Montréal

Nakamura Y., Yamamoto H., Sekizawa J., Kondo T., Hirai N., Tatarazako N. (2006) Accumulation and Acute Toxicity of Fluoxetine for Japanese Medaka(*Oryzias latipes*) in Several pH Conditions., SETAC North America 27th Annual Meeting, Montréal

Hirai N., Koshio M., Shiraishi F., Arizono K., Tatarazako N. (2006) A status of estrogen substances in aquatic environment; distribution in sediment and water, and the effects to fishes., SETAC North America 27th Annual Meeting, Montréal

Hirai N., Nanba A., Koshio M., Tatarazako N. (2007) Dose and Period dependent influences in reproduction of Japanese medaka *Oryzias latipes* exposed to 17 α -ethinylestadiol during the phase of ‘Point of no return’ on formation of testis-ova., SETAC North America 28th Annual Meeting, Milwaukee

Hirai N., Nanba A., Tatarazako N. (2007) Toxicity of pharmaceuticals and personal care products(PPCPs) and its related chemicals in fish embryo and larva – angiogenesis related toxicity in Japanese medaka *Oryzias latipes* and zebra fish *Danio rerio*., SETAC North America 28th Annual Meeting, Milwaukee

(2) 中核研究プロジェクト2：感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価

Ishido M. (2006) DNA array technology in environmental factors-health interactions analyses, The 3rd International Workshop on Biochips and Environmental Monitoring, Ikeda

Ishido M. (2006) Environmental chemicals cause dopaminergic degeneration, Neuroscience, Kyoto

石堂正美 (2006) 環境毒性の分子生物学, 京都大学基礎物理研究所研究会「環境物理学—先端領域の創出へ向けて」, 京都

石堂正美 (2006) メラトニンの作用機構と機能, 第14回日本照明委員会セミナー「光がサポート “心と身体問題”」, 東京

Ishido M. (2006) Prevention by melatonin of maneb-induced mitochondrial dysfunction in PC12 cells, The 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Kyoto

石堂正美 (2006) PC12細胞におけるマネブのミトコンドリア障害は、メラトニンにより抑制される, 第29回日本神経科学会, 京都

石堂正美, 鈴木純子, 増尾好則 (2006) 内分泌攪乱化学物質によるラット多動性障害におけるアポトーシス誘導, 第15回日本アポトーシス研究会学術集会, 京都

増尾好則, 石堂正美, 森田昌敏, 岩橋 均, 二木鋭雄 (2006) 環境化学物質ストレスが脳に及ぼす影響, 第9回若手研究者のための生命科学セミナー, 東京

石堂正美 (2006) 内分泌攪乱作用を有する化学物質のラット新生児期投与と多動症, 化学物質の環境リスクに関する国際シンポジウム, 釧路

石堂正美, 森田昌敏 (2006) Maneb causes mitochondrial dysfunction and alpha-synuclein aggregation in PC12 cells, 日本内分泌攪乱化学物質学会第9回研究発表会, 東京

Ishido M., Suzuki J., Fujimaki H., Yonemoto J., Shiraishi H. (2006) Effects of endocrine disruptors on rat neural stem cells, 日本内分泌攪乱化学物質学会第9回研究発表会, 東京

石堂正美 (2006) 環境化学物質の脳・神経系に及ぼす影響の分子基盤, 日本分子生物学会2006フォーラム, 名古屋

- 石堂正美, 鈴木純子 (2006) 環境化学物質及び PACAP による神経突起伸展の分子機構の比較検討, 日本分子生物学会 2006 フォーラム, 名古屋
- 北條理恵子, 掛山正心, 黒河佳香, 中島大介, 塚原伸治, 後藤純雄, 藤巻秀和 (2006) オペラント条件づけによるマウスの VOC 臭気検出試験系の確立, 第 47 回大気環境学会 (同講演要旨集), 東京
- 黒河佳香, 塚原伸治, 藤巻秀和 (2006) VOC 吸入マウスにおける海馬神経活動の *in vivo* 光学的イメージング, 第 29 回日本神経科学大会, 京都
- 柳澤利枝, 高野裕久, 井上健一郎, 定金香里, 市瀬孝道, 吉川敏一 (2006) ラテックス粒子が皮膚のバリア機能破綻時に皮膚炎に及ぼす影響, 第 56 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 東京
- 柳澤利枝, 高野裕久, 井上健一郎, 定金香里, 市瀬孝道, 吉川敏一 (2006) フタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) がマウスアトピー性皮膚炎モデルに及ぼす影響 [1], 第 18 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 東京
- 柳澤利枝, 高野裕久, 井上健一郎, 定金香里, 市瀬孝道, 吉川敏一 (2006) フタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) がマウスアトピー性皮膚炎モデルに及ぼす影響 [2], 第 18 回日本アレルギー学会春季臨床大会, 東京
- 高野裕久 (2007) 住環境要因と疾患, 第 5 回住居医学講演会, 奈良
- Tsukahara S., Yamamoto S., Shwe T.T., Ahmed S., Kunugita N., Fujimaki H. (2006) Effects of low-level formaldehyde exposure on apoptosis-related molecules in the hippocampus of mice, 23rd International Neurotoxicology Conference, Little Rock
- Shwe T.T., Ahemd S., Tsukahara S., Yamamoto S., Kakeyama M., Nakajima D., Goto S., Kobayashi T., Fujimaki H. (2006) T cell-mediated neuroprotective response in toxic chemical induced memory-related gene expressions in a mouse hippocampus, 23rd International Neurotoxicology Conference, Little Rock
- 塚原伸治, 北條理恵子, 黒河佳香, 藤巻秀和 (2006) 発達期ラットの性的二型核形成に関与するアポトーシス制御分子発現の性差とエストロゲンの影響, 第 33 回日本神経内分泌学会, 横浜
- Shwe T.T., 福島 篤, 美津島大, 中島大介, Ahmed S., 山元昭二, 塚原伸治, 掛山正心, 後藤純雄, 藤巻秀和 (2006) マイクロダイアリシス法による有害化学物質曝露マウスにおける神経伝達物質の評価, 第 47 回大気環境学会 (同講演要旨集), 東京
- 中島大介, 塚原伸治, 北條理恵子, 影山志保, 藤巻秀和, 白石寛明, 白石不二雄, 後藤純雄 (2006) 妊娠ラットへの低濃度トルエン曝露時における胎児血中トルエン濃度の測定, 室内環境学会 2006 年度総会, 東京
- 西村典子, Fumio Matsumura, 米元純三, 西村久雄, 遠山千春 (2006) ダイオキシン曝露マウス水腎症発症に対する非ステロイド抗炎症薬 (NSAID) の予防効果, 第 9 回日本内分泌攪乱化学物質学会, P46, 東京
- 西村典子, 宮田千恵, 泉 恵子, 藤巻秀和, 西村久雄 (2006) 発育期マウス腎臓におけるダイオキシンによるビタミン D 代謝の攪乱作用, 第 9 回日本内分泌攪乱化学物質学会, P166, 東京
- 宮田千恵, 西村久雄, 泉 恵子, 内田明彦, 西村典子 (2006) マウス腎臓の発育に伴う細胞周期調節遺伝子の発現に及ぼす 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin の影響, 第 9 回日本内分泌攪乱化学物質学会, P188, 東京
- Nishimura N. (2006) Disruption of salt-handling in the developing mouse kidney as a possible kidney as a possible cause of 2, 3, 7, 8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced hydronephrosis, Gorden Research Conferences, Environmental Endocrine Disruptors, Il Ciocco, Italy,
- 西村典子, 米元純三, 西村久雄, Fumio Matsumura, 遠山千春 (2006) 授乳期ダイオキシン曝露によるマウスにおける水腎症発症のメカニズム, 第 33 回日本トキシコロジー学会, 名古屋
- 西村典子, 宮田千恵, 泉 恵子, 藤巻秀和, 西村久雄 (2006) 授乳期ダイオキシン曝露によるマウス腎臓ビタミン D 代謝およびカルシウム輸送の攪乱作用, 第 77 回日本衛生学会総会, 大阪
- Fujimaki H., Shwe T.T., Yamamoto S., Nakajima D., Ahemd S., Goto S. (2006) Modulated memory-related gene expression in olfactory bulb of low-level toluene-exposed mice, 5th Forum of European Neuroscience, Vienna
- Fujimaki H., Yamamoto S., Shwe T.T., Ahemd S., Nakajima D., Goto S. (2006) Role of CD4 T cells in allergic inflammatory responses in mice exposed to low-level toluene, 1st Joint Meeting of European National Societies of Immunology, Paris

