

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 - 98 - 2011

環境リスク研究プログラム (終了報告)

Research Program on Environmental Risk

平成 18 ～ 22 年度

FY2006 ～ 2010

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 (終了報告)

Research Program on Environmental Risk

平成 18 ～ 22 年度
FY2006 ～ 2010

重点研究プログラム「環境リスク研究プログラム」(終了報告)
(期間 平成 18 ～ 22 年度)

プログラム代表者：白石寛明

執 筆 者：白石寛明、青木康展、鈴木規之、藤巻秀和、
平野靖史郎、高村典子、野原恵子、中嶋信美、
高村健二、田中嘉成、白石不二雄、曾根秀子、
菅谷芳雄、堀口敏宏、五箇公一

編 者：青木康展

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年間に実施した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』において行った研究成果を取りまとめたものです。最終報告として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てたいと考えています。

『環境リスク研究プログラム』は、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きました。その実現のために、本プログラムは、重点的な研究が必要な課題、環境施策におけるリスク評価手法の高度化、環境リスク研究基盤の整備、実践的課題への取り組みという4つのアプローチから調査・研究を並列的に進め、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、ナノ粒子の影響評価、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実施し、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化学物質データベースなどにより情報を提供する。
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されようとしています。今後、平成23年度より開始された第3期中期計画に示された研究課題を効果的に進め、環境リスクの未然防止・低減に貢献できるよう、『環境リスク研究プログラム』の実施主体であった環境リスク研究センターの機能をさらに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23年12月

独立行政法人 国立環境研究所
理事長 大垣 眞一郎

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	
1. 研究の目的と経緯	5
2. 研究の成果	5
2.1 曝露評価のための地域規模および地球規模 GIS 詳細動態モデルの構築	5
2.1.1 流域スケール、地域スケール、地球スケールの3階層 GIS 多媒体モデルの構築と検証	5
2.1.1.1 地域・流域スケールの G-CIEMS モデルの開発	5
2.1.1.2 地球規模多媒体モデルの開発	6
2.1.2 GIS 多媒体モデルによる曝露評価を構成するサブモデルの研究	8
2.1.2.1 水環境における生物移行のモデル化の研究	8
2.1.2.2 小児の曝露因子の研究	9
2.2 バイオアッセイと包括分析による多重曝露、複合影響の監視手法の開発と評価	10
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	10
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	10
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	13
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	13
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	13
2.3.2 農薬類の時間変動情報を含む排出推定手法の確立と、一般化学物質の排出推定の検討	14
III. 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	
1. 研究の目的と経緯	17
2. 研究の成果	17
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	17
2.1.1 トルエン曝露による免疫過敏の誘導	17
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	18
2.2.1 脳形成への影響	18
2.2.2 環境因子に起因する精神・神経疾患に関する研究	19
2.2.3 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	22
2.3.1 マウス発達期におけるトルエン曝露と感染関連因子の影響	22
2.3.2 胎仔期、あるいは乳仔期曝露によるフタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) の アトピー性皮膚炎への影響評価	23
3. まとめ	23

IV. 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	
1. 研究の目的と経緯	24
2. 研究の成果	24
2.1 環境ナノ粒子の生体影響に関する研究	24
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	24
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	26
2.1.3 環境ナノ粒子の毒性・生体影響評価に関する研究	27
2.2 ナノマテリアルの健康リスク評価に関する研究	30
2.2.1 <i>in vivo</i> の影響（カーボンナノチューブ）	30
2.2.2 <i>in vitro</i> の影響（カーボンナノチューブ）	31
2.3 アスベストの呼吸器内動態と毒性に関する研究	31
V. 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	
1. 研究の目的と経緯	33
2. 研究の成果	33
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	33
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	33
2.1.2 東京湾のシャコの初期生活史に及ぼす貧酸素水塊の影響	34
2.1.3 東京湾のマコガレイの初期生活史に及ぼす環境因子の影響	35
2.1.4 東京湾のホシザメの再生産特性	36
2.1.5 東京湾の底泥の化学分析	37
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	37
2.2.1 ため池における調査	37
2.2.2 統合指標モデルの構築	38
2.2.3 統合指標モデルを用いた分析結果	38
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	39
2.3.2 外国産クワガタムシの生態リスク評価	39
2.3.3 アルゼンチンアリの世界的分布拡大プロセスの解明	40
2.3.4 カワヒバリガイの分布拡大プロセスの解明	40
2.3.5 カエルツボカビ菌の侵入実態調査	41
2.4 数理的手法を用いた生態リスク評価手法の開発	42
2.4.1 湖沼生態系モデルと生態系機能	42
2.4.2 生物群集における機能形質の動態モデル	43
2.4.3 湖沼生態系機能に対する環境かく乱要因の形質ベース時系列データ解析	44
2.4.4 アクアリウム生態系による検証実験	46
VI. 関連研究プロジェクト	
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	48
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	50

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	52
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	55
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	56
2.1 研究の目的と経緯	56
2.2 研究の成果	57
2.2.1 生体試料中有機毒性物質の簡易測定法の開発及び毒性評価	57
2.2.2 環境モニタリングに資するバイオアッセイ手法の開発と適用	57
3. 生態影響試験法の開発及び動向把握	58
3.1 背景	58
3.2 研究成果	58
4. 構造活性相関等による生態毒性予測手法の開発	60
4.1 研究の目的と経緯	60
4.2 研究の成果	60
4.3 まとめ	62
5. 発がん性評価と予測のための手法の開発	62
5.1 研究の目的と経緯	62
5.2 研究の成果	63
5.2.1 トランスジェニックゼブラフィッシュを用いたPBTA-6とベンゾ[a]ピレン(BaP)の in vivo変異原性の検出とin vitro変異原性試験の結果との比較	63
5.2.2 トランスジェニックマウスを用いた3,6-DNBaPのin vivo変異原性試験	63
5.2.3 化学物質の発がん性とin vivo変異原性の相関性	63
5.2.4 化学物質曝露によりトランスジェニックマウス体内で誘導された突然変異と 人がん組織p53遺伝子上の突然変異の比較	64
5.2.5 化学物質による発がん性のヒトと実験動物間の同等性の検討	65
5.3 まとめと今後の展望	65
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	66
7. 化学物質の環境リスク評価のための基盤整備	69
8. 化学物質の定量的環境リスク評価と費用便益分析	70
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	73
2. 生態系評価・管理のための流域詳細情報の整備	74
2.1 生物多様性や生態系機能に関する情報の整備	75
2.2 環境情報の整備	75
3. 侵入生物データベースの管理	76
[資料]	
I 研究の組織と研究課題の構成	81
1 研究の組織	81
2 研究課題と担当者	85

II 研究成果発表一覧	87
1 誌上発表	87
(1) 中核研究プロジェクト 1	87
(2) 中核研究プロジェクト 2	91
(3) 中核研究プロジェクト 3	96
(4) 中核研究プロジェクト 4	99
(5) 関連研究プロジェクト	107
(6) その他の課題	109
2 書籍	111
(1) 中核研究プロジェクト 1	111
(2) 中核研究プロジェクト 2	111
(3) 中核研究プロジェクト 3	111
(4) 中核研究プロジェクト 4	111
(5) 関連研究プロジェクト	112
(6) その他の課題	113

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、土壌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る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、第2期中期目標において、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ととされ、以下の4つの中核研究プロジェクトを実施した。

(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。本プロジェクトでは、多数の化学物質や曝露に関する複

合的な諸要因を総合的かつ効率的に考慮する曝露評価の確立を目指し、自然な環境動態と曝露に関する複合的要因を階層的な時空間スケールにおいて把握するための曝露評価体系を提案する。H21年度以降は研究の進展と評価意見等を受けて課題の見直しを行い、最終的に動態モデル群の構築と応用を中心とする3課題に整理した。具体的には、課題1：曝露評価のための地域規模および地球規模 GIS 詳細動態モデルの構築として、流域・地域・地球の3階層 GIS 多媒体モデルを構築し、物質や排出源によって異なる影響領域をカバーする階層的モデルの構築と検証を行う。また、GIS 多媒体モデルによる曝露評価を構成するサブモデルとして、水環境における生物移行のモデル化、小児の曝露因子の解析を行う。課題2：バイオアッセイと包括分析による多重曝露、複合影響の監視手法の開発と評価では、全国河川水および大気バイオアッセイによるモニタリング、および *in vivo* バイオアッセイによるモニタリングの3課題の検討を進める。課題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では、新たに農薬類の時間変動情報を含む排出推定手法の確立と、一般化学物質の排出推定の検討を具体的なテーマとして再設定して検討を行うこととした。

以上をとりまとめ、最終的に時空間変動を有する曝露評価のための動態モデル、排出推定および関連手法を開発し、多種多様な化学物質の環境経由の人と生態系への曝露評価手法と評価事例を提示することを目指す。

(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した。具体的には、比較的 low 濃度の化学物質に対する過敏性の要因を解明し、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り

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いて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、複数の化学物質を評価する、の3課題で開始した。H21年度以降は研究の進展と評価意見等を受けて課題の見直しを行い、最終的に低濃度の化学物質に対する過敏性の遺伝的要因の解明と、発達期における化学物質に対する感受性の時期の特定を中心とする課題に整理した。

(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50nm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へと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、生物多様性の損失、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が実施された。

(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への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（平成22年度終了）

近年、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」の重要性が注目され、各種の環境化学物質が「エピジェネティック」な作用によって生体に影響を及ぼすことが報告された無機ヒ素を中心に、実験動物において高感受性期や標的遺伝子、後発・経世代影響等に着目してそのエピジェネティック作用を検索し、生体影響との関連や機序を明らかにすることを目的として研究を行った。

(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（平成19年度終了）

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、以下の8つの課題を設定した。

(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) インフォマティッ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
- (8) 化学物質の定量的環境リスク評価と費用便益分析

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。「化学物質リスク総合解析手法と基盤の開発」では、排出量の推定等に応用可能なデータの整備、G-CIEMS モデル等の環境動態モデルのデータ操作、曝露経路と曝露量推計のための基本情報の整備およびGIS可視化ツール等を構築することにより、曝露評価にかかわる統合情報基盤を作成した。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との関係を明確にするためには、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、「生態影響試験法の開発及び動向把握」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した。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、「構造活性相関等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、「インフォマティッ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た。環境政策において環境リスク評価の手法は、化学物質の環境基準値や指針値の設定をはじめとするさまざまな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を把握し、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」を実施した。また、環境化学物質の生態系へのリスクを生態学的な視点から評価する解析法を進展させ、リスク削減のための最適な管理手法の提案を目指して、「化学物質の定量的環境リスク評価と費用便益分析」を平成21年度より実施した。

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た。この目的の達成ため、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、中核研究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、化学物質環境リスク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

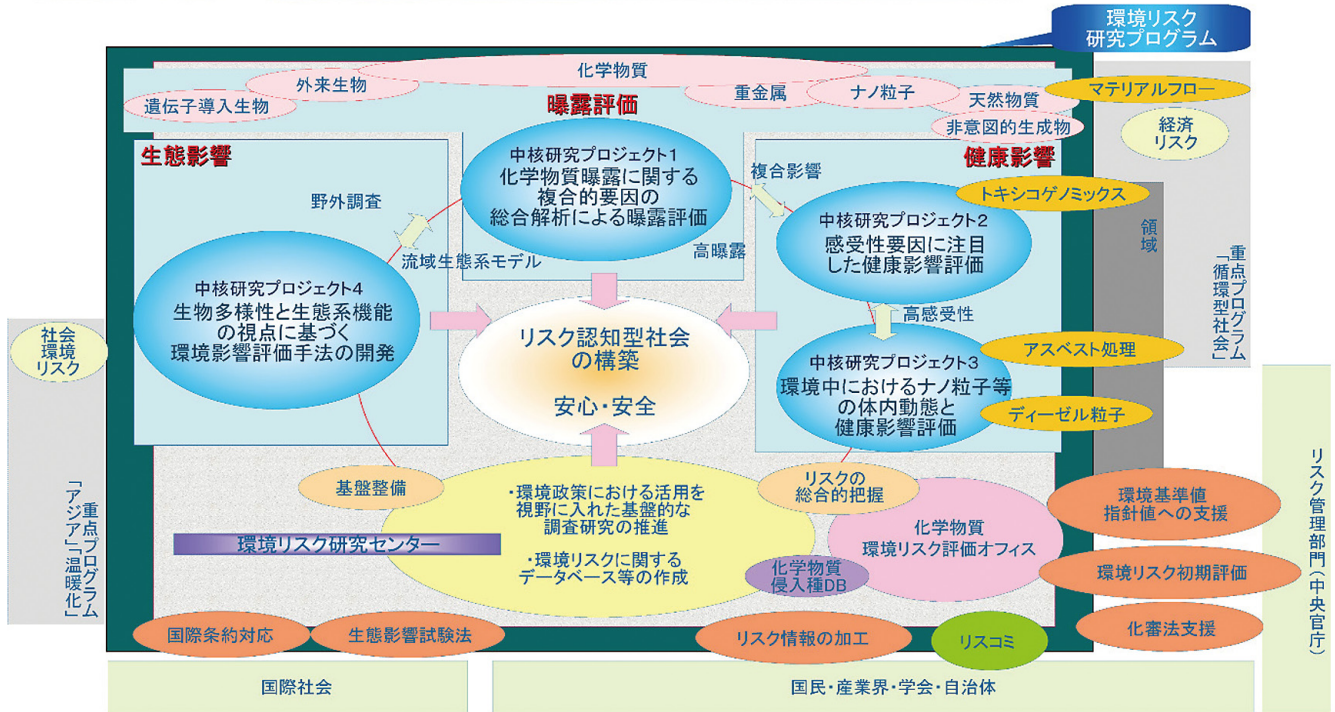


図 1

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

1. 研究の目的と経緯

化学物質の人あるいは生態系への曝露状況は、多数の化学物質で異なる物性や環境挙動、長距離輸送などの広域動態から、その結果として起こる曝露の時空間の変動、食物連鎖や受容者の年齢構成などの影響を受けて変化すると考えられる。これらの複雑な曝露状況の解析を可能とする取り組みが必要である。

曝露評価の手法には、研究あるいは行政上の目的に対応した種々の手法が用いられているが、物質により異なる時空間の変動や輸送を扱う方法論は不十分である。長距離輸送される POPs や極端な時間変動を持つ農薬、未知成分を含む曝露状況の把握など多くの場合に対応する方法論の検討が急務である。

本プロジェクトでは、多種多様な化学物質の環境経由の人と生態系への曝露評価の確立を目指して、化学物質の曝露に関する複合的な諸要因を総合的かつ効率的に考慮した、環境中の動態を時空間スケールで階層化したモデルに基づく曝露評価手法を提案することを目標とした。このため、課題1：曝露評価のための地域規模および地球規模 GIS 詳細動態モデルの構築、課題2：バイオアッセイと包括分析による多重曝露、複合影響の監視手法の開発と評価、および課題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、の3課題構成によって研究を開始した。

その後、研究の進展と中間評価での意見を受けて、H21年度以降は動態モデル群の構築と応用に目標の明確化を行い、課題構成を見直して研究を実施した。具体的には、課題1は(1-1)流域スケール、地域スケール、地球スケールの3階層 GIS 多媒体モデルの構築、および(1-2) GIS 多媒体モデルによる曝露評価を構成するサブモデルの研究として、水環境における生物移行のモデル化、小児の曝露因子の解析の2つを扱うよう課題構成の見直しを行った。課題2は特に変更はないがH20年度で主要な課題はほぼ終了したので以後はとりまとめを主として行った。課題3は当初の不検出データに関するテーマは完了とし、新たに農薬類の時間変動情報を含む排出推定手法の確立をテーマとして設定した。本稿では、最後の課題構成に従って5年間の成果を整理して示す。

本プロジェクトは、これら一連の成果により、化学物質の曝露評価の課題の中で、特に国内外で方法論の定まっていない化学物質曝露の時空間変動、食物連鎖・年齢構成などを考慮する曝露評価、未知成分を含む曝露状況の把握への取り組みなどのテーマについて、新たな曝露評価の体系的構築に資することを目指したものである。

2. 研究の成果

2.1 曝露評価のための地域規模および地球規模 GIS 詳細動態モデルの構築

2.1.1 流域スケール、地域スケール、地球スケールの3階層 GIS 多媒体モデルの構築と検証

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値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 モデルの開発と改良を進めてきた。H21年度以降は、国内・地域規模から、地球規模の広域動態にいたる複数の空間規模に対して、地球、地域、流域の3階層 GIS 多媒体モデルとして構築する方針により開発を進めた。

2.1.1.1 地域・流域スケールの G-CIEMS モデルの開発

3階層のうち、地域・流域の2階層はこれまで開発を進めてきた G-CIEMS モデルを基礎として進めた。図2に3階層 GIS 多媒体モデルの構成と流域規模 G-CIEMS モデルの検討結果の例を示す。

G-CIEMS モデルについては、これまで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てきた。その結果、多摩川、日光川、大和川の3河川において流域動態の観測調査と PRTR の点源・非点源の結果の合計値を入力とし、各単位流域から下水道への輸送と下水処理効率を考慮したモデルによって、特にノニルフェノールの推定値はほぼ全てが観測値