Ahemd S., Fujimaki H., Shwe T.T., Yamamoto S., Tsukahara S., Kurokawa Y., Nakajima D., Goto S. (2006) Modulation of pro-inflammatory and neural activity-related gene expression in the olfactory bulb of mice by nasal inhalation of low-level toluene, 8th International Conference of Neuroimmunology, Nagoya

Shwe T.T., Ahemd S., Yamamoto S., Kakeyama M., Nakajima D., Goto S., Fujimaki H. (2006) Role of T cells in toluene-induced memory-related gene expressions in mouse hippocampus, 8th International Conference of Neuroimmunology, Nagoya

Ishido M. (2007) The modification of biocellular chemical reactions by physicochemical stimulants in the environment, Nishinomiya-Yukawa International Symposium on What is life? The Next 100 Years of Yukawa's Dream, Kyoto

Ishido M. (2007) In vitro biomonitoring of the physicochemical stimulants in the environment, 13th International Symposium on Toxicity Assessment, Toyama

Ishido M., Masuo Y., Niki E., Morita M. (2007) The long-term neuroeffects of bisphenol A treatment in adult rats. Dioxin, 東京

石堂正美 (2007) PACAPによるPC12細胞の神経突起伸長におけるSTAT3の活性化, 第30回日本神経科学会, 横浜
鈴木純子, 石堂正美 (2007) Effects of tributyltin on rat neural stem cells, 第30回日本神経科学会, 横浜

石堂正美 (2007) ヒト乳癌細胞の電磁波曝露による遺伝子発現変動, 第66回日本癌学会, 横浜

石堂正美 (2007) 松果体ホルモン・メラトニンの抗アポトーシス作用, 第16回日本アポトーシス研究会学術集会, 津田沼

石堂正美 (2007) 環境化学物質の環境経路曝露によるラット多動性障害, 第80回日本生化学会, 横浜

鈴木純子, 石堂正美 トリブチルチンは神経幹細胞のアポトーシスを引き起こす, 日本内分泌攪乱化学物質学会第10回研究発表会, 大宮, 2007. 12

石堂正美, 鈴木純子 (2007) 環境化学物質の時系列的曝露によるラット行動特性, 日本内分泌攪乱化学物質学会第10回研究発表会, 大宮

石堂正美 (2007) 環境化学物質によるラット多動性障害, 日本薬学会第127年会, 富山

鈴木純子, 石堂正美 (2007) 多動性障害をもたらす環境化学物質の神経幹細胞への影響, 日本薬学会第127年会, 富山

北條理恵子, 黒河佳香, 塚原伸治, 中島大介, 藤巻秀和 (2007) オペラント学習法を用いたマウスのおい検知閾値の計測, 第20回におい・かおり環境学会, 東京

黒河佳香, 北條理恵子, 中島大介, 藤巻秀和 (2007) マウスにおける揮発性化学物質の嗅覚検知閾値」第30回日本神経科学大会, 横浜

Takano H., Yanagisawa R., Inoue K., Koike E. (2007) Low dose effects of phthalates and other environmental chemicals on atopic dermatitis-like skin lesions in mice, Second Workshop on Low Dose Effects of Chemicals with Special Consideration of Phthalates, Berlin

柳澤利枝, 高野裕久, 井上健一郎, 市瀬孝道, 定金香里, 吉川敏一 (2007) フタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) の乳児期曝露がマウスアトピー性皮膚炎モデルに及ぼす影響, 第19回日本アレルギー学会春季臨床大会, 東京

井上健一郎, 高野裕久, 柳澤利枝, 桜井美穂, 市瀬孝道, 吉川敏一 (2007) ディーゼル排気微粒子はnaiveリンパ球をTh2反応へ誘導する, 第19回日本アレルギー学会春季臨床大会, 東京

高野裕久, 井上健一郎, 柳澤利枝, 小池英子 (2007) ディーゼル排気微粒子成分とアレルギー, 第57回日本アレルギー学会秋季学術大会, 横浜

井上健一郎, 高野裕久, 日吉孝子, 柳澤利枝, 角 大悟, 市瀬孝道, 定金香里, 小池英子, 戸村成男, 熊谷嘉人 (2007) 大気浮遊粒子状物質由来9, 10-ナフトキノンが喘息マウスに及ぼす影響, 第57回日本アレルギー学会秋季学術大会, 横浜

井上健一郎, 高野裕久, 小池英子, 柳澤利枝, 吉野 伸, 八巻耕也, 吉川敏一 (2007) DEPが抗原提示細胞に与える影響 第57回日本アレルギー学会秋季学術大会, 横浜

井上健一郎, 高野裕久 (2008) 環境化学物質がアレルギー・アトピーに及ぼす影響, 第78回日本衛生学会総会, 熊本

- 小池英子, 高野裕久, 井上健一郎, 柳澤利枝 (2008) マウス脾細胞を用いた環境化学物質の *in vitro* 影響評価, 第 78 回日本衛生学会総会, 熊本
- 塚原伸治 (2007) VOC の脳神経系におよぼす影響, 第 48 回大気環境学会年会, 岡山
- 塚原伸治, 渡井浩太, 黒田淑子, 小澤貴明, 福士碧沙, 肖凱, 津田夢芽子, 戸田勝巳, 藤巻秀和, 小川園子 (2007) エストロゲン受容体ノックアウトマウスおよびアロマトーゼノックアウトマウスにおける分界条床核主核の形態学的性差の消失, 第 30 回日本神経科学大会, 横浜
- 北條理恵子, 塚原伸治, 中島大介, 黒河佳香, 後藤純雄, 藤巻秀和 (2007) 妊娠ラットにおけるトルエン吸入曝露による仔獣のオペラント学習行動への影響, 第 48 回大気環境学会年会, 岡山
- Shwe T.T., Mitsushima D., Nakajima D., Fukushima A., Yamamoto S., Tsukahara S., Kakeyama M., Goto S, Fujimaki H. (2007) Analysis of toluene-induced extracellular amino acid neurotransmitter levels in the hippocampus using *in vivo* microdialysis in a freely moving mouse model, XI International Congress of Toxicology, Montreal
- 西村典子, 宮田千恵, 伊藤智彦, 泉恵子, 藤巻秀和, 西村久雄: マウス腎臓のビタミン D 代謝およびカルシウム輸送に及ぼす 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin の攪乱作用, 第 34 回日本トキシコロジー学会, 東京, 2007
- 吉岡 亘, 西村典子, 遠山千春: ダイオキシンによる水腎症発症に及ぼす炎症性サイトカインの影響, 第 34 回日本トキシコロジー学会, 東京, 2007
- Nishimura N., Miyata C., Ito T., Izumi K., Fujimaki H., Nishimura H. (2007) Changes of gene expression involved in vitamin D metabolism and transcellular Ca²⁺ transport by 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in developing mouse kidney, International Congress of Toxicology, Montréal
- 赤木俊哉, 吉岡 亘, 遠山千春, 西村典子 (2007) ダイオキシンが引き起こす水腎症における炎症関連因子の役割, 日本内分泌攪乱化学物質 第 10 回研究発表会, さいたま
- 藤巻秀和 (2007) 実験動物で探る低濃度有機化合物の影響機構, 第 16 回日本臨床環境医学会総会, 東京
- 藤巻秀和 (2007) VOC の健康影響研究の現状, 第 48 回大気環境学会年会, 岡山
- 松井康人, 坂井伸光, 塩田憲司, 高岡昌輝, 藤巻秀和, 内山巖雄 (2007) 嗅神経を介在したディーゼル排気中ナノ粒子の曝露経路の検索, 第 48 回大気環境学会年会, 岡山
- 藤巻秀和 (2007) 感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価, 第 51 回全国環境衛生大会, 札幌
- Fujimaki H., Yamamoto S., Shwe T.T., Fukushima A., Nakajima D., Goto S. (2007) Immunomodulatory role of low level toluene exposure in mice, XI International Congress of Toxicology, Montreal
- Fukushima A., Shwe T.T., Ahmed S., Yamamoto S., Tsukahara S., Kunugita N., Arashidani K., Fujimaki H. (2007) Neuronal synaptic plasticity related gene expressions in the hippocampus and olfactory bulb of mice chronically exposed to low level toluene, XI International Congress of Toxicology, Montreal
- Fukushima A., Shwe T.T., Yamamoto S., Kunugita N., Yoshida Y., Arashidani K., Fujimaki H. (2007) Expression of transcription factor genes for T-cell differentiation in the spleen of C3H/HeN and BALB/c mice by the inhalation of low-level toluene, World Allergy Congress 2007, Bangkok
- Shwe T.T., 山元昭二, 藤巻秀和 (2007) トルエン曝露によるマウス海馬における記憶関連遺伝子発現増強への T 細胞の役割, 第 14 回日本免疫毒性学会学術大会, 神戸
- 山元昭二, 福島 篤, Shwe T.T., 北條理恵子, 藤巻秀和 (2007) マウス胎生期および新生児期における低濃度トルエン曝露とペプチドグリカン刺激が全身性の Th1/Th2 免疫バランスに及ぼす影響, 第 14 回日本免疫毒性学会学術大会, 神戸
- Shwe T.T., 山元昭二, 福島 篤, 藤巻秀和 (2007) ナノ粒子を曝露したマウス嗅球における神経伝達物質レベルと炎症性サイトカイン mRNA 発現の分析, 第 48 回大気環境学会年会, 岡山
- 福島 篤, Shwe T.T., 櫻田尚樹, 山元昭二, 嵐谷奎一, 藤巻秀和 (2007) マウス海馬における記憶形成機構に及ぼす低濃度トルエン曝露の影響, 第 48 回大気環境学会年会, 岡山
- 山元昭二, 武内伸治, 藤谷雄二, 福島篤, Shwe T.T., 藤巻秀和 (2007) ディーゼル排気ナノ粒子がグラム陽性菌毒素による肺の炎症反応に及ぼす影響, 第 48 回大気環境学会年会, 岡山