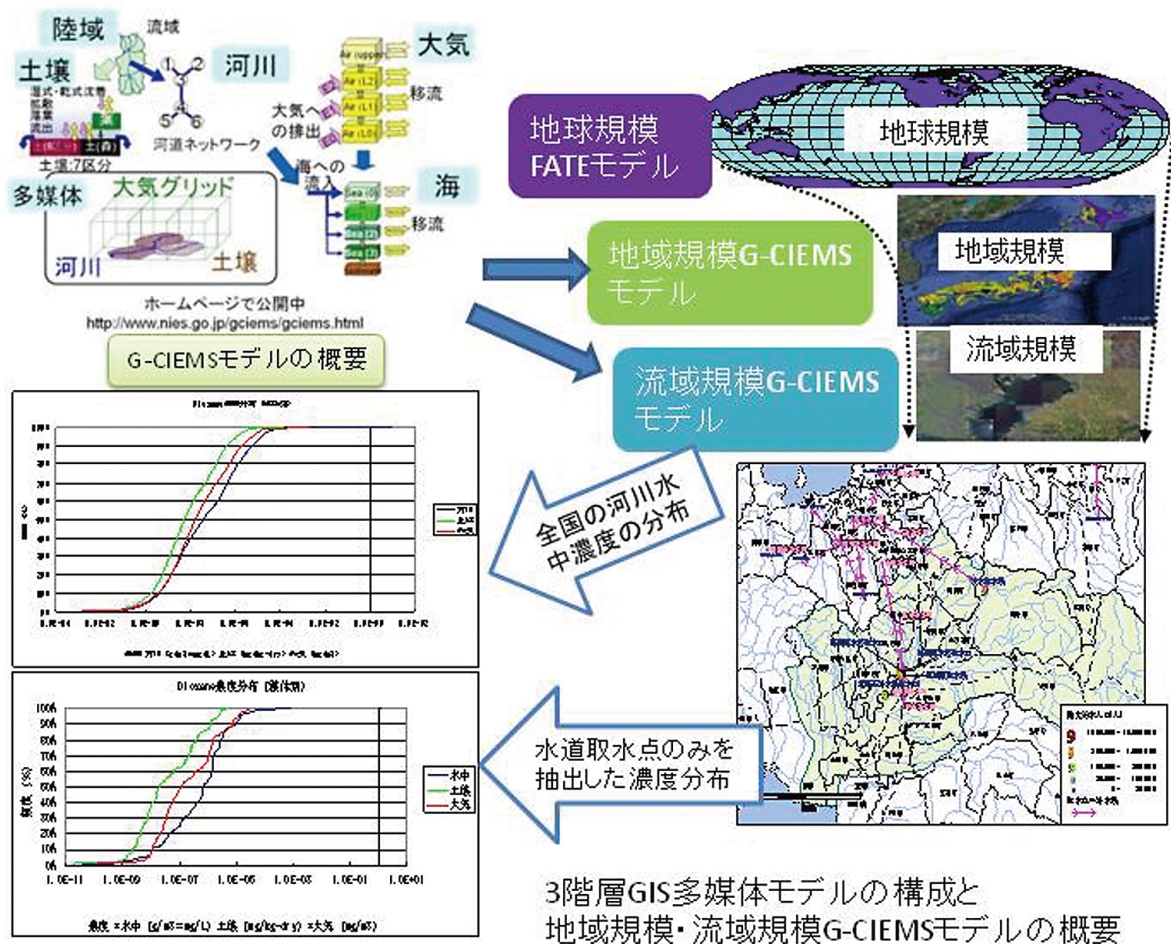


図2 3階層GIS多媒体モデルの構成と地域規模・流域規模G-CIEMSモデルの概要

に対して10倍以内の幅に入るようになることを示した。

検証を行ったモデルを用い、流域に存在する水道取水点と集水域のデータ整備を行い、全国の主要な水道水源について河川水中の予測濃度の分布と、水道取水点の存在する河川水中濃度の分布双方を求めることが出来た。結果を図2にあわせて示した。

2.1.1.2 地球規模多媒体モデルの開発

多様な化学物質のうち、残留性有機汚染物質 (POPs) は大気・海洋循環により地球規模で長距離越境輸送され、環境媒体中に数年～数百年のスケールで残留する。また、高い生物濃縮性を持ち、遠隔地 (例えば極域) の高等生物からも高濃度で検出される等、生態系への悪影響が懸念されてきた。このような POPs の環境中における時空間的な動態と生態系への移行は地球規模で広範囲に評価する必要がある。本課題では、2008年度より、愛媛大学沿岸環境科学研究センターとの共同研究として、POPsを対象とした高解像度全球多媒体モデル FATE (Finely-Advanced Transboundary Environmental model)

の開発を行ってきた。2010-2011年度には FATE の高解像度海洋輸送サブモデルを開発し、海洋基礎生産者への生物濃縮モデルを導入した。

FATE は全球に渡って、大気、海洋、土壌、植生、雪氷圏における POPs の生物地球化学的物質循環を詳細に解く地球システムモデルである。モデルの概要を図3に示す。大気と海洋では、それぞれ、 $2.5^{\circ} \times 2.5^{\circ} \times 27$ 層、 $0.5^{\circ} \times 0.5^{\circ} \times 54$ 層の空間解像度で3次元移流拡散計算が行われ、長距離越境輸送が詳細に計算される。これに加えて、沈着と拡散による媒体間輸送、分解や相分配等の基礎的な化学プロセス、及び、バイオマスが大きく定量的に無視できない基礎生産者 (植生、海洋植物プランクトン) への生物濃縮が考慮される。海洋基礎生産者への移行を陽的に取り扱っている点が FATE モデルの重要な特徴の一つであるが、計算に必要なプランクトンのバイオマス、成長率等の生物データは衛星データ (SeaWiFS) と CbPM (Carbon-based Production Model) を用いて計算している。2011年度までに、PCBsの全11コンジナーを対象としたモデル開発が完了し、PCBsの

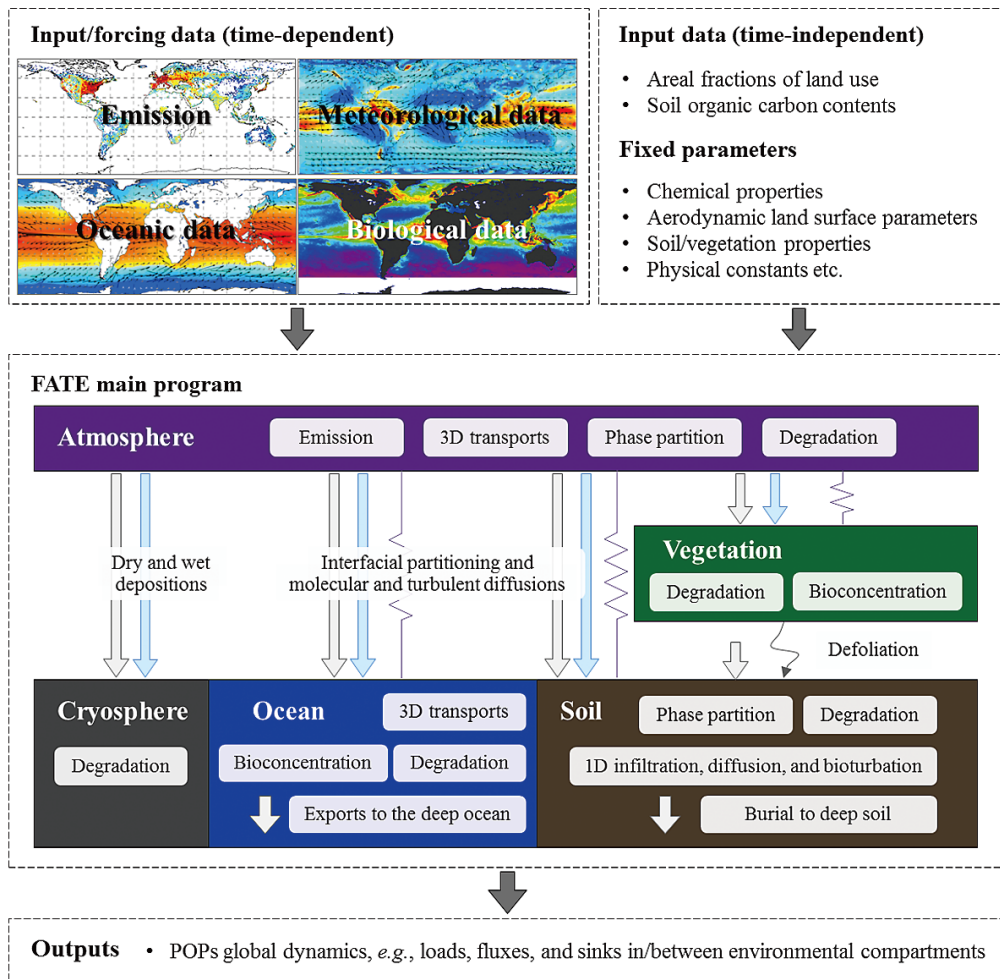


図3 全球多媒体モデル FATE の概念図

7 コンジナー (PCB28, 52, 105, 118, 138, 153, 180) に対して 1930 年から現在に至るまでの約 80 年に渡る長期シミュレーションを行った。この結果と、アジア・ヨーロッパの計 138 サイトで得られている大気濃度モニタリングの既往データを比較した結果を図 4 に示す。モデルによる計算結果は、中国等の特定の国・地域のモニタリングデータを一部過小評価するが、全サイトの結果を見ると、8 割以上が 1 オーダー以内の相違に収まった。

本 FATE モデルを用い、PCBs の大気・海洋濃度の時空間分布、及び深海輸送に着目した動態解析を行った。結果を図 5 に示す。大気上層（自由大気）では PCB153 は南半球を含めた地球全体に広く輸送されており、また、極域へと緩やかに収束している。これは、これまでの知見と定性的に一致する（図 5 (a)）。一方、生物生産の行われている有光層下端付近から中深海にかけては、10 年スケールの亜熱帯循環により、排出量の多い中緯度から緩やかに沈み込みながら低緯度の亜熱帯海域へと収束することが推測された（特に北大西洋など、図 5 (c)）。

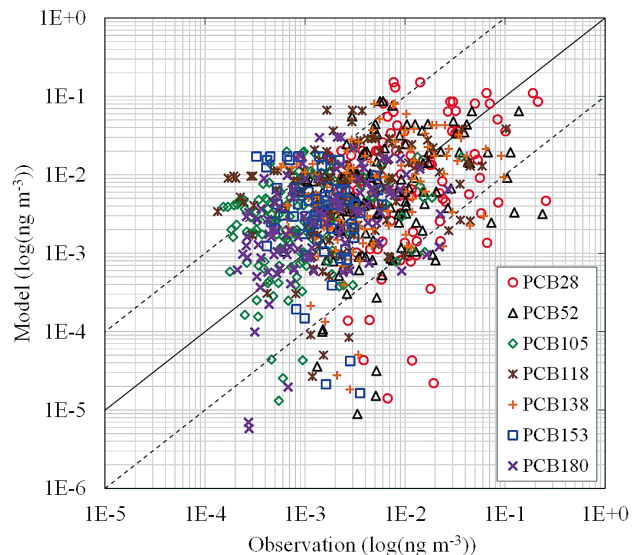


図4 FATE で計算された PCBs の大気濃度の予測値とモニタリングデータの比較

より深い深海へは、深層水が形成される極めて限定的な海域でのみ PCB153 の輸送が推定されている（図 5 (d)）。深海は PCBs 等の POPs の最終シンク場所になってい

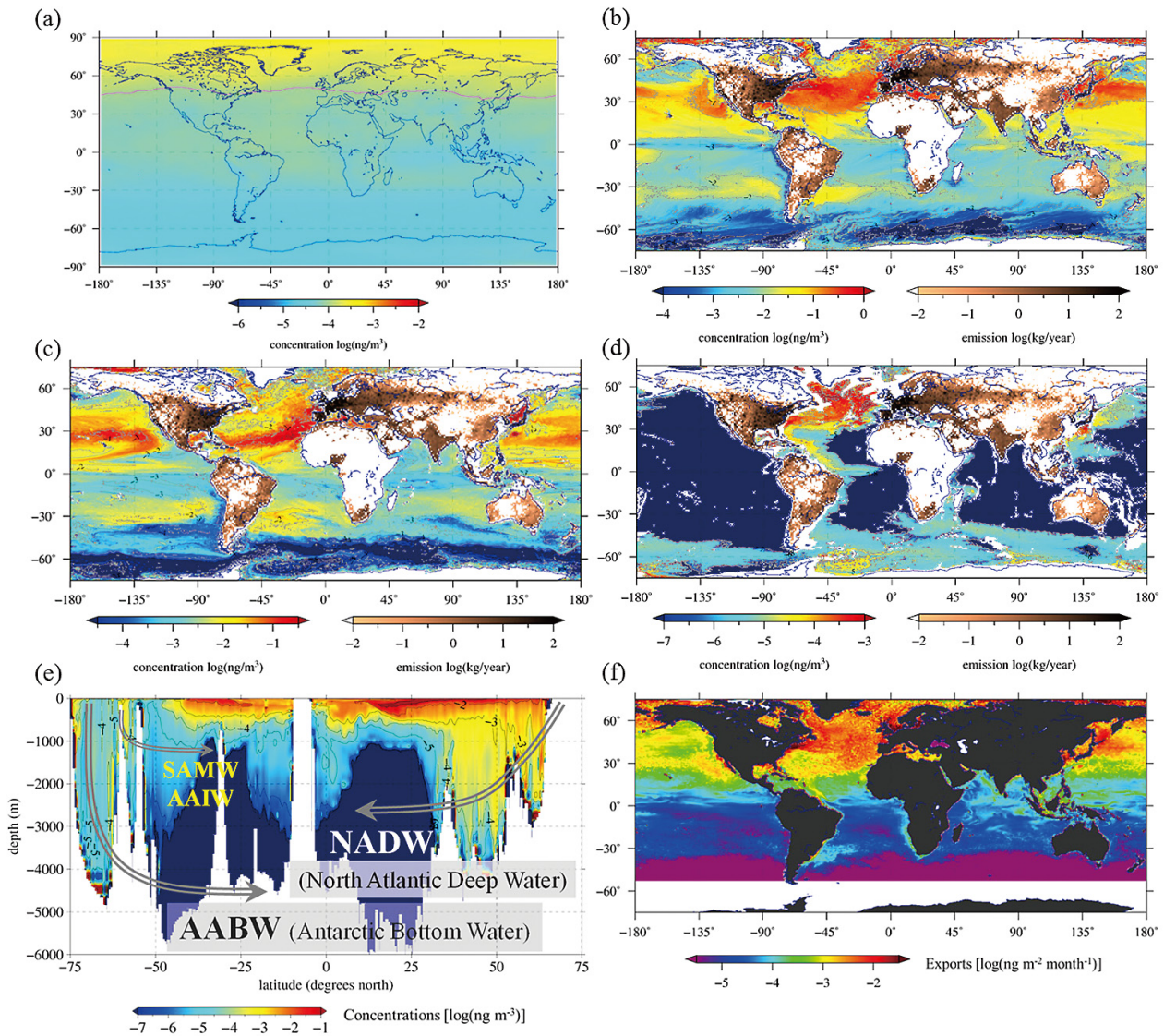


図5 FATEモデルで計算されたPCB153の(a)上層大気(約740 hPa)、(b)海洋表層付近(約8 m)、(c)有光層下端付近(約80 m)、(d)漸深海(約1900 m)における濃度の水平分布(1990年)、(e)西経35°における海洋濃度の鉛直断面図(1990年)、及び(f)植物プランクトンの死骸の沈降による深海輸送量(1990年7月)。

る可能性があるという議論がなされてきた。本課題では、FATEモデルを用いて、深層水の形成と生物学的プロセス(植物プランクトンへの生物濃縮と死骸の沈降)によるPCB153の深海輸送量を定量化した。図5(e)、(f)はモデルより推定された、PCB153濃度の鉛直断面図と生物学的プロセスによる深海除去量の空間分布である。主要な海洋深層水である北大西洋深層水(NADW)と南極低層水(AABW)の形成によりPCB153が深海へと輸送されている様子が再現されている。定量的には、過去80年間積算したPCB153の海洋循環による混合層以深への正味の輸送量が7.4トン、生物学的プロセスによる深海除去量が1.0トンと見積もられた。

2.1.2 GIS多媒体モデルによる曝露評価を構成するサブモデルの研究

2.1.2.1 水環境における生物移行のモデル化の研究

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の評価を、より確かに行うための研究を行った。水環境を経由する人間への曝露評価を、水環境中の化学物質濃度を把握し、水環境中の化学物質濃度から水生生物中の化学物質濃度を予測する関係を構築し、そして水生生物中の化学物質濃度と人間が摂取する化学物質の量との関係を明らかにする三段階に分けたうちの、前二者について研究を進めた。

対象化合物は、ポリ塩化ビフェニル(PCB)と、PFOS類(ここではペルフルオロオクタンスルホン酸

[PFOS]およびペルフルオロオクタン酸[PFOA]を指す)の二群の残留性化合物を中心とした。PCBは現在は生産が中止されて、日本では処理が進められている段階であるが、水環境については、二次発生源として底質に蓄積されたPCBを考える必要がある。物性の幅が広くモデル化合物としても適切であることから、対象化合物として選定し、1-10塩化物の化合物の個別分析を行った。PFOS類は、非常に安定かつ独特の性質(アルキル基部分の撥水、撥油性)を有し、多用途に使用されてきている。

実際の水環境中の化学物質濃度の実態把握では、東京湾全域から採取した海水および底質表層試料を、これら化学物質について分析した。採取は中核研究プロジェクト4の協力を得た。PFOS類について、年4回の試料採取の結果から海水中濃度はPFOA > PFOSおよび上層(水深の10%) > 下層(同90%)、底質中濃度はPFOS > PFOAであった。濃度値の分布は、実軸では値の高い側に尾を引き、対数軸では対称に近かった。海水・底質中濃度の水平分布、および海水中濃度と塩分との負の相関から、淡水流入が両化合物の湾への主たる流入源であることが示唆された。2004~2006年における淡水流入中の平均PFOS濃度は29(95%信頼区間27-32) ng/Lと推定された。また、湾内海水の成層構造が、両化合物の鉛直分布に影響を与えていることが示唆された。継続して試料採取した4地点の中央値で、2006年度→2010年度の海水中濃度 (ng/L) はPFOS上層6.4→1.5、PFOS下層2.0→0.8、PFOA上層16→4.6、PFOA下層4.7→1.0であり、この期間に濃度の減少が観察された。

水環境中の化学物質濃度から水生生物中の化学物質濃度を予測する手法構築については、従来の水(溶存態)および食物からの移行に加え、底質の寄与を明示的に加えることを目的として研究を進めた。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、水域毎の値の一般化が困難であり、本課題では移行プロセスを踏まえた定式化を目指した。海産底生魚類であるマコガレイを対象生物とし、実験室で残留性化学物質の移行の動力学を調べた。

PCBsとPOPsの底質から魚体への移行モデルを構築し、食物連鎖を介さない経路と介した経路とを調べた。28日間の移行実験結果を解析し、PCBの13化合物(5-6塩化物)の濃度増加のうち約44%が、溶存態を介さない、底質粒子(懸濁粒子を含む)による移行と推定され