櫻田尚樹, 真鍋龍治, 吉田安宏, 山元昭二, 藤巻秀和, 嵐谷奎一 (2007) マウスに対する低濃度トルエン経気道曝露による免疫系への影響, 第48回大気環境学会年会, 岡山

Yamamoto S., Fukushima A., Shwe T.T., Hojo R., Yoshida Y., Kunugita N., Arashidani K., Fujimaki H. (2007) Effect of prenatal and postnatal exposure to low-level toluene and peptidoglycan on systemic Th1/Th2 immunity in infant mice, World Allergy Congress 2007, Bangkok

(3) 中核研究プロジェクト3: 環境中におけるナノ粒子等の体内動態と健康影響評価

鈴木 明, 種田晋二, 藤谷雄二, 小林隆弘 (2006) ナノ粒子を多く含んだディーゼル排気曝露の循環器影響, 第47回大気環境学会年会, 東京

鈴木 明, 種田晋二, 藤谷雄二, 小林隆弘 (2007) ナノ粒子の多いディーゼル排気曝露の循環器影響, 第48回大気環境学会年会, 岡山

井上健一郎, 高野裕久, 柳澤利枝, 市瀬孝道, 定金香里, 吉川敏一 (2006) ナノ粒子の経気道曝露は抗原誘発アレルギー性気道炎症を増悪する, 第46回日本呼吸器学会学術講演会

井上健一郎, 高野裕久, 柳澤利枝, 桜井美穂, 市瀬孝道, 定金香里, 吉川敏一 (2006) ナノ粒子のアレルギー性気道炎症への影響 第2報, 第18回日本アレルギー学会春季臨床大会

井上健一郎, 高野裕久, 柳澤利枝, 桜井美穂, 市瀬孝道, 定金香里, 吉川敏一 (2006) ナノ粒子の経気道曝露によるアレルギー性気道炎症への影響, 第47回大気環境学会年会, 東京

柳澤利枝, 高野裕久, 井上健一郎, 市瀬孝道, 定金香里, 吉川敏一 (2006) ラテックス粒子が皮膚のバリア機能破綻時に皮膚炎に及ぼす影響, 第56回日本アレルギー学会秋期学術大会, 東京

高野裕久 (2006) ナノ粒子・ナノマテリアルの健康影響, 第33回日本トキシコロジー学会学術年会 シンポジウム

Suzuki K.A., Taneda S., Fujitani Y., ChunMei Li., Furuta C., Watanabe G., Taya K. (2007) "Effects of diesel exhaust particles with high concentration nano-particles on living body in rats" PT7. 178., 11th International Congress of Toxicology, Montréal

ChunMei Li., Taneda S., Watanabe G., Ito Y., Nakajima T., Taya K., Suzuki K.A. (2008) Effects of nanoparticle enriched diesel exhaust on pregnancy in F344 rats SSR 2008 41st Annual Meeting, Hawaii

種田晋二, 藤谷雄二, 小林隆弘, 関 興一, 大倉一枝, 佐久嶋明世, 八巻耕也, 吉野 伸, 鈴木 明 (2007) ナノ粒子を多く含んだディーゼル排気曝露における循環影響の検討, 第127回日本薬学会年会, 富山

種田晋二, 鈴木 明 (2007) アセチルコリンによる血管弛緩作用に及ぼす炭素ナノ粒子の影響, 第48回大気環境学会年会, 岡山

李 春梅, 種田晋二, 伊藤由起, 柳場由絵, Ramdhan Doni Hikmat, 那須民江, 渡辺 元, 田谷一善, 鈴木 明 (2007) ナノ粒子を多く含むディーゼル排気曝露により引き起こされた雄ラットの生殖機能変化, 第10回環境ホルモン学会, さいたま

種田晋二, 李 春梅, 野矢洋一, 関 興一, 大倉一枝, 八巻耕也, 吉野 伸, 鈴木 明 (2008) ラット摘出血管標本を用いたアセチルコリンによる血管弛緩作用に及ぼす炭素ナノ粒子の影響の検討, 第128回日本薬学会年会, 横浜

林 由美, 伊藤由起, Ramdhan Doni Hikmat, 堀 心一, 李 宇飛, 柳場由絵, 李 春梅, 種田晋二, 鈴木 明, 上島通浩, 那須民江 (2008) ディーゼル排気ナノ粒子曝露の肝臓への影響とメカニズム, 第78回日本衛生学会, 熊本

伊藤由起, 柳場由絵, 種田晋二, 李 春梅, 鈴木 明, 林 由美, Ramdhan Doni Hikmat, 李 宇飛, 堀 心一, 上島通浩, 那須民江 (2008) ナノ粒子を多く含むディーゼル排気曝露による動脈への影響, 第78回日本衛生学会, 熊本

Ramdohan Doni Hikmat, 伊藤由起, 柳場由絵, 林 由美, 李 春梅, 種田晋二, 鈴木 明, 上島通浩, 那須民江 (2008) ナノサイズのディーゼル排気微粒子曝露によるラットの精巢中テストステロンの合成攪乱, 第78回日本衛生学会, 熊本

柳場由絵, 伊藤由起, 種田晋二, 李 春梅, 鈴木 明, Ramdohan Doni Hikmat, 林 由美, 上島通浩, 那須民江 (2008) ナノ粒子を多く含むディーゼル排気微粒子曝露による AhR を介した化学物質代謝への影響, 第78回日本衛生学会, 熊本

平野靖史郎, 菅野さな枝, 古山昭子 (2007) ナノ粒子の細胞への取り込みと組織透過性, 第77回日本衛生学会, 大阪
平野靖史郎, 菅野さな枝, 古山昭子 (2007) マクロファージにおけるカーボンナノチューブの毒性発現機構, 第77回日本衛生学会, 大阪

藤谷雄二, 小林隆弘, 嵐谷奎一, 秋山幸雄, 櫻田尚樹, 末村耕二 (2006) 曝露評価のためのナノ材料製造工場における粒子数粒径分布の測定, 第23回エアロゾル科学・技術研究討論会, 福岡

藤谷雄二, 小林伸治, 鈴木 明, 古山昭子, 平野靖史郎, 小林隆弘 (2006) 吸入曝露実験におけるディーゼルエンジン由来ナノ粒子の発生条件の検討, 第47回大気環境学会年会, 東京

藤谷雄二, 小林隆弘, 嵐谷奎一, 秋山幸雄, 櫻田尚樹 (2006) 曝露評価のためのナノ材料製造工場における粒子数粒径分布の測定, 第47回大気環境学会年会, 東京

藤谷雄二, 小林隆弘 (2007) 曝露評価のためのナノ材料製造工場におけるエアロゾルの測定, 第24回エアロゾル科学・技術研究討論会, 埼玉

藤谷雄二, 小林伸治, 鈴木 明, 古山昭子, 平野靖史郎, 小林隆弘 (2007) 吸入曝露実験におけるディーゼルエンジン由来ナノ粒子の物理的・化学的性状, 第48回大気環境学会年会, 岡山

藤谷雄二, 小林隆弘, 嵐谷奎一, 櫻田尚樹 (2007) 曝露評価のためのナノ材料製造工場におけるエアロゾルの測定, 第48回大気環境学会年会, 岡山

Fujitani Y., Kobayashi T. (2007) Measurement of aerosols in engineered nanomaterials factories for the risk assessment, International Symposium on Nanotechnology in Environmental Protection and Pollution 2007, FL, USA

古山昭子, 菅野さな枝, 平野靖史郎 (2006) ナノ粒子の肺組織透過性, 第13回日本免疫毒性大会, 倉敷

古山昭子, 平野靖史郎, 小林隆弘 (2006) 粒径の異なる粒子の肺胞沈着, 体内動態と組織リモデリングに関する検討, 第47回大気環境学会年会, 東京

古山昭子, 平野靖史郎 (2007) 熱処理クリソタイトの毒性学的評価, 第48回大気環境学会年会, 岡山

古山昭子, 菅野さな枝, 山本貴士, 貴田晶子, 野馬幸生, 平野靖史郎 (2008) 熱処理クロシドライトの毒性学的評価, 第78回日本衛生学会, 熊本

菅野さな枝, 古山昭子, 平野靖史郎 (2006) scavenger receptor MARCO を介したナノ粒子の細胞への取込みに関する研究, 第126回日本薬学会総会, 仙台

菅野さな枝, 古山昭子, 平野靖史郎 (2007) アルカンが肺表面層の圧縮率に与える影響, 第127回日本薬学会総会, 富山

Yamamoto S. (2008) Effect of environmental nanoparticles on inflammatory response in lung and brain: Examination in diesel-exhaust derived nanoparticles and substitute nanoparticles, Int. Workshop Environ. Nanoparticles-Spec. Ref. Atmos. Environ., Tsukuba

山元昭二, 武内伸治, 藤谷雄二, 福島 篤, Tin-Tin-Win-Shwe, 藤巻秀和 (2007) ディーゼル排気ナノ粒子がグラム陽性菌毒素による肺の炎症反応に及ぼす影響, 第48回大気環境学会年会, 岡山

Tin-Tin-Win-Shw., 山元昭二, 福島 篤, 藤巻秀和 (2007) ナノ粒子を曝露したマウス嗅球における神経伝達物質レベルと炎症性サイトカイン mRNA 発現の分析, 第48回大気環境学会年会, 岡山

Yamamoto S., Takeuchi S., Fujitani Y., Fukushima A., Tin-Tin-Win-Shwe., Fujimaki H. (2007) Effects of nano rich-diesel exhaust on lung inflammation related to cell wall components of gram positive bacteria in mice, 13th Int., Congress Mcosal Immunol., Tokyo

山元昭二, Ahmed S., Tin-Tin-Win-Shwe., 藤巻秀和 (2006) カーボンナノ粒子がペプチドグリカンによる肺の炎症反応に及ぼす影響, 第47回大気環境学会年会, 東京

Yamamoto S., Ahmed S., Tin-Tin-Win-Shwe., Fujimaki H. (2006) Effect of ultrafine carbon particles on peptidoglycan-induced early pulmonary inflammation in mice, 1st Jt. Meet. Eur., Natl. Soc. Immunol. (Poster Session), Paris, Abstracts, 53

(4) 中核研究プロジェクト4：生物多様性と生態系機能の視点に基づく環境影響評価手法の開発

Goka K. (2006) The evolutionary history of mites: Co-speciation between stag beetles and parasitic mites, 12th International Congress of Acarology, Amsterdam, Netherlands

五箇公一 (2006) 水田のメソコズムを利用した殺虫剤の影響評価, 第24回農薬環境科学研究会, 守谷

五箇公一, 米田昌浩 (2006) Ecological risks caused by introduced insects-The case of European bumblebee and exotic stag beetles, 第七届全国生物多様性保護と持続利用検討会, 長春, 中国

米田昌浩, 五箇公一 (2006) Present situations of bumblebee pollination in tomato greenhouse in Japan, 第七届全国生物多様性保護と持続利用検討会, 長春, 中国

五箇公一, 岡部貴美子 (2006) クワガタムシ商品化がもたらすダニ類侵入の危機, 日本ダニ学会大会, 福山

国武陽子, 五箇公一 (2006) セイヨウオオマルハナバチの野外分布とそれを規定する要因の検出, 野生生物保護学会第12回大会, 名護

今藤夏子, 五箇公一 (2006) 外来-在来マルハナバチ間の野外における交雑実態-たとえ雑種が生まれなくても-, 野生生物保護学会第12回大会, 名護

五箇公一, 米田昌浩 (2006) Ecological risks caused by introduced insects-The case of European bumblebee and exotic stag beetles, 中国昆虫学会2006年学術年会, 中国, 広州

米田昌浩, 五箇公一 (2006) Present situations of bumblebee pollination in tomato greenhouse in Japan, 中国昆虫学会, 2006年学術年会, 広州, 中国

五箇公一, 米田昌浩, 今藤夏子, 国武陽子, 岡部貴美子 (2007) 昆虫類の侵入と進化的重要単位, 第54回日本生態学会大会, 松山

五箇公一, 岡部貴美子, 後藤哲雄, 川端寛樹, 高野 愛, 角田 隆 (2007) 侵入昆虫リスク評価シリーズ6-ダニ輸入大国日本, 第51回日本応用動物昆虫学会大会, 東広島, 2007.3

国武陽子, 五箇公一 (2007) セイヨウオオマルハナバチの野外分布とその規定要因, 第54回日本生態学会, 松山

国武陽子, 五箇公一 (2007) セイヨウオオマルハナバチの野外分布とそれに影響する環境要素検出の試み, 応用動物昆虫学会, 東広島

郡 麻里, 五箇公一 (2007) 外来生物の防除における重点対策地域の選定-外国産ヒラタクワガタを例に-, 第54回日本生態学会大会, 松山

米田昌浩, 古田春樹, 土田浩治, 岡部貴美子, 五箇公一 (2007) 体内寄生性マルハナバチポリプダニの生態と潜在的感染力, 第54回日本生態学会大会, 松山

郡 麻里, 五箇公一 (2007) 侵入昆虫リスク評価シリーズ7-地理情報システムを用いた外国産ヒラタクワガタの定着域推定, 第51回日本応用動物昆虫学会, 東広島

今藤夏子, 五箇公一, 深津武馬 (2007) アズキゾウムシにおける細胞内寄生細菌ボルバキアの二重感染: 人工感染成功率の違い, 第51回日本応用動物昆虫学会, 東広島

米田昌浩, 古田春樹, 土田浩治, 岡部貴美子, 五箇公一 (2007) 輸入昆虫リスク評価シリーズ4-マルハナバチポリプダニの生活史-, 第51回日本応用動物昆虫学会大会, 東広島

五箇公一 (2007) ダニ輸入大国日本-目にも留まらぬ小さなインベーターたち-, 沖縄生物学会, 沖縄県宜野湾市

Kunitake K.Y., Goka K. (2007) The Ecological key for spatial distribution of natural alien bumblebee, *Bombus terrestris*, International Pollination symposium, the State University of Iowa, poster presentation. Ames, USA