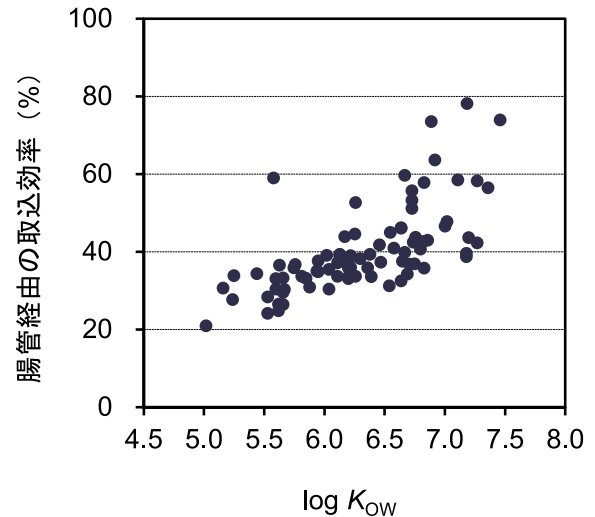


図6 ゴカイを給餌した場合のマコガレイの消化管におけるPCBの取込効率。横軸はオクタノール-水分分配係数の対数値。各点はPCBの各化合物を示す。

た。一方、移行モデルパラメータのうち、消化管での取込効率を、あらかじめ底質中で飼育したゴカイをカレイへ給餌して調べたところ、PCBについて、21%~78%でオクタノール-水分分配係数につれて増加した(図6)。さらに、他のPOPs化合物を含めて水柱からの移行動力学を調べ、日本人の食生活にとって重要な海産魚類に着目し、特に海産底生魚類ではじめて、多数のPOPs化合物について、移行と浄化(濃度減少)に係る本質的な動力学パラメータを明らかにした。

2.1.2.2 小児の曝露因子の研究

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、小児における肺喚起量を求めるため、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喚起量の測定をあわせて実施し、実際の活動量を反映する肺喚起量の推定を行った。この結果、表1に示すように、

平均で 8.4m³/day、最大～最小が 6.9～9.5m³/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：m³/day, A 幼稚園 N=18)

	Mean	min	max
Day1	8.4	6.7	10.0
Day2	8.3	6.7	9.5
Weekend	7.8	6.6	9.2
Mean	8.2	6.9	9.5

2.2 バイオアッセイと包括分析による多重曝露、複合影響の監視手法の開発と評価

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

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分解・生成された二次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 2007 年から 2009 年の 3 年間について行った。

環境曝露調査に供した河川水は、2007 年は 13 都道府県 80 検体、2008 年は 16 都道府県 106 検体、2009 年は 16 都道府県 110 検体である。河川水検体は、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 9 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、冷蔵で国立環境研究所に搬送後、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。

環境曝露調査は一般項目として全有機炭素量 (TOC)、全窒素 (TN)、及び全リン (TP) を、*in vitro* バイオアッセイとして、一般毒性の指標である発光細菌毒性試験 (Photobacterium Toxicity test; P.B. Tox)、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酵母アッセイ (hER Y.A.) とメダカ・エストロゲン受容体酵母アッセイ (medER Y.A.)、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酵母アッセイ (RAR Y.A.)、肝臓など薬物代謝酵素の誘導に関連するアリルハイドロカーボン受容体酵母アッセイ (AhR Y.A.) 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 (*umu* (-S9)、*umu* (+S9)) の 7 種類を採用して行った。なお、環境曝露調査に用いたバイオアッセイは数時間で計測できる迅速で簡便な試験法である。

3 年間の調査を通じて一般調査項目は明らかな年間変動が認められなかったのに対して、酵母アッセイによる受容体結合活性は、2007 年に比べて、2008 年、2009 年と減少傾向を示した。しかしながら、P.B. Tox. と *umu* 試験については減少傾向は見られなかった。汚染源別に比較すると、工場排水が流入する河川水では、主に medER 結合活性や AhR 結合活性が高く、人工化学物質の影響を受けていることが示された。また、大都市を流れる河川水ではエストロゲン活性が高く、下水処理場排水など生活排水の影響を強く受けていることが示唆された。図 7 に 3 年間行った 16 都道府県 (都道府県番号順に、北海道、岩手県、宮城県、山形県、茨城県、群馬県、東京都、長野県、静岡県、愛知県、京都府、兵庫県、奈良県、鳥取県、福岡県、及び鹿児島県) の調査 10 項目の全国平均に対する都道府県別の平均値 (%) をレーダーグラフで示した。北海道、東京都、愛知県、兵庫県においてレーダーグラフが比較的広いエリアを占めたが、このうち、東京都と兵庫県は TN と TP に加えて、hER 及び medER 両方のエストロゲン活性と *umu* 試験の遺伝毒性が高いことが示され、生活排水の流入の影響が示唆された。愛知県の都市部河川水は、medER、RAR、AhR の受容体結合活性と遺伝毒性活性が比較的高く、生活排水や工場排水等の流入が疑われた。北海道は、製紙工場排水と下水処理場排水が流入する二つの河川水の強い作用が平均値に影響していた。

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は、河川に流入する化学物質の多重的な影響を検出することが可能であり、生態系のリスク評価手法の一つとして適用できることが示された。

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

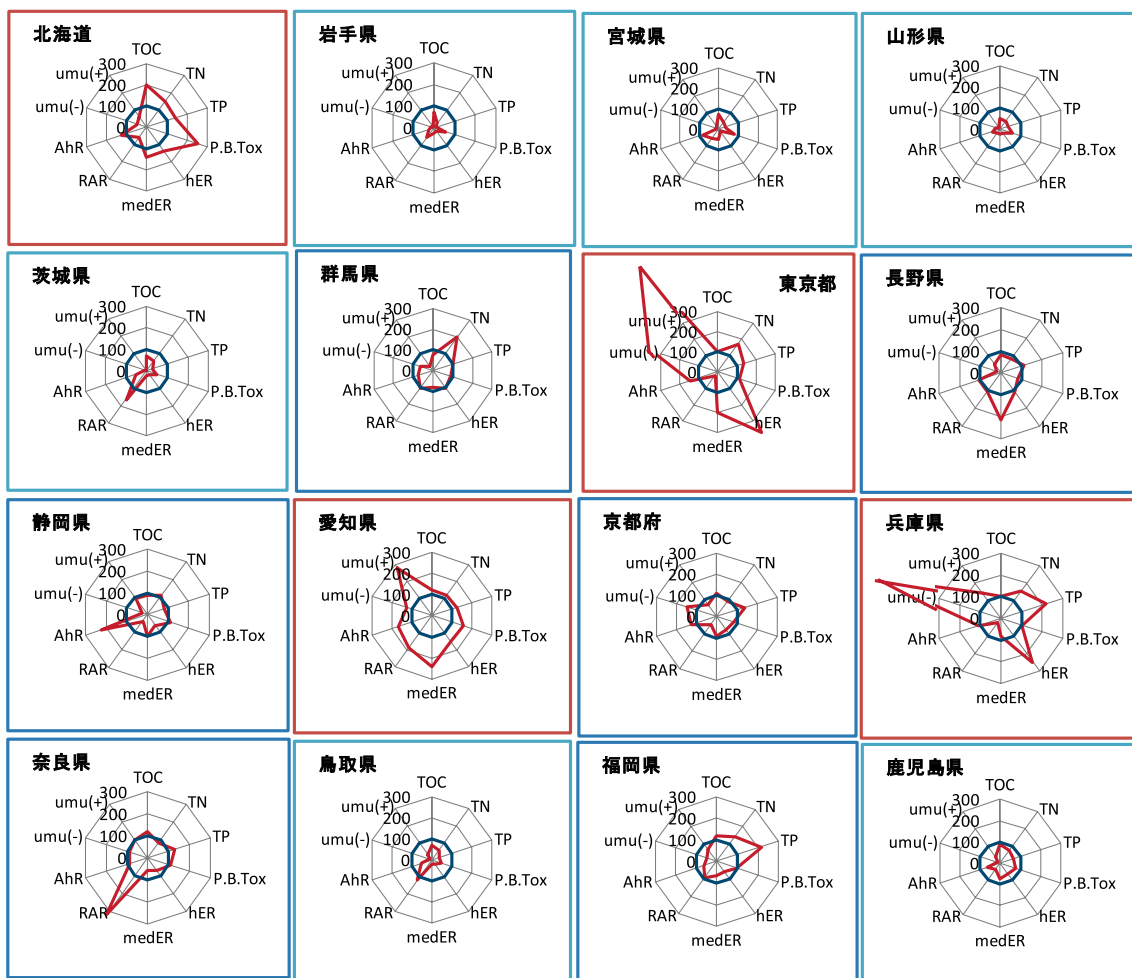


図7 河川水調査10項目の全国平均に対する都道府県別の平均値(%)

TOC：全有機炭素量、TN：全窒素、TP：全リン、P.B.Tox.：発光細菌毒性試験、hER：ヒト・エストロゲン受容体結合活性、medER：メダカ・エストロゲン受容体結合活性、RAR：レチノイン酸受容体結合活性、AhR：アリルハイドロカーボン受容体結合活性、*umu* (-)：発光 *umu* 試験 (- S9)、*umu* (+)：発光 *umu* 試験 (+ S9)

れまで多くの環境中濃度が測定されてきた。近年、これらよりも分子量の小さいピレンやフルオランテンなどの半揮発性 PAH に発がんプロモーション活性が認められ、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 *in vitro* バイオアッセイを用いてモニタリングすることを目的とした。

平成 19 年夏から全国 11 か所において夏季・冬季に連続して 4 日間大気試料を同時捕集し、その変異原性等の発がん関連活性と多環芳香族炭化水素 (PAH) 濃度を計測した。まず半揮発性物質のバイオアッセイに必要ないくつかの項目について検討を行なった。捕集基材、抽出手法及び抽出溶媒の比較を行ない、ポリウレタンフォーム (PUF) を用いて捕集し、アセトンでソックスレー抽出する方法を提示した。また各種濃縮法における回収率についても比較検討し、溶媒に応じた圧力で制御するこ

とにより、ロータリーエバポレータでほぼ定量的な回収率が得られることを確認した。発がん連活性試験法として、Ames 法の高感度な変法であるマイクロサスペンション法 (変異原性) を適用したほか、更に高感度が期待できる発光 *umu* 試験 (遺伝子損傷性) も適用し、簡易化・高速化した。特に発光 *umu* 試験の高速化では、1 日に測定できる検体数は従来法の 4 倍となった。一方発がんプロモーション活性については、半揮発性物質も含めて Bhas assay に適用可能であることを確認したが、活性のほとんどは粉じん中に存在することが明らかとなった。

全国 11 箇所の大気粉じんの変異原性は、従来から知られているように冬季に高く、夏季には低くなる傾向が認められた。一方、PUF に捕集される半揮発性物質においては、逆に夏季に高くなる傾向が認められた。大気中変異原性物質のガス状-粉じん状間における構成比

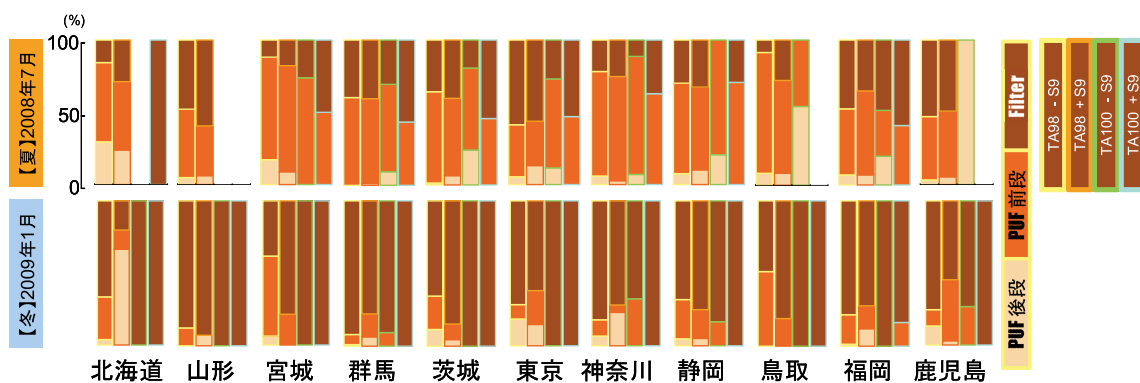


図8 夏季・冬季における大気中変異原の気固分布 (4日間平均)

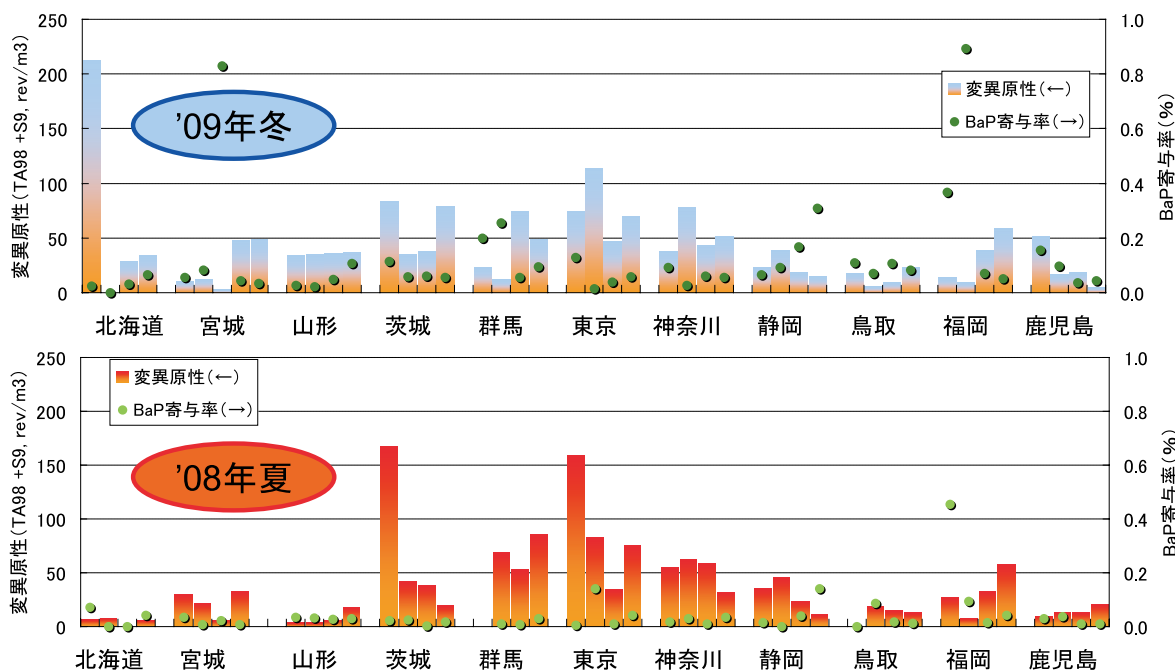


図9 変異原性の日間変動とBaPの寄与率

は、図8に示すようにどの地域でも夏季にはガス状の比率が高くなることが明らかとなった。この傾向について、つくば市の大気を6日おきに1年間継続して捕集した試料を用いて経年変化を確認したところ、粉じんと半揮発性物質の両者を合算した活性からは明らかな季節的な傾向は認められず、従来の粉じんのみによる調査では大気中の変異原性が過小評価されていたことが示された。

全国11ヶ所の大気中PAH濃度測定値から、発がんリスクファクター (BaPE: benzo[a]pyrene-equivalent carcinogenicity) を算出したところ、関東地方で高い傾向が見られるとともに、福岡で最も高い値となった。この傾向は、Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR) 結合活性と良い相関を示した。全国11箇所の大気中変異原の分布は関東地方で高い傾向が認められた。

一方、同試料中のベンツ[a]ピレン (BaP) 濃度から変異原性に対する寄与率を求めたところ、夏季よりも冬季に高い傾向が認められたものの、高い時でも1%程度に過ぎなかった。また変異原性とBaP濃度の日間変動は連動していなかった (図9) ことから、変異原性試験によるモニタリングの重要性が示された。

同試料の発光 *umu* 試験による遺伝子損傷性は、特に代謝活性化条件の場合に AhR 結合活性や PAH 濃度と同様の挙動を示した。また遺伝子損傷性に対する PAH 等の寄与率は2%程度に過ぎなかった。今後は同捕集試料抽出物中の化学分析とトラジェクトリ解析等とを組み合わせることにより、有機毒性物質の広域移動に関する知見や長距離輸送中の二次生成等のメカニズム研究への発展が期待される。

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インビボ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(株)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」(OECD201) および、ISO の「淡水単細胞緑藻類生長阻害試験」(ISO8692) 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」(TG210) 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 10 に示す。TU (Toxicity Units; 毒性単位、こ

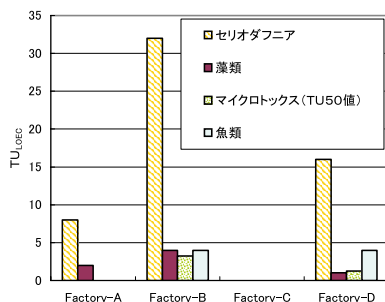


図 10 工場排水に対する WET 法適用の検討結果。ミジンコ繁殖阻害において $TU > 10$ となる結果が見られるが、他はおおむね $TU < 10$ の結果が得られた。

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。藻類への影響は $A, B, D > C \approx 0$ であり、発光バクテリア及び魚類への影響は $B, D > A, C \approx 0$ 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。

本課題では、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。この成果は、環境省での WET 手法の検討等の科学的基礎を与えることが出来たものと考えている。

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

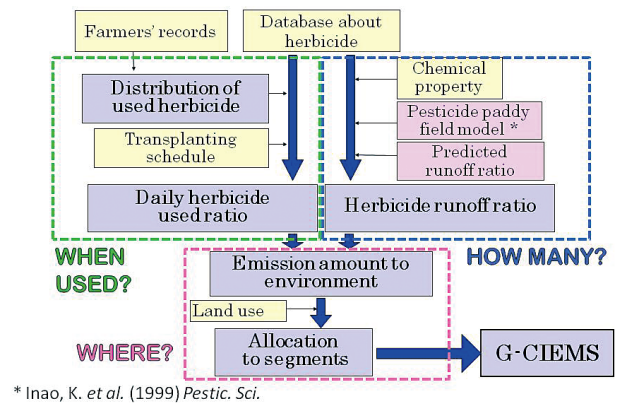
環境中での濃度レベルを把握するために、モニタリング結果が用いられることが多い。しかし、調査地点数は数十か所以下の場合が多く、さらにその一部のみが検出されるなど、情報量の違いに起因する不確実性の違いが考慮されることは少ない。そこで、不検出データを含む観測結果のパーセンタイルの信頼区間を評価するための手法を開発し、モニタリングデータの検体数と検出数がパーセンタイル予測精度に及ぼす影響を調べた。環境省で実施された PCB の一斉調査結果を元データとして、無作為抽出により設定した検体数と検出数を有する標本群を作製し、各標本の 95 パーセンタイルの 90 % 信頼上限の分布を計算した。元データの 95 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”の関係調べた結果、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。

2.3.2 農薬類の時間変動情報を含む排出推定手法の確立と、一般化学物質の排出推定の検討

生態リスクを精緻に評価するためには、化学物質の環境中濃度の時空間分布を正確に把握する必要がある。農薬は特定時期に特定地域で集中的に使用され、その一部が環境中に排出される。登録時に毒性評価等の検査を受けているものの、その作用機序から環境中の動植物への影響が懸念されている。特に水田農薬は日本全国で使用されており、かつ同時に多種類の農薬が使用されるため、環境保全の観点から注意深く監視する必要がある。本研究では、水田除草剤に着目し、日本全国を対象に多数の除草剤の環境中濃度変動を予測することを目標に、農薬使用量および環境中排出量の予測モデルを構築し、環境多媒体モデル G-CIEMS を用いて河川中濃度の日差変動を予測した。なお、本節では農薬と除草剤は農薬製剤を示し、農薬原体はその有効成分となる化学物質を示す。

多くの除草剤について日本全国で残留濃度を予測するために、既存の公開情報を基に予測可能な手法を構築した。JA に提出された農薬使用記録を収集し、記載された水田除草剤の、登録情報上の用途と使用時期、実際の使用日、田植日と使用日の関係を整理した。農薬登録情報に基づき除草剤を分類し、田植日に対する相対的な使用日の平均値と標準偏差を算出した。各都道府県別田植え最盛期から、各都道府県別除草剤別での日別使用比率を求めた。水田内の農薬原体の動態予測モデル PADDY と実測調査から導き出した水田農薬原体の溶解度と流出率の関係式を用いて、大気への揮発量および河川中への排出量の時空間分布を求めた。上記の方法で求めた農薬原体別の日別使用量および環境中への日別排出量を、土地利用情報と市区町村別農耕地面積を利用して 3 次メッシュに按分し、各メッシュでの日別河川排出量および日別揮発量を計算した。G-CIEMS モデルでの地理区分に変換し、G-CIEMS を用いて環境中の農薬原体の濃度変動を計算した。農薬排出量予測の全体手順を図 11 に示す。

農薬登録情報と実際の使用時期の関係を解析し、使用日の予測に最も適していた使用開始時期の情報に基づいて除草剤を 3 区分に分類し、田植日に対する相対的な使用日の平均値と標準偏差を求めた。日本全国で河川中の除草剤濃度の経日変化を求めることにより、各河道 (G-CIEMS モデル計算における河川単位) における最大濃度を算出し図示することができる (図 12)。



* Inao, K. et al. (1999) Pestic. Sci.

図 11 除草剤の排出推定手順の概要

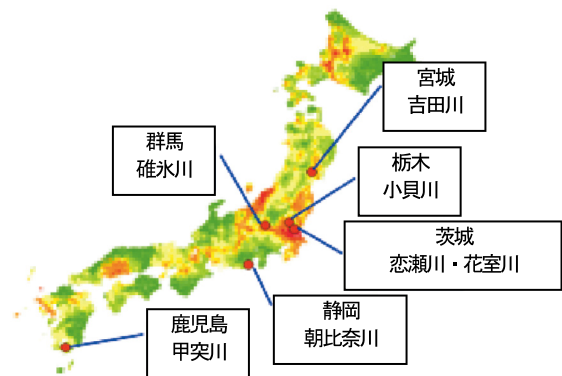


図 12 調査地点と予測最大濃度マップ (クミルロン)

モデル検証のために、全国 7 地点 (宮城県・吉田川、群馬県・碓氷川、栃木県・小貝川、茨城県・恋瀬川、茨城県・花室川、静岡県・朝比奈川、鹿児島県・甲突川) の長期モニタリングを 1~2 週間に一度程度の頻度で実施した。採取した河川水試料 500mL は、GF/C 膜でろ過し、Oasis HLB で固相抽出し、LC/MS/MS (Agilent1200 + 6460 Triple Quad LC/MS) にて定量した。

河川調査では 36 種類の除草剤を定量した。そのうち、モデル予測計算に必要な物性値を入手した 27 種類の除草剤 (プレチラクロール、プロモブチド、メフェナセット、ダイムロン、 bensulfuron-methyl、ピラゾスルフロンエチル、ベンタゾン、ブタクロール、エスプロカルブ、シメトリン、イマズスルフロン、クミルロン、ジメタメトリン、カフェンストロール、オキサジクロメホン、シクロスルフアムロン、ベンゾピシクロン、ハロスルフロンメチル、ペントキサゾン、ベンゾフェナップ、クロメプロップ、ベンチオカーブ、ピリフタリド、ブタミホス、ピラゾレート、アジムスルフロン、MCPA) に関して、実測値と予測値の比較を行った。比較図群の一部を図 13 に示す。合計 182 組の地点-除草剤のうち、171

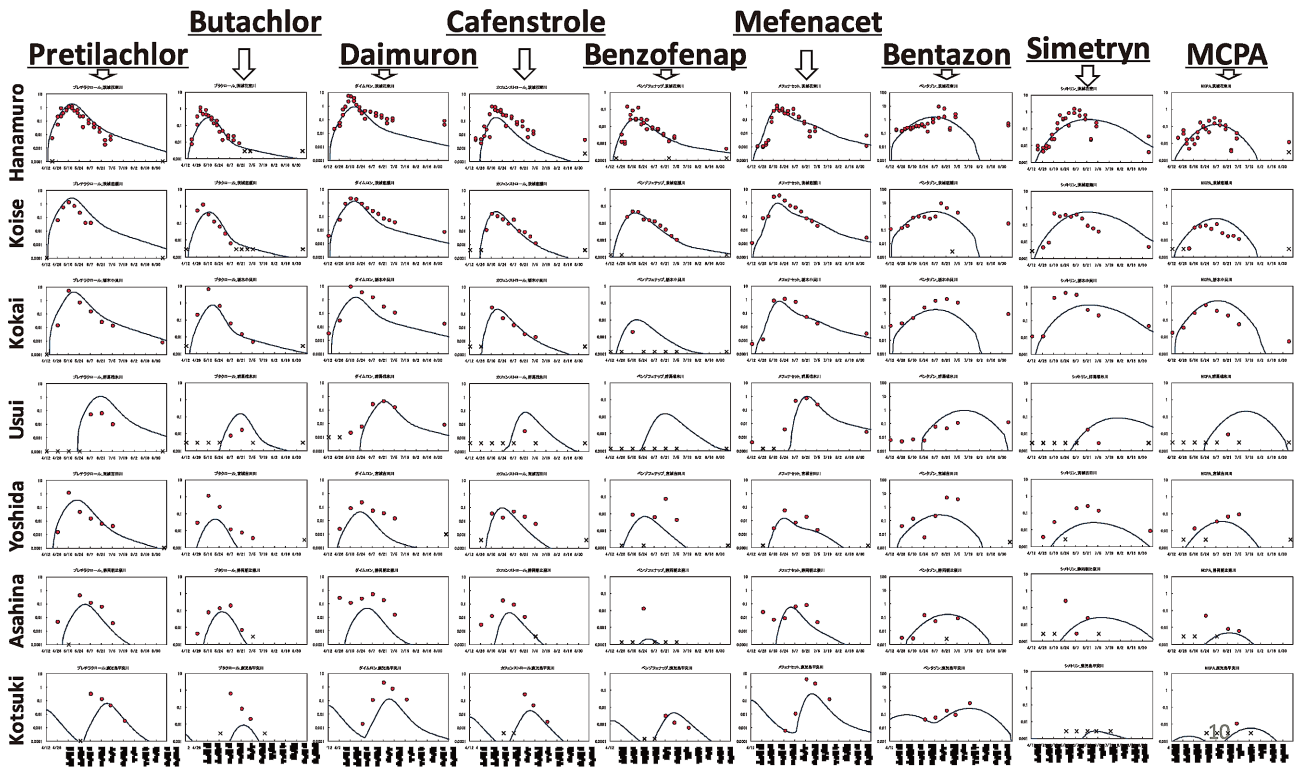


図 13 予測濃度（曲線）と実測濃度（赤丸）の比較図。縦軸：対数、横軸：月日（4月～9月）

組で定量データが得られた。除草剤の河川中濃度の経時変化について高い再現性を有していることを確認した。171組について実測最大濃度と予測最大濃度を比較した結果、113組（66%）において誤差が1オーダー以内であった（図 14）。碓氷川では比較的過大評価で、吉田川・朝比奈川では比較的過小評価であり、地点で傾向が異なることを明らかにした。また、最大濃度を記録した日（ピーク日）に関して、実測ピーク日と予測ピーク日を比較した結果、136組（80%）において誤差が2週間以内であった。一部の除草剤で、予測ほどピーク後の濃度の減少が実際には起きないことが明らかになった。その原因としては、水田以外に用いられた除草剤の影響や、推定排出量の減衰に関わる除草剤の物性値の影響などが考えられる。

日本全土を対象として、多くの水田除草剤に適用可能な排出推定手法を確立し、実際に数十種類の除草剤の環境中濃度変動を予測計算した。その結果、河川中農薬濃度を予測できることを示した。複数の地点と除草剤について網羅的に検証することで、地点由来または除草剤由来の誤差要因の解析が可能であり、実際に地点によって過小評価・過大評価の傾向がことなることを示した。これらの結果を利用することで、さらなるモデル予測の精度向上の可能性を示した。

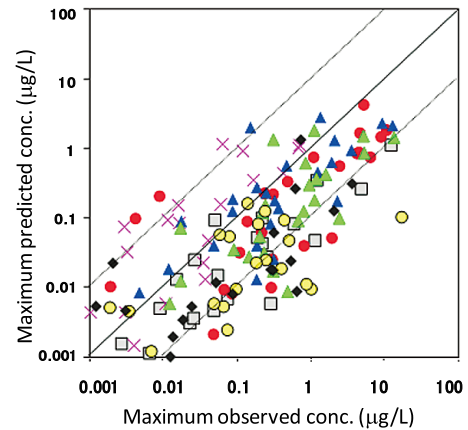


図 14 予測最大濃度と実測最大濃度の比較

また、G-CIEMSによる環境中濃度予測データを用いて、曝露濃度の時空間変動を考慮した生態リスクの予測手法を開発した。まず我々は空間の変動を考慮するために、G-CIEMSによる地点ごとの最大濃度予測データを用いて生態リスクマップの作成を行った。リスクマップの作成の際には指標としてハザード比（地点ごと最大濃度／セレンastram 72時間半数影響濃度）を用いた。リスクマップの作成により、除草剤プレチラクロールに関しては、比較的高いリスクが予測される地点（ハザード比が1を超える地点）が全体の3%程度あることを示すことができた。

次に、我々は曝露濃度の時間的な変動を考慮した生態リスク予測法の開発を行った。曝露の時間的変動下での生態影響を解析するための生態毒性学モデルとして DEB-tox モデルを採用した。プレチラクロールの環境中濃度変動については G-CIEMS からの予測データを用いた。DEB-tox モデルによるシミュレーションの結果、評価対象の地点では藻類の個体数（細胞数）が20日間程度にわたりほぼゼロに近づくことが予測された（図 15）。これは一時的ではあるがプレチラクロールにより生態系に強い影響が生じている可能性を示唆するものである。

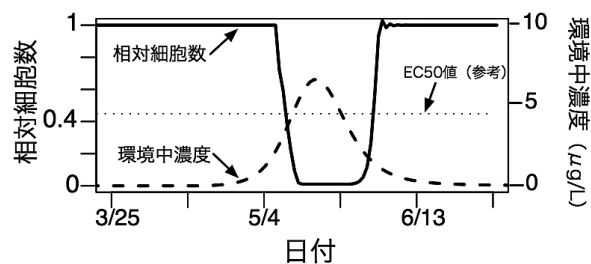


図 15 プレチラクロールの環境中濃度変化下での藻類の個体群動態（生存細胞数変化）の予測結果

Ⅲ. 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

1. 研究の目的と経緯

近年の研究により、従来考えられていたよりも、低い曝露濃度の化学物質が健康に影響を及ぼす可能性が指摘され、環境保健上の重要な課題となっている。アレルギー反応の惹起がその典型であるが、化学物質を曝露されるすべての人々がアレルギー症状を示すわけではなく、高い感受性をもつ一部の人々が影響を受けやすいと考えられている。感受性を高める人側の要因としては、化学物質への感受性を決定する遺伝的素因や、感受性の高い発達段階が存在すること、あるいは、呼吸器や循環器などに疾病を持つ人が曝露されることにより症状悪化に関わると考えられている。しかし、高感受性要因の解明は不十分である。

本研究では、3年目からの見直しで研究内容を高度化するとともに重点化を行い、以下の内容を目的とした。

課題1では、トルエン低濃度曝露に反応性の高い動物モデルを免疫過敏動物モデルとして、免疫臓器である脾臓、肺、及び免疫-神経軸に関与する領域における遺伝子発現の変動、および蛋白、細胞レベルでの検証をとおして感受性指標となる遺伝子マーカーについて検討する。

課題2では、発達期における感受性期を探るため化学物質による脳形成における神経細胞の新生と移動への影響、血管形成における障害のメカニズムおよび用量反応関係を解析する。また、発達期における中脳黒質ドーパミン合成、及び海馬における学習記憶に関わるグルタミン酸産生など神経伝達物質の情報経路に関して、化学物質曝露による臨界期を行動レベル、遺伝子レベルで明らかにし、成体動物における曝露の影響と比較し、影響の強弱を検証する。

課題3では、感染抵抗性にかかわる自然免疫系の形成過程において化学物質曝露に対して鋭敏に反応する時期の解明、及び感染関連因子と化学物質曝露との影響解析から複合的的感受性要因の相加・相乗効果について検討する。

2. 研究の成果

2.1 遺伝的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

低濃度曝露に対する免疫応答性の鋭敏な指標の開発、および検証を実施するため、トルエン曝露に対して応答性の高いC3H/HeNマウスで、蛋白、細胞、組織レベルでの影響について検討した。肺胞洗浄液(BALF)中にみられる炎症性細胞の浸潤では、総細胞数において50 ppm曝露群での上昇がみられたが、特定の炎症性細胞の増加はみられなかった。肺組織中のサイトカイン産生量をBio Plex サスペンションアレイシステムで測定すると、IL-4、IL-5の有意な増加が認められた。脾臓におけるリンパ球亜集団の違いをセルソーターで解析すると、トルエン曝露のみでは脾臓のリンパ球に変化はみられなかった。卵白アルブミンで感作したアレルギーモデルのマウスへの3週間トルエン曝露群でCD19陽性細胞の増加、及びCD4陽性細胞の低下が認められたが、6週間曝露ではリンパ球の亜集団に差はみられなかった。しかしながら、脾臓における転写因子の遺伝子発現について検索すると、アレルギー反応増強にかかわるGATA3遺伝子発現の有意な増強が認められた(図16)。全身反応の指標である血漿中の抗体価においては、トルエン曝露のみの群では3、6週間曝露とも対照群との間に差はみられなかったが、アレルギーモデルのマウスへのトルエン曝露では、50 ppm曝露で総IgG1抗体価の増加が認められた。遺伝子レベルのみならず、トルエン曝露による肺や脾臓における蛋白、細胞、組織レベルでの変動がC3H/HeNマウスで認められた。

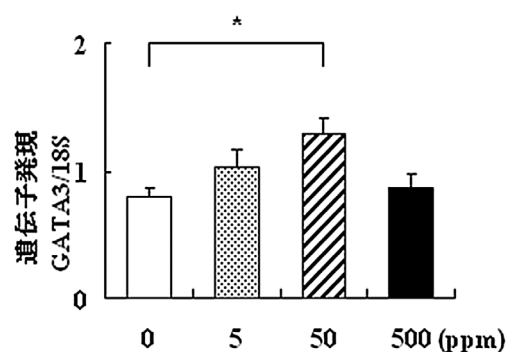


図16 脾臓におけるGATA3 mRNA発現

免疫過敏と病原体を感知する受容体TLR4との関連を解析するため、TLR4 ミュータントマウスである C3H/HeJ と、正常の C3H/HeN マウスへのトルエン曝露を行った。その結果、炎症の誘導に関与する TNF- α 遺伝子の発現抑制、炎症を抑える TGF- β や IL-10 遺伝子の発現増強が C3H/HeN マウスで見られた。一方、C3H/HeJ マウスでは、そのような炎症にかかわる遺伝子の変化はみられず、トルエン曝露により肺で誘導される炎症反応の制御に TLR4 遺伝子の関与が示唆された。次に、化学物質曝露による海馬での神経性炎症反応への TLR4 の関与を明らかにするために、C3H/HeJ と、C3H/HeN マウスへトルエン曝露を行い炎症性サイトカインの遺伝子発現を比較検討した。その結果、海馬における TNF- α の遺伝子発現では、C3H/HeN マウスにおいて有意な差はみられなかったが、C3H/HeJ の影響について肺における炎症反応を中心に解析したところ、アレルギーモデルマウスではトルエン曝露による抑制が認められた。また、炎症性ケモカインである CCL3 遺伝子の発現では、C3H/HeJ マウスでは差がみられなかったが、正常の C3H/HeN マウスではトルエン曝露による発現増強が認められた (図 17)。以上、トルエン曝露した C3H/HeN マウスの肺における免疫関連遺伝子の変動では、炎症抑制系の因子の活性化がみられたが、海馬における炎症関連遺伝子ではその増強が誘導され、TLR4 経路が組織、領域でのトルエン曝露に対する異なる影響に関与することが示唆された。また、トルエン曝露による海馬での遺伝子発現への影響評価においても、遺伝的背景とアレルギー感作刺激が影響の受けやすさに関わっていることが明らかとなった。