- 五箇公一 (2007) 日本にきた外国の生き物たち, 平成 19 年度熊本県自然環境講演会, 熊本県立大学
- 五箇公一, 鈴木一隆, 中原美里, 小林亜鈴 (2007) カエルツボカビの分子遺伝学的検査法, 第 6 回爬虫類・両生類の臨床と病理に関するワークショップ, 麻布大学
- 五箇公一 (2007) 外来生物問題と沖縄, RIS 亜熱帯総合研究所フォーラム, 沖縄県那覇市
- 五箇公一, 岡部貴美子, 後藤哲生 (2007) 日本にやってくる外来ダニの生態リスク, 日本ダニ学会, 千葉大学
- 五箇公一 (2007) 生物多様性保全と侵略的外来生物問題, 外来生物モニタリングプログラム講演会, 香川大学
- Goka K. (2007) Biological invasion caused by commercialization of stag beetles in Japan, Eco Summit 2007, Beijing, China
- Kohri M., Goka K. (2007) Designing a potential map for the protection of indigenous Stag beetles (*Dorcus titanus* spp) in Japan, Symposium on Biodiversity Conservation and Management, Eco Summit (EFES) 2007, Beijing, China
- Yoneda M., Furuta H., Kanzaki S., Kanbe Y., Tsuchida K., Okabe K., Goka K. (2007) Commercial colonies of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) will be 'reservoirs' of the tracheal mite *Locustacarus buchneri* (Acari: podapolipidae), Eco Summit (EFES) 2007, Beijing, China,
- Yoneda M., Furuta, H., Kanzaki S., Kanbe Y., Tsuchida K., Okabe K., Goka K. (2007) Commercial colonies of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) are reservoirs of the tracheal mite *Locustacarus buchneri* (Acari: Podapolipidae), ICIBI, Korea,
- Yoneda M., Tsuchida K., Goka K. (2007) Ecological risks of commercialized bumblebees and the Invasive Alien Species Act, NIAES 国際シンポ・MARCO 外来生物シンポ, つくば
- 五箇公一 (2008) 寄生生物はどうする? ~カエルツボカビまでやってきた, 生態学会シンポジウム「外来生物法の光と陰? 制定 5 年後の見直しに向けて」, 日本生態学会第 55 回大会, 福岡
- 五箇公一, 岡部貴美子, 横山 潤, 小島啓史 (2008) ヒラタクワガタがきた道, ダニが付いてきた道 (最終回?), 第 52 回日本応用動物昆虫学会大会, 宇都宮
- 五箇公一 (2008) カエルツボカビの遺伝子型と日本の両生類, 第 145 回日本獣医学会シンポジウム, 麻布大学
- Kunitake Y., Munemitsu Akasaka (2008) What factors affect the distribution of *Bombus terrestris*?, The international meeting for ecological risk assessment for introduced bumblebees, Tsukuba
- Dohzono I (2008) Effect of an alien bumblebee on native plant reproduction through interaction with native bumblebees, International meeting for ecological risk assessment of introduced bumblebees, Tsukuba
- 国武陽子, 赤坂宗光, 五箇公一 (2008) 外来種セイヨウオオマルハナバチの空間分布は侵入圧と景観要素にどのような影響を受けるか? ~スケール依存的メカニズムの解明~, 第 55 回日本生態学会 福岡大会, 福岡
- 郡 麻里 (2008) 伊豆諸島の特定外来生物による林床植生へのインパクト評価, 日本生態学会第 55 回大会, 福岡
- 堂囿いくみ, 国武陽子, 横山 潤, 五箇公一 (2008) 送粉者間の相互作用が植物の繁殖に与える影響, 第 55 回日本生態学会大会, 福岡
- 米田昌浩, 神戸裕哉, 土田浩治, 五箇公一 (2008) セイヨウオオマルハナバチの巣の発達と花粉消費量, 日本生態学会第 55 回大会, 福岡
- 米田昌浩, 神戸裕哉, 土田浩治, 五箇公一 (2008) セイヨウオオマルハナバチの花粉獲得における競争力の推定, 日本応用動物昆虫学会, 宇都宮
- 児玉圭太, 久米 元, 鈴木達也, 石井光廣, 白石寛明, 森田昌敏, 堀口敏宏 (2006) 東京湾産シャコ資源の減少要因の解明: (2) 貧酸素水塊が稚シャコの着底場におよぼす影響, 環境ホルモン学会第 9 回研究発表会, 東京
- 児玉圭太, 久米 元, 永山聡司, 鈴木達也, 小宮朋之, 清水詢道, 田島良博, 白石寛明, 堀口敏宏 (2007) 東京湾産シャコの初期生活史. 平成 19 年度日本水産学会春季大会, 東京
- Kodama K., Kume G., Ohyama M., Serizawa S., Shiraishi H., Shibata Y., Shimizu M., Horiguchi T. (2007) Seasonal changes in abundance and spatial distribution of the assemblage of demersal fishes and invertebrates in Tokyo Bay, Japan, Hypoxia-induced habitat deterioration, 5th International Conference on Marine Pollution and Ecotoxicology, Hong Kong (China)

- 李 政勲, 児玉圭太, 大山政明, 白石寛明, 高尾雄二, 堀口敏宏 (2008) 東京湾におけるマコガレイの資源量水準低下に伴う摂餌生態と成長の変化, 平成 20 年度日本水産学会春季大会, 静岡
- 児玉圭太, 白石寛明, 森田昌敏, 堀口敏宏 (2008) 東京湾産シヤコの雌雄生殖周期および交尾期, 平成 20 年度日本水産学会春季大会, 静岡
- 児玉圭太, 大山政明, 李 政勲, 赤羽祥明, 田島良博, 清水詢道, 白石寛明, 堀口敏宏 (2008) 東京湾産シヤコの加入成否を規定する生活史段階, 平成 20 年度日本水産学会春季大会, 静岡
- 渡辺貴史, 高村典子 (2006) 兵庫県東播磨地域における生物保全に対するため池管理者の意識, 農村計画学会 2006 年度秋期大会学術研究発表会, つくば
- 宇田川弘勝, 高村典子 (2006) 霞ヶ浦懸濁物質におけるリンの存在形態, 日本陸水学会第 71 回大会, 松山
- 松崎慎一郎, 馬淵浩司, 高村典子, 西田 睦, 鷺谷いづみ (2007) 安定同位体から探る在来型コイと移入型コイの食性と栄養段階, 第 54 回日本生態学会大会 (ポスター発表), 松山
- 安 榮相, 若菜 勇, 佐藤大樹, 中村太士, 高村典子, 中川 恵, Arni Einarsson (2007) 釧路湿原達古武湖における流域開発がマリモの生残に与えた影響, 第 54 回日本生態学会大会 (ポスター発表), 松山
- 樋口伸介, 赤坂宗光, 中川 恵, 高村典子, 角野康郎 (2007) ため池の水生植物の種組成は何で決まるか, 第 54 回日本生態学会大会 (ポスター発表), 松山, 2007. 3
- 赤坂宗光, 角野康郎, 三橋弘宗, 青木典司, 高村典子 (2007) ため池の生物多様性保全に必要な空間スケールについて, 第 54 回日本生態学会大会 (ポスター発表), 松山
- 高村典子, 上野隆平, 中川 恵, 伊藤富子, 大高明史, 桑原康裕, 蛭田眞一, 若菜勇, 上野洋一, 仲島広嗣 (2007) 釧路湿原達古武沼における底生動物の分布と分布決定要因, 第 54 回日本生態学会大会, 松山
- 松崎慎一郎, 馬淵浩司, 高村典子, 西田 睦, 鷺谷いづみ (2007) 在来型コイと移入型コイの食性と栄養段階—安定同位体からのアプローチ—, 2007 年度日本水産学会春季大会, 東京
- 松崎慎一郎, 馬淵浩司, 高村典子, 西田 睦, Brendan Hicks, 鷺谷いづみ (2007) 霞ヶ浦のコイの役割, 在来型コイと移入型コイ, 日本陸水学会第 72 回大会, 水戸
- 宇田川弘勝, 高村典子 (2007) 懸濁物質から探る霞ヶ浦の水質, 日本陸水学会第 72 回大会, 水戸
- 高村典子 (2007) 健全な霞ヶ浦を取り戻せるか?, 日本陸水学会第 72 回大会, 水戸
- 高村典子 (2007) ダム湖の水質環境とプランクトン動態, ダム湖陸水研究会, 名古屋
- 高村典子, 中川 恵, 上野隆平 (2007) 長期観測からみえてくる霞ヶ浦の生物学的特性, シンポジウム・長期生態系モニタリングの現状と課題—温暖化影響と生態系応答—, つくば
- 高村典子 (2007) 霞ヶ浦の富栄養化とその克服—現状と課題, 社会開発と水資源・水環境問題に関する国際シンポジウム, 中国南京
- Matsuzaki S., Mabuchi K., Takamura N., Nishida M., Brendan Hicks., Washitani I. (2007) Trophic segregation between native and introduced strains of the common carp (*Cyprinus carpio*) in Japan : insights from molecular and stable isotope analyses, 3rd Special Symposium Biology of Cypriniformes, Chiang Rai Thailand
- 高村典子, 中川 恵 (2008) 霞ヶ浦における植物プランクトンの長期変動, 第 55 回日本生態学会大会, 福岡
- 広木幹也, 中川 恵, 赤坂宗光, 高村典子 (2008) 酵素活性から見た, ため池底質の生態系機能, 第 55 回日本生態学会大会, 福岡
- 赤坂宗光, 高村典子 (2008) ため池の連結は水生植物の出現を変化させる? - 浮葉植物と沈水植物の比較, 第 55 回日本生態学会大会, 福岡
- 松崎慎一郎, 馬淵浩司, 高村典子, 西田 睦, 鷺谷いづみ (2008) 新たにレッドリストに記載された在来型コイの生態と行動, 第 55 回日本生態学会大会, 福岡
- 岡本実希, 西廣 淳, 赤坂宗光, 中川 恵, 佐治あずみ, 高村典子 (2008) 釧路湿原シラルトロ湖における沈水植物の分布と環境要因との関係, 第 55 回日本生態学会大会, 福岡
- Tatsuta H., Yoshio M., Miyashita T. (2007) The search for genetic discontinuities in a recently expanded sika deer population in Japan: toward coarse management and conservation of large mammals, 11th Congress of the European Society for Evolutionary Biology, Uppsala, Sweden