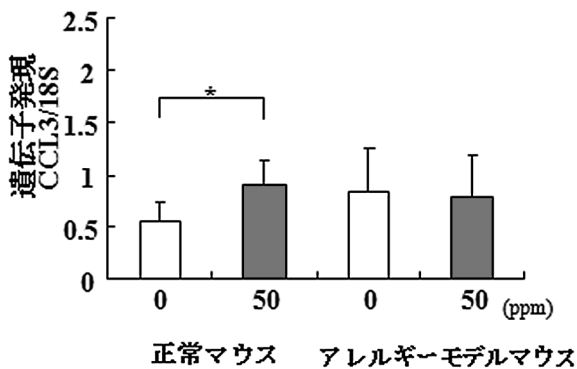


図 17 海馬における CCL3 mRNA 発現

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

胎児や小児の脳は発達途上であり、その過程において性分化する。脳の性分化とは、男女(雌雄)間で構造的あるいは機能的に異なる脳が形成されることであり、発達期の精巣から分泌されるテストステロンの作用が脳の男性(雄性)化に重要である。室内環境および作業環境における空気汚染物質の一つであるトルエンは成人男性や成熟雄ラットの血中テストステロン濃度を低下させることが報告されていた。我々は、脳の性分化に重要な胎生後期における胎仔ラットの血中テストステロン濃度に対するトルエン曝露の影響を検討し、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低下を報告した。そこで、脳の性分化の臨界期に相当する周生期にトルエンを曝露したラットの脳の性分化への影響を検証した。その結果、脳の性分化に及ぼす発達期トルエン曝露の影響には性差がみられ、その影響は成熟期に至っても顕在すると考えられた。

発達期の性的二型核(SDN-POA)では、成熟期の体積やニューロン数の性差とは反対のアポトーシス細胞数の性差が生じるため、アポトーシスが脳構造の性差形成に重要であると考えられている。そこで、胎生17日から出生6日にトルエンを曝露した生後7日目の雌雄仔ラットを用いて、SDN-POAのアポトーシスに対するトルエンの影響を検討した。その結果、50 ppmのトルエンを曝露した生後7日齢ラットのSDN-POAでは、雌雄ともに対照群に比べてより多くのアポトーシス細胞が存在していた。対照群およびトルエン曝露群において、SDN-POAにおけるアポトーシス細胞数の性差は確認された。このことから、トルエン曝露による雄個体のSDN-POAの体積減少の直接的な原因は、アポトーシス細胞数の増加にあると考えられた。しかし、雌個体では、トルエン曝露により成熟期でのSDN-POAの体積減少がみられなかったにもかかわらず、発達期でのアポトーシス細胞数の増加がみられており、体積とアポトーシス細胞数に及ぼすトルエンの曝露影響の因果関係についてさらに検討する必要があると考えた。ラットのSDN-POAを構成するニューロンは胎生後期に発生するが、これらのニューロンを5-プロモ-2'-デオキシウリジン(BrdU)で予め標識し、SDN-POAの体積やBrdU標識されたニューロンの数を計測し、SDN-POAの体積と

ニューロン数の関係性を調べた。その結果、雄ラットの SDN-POA の BrdU 標識ニューロン数は変化せず、その分布が広がることで体積が増加することが分かった。この結果から、トルエン曝露による SDN-POA のアポトーシス細胞数の増加が雄では SDN-POA のニューロン数の減少、ひいては体積の減少を引き起こすのだと考えられた。一方、新生仔雌ラットの SDN-POA の BrdU 標識ニューロン数は日が経つにつれ減少したが、その分布は変わらず、このため、SDN-POA の体積は変化しなかった。この結果から、トルエン曝露による新生仔期の SDN-POA のアポトーシス細胞数の増加は、雌では SDN-POA の体積減少につながらないことが推察された。以上のように、雌雄ともに曝露したトルエンによって発達期における SDN-POA のアポトーシス細胞死が誘導されるが、これによる後発影響の質には性差があると考えられた。加えて、トルエンを曝露した母ラットの SDN-POA にはアポトーシス細胞が観察されなかったことは、アポトーシス細胞死を誘導するトルエンの影響には時期特異性があり、未成熟な発達個体は成熟個体に比べてトルエン曝露に対する感受性がより高いことを示している (図 18)。

2.2.2 環境因子に起因する精神・神経疾患に関する研究

環境に起因する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てきている。環境に起因する化学物質の発達期中枢神経系への影響について動物実験の報告などもその根拠になっている。そこで、私たちは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、ラット胎生期、新生仔期、そして成熟期に大別した環境化学物質の影響評価を行ってきた。

これまでに、内分泌かく乱化学物質の多くのラット新生仔期影響を行動学的に解析した結果、多動性障害をきたすことを明らかにしてきている。具体的には、生後5日にビスフェノール A などの内分泌かく乱化学物質を経口曝露すると、ヒトの学童期に相当する4~5週齢で自発運動量が有意に亢進することが明らかになった。更に、病理組織学的解析の結果、ドーパミン神経系の発達障害であることが判明した。運動を司るドーパミン神経の発達が環境化学物質により障害され、結果として多動性障害をきたすものと考えられた。

続いて、本研究においては、ドーパミン神経毒として比較的作用機構が明らかになっている殺虫剤、ロテノン (3 mg/kg) を生後5日のラット新生仔に単回経口投与すると、8~11週齢で多動性障害を引き起こすことが初めて明らかになった。ロテノンはドーパミン神経

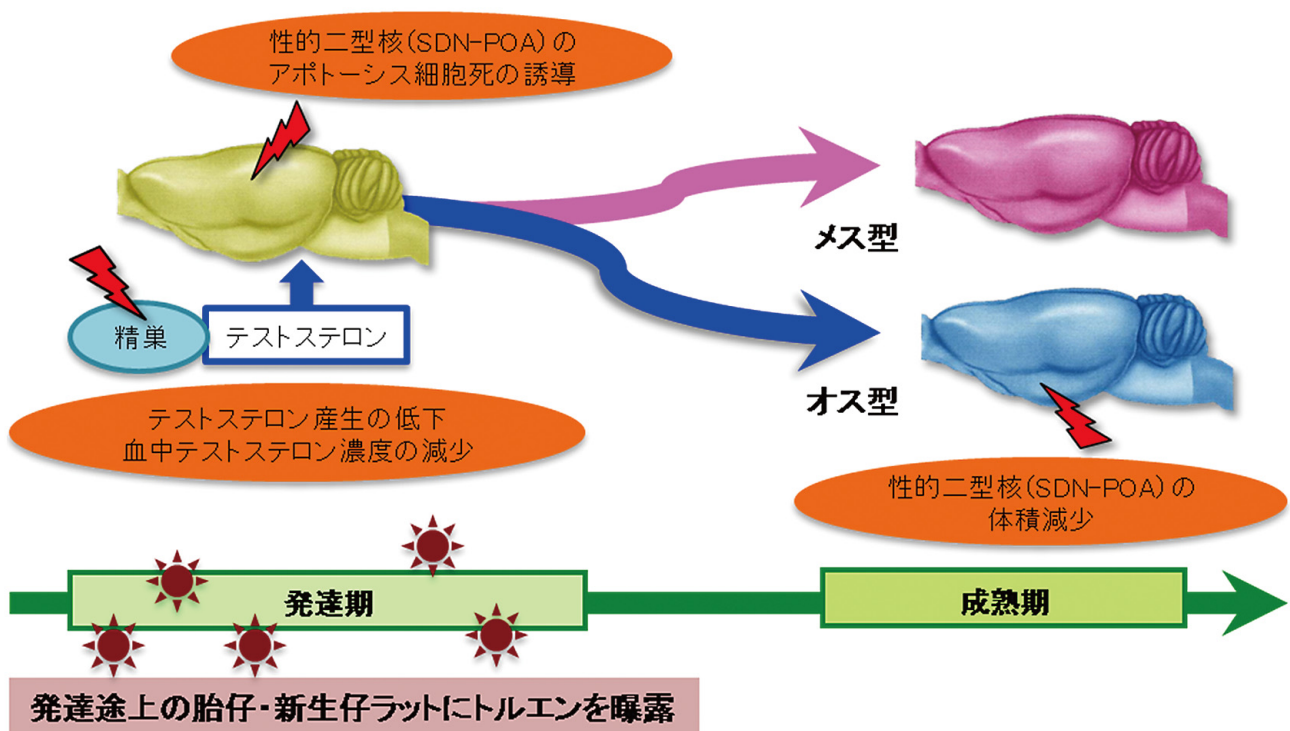


図 18 脳の性分化に対する発達期トルエン曝露の影響

毒として知られ、ドーパミン神経細胞を特異的に死滅することが明らかにされてきている。従って、これまで得られてきたラット多動性障害の原因の1つがドーパミン神経の発達障害であることがここでも裏付けられたことになる。更に、こうしたロテノンの効果に windows が存在するかどうかを調べるために、曝露時期を生後5日のほかに生後6日、14日、21日においてロテノンを曝露し影響を調べた。その結果、生後5日にロテノンを曝露すると、自発運動量は約30%亢進したが、生後6日、14日、21日におけるロテノンの曝露(3 mg/kg)は、統計学的に有意な影響は見られなかった(図19)。従って、ロテノンによるラット多動性障害には極めて狭い時間的 windows が存在することが明らかになった。次に、ロテノンによるラット多動性障害の分子機構を明らかにするために、DNA マイクロアレイ法を実施した。Affimetrix 社の GeneChip Rat Genome 230 Array を用いた。その結果、約31,000個のプローブセット中131個の遺伝子発現が有意に変動した。意義付けが困難な遺伝子発現変動も観察されたが、ドーパミン神経伝達経路を構成する分子群をサポートする分子群の変動が明らかになった。内分泌かく乱化学物質が、ドーパミン神経伝達経路を構成する分子群に直接影響する結果とは対照的である。

続いて、得られたマイクロアレイの結果を Gene Set

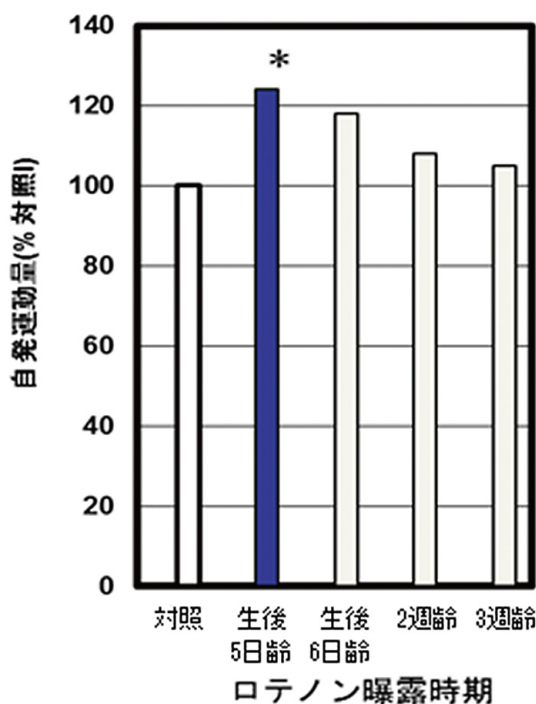


図19 農薬ロテノンによるラット多動性障害の windows 効果

Enrichment を用いたパスウェイ解析を行った。ロテノンによる多動性障害モデルでは TNF alpha や IL-6 を中心としたパスウェイが予想された。このことは、サイトカインネットワークが付随して活性化され、化学物質曝露による神経変性の可能性を示唆している。

また、ロテノンの成熟ラットへの影響を調べた。ロテノン(3 mg/kg/日)を成熟9週齢のラットに慢性曝露した。その結果、老人性神経変性疾患であるパーキンソン病にみられる寡動や歩行障害が観察された。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。DNA アレイ法を用いた遺伝子発現変動を解析した結果、多動性障害モデルラットのそれらとは異なることが明らかになった。

以上の本研究での結果は、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示している。

2.2.3 血管形成への影響

中枢神経系疾患と血管の発達の間には、密接な関連が有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、ステロイド剤を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、中枢神経系の発達が阻害されてしまうことが報告されている。ヒトのパーキンソン病は、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反応できないことが知られている。成長を続けている発達期の脳では血管も伸長や分岐を繰り返しているが、この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考えられている。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。

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であると考えた。そこで、本研究では、日本及び世界中で広く使用されており、動物実験などで、中枢影響が報告されているピレスロイド農薬であるペルメトリンを被験物質として選定し、血管形成・新生阻害作用のあることが知られているサリドマイド、フマギリンを陽性対

照として、胎仔期の血管形成とその臨界期について、さらに成熟後の自発・探索行動に対する影響を検討した。

最初の実験では、サリドマイド 150 mg/kg、フマジリン 25 mg/kg、及び、ペルメトリン 10 mg/kg の影響を調べるため、妊娠 10 日目 (GD10) の母親 ICR 系マウスにそれぞれ経口投与し、GD17 の胎仔に、粒型をそろえた墨汁を胎児の心房から循環させた。墨汁で染色された血管の走行を顕微鏡下で観察し、脳底に走行するウィリス輪のうち、右前脳動脈、左前脳動脈、及び前交通動脈の形態を調べた。いずれの化学物質においても、発生部位は違っているが異常な血管分枝の発生が認められた (図 20A)。次にペルメトリンについて、血管分枝の発生変動を指標に量反応関係を調べた。2、10、50、75 mg/kg ペルメトリンの用量で GD10 の母親 ICR 系マウスに経口投与し、GD17 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と分枝の数を測ったところ、用量依存的に、対照と比べ分枝の数が有意に増加しており、ペルメトリンについて再度、異常血管分枝の発生が確認できたものと考えられた。次に、血管形成に及ぼす化学物質の臨界期を決定するために、GD5、GD10 及び

GD15 のマウスにサリドマイド及び、ペルメトリンをそれぞれ、経口投与し、GD17 で解剖して、これまでと同様に、右前脳動脈、左前脳動脈、及び前交通動脈から発生する分枝の数を測定した。その結果、陽性対照のサリドマイド及び被験物質であるペルメトリンとも、GD5 雄において、最も高い頻度で、右前脳動脈、前交通動脈の異常分枝の発生が認められた。GD15 投与では、全く異常は、認められなかった。従って、GD5 が臨界期であることが示唆された (図 20B)。

GD5 及び GD10 でペルメトリン、サリドマイド及びフマジリンを投与された仔の成獣時 8 週齢における自発・探索行動を調べた。実験方法は、modified SHIRPA 法に従って、観察瓶及びオープンフィールドテストを実施した。GD5 の投与では、3 剤とも雄において、指標数値 (立ち上がり回数) の低下が認められた。GD10 の投与の場合でも同様の結果を得た。これらの結果より、ペルメトリンは、陽性対照剤と同様に、妊娠初期の影響が血管形成・新生に影響を及ぼすものと示唆され、成熟後の自発・探索行動にも影響を及ぼす可能性が示唆された。従って、血管と脳の形成の協調がペルメトリ

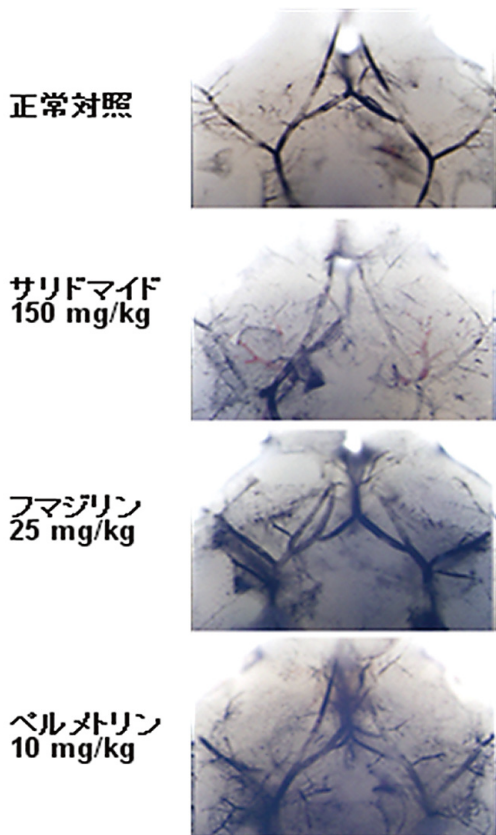


図 20A GD5 曝露による GD17 の胎仔期の脳底に走行するウィリス輪領域における右前脳動脈、左前脳動脈、及び前交通動脈に対する影響

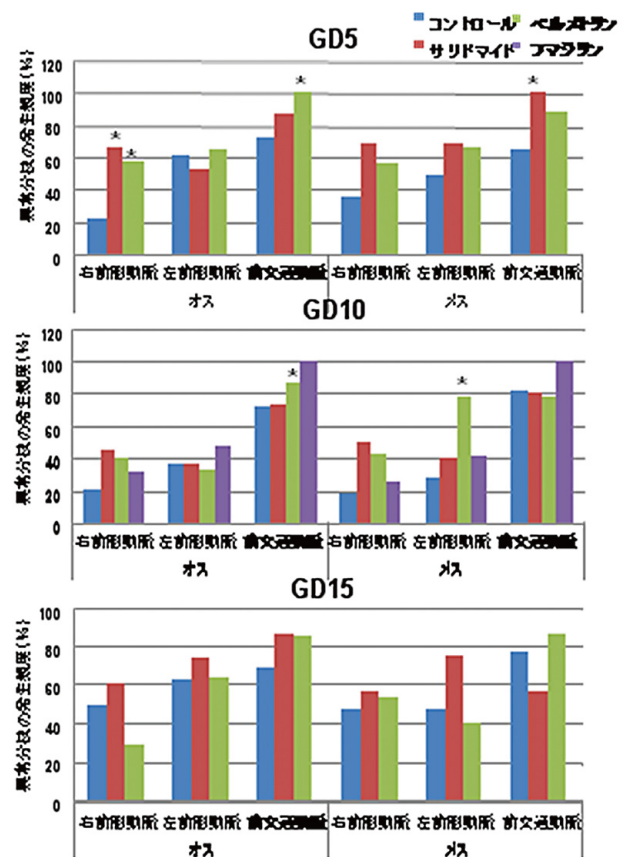


図 20B GD5、GD10 及び GD15 の曝露による脳底動脈の異常分枝発生頻度

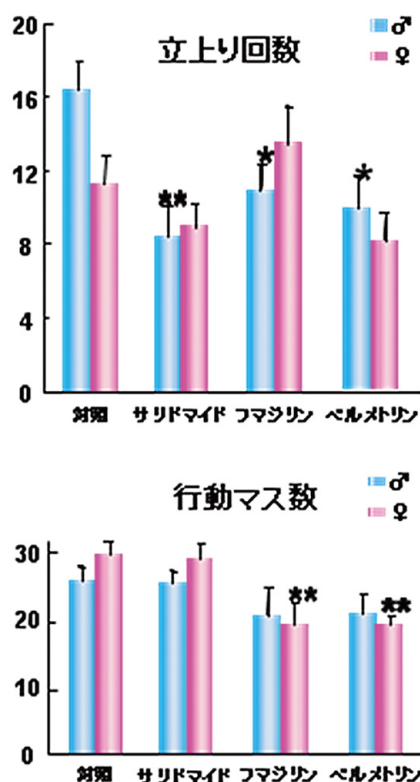


図 20C GD5 曝露による 8 週齢時の自発行動に及ぼす影響

により阻害されることが行動への影響に繋がるのではないかと考えられた (図 20C)。さらに、分子レベルでの変化を検出するために、GD5 母親マウスにペルメトリンを投与し、GD10、及び GD17 における胎仔脳の血管形成・新生及び神経発生などに関わる遺伝子の発現量をマイクロアレイ及びリアルタイム PCR で調べた。GD10 の時点では、*Cacna1f* (calcium channel, voltage-dependent, alpha 1F subunit) や *F830028O17Rik* (12 days embryo spinal ganglion cDNA) が対照に比べ増加し、*Myh3* (myosin, heavy polypeptide 3, skeletal muscle, embryonic) が低下した。さらに、GD17 では、血管新生に関与する遺伝子に関して、*Fgf1* (維芽細胞増殖因子) 及び *Tymp* (血小板由来血管内皮細胞増殖因子) の発現を抑制した。これらの遺伝子 mRNA の発現変動は、血管形成、脳皮質の形成に関与する遺伝子であり、ペルメトリンはそれらに影響することが示唆された (図 20D)。以上のことより、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。

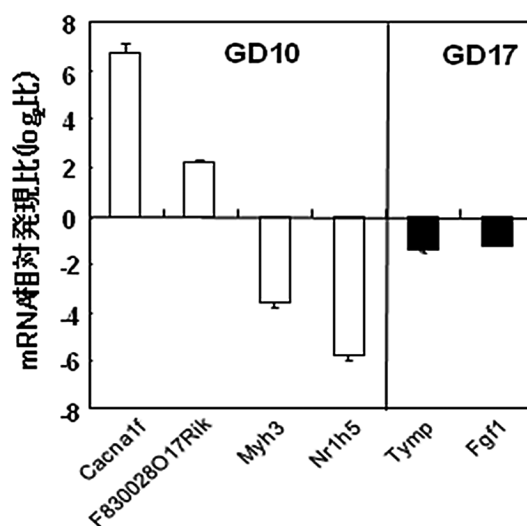


図 20D ペルメトリン 10mg/kg の GD5 曝露による GD10 及び GD17 における脳・血管形成に関与する遺伝子への影響

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

2.3.1 マウス発達期におけるトルエン曝露と感染関連因子の影響

環境化学物質と感染要因との複合的な影響を評価するため、自然免疫の成立過程をモデルとして検討し、化学物質曝露に鋭敏な時期や感染関連因子と化学物質曝露との影響の関連性の解析から、その感受性要因について検討することを目的とした。

低濃度トルエンをマウス胎仔期、新生仔期、乳仔期にそれぞれ 1 週間吸入曝露 (5 ppm, 50 ppm; 6h/日、5日/週) し、トルエン曝露時期の違いによる Th1-、Th2- 型免疫応答への影響について検討した。その結果その影響の程度は曝露時期や曝露濃度、免疫指標によって異なるが、胎仔期および新生仔期の曝露に比べて乳仔期曝露でその影響は顕著であった。そこで、このような曝露時期の違いによる差が真にトルエン曝露時の仔マウスの免疫系発達の違いに起因するのか、もしくは曝露終了から解剖までの回復期間の違いに起因するのか明らかにするため、マウス乳仔期でのトルエン吸入曝露 (50 ppm; 6h/日、5日間)、およびグラム陽性菌細胞壁成分ペプチドグリカン (PGN) との併用投与によるマウス成長後の免疫系への影響について検討した。その結果、マウス乳仔期時のトルエン吸入曝露は、3 週齢時において総 IgG1 および総 IgG2a 抗体の産生レベルに影響を及ぼし、PGN との併用はトルエンによって増加した総 IgG2a のレベルを低減させた。6 週齢時での肺および

脾臓ホモジネート上清中のサイトカイン産生レベルは低値であり、トルエンやPGN、又は併用による影響はみられなかった。しかしながら、6週齢時における抗体価の低下、CD3、CD4陽性細胞の比率低下は認められた。これらの結果は、マウスの発達期のトルエン曝露では、特異的に影響を受けやすい時期が存在し、また、マウスの成長後にもその影響が見られることを示している。

2.3.2 胎仔期、あるいは乳仔期曝露によるフタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) のアトピー性皮膚炎への影響評価

対象化学物質として、これまでの検討で、アトピー性皮膚炎の増悪影響が明らかとなっているフタル酸ジエチルヘキシル (DEHP) を用い、胎仔期、あるいは乳仔期曝露が仔のアトピー性皮膚炎に与える影響について検討した。DEHPは4用量設定し、胎仔期曝露実験に関しては、母獣に対して、妊娠0、7、14日目に、DEHPを腹腔内投与した。胎仔期曝露実験は、出産日より1、8、15日目に処置した。その後、仔マウスに対し、7週齢よりダニ抗原 (Dp) を計8回、右耳介腹側に皮内投与し、各投与の24時間後に皮膚炎症状、および耳介腫脹の測定を行い、経時的变化を評価した。その結果、乳仔期にDEHP曝露を受けた雄の仔マウスにおいて、有意な皮膚炎症状の増悪が観察された。加えて、炎症局所 (耳介組織) におけるタンパク発現変化を検討した結果、好酸球の遊走因子であるエオタキシンの発現が、Dp単独群に比較し有意に上昇した。一方、雌の仔マウスでは、

DEHP曝露による明確な影響は認められなかった。また、胎仔期曝露では、雌雄とも、DEHP曝露による有意な差はなかった。以上の結果から、母獣を介したDEHPへの曝露時期、あるいは性差によって、環境化学物質がアレルギー疾患へ及ぼす影響は異なる可能性が示唆された。

3. まとめ

トルエン曝露による免疫過敏、および神経-免疫過敏状態の解析では、影響を受けやすいマウス系統の選抜、疾患モデルによる遺伝子変動についてRT-PCRやDNAチップによる分析を行い、感受性遺伝子候補を検出し、感受性指標マーカーとしての提言に向けた研究を行っている。発達期要因では、脳・神経における領域において、脳形成、神経変性、血管形成の分野で臨界期の解明に近づきつつあり、そのメカニズム探索を行った。H21までの研究では、核内受容体を介した毒性発現の研究では、母乳を介したTCDDの出生直後マウスへの曝露が血中のビタミンDの恒常的な高濃度をもたらし、この高ビタミンD血症が骨芽細胞の活性抑制と骨の石灰化を阻害するというダイオキシンの骨毒性発現の本態を明らかにした。複合要因に関する研究では、環境化学物質とアレルギーとによるアレルギー・免疫疾患増悪影響とメカニズムを明確にし、自然免疫系の発達期毒性に関わる研究では、低濃度トルエンの乳仔期曝露で胎仔期や新生仔期の曝露に比べてT細胞分化に関わる転写因子への顕著な抑制影響を認め時期特異性について明らかにした。

IV. 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

1. 研究の目的と経緯

粒径が50nm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きた。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きた。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ついても調べた。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により、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した。

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研究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て実施した。

- (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てきた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きたほか、慢性吸入実験も実施した。

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を作製して吸入実験を実施したほか、マウスへの胸腔内投与実験も行った。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きた。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をすすめた。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た。

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。ディーゼルナノ粒子の吸入曝露、影響評価を目的としたナノ粒子棟曝露施設は、ディーゼルエンジンをエンジンダイナモメータに接続して運転し、排気を清浄空気中で二段階希釈したのちに動物曝露チャンバーに導いて吸入曝露実験を行う施設である。一次希釈された空気を、三本のラインにより取り込み、ライン毎に二次希釈を行

うことにより、希釈倍率に応じて三段階の濃度の曝露空気を作ることができる。エンジンの排気管を短くし、その直後に10倍程度の一次希釈を行い、チャンバーまでの滞留時間の短縮と濃度低下により、ナノ粒子の凝集成長、すなわち粒径の増大を極力抑える為の工夫がなされている。その施設においてナノ粒子を曝露する為の最適な運転・曝露条件を検討した。発生には長期規制対応の8L後処理無しのエンジンを用いた。このエンジン運転条件としては、無負荷の高回転域（エンジン回転数2000rpm、エンジントルク0Nm）でナノ粒子が発生しやすく、ガス濃度が極力抑えられるという条件を見いだした。高濃度チャンバーの希釈条件は凝集の進行が低濃度のチャンバーと同程度に押さえられることやSPM環境基準の質量濃度となるという理由から二次希釈倍率を4.5倍に設定した。中濃度、低濃度チャンバー（2006年以降は実施していない）は公比3倍で希釈した。2006年以降は、高濃度チャンバーと同じ希釈条件でULPAフィルターをチャンバー前に設置し、粒子のみを除去した高濃度除粒子チャンバーを設けた。清浄空気のみを流すコントロールチャンバーと共に、これらの条件で吸入曝露実験を行った。曝露実験は22時から3時の5時間、週5時間実施した。曝露期間中、曝露空気質（粒子質量濃度、個数濃度、粒径分布、無機ガス濃度）を毎回モニタリングして、曝露期間中安定した濃度となったことを確認した。一例として各チャンバーにおける曝露期間毎の個数濃度平均値と標準偏差を図21に示す。

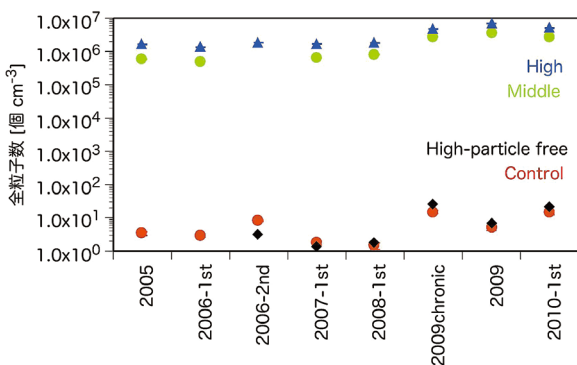


図21 各濃度チャンバー内の個数濃度平均値と標準偏差

また、粒子中化学組成も月1回の頻度で測定して得た。エンジン、希釈トンネルの稼働状況、各チャンバー内環境を最善の状態に保った。軽油は粘度等の性状の変化を避けるために、春秋にまとめて購入し、エンジンオイルもロットを合わせて準備した。軽油、エンジンオイルの

性状も安定していることを分析により確認した。

高濃度チャンバー内の全曝露期間（2005-2011年）の平均CO、NO_x濃度は、それぞれ3.1ppm、1.5ppmであり、NO₂/NO_xは0.33であった。また粒子の平均質量濃度は140μg m⁻³、個数濃度3×10⁶個 cm⁻³、個数モード径30nm、幾何標準偏差1.6であった。全炭素が質量濃度の80%を占め、そのうち有機炭素が60%を占めていた。水溶性成分、金属成分は合わせて質量濃度の3-10%を占めていた。水溶性成分の主成分はNO₃⁻、NH₄⁺であり、これらの種で水溶性成分の96%を占めていた。これらはそれぞれ排気由来と動物由来と考えられ、チャンバー内で硝酸アンモニウムとして存在していたと考えられる。大気中で多く見られるSO₄²⁻はほとんど検出されなかった。主に検出された元素はZn、Ca、Pであり、これらの成分で総元素量の56%を占めていた。これらの成分はエンジンオイルの添加剤にも含まれていることからエンジンオイル由来と考えられる。中濃度チャンバー、低濃度チャンバーは高濃度チャンバーの濃度を3倍希釈したものであるが、希釈倍率が大きくなるにつれ、粒子中の有機炭素の質量濃度に占める割合が減少していた。除粒子チャンバーはコントロールチャンバーと同程度に低い個数濃度、質量濃度となり、一方で無機ガス濃度は高濃度チャンバーに対して3%以内の相違であった。ディーゼル排気に含まれる粒子の大部分はPM_{2.5}となるために、PM_{2.5}としての日平均値を算出した。コントロールチャンバーの濃度と一日の曝露時間を考慮して、中濃度チャンバー、高濃度チャンバーにおける日平均値を算出すると、それぞれ7.2μg m⁻³、27.8μg m⁻³となった。PM_{2.5}の環境基準の短期基準の指針値が日平均値で35μg m⁻³以下であることからその値を若干下回る濃度であった。粒子、エンジンオイルともに検出されたZnを指標としてエンジンオイルの粒子中への寄与を算出した。使用中のエンジンオイルの化学組成と粒子中に含まれるエンジンオイルの化学組成が同じであるという前提で、粒子質量に占めるエンジンオイルの寄与は34.7%と推定され、残りは未燃の軽油そのものや、その他燃焼生成物であると考えられる。

希釈トンネルにおけるn-アルカン濃度のガス相(C₃-14)、半揮発性成分(C₁₅-24)、粒子相(C₁₅-33)の総和は、それぞれ592、552、320μg m⁻³であった。ガス相ではホルムアルデヒド、アセトアルデヒドがそれぞれC₃-14の総和と匹敵する濃度であり、ベンゼン、ト

ルエン、o-、m-、p-キシレンの総和はC3-14の総和よりも低かった。半揮発性成分、粒子相の有機物ではn-アルカンが多くを占め、半揮発性成分ではC15-16、粒子相ではC20が最も多く含まれていた。PAH類に関しては、ガス相の2-methylnaphthaleneが最も多く13000 ng m⁻³であった。毒性が報告されている1,4-benzoquinone、2-methyl-1,4-naphthoquinoneはガス相の方が高く、210、560 ng m⁻³であった。Pyreneは粒子相の方が高く320 ng m⁻³であった。粒子相では9,10-phenanthrenequinoneが180 ng m⁻³、benzo[a]pyrene、benzo[b,j,k]fluorantheneは両方とも10 ng m⁻³以下であった。半揮発性成分は希釈条件によってガス相、粒子相の存在割合が変化することやラジカル、オゾン、NOx等の反応性の高い成分との反応により酸化して粒子化する前駆物質となりうることから、粒子の影響評価をする上で半揮発性成分の挙動も無視できないと考えられる。

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11.22nm、濃度は1.25 μg/m³、数濃度は1.23 × (10)⁶ 個/cm³の金粒子を2時間曝露した。ICP-MSでの測定により血中を含めて肝臓や腎臓などの肺以外の臓器で金が検出された。直径20nmと200nmの金コロイド粒子を気管内投与した後、透過型電子顕微鏡にて細胞内の微細構造への粒子の局在を観察した結果、200nmの微小粒子はファゴサイトーシスで肺胞上皮細胞に貪食されるが、基底膜を通過することなく細胞下に蓄積した。一方、20nm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上皮細胞に取り込まれた後、一部は肺胞壁を通過して血管に移行することが明らかになった(図22)。

この肺に沈着した不溶性ナノ粒子の肺胞壁を通過と微小粒子の挙動は、in vitroの肺胞壁培養系においても確認された。同様に、直径20nmと200nmの蛍光ポリスチレン粒子を気管内投与した後、蛍光顕微鏡にて体内の粒子の局在を観察した結果、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心臓や肝臓などの肺以外の臓器に体内移行することが明らかになった(図23)。ナノ粒子は細胞のエンドサイトー

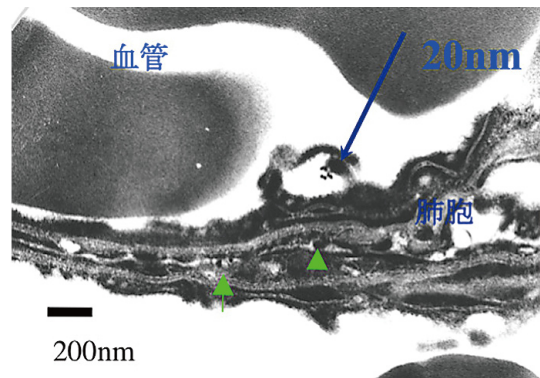


図22 マウス肺に気管内投与した20nmの金コロイド粒子の血管内への移行



図23 マウス肺に気管内投与した20nmの蛍光ポリスチレン粒子の血管内への移行

シス等の物質輸送機構を介して肺胞壁を通過して直接血管に移行する場合と肺胞マクロファージの移行に依存する場合がありますと考えられる。

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、20~30nm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らかにした。

また、アイドリング状態で発生したディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子を多く含む排気約100 μg/m³ (高濃度H2)、30 μg/m³ (低濃度H1)、高濃度除粒子(H3)および清浄空気(C)を18ヶ月曝露したマウス嗅球と大脳における遺伝子発現変化を検討した結果、芳香族炭化水素曝露マーカーとなる薬物代謝酵素であるCyp1a1遺伝子の発現変化から、排気中に含まれる芳香族炭化水素が鼻の嗅上皮中の嗅神経を介して嗅球に直接輸送され

る可能性があることが明らかになった。

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的ストレス評価

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 系雌性 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から、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、肺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。

アイドリング状態で発生したディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子を多く含む排気約 $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (高濃度 H2)、 $30 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (低濃度 H1)、高濃度除粒子 (H3) および清浄空気 (C) を 18 ヶ月曝露したマウス肺や心臓における遺伝子発現変化の検討の結果、酸化ストレスによって誘導されるヘムオキシゲナーゼ 1 に変化はなかった。以上の結果から、環境ナノ粒子吸入曝露では酸化ストレスの誘導は弱いことが明らかになった。

(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) $20 \mu\text{g}$ 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 $20 \mu\text{g}$ 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 $40 \mu\text{g}$ 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。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 (図 24)。

	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 24 デーゼル排気由来ナノ粒子 4 週間曝露の結果のまとめ

(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に比較し、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、細菌毒素単独投与に比較して、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つとして、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がなかった。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、中濃度及び高濃度のナノ粒子曝露群 (図25) においては、統計的有意差をもってこれらが増悪した。以上より、ディーゼルエンジン由来ナノ粒子曝露は、感染性肺傷害を増悪する可能性が示唆された。