- 立田晴記, 田中嘉成 (2008) ミジンコ群集に見られる有害物質感受性の空間変異および生息環境との関連性, 第52回日本応用動物昆虫学会大会, 宇都宮
- 吉尾政信, 浅田正彦, 落合啓二, 宮下 直, 立田晴記: 分布拡大前後の集団遺伝構造の推定 (2008) 房総半島のシカを例に, 第55回日本生態学会大会, 福岡
- 藤田 剛, 吉尾政信, 山道真人, 浅田正彦, 落合啓二, 宮下 直, 立田晴記 (2008) 遺伝構造から分布拡大途中にあるシカ雌雄の分散過程を推定する, 第55回日本生態学会大会, 福岡
- 山道真人, 藤田 剛, 吉尾政信, 鈴木 牧, 浅田正彦, 落合啓二, 立田晴記, 宮下 直 (2008) ミトコンドリア多型情報と階層ベイズモデルによるシカ個体群動態の推定, 第55回日本生態学会大会, 福岡
- 山道真人, 藤田 剛, 吉尾政信, 鈴木 牧, 浅田正彦, 落合啓二, 立田晴記, 宮下 直 (2008) 分布拡大するシカ個体群における分散速度のベイズ推定, 第55回日本生態学会大会, 福岡
- 田中嘉成: 生態リスクの新たな枠組み (2007) 種個体群から生物群集レベル効果への展開, 第13回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会, 東京
- 田中嘉成 (2008) 生態系の物質循環機能に基づく生態影響評価モデル, 第55回日本生態学会大会, 福岡
- 西川 潮, Gevrey M., Brosse S. (2007) 河川における外来ザリガニの分布パターンはどの程度流量変動から予測可能か?, 第54回日本生態学会大会 (ポスター発表), 松山
- 西川 潮 (2007) 特定外来生物シグナルザリガニ: ミトコンドリア DNA に基づく遺伝的変異, 生態系への影響および管理対策, 第54回日本生態学会大会, 松山
- Usio N., Gevrey M., Brosse S. (2006) Species distribution models of three notorious invasive crayfish species: influence of stream hydrology and physicochemistry, 54th North Am.Benth.Soc.Conf.(Poster Session), Anchorage
- 西川 潮, 東 典子, 高村典子, 高村健二 (2008) ミトコンドリア DNA 解析に基づく外来ザリガニ類の遺伝的変異と分散様式, 第55回日本生態学会大会, 福岡
- Horiguchi T. (2006) Endocrine disruption caused by organotin compounds in gastropod mollusks, The 3rd APEC Workshop on Modern Approaches to Linking Exposure to Toxic Compounds and Biological Effects, Xiamen, China
- Horiguchi T., Yamakawa H., Shiraishi H., Morita M. (2006) Accumulation Pattern of organotin compounds from Japan, SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry) North America 27th Annual Meeting, Montreal, Canada
- Horiguchi T., Shiraishi H., Cho H.S., Katsu Y., Ohta Y., Iguchi T., Morishita F., Matsushima O., Nishikawa T., Shiraishi E., Nishikawa J., Morita M. (2006) Induction mechanism of imposex caused by tributyltin (TBT) and triphenyltin (TPhT) in gastropods: involvement of the retinoid X receptor (RXR), 2nd Bilateral Seminar Italy-Japan: Responses of marine organisms to physical and chemical impacts, Palermo, Italy
- Horiguchi T., Shiraishi H., Cho H.S., Morita M. (2006) Endocrine disruption caused by organotin compounds in gastropods mollusks, 2nd Bilateral Seminar Italy-Japan: Responses of marine organisms to physical and chemical impacts, Palermo, Italy
- Horiguchi T. (2006) Contamination by endocrine disrupting chemicals and its adverse effects on aquatic organisms, Workshop on Aquaculture and Environment, Hong Kong
- Horiguchi T., Shiraishi H., Cho H.S., Katsu Y., Ohta Y., Iguchi T., Morishita F., Matsushima O., Nishikawa T., Shiraishi E., Nishikawa J., Morita M. (2006) Effects of organotin compounds on gastropod mollusk: current status and a mode of action, International Conference on Environmental and Public Health Management: Aquaculture and Environment, Hong Kong
- 堀口敏宏, 山川 紘, 白石寛明, 森田昌敏 (2006) アワビ類における有機スズ化合物の蓄積特性, 第15回環境化学討論会, 仙台
- 西川智浩, 堀口敏宏, 太田康彦, 白石寛明, 森田昌敏 (2006) 有機スズ化合物による前鰓類のインボセックス誘導機構に関する新規仮説の提唱~核内受容体 RXR を介する機構~, 第15回環境化学討論会, 仙台
- 堀口敏宏, 落合晋作, 久米 元, 児玉圭太, 柴田康行, 白石寛明, 森田昌敏, 山口敦子, 清水 誠 (2006) 東京湾における環境の変化と生物相の変遷に関する研究: 底棲魚介類の種組成と現存量の経年変化, 第15回環境化学討論会, 仙台

- 芹澤滋子, 金 東明, 磯部友彦, 堀口敏宏, 白石寛明 (2006) PFOS および PFOA の東京湾への河川流入負荷の特徴, 第 15 回環境化学討論会, 仙台
- 白石不二雄, 鎌田 亮, 深澤 均, 渡辺雅之, 大谷仁己, 中嶋智子, 丸尾直子, 堀口敏宏, 白石寛明 (2006) 環境水のエストロゲン活性モニタリングのための新しい試料調整法の提案, 第 15 回環境化学討論会, 仙台
- 久米 元, 堀口敏宏 (2006) 化学物質が魚類の繁殖に及ぼす影響 - 東京湾のマコガレイを例として -, 2006 年度日本魚類学会公開シンポジウム, 東京
- Horiguchi T., Shiraishi H., Nishikawa T., Shiraishi F., Nishikawa J., Ohta Y., Morita M. (2006) Analysis of induction mechanism of imposex caused by tributyltin and triphenyltin in gastropod mollusks, 第 17 回日本微量元素学会, 静岡
- 堀口敏宏 (2006) 魚介類に及ぼす環境ホルモンや有害物質等の影響, 第 34 回海洋工学パネル, 東京
- 西川智浩, 堀口敏宏, 太田康彦, 森田昌敏, 白石寛明 (2006) 雄イボニシ (*Thais clavigera*) におけるペニス長, 精巣重量及び頭部神経節重量の季節変化と当該組織における RXR 遺伝子発現量との関係, 環境ホルモン学会第 9 回研究発表会, 東京
- 堀口敏宏, 児玉圭太, 柴田康行, 白石寛明, 森田昌敏, 久米 元, 山口敦子, 落合晋作, 清水 誠 (2006) 東京湾における環境の変化と生物相の変遷: 底棲魚介類の種組成と現存量の経年変化, 第 9 回自然系調査研究機関連絡会議調査研究・事例発表会, 盛岡
- Horiguchi T., Shiraishi H., Nishikawa T., Ohta Y., Shiraishi F., Cho H.S., Nishikawa J., Morita M. (2007) Involvement of the retinoid X receptor in the development of imposex caused by organotins in female gastropods, SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry) Europe 17th Annual Meeting, Porto (Portugal)
- Cho H.S., Lee J.H., Cho C.R., Choi H.G., Choi M.G., Horiguchi T. (2007) Long term trends of imposex in the rock shell, *Thais clavigera* and organotin pollutions in the coast of Korea, SETAC (Society of Environmental Toxicology and Chemistry) Europe 17th Annual Meeting, Porto (Portugal)
- Horiguchi T., Yamakawa H., Kojima M., Kaya M., Shiraishi H., Morita M. (2007) Contamination by organotin (butyltin and phenyltin) compounds and ovarian spermatogenesis in abalone from Japan, 5th International Conference on Marine Pollution and Ecotoxicology, Hong Kong (China)
- Horiguchi T., Shiraishi H., Nishikawa T., Ohta Y., Shiraishi F., Cho H., Nishikawa J., Morita M. (2007) Involvement of the retinoid X receptor in the development of imposex caused by organotin compounds in female gastropods, DIOXIN 2007 International Symposium, Tokyo
- Horiguchi T. (2007) Endocrine disruption caused by organotin compounds in gastropod molluscs: from a molecular mechanism to population-level effects, International Symposium on the Environmental Risks of Chemicals, Saitama (Japan)
- 堀口敏宏, 児玉圭太, 李 政勲, 大山政明, 高尾雄二, 白石寛明 (2007) 貧酸素 - 有害物質流水式連続曝露試験装置の試作, 第 16 回環境化学討論会, 北九州
- 李 政勲, 児玉圭太, 片山知史, 久米 元, 大山政明, 堀口敏宏, 高尾雄二 (2007) 耳石を用いた東京湾産マコガレイの年齢査定における表面観察法と横断切片観察法の比較, 平成 19 年度日本水産学会秋季大会, 函館
- 堀口敏宏, 西川智浩, 太田康彦, 白石寛明 (2007) 茨城・平磯におけるイボニシの RXR 遺伝子発現及び性成熟関連形質の経月変化, 環境ホルモン学会第 10 回研究発表会, 埼玉
- Park J.C., Cho H.S., Cho C.R., Harino H., Horiguchi T. (2007) Antifouling Paints in Sediments Collected from Big Harbors of Korea, 環境ホルモン学会第 10 回研究発表会, 埼玉
- 堀口敏宏, Sousa, A., 太田康彦, 趙 顯書, Barroso, C.M., 白石寛明 (2007) 本邦産及び欧州産腹足類 (アケギガイ科, エゾバイ科及びオリイレヨフバイ科) 数種に対する RXR 抗体の免疫組織化学染色, 環境ホルモン学会第 10 回研究発表会, 埼玉