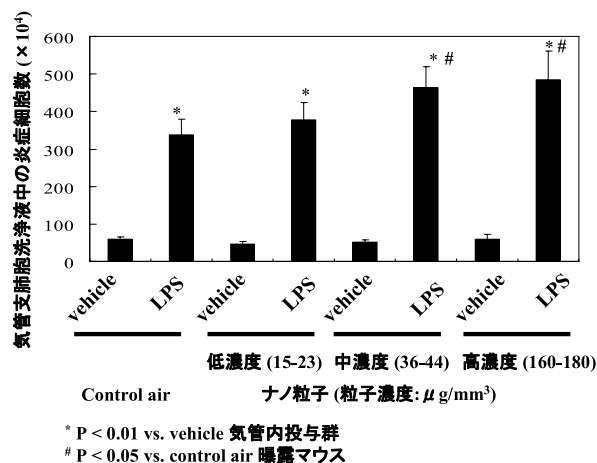


図25 ナノ粒子曝露による感染性肺炎症への影響

(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 (dDEP-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週令のF344ラットを1群8匹として、対照チャンバー、低濃度チャンバー (10 μg/m³)、中濃度チャンバー (30 μg/m³)、高濃度チャンバー (100 μg/m³) 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26に示したように心室性期外収縮 (VP) であった。この図26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。

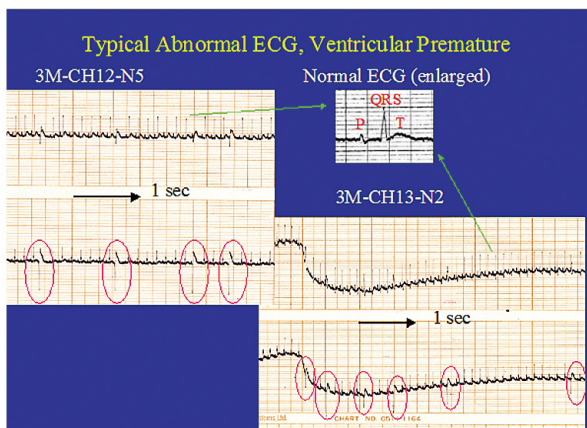


図26 高濃度 (100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、右下)、中濃度 (30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、左上) の3ヶ月曝露で観察された典型的な異常心電図 (心室性期外収縮)。

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、それともガス体が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と全く同じとし、異常心電図が比較可能な状態である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。しかし、除粒子群で高い傾向を示したものの、対照群と有意差はなかった。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。ここで言うガス状成分は、低温度で揮発する化学物質もふくまれるため、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。

(e) 環境ナノ粒子慢性吸入曝露による肺の発がんへの影響に関する研究

ディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子の長期曝露による肺腫瘍発生への影響の有無を検討することを目的

として、肺腺腫高発現系統であるA/Jマウスを用いて18ヶ月慢性曝露を行い、肺腫瘍の腫瘍型の検討、酸化的DNA損傷測定、肺非腫瘍組織の病理組織学的検討等の解析を行った。ディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子を18ヶ月曝露したA/Jマウスにおいては、清浄空気曝露群においても30%強の個体において肺腫瘍の発生がみられ、肺腫瘍発生個体数は低濃度曝露群 (30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) では清浄空気曝露群とほぼ同程度であり、高濃度曝露群 (100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) で有意に多い50%以上で、高濃度除粒子曝露群では高濃度曝露群より少なかった (図27)。肺腫瘍組織の病理組織形態学的検索の結果、腫瘍は乳頭型か混合型を示すが未分化な細胞を含み明瞭な細胞異型と圧迫性増殖・転移を示す肺腺がんが多かった。ディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子曝露による肺腫瘍以外の肺組織変化は、肺気腫や炎症は清浄空気曝露群と比較して低濃度・高濃度・高濃度除粒子曝露群において多い傾向にあり、細胞増殖は清浄空気曝露群で多い傾向に、胸膜肥厚は高濃度除粒子曝露群において多い傾向にあった。以上の結果から、肺腺腫高発現系統マウスであるA/Jマウスにおいて、ディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子高濃度曝露群で増加する傾向が示された。

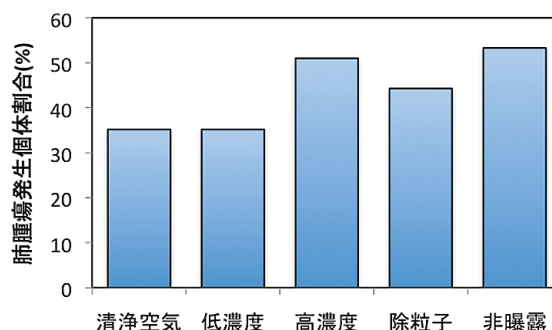


図27 ディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子曝露による肺腫瘍発生個体の割合

(f) 環境ナノ粒子慢性吸入曝露による循環器系・薬物代謝系への影響に関する研究

ディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子長期曝露による循環器系と肝臓への影響の有無を検討することを目的として、ディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子を18ヶ月曝露した動物の心臓、肺組織、肝臓について遺伝子解析と血中の血圧制御関連因子の測定、病理組織学的検討を行った。循環器疾患関連遺伝子の発現解析では、心臓での心房性ナトリウム利尿ペプチドの発現が清浄空気曝露群に比べて低濃度曝露群 (30 $\mu\text{g}/\text{m}^3$)、高濃度曝露群 (100

$\mu\text{g}/\text{m}^3$)、高濃度除粒子曝露群で発現が高い傾向にあり、高濃度曝露群で有意に2倍以上高かったことから、高濃度曝露群で心臓における負荷が増加している事が示唆された。

(g) ディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子成分曝露による培養細胞への影響に関する研究

ディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子の動物曝露では、曝露チャンバー内の一酸化炭素 (CO)、一酸化窒素 (NO) や二酸化窒素 (NO₂) などの毒性や生物活性を示すガス成分の濃度は一般沿道大気中に比べてかなり高濃度である。そこで、1) ディーゼルエンジン由来排気的环境ナノ粒子のみを曝露するために、除ガスの装置の検討と流量が少なくすむ細胞曝露装置に導入するための曝露空気の調整の条件検討を行うこと。2) 気液界面曝露法により、本来の存在状況に近い状態の肺上皮細胞にディーゼルエンジン排気中の環境ナノ粒子成分とガス成分を分離してそれぞれ直接曝露することにより毒性比較を行うこと。3) 肺を構成する細胞の感受性を比較すること、を目的として培養細胞を用いた *in vitro* での影響検討をおこなった。

除ガス装置の条件検討を行った結果、ガスの交換効率は90%以上となった。除ガス効率が最も良く、粒子の除去効率が最も下がるシーブ流量を 10 Lmin^{-1} として使用し、サンプル流量は 1 Lmin^{-1} としたことで、ディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子のみを曝露することが可能となった。

細胞曝露は、希釈トンネルからディーゼルエンジン由来排ガスをそのまま導入する場合 (全排気)、除ガス装置 (除ガス)、あるいは HEPA フィルターを経由させる場合 (除粒子)、フィルター空気に曝露する場合 (清浄空気) の4種類の曝露をおこなった。カルテックス細胞曝露装置を用いて、ディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子成分をラット肺胞上皮細胞に2時間気液界面曝露した。酸化ストレス応答遺伝子ヘムオキシゲナーゼ *Hmox-1* 発現量で影響を比較した。細胞生存率に変化がない濃度において、*Hmox-1* 遺伝子発現は除粒子曝露と除ガス曝露で有意な同程度の発現増加があり、全排気曝露ではさらに顕著に増加した (図 28)。一方、PAH 応答薬物代謝遺伝子 *Cyp1a1* の発現量は増加が認められなかった。ディーゼルエンジン由来排ガス中の環境ナノ粒子とガス成分はそれぞれに細胞に酸化ストレスを与える

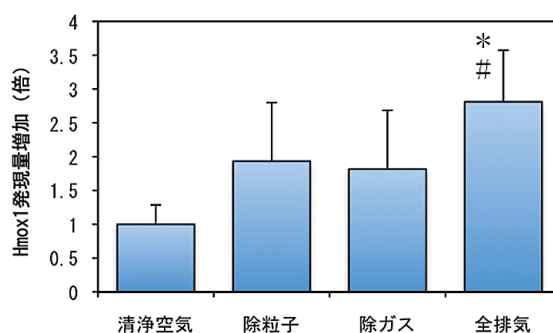


図 28 ディーゼルエンジン由来排ガス成分の細胞への気液界面曝露によるヘムオキシゲナーゼ *Hmox-1* 発現量の比較

ことが明らかになった。

また、ナノ粒子 $5.0 \mu\text{g}/\text{ml}$ の溶液曝露で誘導された *Hmox-1* 発現は、線維芽細胞、中皮細胞、大動脈平滑筋細胞、肺胞上皮細胞の順で大きく、*Cyp1a1* 発現は大動脈平滑筋細胞、線維芽細胞、肺胞上皮細胞、中皮細胞の順で大きかったことから、上皮細胞より線維芽細胞や平滑筋細胞でナノ粒子成分への反応性が高いことが明らかになった。さらに、ディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子と旧型ディーゼルエンジン由来粒子の溶液曝露では、ナノ粒子曝露による *Hmox-1* 発現は旧型ディーゼルエンジン由来粒子に比べてごく低かったが、*Cyp1a1* 発現は同程度であった。以上の結果から、ディーゼルエンジン由来環境ナノ粒子の曝露はガス成分と同程度の酸化ストレス誘導能を持つことが明らかになった。

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)

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、多層カーボンナノチューブ (MWCNT) の腹腔内投与、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。マウスに腹腔内投与、胸腔内投与あるいは気管内投与した生物活性の低い界面活性剤である Pluronic F68 に分散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、胸腔内投与後 15 ヶ月の観察では、クロシドライトより低濃度 ($2 \mu\text{g}$) 投与で生存率が低かった。組織学的観察では 15 ヶ月生存動物には中皮腫の発生はなかったが、臓側胸膜に肺の拡張を妨げるような顕著な肥厚が見られ、一部には肺腫

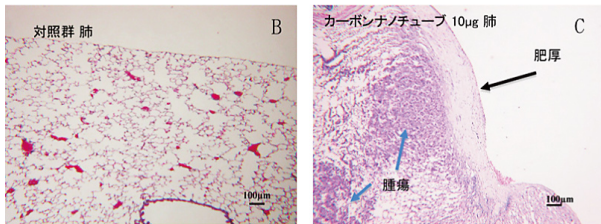
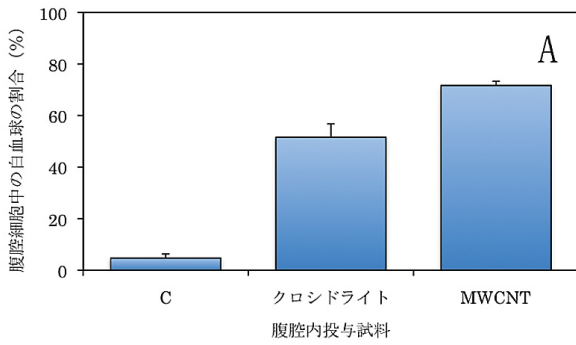


図 29 多層カーボンナノチューブ (MWCNT) またはアスベスト (クロシドライト) 10 μg / 頭の投与実験。(A) 腹腔内投与投与 24 時間後の腹腔内浸潤細胞中の白血球の割合、(B) 胸腔内投与 15 ヶ月後のコントロール動物肺の組織像、(C) カーボンナノチューブ胸腔内投与 15 ヶ月後の動物肺の組織像。

瘍の発生が観察された (図 29)。以上の結果から、分散した長さの長いカーボンナノチューブを吸入した場合、クロシドライトより健康影響が大きいことが、危惧された。繊維長と毒性との関係はさらに研究を進めるべきであると考えられる。

そこで、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を開発した (図 30)。工業ナノ材料であるカーボンナノチューブは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 の単独の繊維状粒子を含む粒子を飛散させることができた。空気力学径 260–380 nm において、繊維径が 80 nm、繊維長が 3.7 μm の繊維状粒子が多く観察された。濃度が 1.2 mg/m^3 、供給量が 30 L/min の場合に、二時間の発生試験を繰り返し、安定性、再現性ともに良く、鼻部曝露実験が実施できることを確認した。この曝露装置では比較的長さの短い 1–2 μm の長さのカーボンナノチューブが曝露することが可能となった。重量濃度 1.0 mg/m^3 で 2 時間の短期曝露を行い 24 時間後の影響を解析した結果、肺胞マクロファージに CNT が取り込まれているのが観察されたが、炎症の指標である肺への白血球の浸潤はわずかであった。肺において、酸化ス

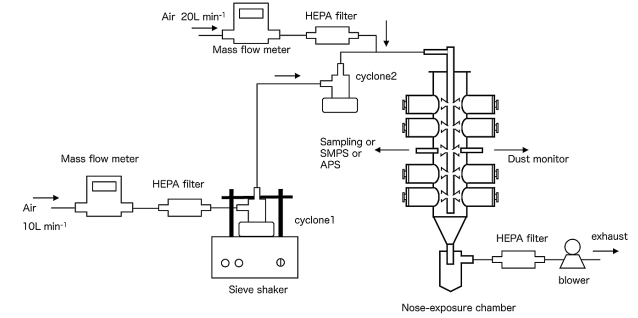


図 30 多層カーボンナノチューブの吸入曝露装置模式図

トレスの指標タンパクであるヘムオキシゲナーゼ遺伝子の発現増加が認められたが、肺の組織学的な変化は観察されなかった。以上の結果から、カーボンナノチューブ吸入曝露による健康影響については、発がん影響も含めて長期の影響検討を続ける必要があると考えられる。

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 F68 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。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とから、電荷のないナノ粒子は凝集しやすいと考えられる。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 マイクロアレーの結果では、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 毒性試験として肺や中皮の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。また、発がんに結びつく可能性のあるDNAの酸化的損傷マーカーとしてアスベストを曝露した中皮における8-OHdG形成の測定を行った結果、アスベストのなかではアモサイトがもっともDNAの酸化的損傷をおこすことが明らかになった。それを受けて *in vitro* 毒性試験をおこなった結果、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(250℃)、400、600、800℃クロシドライト熱処理物100μgを腹腔内投与あるいは気管内投与した後、その影響を比較して、毒性評価法の検討をおこなった。結果は、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℃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。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-1βと monocyto chemotactic protein-1が増加することが明らかになった。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℃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31)。

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すこと、*in vivo* 短期毒性試験法としては腹腔内投与がより鋭敏であること、一方で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。

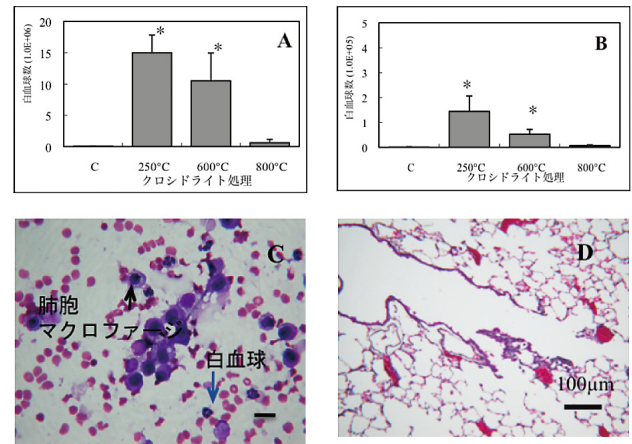


図31 熱処理クロシドライト100μgをマウスに(A)腹腔内投与(B)気管内投与し24時間後の浸潤白血球数の変化と(C)24時間後の腹腔洗浄液細胞像、(D)4週間後の肺組織像

V. 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

1. 研究の目的と経緯

人間の社会、経済そして環境の持続可能性は、地球上の自然生態系とその恵みである生態系サービスに大きく依存している。しかし、特に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、地球上の生物多様性と生態系サービスは著しく低下している(国連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。さらに、生物多様性をいかに評価するかという課題もある。これらの評価尺度については、複数の考え方があり、人間社会の価値観にも左右される。

本プロジェクトは、生物多様性の損失、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ことを目的に、以下に述べる3つの課題を設けて実施した。課題1では、東京湾(課題1-1)と兵庫県ため池地域などの淡水生態系(課題1-2)をモデル地域として、具体的な生態影響評価や評価手法の開発を実施した。課題2では、悪影響が懸念される侵入種と法的規制のかからない微小な生物に対する生態リスク評価を実施した。課題3では、生態系機能の評価についての理論モデルの開発を行い、野外フィールド調査や実験で得られた知見を用いた数理生態学的手法による生態影響評価を実施するとともに、実験による理論モデルの検証を試みた。

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り、元来、生物生産が豊かな浅海域であった。しかしながら、特に高度経済成長期以降、埋め立てによる藻場・干潟の減少、生活排水等に由来する栄養塩の流入負荷増加に伴う富栄養化の進行、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が顕著となった。これに伴い漁獲量も減少し、近年も低水準のままである。東京湾に生息する魚介類は、こうした物理・化学的因子の影響、生物の種間関係に加え、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～2010年まで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(シャコ、マコガレイ及びハタタテヌメリ等)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、フィールド調査・解析、化学分析及び室内実験を通じて進めてきた。本稿では、これまでに得られた成果の概略を報告する。

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～2009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(東京湾20定点調査)の結果、1)1980年代末～1990年代初めに複数の種が同調的に激減、2)それらの種は現在まで低水準が続き、回復せず、3)板鯉類(サメ・エイ類)とスズキなどの大型魚類が増加、との3つの特徴が見出された(図32-1)。1977～2009年の重量CPUEに基づくクラスター解析の結果、調査期間は1977-78年、1979-86年、1987-88年、1989-95年、2003-05年及び2006-09年の6期に区分された。2000年代はそれ以

東京湾20定点調査における 漁獲量(個体数・重量)および種数の経年変化

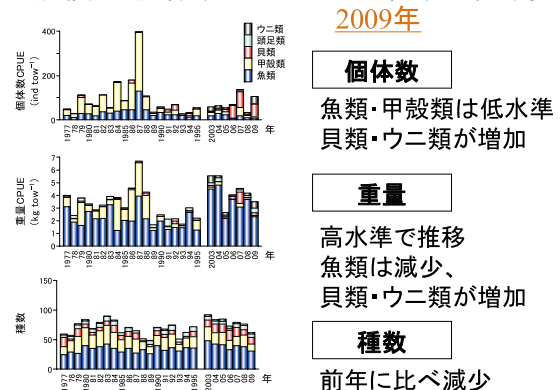


図32-1 東京湾20定点調査における一曳網当りの個体数及び重量(それぞれ、個体数CPUE及び重量CPUE)と種数の経年変化 1977年～1995年(東京大学農学部水産資源学研究室)、2003年～2009年(国立環境研究所)