(5) 関連研究プロジェクト

発表者・(暦年)・題目・学会等名称・開催都市名

- 塚原伸治 (2008) 発達期の脳の性分化機構におよぼす化学物質の影響, 第 128 回日本薬学会年会, 横浜
- 岩倉 聖, 加藤智啓, 塚原伸治, 津田夢芽子, 渡井浩太, 内村太一, 黒田淑子, 小川園子, 志賀 隆, 大谷-金子律子 (2008) ラット性的二型核での臨界期における発現タンパク質の雌雄差-プロテオミクス法を用いた解析-, 第 31 回日本神経科学大会, 東京
- Ao K., Murai H., Suzuki T., Matsumoto M., Nagai H., Miyamoto Y., Tohyama C., Nohara K. (2007) Immunotoxicities of brominated dioxins in mice, Dioxin2007, 東京
- Suzuki T., Nohara K. (2007) Histone deacetylases are involved in species-specific modulation of arylhydrocarbon receptor-dependent gene expression in humans and mice, Dioxin 2007, 東京
- Nohara K., Fujimaki H. (2007) Dioxin and allergy, 第 57 回日本アレルギー学会秋季学術大会, 横浜
- Nohra K. (2007) Activation of the transcription factor AhR in T cells only is not sufficient to generate CD62L^{low}CD25⁺CD4⁺ putative regulatory T cells and suppress the allo-CTL response, 第 37 回日本免疫学会総会・学術集会, 東京
- 鈴木武博, 村井 景, 野原恵子 (2007) 無機ヒ素によって誘導されるグローバル DNA メチル化状態変化のマウス系統差における検討, BMB2007, 横浜
- 立石幸代, 村井 景, 松本みちよ, 野原恵子 (2007) 無機ヒ素のマウスゲノム DNA メチル化状態に及ぼす影響の解析, BMB2007, 横浜
- Nohara K., Ao K., Miyamoto Y., Inouye K., Pan X., Motohashi H., Yamamoto M., Tohyama C. (2008) A constitutively active AhR expressed in T cells increases percentage of CD25⁺CD4⁺ T cells but does not suppress antibody production upon OVA-immunization of mice, Society of Toxicology: 2008 annual meeting, Seattle
- 野原恵子, 鈴木武博 (2008) ダイオキシン類の免疫毒性, 日本薬学会第 128 年会, 横浜
- 五箇 公一, 米田昌浩 (2006) Ecological risks caused by introduced insects-The case of European bumblebee and exotic stag beetles, 中国昆虫学会 2006 年学術年会, 中国, 広州
- 五箇公一, 米田昌浩, 今藤夏子, 国武陽子, 岡部貴美子 (2007) 昆虫類の侵入と進化的重要単位, 第 54 回日本生態学会大会, 松山
- 五箇公一, 岡部貴美子, 後藤哲雄, 川端寛樹, 高野 愛, 角田 隆 (2007) 侵入昆虫リスク評価シリーズ 6-ダニ輸入大国日本, 第 51 回日本応用動物昆虫学会大会, 東広島
- 五箇公一, 岡部貴美子 (2006) クワガタムシ商品化がもたらすダニ類侵入の危機, 日本ダニ学会大会, 福山
- 高村健二 (2006) 淡水魚オイカワの関東地方河川における遺伝子浸透, 2006 年度日本魚類学会年会, 静岡
- 高村健二, 高村典子, 中川 恵, 田中哲夫, 三橋弘宗, 村上俊明 (2007) ため池に分布する淡水魚モツゴの種内外来状況を探る, 日本生態学会第 54 会大会, 松山
- 中嶋信美 (2006) 一般環境中における遺伝子組換えナタネの生育状況日本植物学会第 70 回大会, 熊本
- 西沢 徹, 中嶋信美, 玉置雅紀, 青野光子, 久保明弘, 佐治 光 (2007) 関東地方における遺伝子組換えナタネの逸出状況-2006 年度の調査結果報告-日本生態学会 第 54 回大会, 松山
- 青野光子, 脇山成二, 永津雅人, 中嶋信美, 玉置雅紀, 久保明弘, 佐治 光 (2007) 除草剤耐性遺伝子組換えセイヨウナタネの一般環境中における生育日本植物生理学会 2007 年度年会, 松山
- 五箇公一 (2007) ダニ輸入大国日本~目にも留まらぬ小さなインベーダーたち~, 沖縄生物学会, 沖縄県宜野湾市
- 五箇公一 (2007) 日本にきた外国の生き物たち, 平成 19 年度熊本県自然環境講演会, 熊本県立大学
- 五箇公一 (2007) 外来生物問題と沖縄, RIS 亜熱帯総合研究所フォーラム, 沖縄県那覇市
- 五箇公一, 岡部貴美子, 後藤哲生 (2007) 日本にやってくる外来ダニの生態リスク, 日本ダニ学会, 千葉大学
- 五箇公一 (2007) 生物多様性保全と侵略的外来生物問題, 外来生物モニタリングプログラム講演会, 香川大学
- Goka K. (2007) Biological invasion caused by commercialization of stag beetles in Japan, Eco Summit 2007, Beijing, China

五箇公一, 岡部貴美子, 横山 潤, 小島啓史 (2008) ヒラタクワガタがきた道、ダニが付いてきた道 (最終回?), 第 52 回日本応用動物昆虫学会大会, 宇都宮

高村健二, 中原真裕子 (2008) 同一河川に混在する淡水魚オイカワ地理系統の繁殖状況, 第 55 回日本生態学会大会, 福岡

高村健二, 中原真裕子 (2007) 淡水産オイカワ地理系統の関東地方河川における混生実態, 2007 年度日本魚類学会年会, 札幌

西沢 徹, 中嶋信美, 玉置雅紀, 青野光子, 久保明弘, 佐治 光 (2008) 関東地方の道路沿いにおける遺伝子組換えセイヨウアブラナの生育状況, 第 55 回日本生態学会大会, 福岡

西沢 徹, 中嶋信美, 玉置雅紀, 青野光子, 久保明弘, 佐治 光 (2007) DNA アレイを用いたアブラナ属 3 種の種特異的分子マーカーの開発, 日本植物学会第 71 大会 野田

久保明弘, 青野光子, 中嶋信美, 玉置雅紀, 佐治 光 (2007) 遺伝子組換えダイズの生態系影響評価に関する研究 - 野生種ツルマメとの雑種について, 日本植物学会第 71 回大会, 野田

(6) その他の課題など

塚原伸治 (2008) 発達期の脳の性分化機構におよぼす化学物質の影響, 第 128 回日本薬学会年会, 横浜

北條理恵子, 塚原伸治, 中島大介, 黒河佳佳, 後藤純雄, 藤巻秀和 (2007) 妊娠ラットにおけるトルエン吸入曝露による仔獣のオペラント学習行動への影響, 第 48 回大気環境学会年会, 岡山

中島大介, 塚原伸治, 北條理恵子, 影山志保, 藤巻秀和, 白石寛明, 白石不二雄, 後藤純雄 (2006) 妊娠ラットへの低濃度トルエン曝露時における胎児血中トルエン濃度の測定, 平成 18 年度室内環境学会研究発表会, 東京

Aoki Y. (2006) Evaluation of in vivo mutagenicity of environmental chemicals using transgenic model animals. 36th Annu. Meet. Symposium Eur. Environ. Mutagen. Soc., Prague

出口雄也, 豊泉友康, 増田修一, 木苗直秀, 渡辺徹志, 天沼喜美子, 青木康展, 戸塚ゆ加里, 若林敬二 (2006) 金魚を用いた phenylbenzotriazole-6(PBTA-6)の変異原性の評価, 第 12 回バイオアッセイ研究会・日本環境毒性学会合同研究発表会, 東京

出口雄也, 豊泉友康, 増田修一, 天沼喜美子, 青木康展, 渡辺徹志, 戸塚ゆ加里, 若林敬二, 木苗直秀 (2006) BTA-6 の薬物代謝酵素系に及ぼす影響 平成 18 年度日本水環境学会中部支部学術集会, 静岡

Amanuma K., Nagaya M., Tone S., Yamada C., Namimatsu M., Ohta M., Aoki Y. (2006) Detection of benzo[a]pyrene-induced mutations in gill and hepatopancreas of adult rpsL transgenic zebrafish, 日本環境変異原学会 第 35 回大会, 堺

Deguchi Y, Toyoizumi T, Masuda S., Amanuma K., Aoki Y, Watanabe T, Totsuka Y, Wakabayashi K., Kinane N. (2006) Evaluation of mutagenic activity of PBTA-6 using fish and rat, 日本環境変異原学会 第 35 回大会, 堺

天沼喜美子, 長屋雅人, 刀祢 英, 太田宗宏, 青木康展 (2007) ベンゾ [a] ピレン曝露した rpsL トランスジェニックゼブラフィッシュのエラと睪肝臓に誘発される突然変異の特徴, 日本薬学会 第 127 年会, 富山

青木康展 (2007) 毒性研究のリスク評価への貢献, 第 77 回日本衛生学会総会・連携研究会企画シンポジウム, 大阪

Amanuma K., Tone S., Nagaya M., Aoki Y. (2007) Spectra of waterborne benzo [a] pyrene-induced mutations in the gill and hepatopancreas of rpsL transgenic zebrafish, 11th Int. Congr. Toxicol., Montreal

Tanno K., Minota S., Aoki Y., Yonemoto J., Sone H. (2007) Risk assessment of chlorinated organic compounds using immortalized rat hepatocytes and toxicological information 27th Int. Symp. Halogenat. Persistent Org. Pollut.-DIOXIN 2007, Tokyo

山田智佐子, 天沼喜美子, 平野靖史郎, 青木康展 (2007) rpsL トランスジェニックゼブラフィッシュを用いた 6 価クロムの変異原性検出, 日本薬学会 第 127 年会, 富山

松本 理, 松本幸雄, 青木康展 (2006) ベンチマークドース法を用いた 1, 2-ジクロロエタンの吸入曝露による発がんユニットリスクの算出, 第 47 回大気環境学会年会, 東京

太田宗宏, 天沼喜美子, 鈴木雅雄, 阿部知子, 谷田貝文夫, 内田智子, 松本 理, 青木康展 (2006) 宇宙放射線がゼブラフィッシュ体内の突然変異発生に及ぼす影響, 第 12 回小型魚類研究会, 三島

松本 理, 佐藤陽美, 伊東 健, 山本雅之, 青木康展 (2007)2, 3, 7, 8-四塩素化ジベンゾ-p-ジオキシン (TCDD) を投与した Nrf2 ノックアウトマウスの肝臓における網羅的遺伝子発現解析, 日本薬学会 第 127 年会, 富山

並松三保子, 天沼喜美子, 松本 理, 中杉修身, 青木康展 (2007) rpsL トランスジェニックゼブラフィッシュを用いた 7, 12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) の変異原性検出, 日本薬学会 第 127 年会, 富山

Sato H., Matsumoto M., Itoh K., Yamamoto M., Aoki Y. (2007) Comprehensive gene expression analysis in male Nrf2KO mice treated with 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD), SOT. 46th Annu. Meet., Charlotte

Matsumoto M., Amanuma K., Hashimoto A.H., Sakashita Y., Yanagisawa R., Takano H., Masumura K-i., Nohmi T., Wakabayashi K., Watanabe T., Aoki Y. (2007) In vivo mutations by 3,6-dinitrobenzo[e]pyrene instilled into the lung of gpt delta transgenic mice, 1st Asian Conf. Environ. Mutagens/36th Annu. Meet. Jpn. Environ. Mutagen. Soc., Kitakyushu

松本 理 (2008) 健康リスク評価における低濃度外挿と不確実性, ISM (統計数理研究所) シンポジウム「環境リスク研究における統計科学の貢献」, 東京

山崎邦彦 (2006) 亜鉛の水生物保全環境基準設定に向けたリスク評価と管理方策の検討, 日本リスク研究学会 第 19 回研究発表会, つくば

山崎邦彦 (2007) 環境リスク管理施策の検討に向けたスクリーニングとしてのリスク評価, 日本リスク研究学会 第 20 回研究発表会, 徳島

中島孝幸, 蓮沼和夫, 長尾明子, 藤原 好, 鈴木広子, 松崎加奈恵, 山崎邦彦 (2008) 化学物質の環境リスク初期評価 (1) 評価の概要と課題, 第 17 回環境化学討論会, 神戸

蓮沼和夫, 中島孝幸, 山崎邦彦, 白石寛明, 中杉修身 (2008) 化学物質の環境リスク初期評価 (2) 第 6 次とりまとめにおいて採用したばく露評価手法, 第 17 回環境化学討論会, 神戸

山崎邦彦 (2008) 環境基準に関する考察 - 望ましさと達成可能性の相克, 環境科学会 2008 年会, 東京

山崎邦彦, 男網太郎 (2008) 道路交通騒音の等価騒音レベル・中央値同時測定データの解析, 日本騒音制御工学会 20 年秋季研究発表会, 東京

今西 哲, 米元純三, 曾根秀子 (2007) 殺虫剤ペルメトリンがヒト脳毛細血管内皮細胞に及ぼす影響, 環境ホルモン学会 第 10 回研究発表会, 埼玉

Imanishi S., Yonemoto J., Sone H. (2008) Evaluation of Vascular Toxicity of Permethrin in Human Endothelial Cell and Mouse ES Cell, SOT Annual meeting March, Seattle

3 書籍

(2) 中核研究プロジェクト2：感受性要因に注目した化学物質の健康影響評価

発表者・(刊年)・題目・出版者・出版地・頁

Ishido M. (2006) Interaction of melatonin with environmental factors, Melatonin: From Molecules to Therapy Chapter 51, (Pandi-Perumal, S.R. ed)

塚原伸治 (2006) 下位脳幹の性差「脳の性分化 (編集: 山内兄人, 新井康允)」裳華房, 東京, 84-92

塚原伸治, 掛山正心 (2006) 神経核形成のメカニズム (アポトーシス)「脳の性分化 (編集: 山内兄人, 新井康允)」裳華房, 東京, 107-121

藤巻秀和 (2007) 環境化学物質による感染・アレルギーの修飾, 「生体防御医学事典」, 朝倉書店, 東京, (鈴木和男監修, 376p) 114-118

(4) 中核研究プロジェクト4：生物多様性と生態系機能の視点に基づく環境影響評価手法の開発

発表者・(刊年)・題目・出版者・出版地・頁

高村典子 (2006) 「植物プランクトン」水環境ハンドブック, (社)日本水環境学会編, 403-405, 朝倉書店, 2006

高村典子 (2007) ため池の生物多様性評価, 自然再生のための生物多様性モニタリング, 鷺谷いづみ・鬼頭秀一 (編), 49-69, 東京大学出版会

堀口敏宏 (2006) 海の汚染とインボセックス-環境ホルモンによる巻貝への影響-, 磯の生物 飼育と観察ガイド (岩崎哲也著, 総合出版, 151p.), pp.94-99

堀口敏宏 (2007) 2・2・1 巻貝のインボセックス発生状況から見た汚染実態の変遷およびアワビ類における有機スズの影響. 有機スズと環境科学-進展する研究の成果- (山田 久編, 恒星社厚生閣, 314p.), pp.112-139

堀口敏宏 (2007) 3・1・3 巻貝類のインボセックス発症機構. 有機スズと環境科学-進展する研究の成果- (山田 久編, 恒星社厚生閣, 314p.), pp.210-217

堀口敏宏 (2006) 小学百科大事典「きつずジャポニカ」, 小学館, 東京, p.76(インボセックス)

堀口敏宏 (2007) 別冊家庭画報 新版ちきゅう大図鑑, 世界文化社, 東京, p.346(イボニシのインボセックス)

REPORT OF SPECIAL RESEARCH FROM
THE NATIONAL INSTITUTE FOR ENVIRONMENTAL STUDIES, JAPAN

国立環境研究所特別研究報告

SR－ 84 － 2008

平成 20 年 12 月 26 日発行

編 集 国立環境研究所 編集委員会

発 行 独立行政法人 国立環境研究所

〒305-8506 茨城県つくば市小野川 16 番 2

電話 029-850-2343 (ダイヤルイン)

印 刷 株式会社 イ セ ブ

〒305-0005 茨城県つくば市天久保 2 丁目 11-20

Published by the National Institute for Environmental Studies

16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506 Japan

December 2008

無断転載を禁じます