前と比べて底棲魚介類相に変化が認められたが、2000年代の前期と後期においても生物相が変化した可能性がある。種別に見ると、2000年代に入って高水準を示していた大型魚類にやや低減の兆しが見られ、その他の魚類も概ね低水準であった。また、2005年11月から漁業者による自主禁漁が続いているシャコが依然低水準のままで回復せず、甲殻類は全般にきわめて低水準であった。貝類はムラサキガイが、また頭足類ではコウイカが高水準であったが、他種は低水準であった。

2010年には、さらに顕著な変化が見られた。すなわち、個体数 CPUE（一曳網当りの個体数）と重量 CPUE（一曳網当りの重量）が共に顕著に増加し、特に重量 CPUE はこれまで30余年に及ぶ調査期間中で最大値を記録した。しかしながら、その内訳を見ると、個体数 CPUE も重量 CPUE も、主としてコベルトフネガイという二枚貝が激増したことによるものである。またサンショウウニ類も、個体数 CPUE 及び重量 CPUE のいずれにおいても高水準であった。一方、個体数 CPUE では魚類と甲殻類が低水準のままであり、重量 CPUE では魚類が増加したが甲殻類が減少した。

2.1.2 東京湾のシャコの初期生活史に及ぼす貧酸素水塊の影響

東京湾における夏季（8月）の底棲魚介類群集の空間分布と水質・底質項目に関して、生物の空間分布に影響する環境因子について BIO-ENV 解析¹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、また、LINKTREE 解析²により、生物が存在する底層酸素濃度の閾値を推定した。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、底層水の DO 濃度、懸濁態有機炭素濃度（POC）、そして底質中の全硫化物濃度（TS）と全有機炭素濃度（TOC）、が抽出された。LINKTREE 解析の結果、無生物域が形成される湾北部と比較的豊かな生物相が維持される湾南部を区分する環境因子の閾値は、底層 DO 濃度が 1.7 ml/L、TOC が 20.3 mg/g と推定された。また、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に着目してフィールド調査を行い解析した結果、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（図 32-2 及び図 32-3）。

これらの知見を受け、東京湾のシャコに関して、これまでに得られたさまざまなフィールド調査の結果と既往文献情報を用いて、貧酸素水塊が東京湾のシャコの初期生活史に及ぼす影響についてコンピュータシミュレーションを行った。観測データに基づいて、2007年7月～9月の東京湾の表層と底層における流れ（湾内流）と貧酸素水塊の発達・推移を再現し、そこにシャコ幼生の移動・拡散過程を合わせて示すことにより、湾南部の産卵場で孵化した後のシャコ幼生が湾内を移動し湾北東部に着底するまでの間にどの程度貧酸素水塊に遭遇し曝露されるかをシミュレーションした。その結果、7月下旬～9月上旬に孵化して移動・拡散を始めた場合、DO < 1.1 ml/L の貧酸素水塊にシャコ幼生が遭遇する延べ日数は 5～11 日、DO < 1.7 ml/L の貧酸素水塊に遭遇する延べ日数は 10～19 日となった（図 32-4）。

一方、シャコ幼生の貧酸素耐性に関する知見がないため、ガザミ幼生及び稚ガニの貧酸素耐性データを示すと、

産卵量、幼生・稚シャコ密度の経月変化

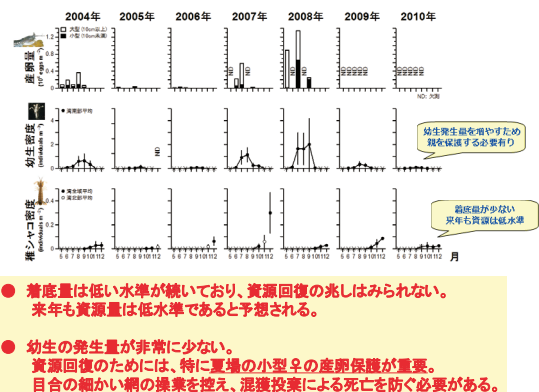


図 32-2 東京湾におけるシャコの産卵量、幼生密度及び稚シャコ密度の経月変化

稚シャコと貧酸素水塊の空間分布

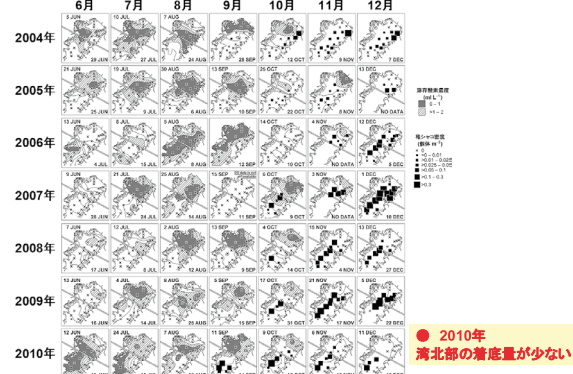
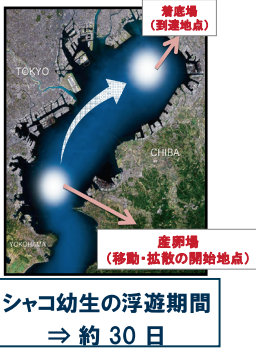


図 32-3 東京湾における稚シャコと貧酸素水塊の空間分布

移動・拡散するシャコ幼生が
貧酸素水塊に曝露される
期間のシミュレーション



幼生と貧酸素水塊との
遭遇回数(延べ日数)

孵化後の 移動開始時期	DO < 1.1ml/L	DO < 1.7ml/L
2007年7月下旬	8日	15日
2007年8月上旬	11日	19日
2007年8月下旬	8日	13日
2007年9月上旬	5日	10日

ガザミ幼生及び稚ガニの72時間後の斃死率(%)*

	DO (ml/L)	
	1.13	1.95
ゾエア	100%	87%
メガロパ	85%	35%
稚ガニ	45%	15%

* データ出典: 姜ほか(1993)

図 32-4 貧酸素水塊が東京湾のシャコの初期生活史に及ぼす影響: 幼生と貧酸素水塊との遭遇回数(延べ日数)シミュレーション

DO = 1.13 ml/L の貧酸素水に 72 時間曝露されたゾエアの斃死率は 100%、メガロパの斃死率は 85%、稚ガニの斃死率は 45% であった (図 32-4)。

本研究におけるシミュレーション結果は、シャコ幼生が浮遊期間中に貧酸素水塊と遭遇する延べ日数であり、必ずしも連続した期間ではないため、直接の比較・推定は困難であるが、浮遊期間中にこれだけの頻度で貧酸素水塊に曝露されたシャコ幼生が受けるダメージは相当大きく、健全な個体として資源に加入できない可能性がある。実際、2004 年以降、東京湾全域で毎月実施しているフィールド調査の結果、2007 年も 10 月初旬まで着底した稚シャコは観察されておらず、9 月まではほぼ全ての幼生が死滅するなどして着底に至らなかったとみられる (図 32-3)。今後、室内実験によりシャコ幼生の貧酸素耐性を明らかにして、より精度の高い影響評価を行う必要がある。

2.1.3 東京湾のマコガレイの初期生活史に及ぼす環境因子の影響

マコガレイに関して、産卵量(推定値)、仔魚密度及び稚魚密度の時空間分布データ(2006 年~2010 年)を解析した。その結果、産卵量は 2005 年~2007 年に上昇傾向を示したが、2008 年以降に減少した(図 32-5)。一方、仔稚魚の密度は 2007 年(2006 年冬産卵由来)、2009 年(2008 年冬産卵由来)及び 2010 年(2009 年冬産卵由来)において著しく低かった(図 32-5)。2007 年、2009 年及び 2010 年のふ化~浮遊仔魚出現期における表・底層平均水温は 2006 年や 2008 年と比べて高く(図 32-5)、このことが生活史初期の生残に影響した可能性が示唆され

た。なお、2009 年及び 2010 年の仔魚密度の低さは、産卵親魚の密度(資源量)の低下を反映している可能性もある。

生活史初期のマコガレイの生残等に及ぼす水温の影響を調べるため、2011 年 1 月~3 月に神奈川県栽培漁業協会産のマコガレイ仔魚を用いて実験を行った。その結果、胚発生は、水温が低いほど進行が遅く、孵化までに時間(日数)を要した。孵化率は、平均水温が 6℃ あるいは 15℃ では 40% 以下に低下したが、9℃~13℃ では 70~80% であった。しかしながら、孵化仔魚の体長は高水温ほど小さい傾向にあり、孵化後の被食率に関する可能性がある。また、孵化後 18 日目までの斃死(死亡)率は水温依存的に上昇し、平均水温 12℃ では 60% を超えた。

仔稚魚の空間分布について、密度が著しく低かった 2007 年には明瞭な傾向は認められなかったが、2006 年と 2008 年には、仔魚は湾全域に出現し、湾北部において高密度であった。2009 年及び 2010 年には仔魚は総じて低密度であったが、2009 年には湾北部で見られた。年変動が大きい、主な産卵場は湾北部にあると推察される。また、稚魚は、4 月~5 月に千葉県沿岸部に分布量が多かった(図 32-5)。夏期には貧酸素水塊の出現・拡大により稚魚の分布域は湾南部に制限され、密度の低下もみられた(図 32-5)。以上より、冬産卵のマコガレイには、冬季の水温、夏季の貧酸素水塊の存在が当歳の加入量に影響する可能性が示唆された。

マコガレイ稚魚当歳(5ヶ月齢)を用いて、貧酸素耐性実験も行った。当歳(5ヶ月齢)のマコガレイ稚魚の

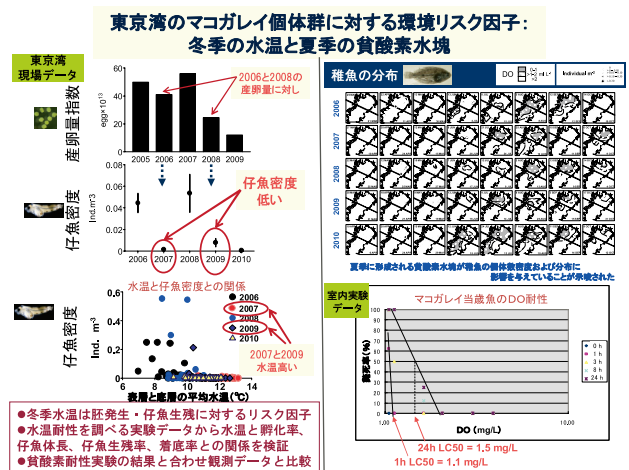


図 32-5 東京湾のマコガレイ個体群に対する環境リスク因子: 冬季の水温と夏季の貧酸素水塊

24時間半数致死濃度は約1.5 mg/L (≒ 1.1 ml/L)、1時間半数致死濃度は約1.1 mg/L (≒ 0.8 ml/L)であった(図 32-5)。1歳魚(約1.5歳)の24時間半数致死濃度は0.77 mg/L (≒ 0.5 ml/L)であったことから、当歳魚の方が貧酸素に対して脆弱と見られた。また、観察の結果、マコガレイ稚魚は、貧酸素条件下では、生きていてもほとんどの個体が仰け反り、呼吸数が増大した。したがって、斃死せずに生きていても貧酸素域から忌避できるか、さらに生き延びて資源へと無事に加入できるか、改めて詳細に調べる必要がある。

一方、マコガレイの初期生活史解析のため、①仔魚の日輪査定バリデーションのための飼育実験、②仔魚期の生残と成長を推定する飼育実験、③着底稚魚の自然海域での成長を解析するためのケージ試験(2008年5月、横浜・野島地先)を実施し、いずれも耳石による日間成長の解析を進めた。①及び②から、仔魚では孵化後平均7日目から一定速度で日周輪が形成されること、また③から、稚魚では一日に一本の日周輪が形成されることが明らかとなった。東京湾調査で得られた仔魚の耳石による日間成長と食性を調べ、生活史初期における生残や成長、分布拡散についてより詳細に解析する必要がある。

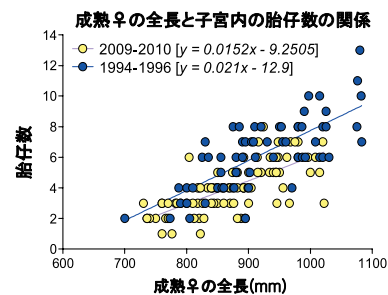
2.1.4 東京湾のホシザメの再生産特性

2000年代の東京湾で増加が見られたホシザメについて、2007～08年調査に引き続き、2008～09年に千葉県小糸川漁港で小型底曳網漁船により水揚げされた個体(計279個体)を用い、交接器及び子宮の形態観察や精巣・輸精管の組織学的観察により成熟段階の推定を行い、雄では生殖腺体指数(GSI)の経月変化、また雌では卵巣卵の最大直径の経月変化から交尾期、産仔期を推定した。子宮内に出現した受精卵の数を記録し、胎仔の個体数と全長を測定した。また雌雄の半数成熟全長の推定や雌の全長と産仔数の関係の解析を行った。胎仔の外卵黄嚢重量及び全長も測定した。また、成熟個体の肝臓重量を測定し、栄養状態指標として肝重量指数を算出し、その経月変化を調べた。成魚について空胃個体を除く雌雄251個体を用いて胃内容物調査を行った。これらを90年代の知見と比較した結果、交尾期や、妊娠期間、産仔期は2007～08年調査の結果とほぼ同じで、繁殖周期を含めて、90年代と大きく異ならなかった。また、肝重量指数の経月変化や食性なども2007～08年調査の結果とほぼ同じであった。一方、2007～08年調査で観察された

産仔数(胎仔数)の減少傾向が認められるかどうか再検証した結果、2008～09年調査においても90年代と比べて産仔数(胎仔数)が有意に減少していることが明らかとなった(図 32-6: $p < 0.001$)。しかし、半減までには至っていなかった。また90年代と異なり、2007～08年調査においても子宮内で発生が進行していない卵が交尾期直後以外に観察された。

上述のホシザメの再生産あるいは性成熟を巡る現象について、原因とともに個体群豊度に及ぼす影響を明らかにする必要がある。しかしながら、ホシザメの性成熟に関して、例えば、雄の精巣は spermatocyst から成り、細精管構造が見られず、精子の排出経路が不明であるなど基礎的でありながら未解明の点が少なくない。そこで、ホシザメの再生産特性と異常と見られる点を明らかにする一環として、性成熟に関する基礎知見の獲得を目指し、ホシザメの雄の性成熟に焦点を当てた解析を進めた。ホシザメの雄の精巣を組織学的に精査した結果、spermatocyst の周囲に分枝した細管が存在し、その先端が成熟精子を含む spermatocyst に結合・浸潤して精子の通路となることが明らかとなった。この細管は多数が集合し、太くなって副精巣に通じている。spermatocyst からこの細管に成熟精子が放出された後、支持細胞(哺乳類におけるセルトリ細胞に相当すると考えられる)はアポトーシスにより死滅し、spermatocyst の上皮に当たる結合組織(筋様細胞)は血球細胞に貪食されて消失するとみられた。Spermatocyst は、精巣の体表側(外側)から体軸側(内側)へ押し出されるように移動していき、精子形成に関わっていることが明らかとなった。

東京湾のホシザメ: 雌のサイズ別胎仔数の変化



- 2009～2010年: $r^2=0.49$ (1994～1996: $r^2=0.58$)
 - 1994～1996年と2009～2010年の間に有意差あり(ANCOVA, $p < 0.001$)
- 子宮内の胎仔数が大幅に減少**

図 32-6 東京湾のホシザメ: 雌のサイズ別胎仔数の変化

2.1.5 東京湾の底泥の化学分析

北九州市立大学との共同研究として、2007年8月及び2008年8月に東京湾20定点調査で採取された表層底質試料を用いてGC/MSによる942種の化学物質の定性・定量、及びICP-MSによる重金属の測定結果を得た。有機化学物質について、概して、東京湾では工業系化学物質は低濃度、生活由来物質が高濃度であり、北九州市・洞海湾の表層底質試料では工業系化学物質が優占しているのと対照的な組成であった。一方、東京湾底質から検出された化学物質の総量は、洞海湾の約半分、有明海の表層底質試料の約2倍であった。NOAA底質ガイドライン³と比較して、総じて低水準であったが、DDTsとPCBsでERL（これ以下ならば悪影響はほぼ発生しない濃度レベル）を上回った。また、重金属濃度も、NOAA底質ガイドライン³と比較して、総じて低水準であったが、水銀、亜鉛及びニッケルではERM（これ以上ならば悪影響が生じる可能性が高い濃度レベル）を超える値が一部の試料から検出された。以上より、水銀、亜鉛及びニッケルの、また、DDTsやPCBsのベントスに及ぼす影響を精査し、近年における東京湾の底棲魚介類が低水準のままである（増殖阻害と見られる）現象との関連を明らかにする必要がある。

1. Clarke KR, Ainsworth M (1993) A method of linking multivariate community structure to environmental variables. *Mar Ecol Prog Ser* 92: 205-219.
2. Clarke KR, Somerfield PJ, Gorley RN (2008) Testing of null hypotheses in explanatory community analyses: similarity profiles and biota-environment linkage. *J Exp Mar Biol Ecol* 366: 56-69.
3. 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

生物多様性は多面的であり、その実態の把握には、種数や種多様性、絶滅危惧種や外来種の有無、さらには遺伝的多様性など様々な状態指標を用いて総合的に評価する必要がある。さらに、出現する生物種のリストにもとづく生物多様性の状態指標を得るためには、専門的な知識と経験をもつ調査者による現地調査が必須であり、適

用可能な範囲が限定される。そのため、国や地域といった広域スケールでの評価に展開しにくいという現状がある。一方、富栄養化が進む湖沼など強い人為影響の下にある生態系では、生物多様性の高い状態から低い状態へ系が急速に変化するという現象が生じることが知られている。このような場合には、様々な生物多様性の状態指標が同時に同じ方向へ変化することから、多数の状態指標を、把握が比較的容易な少数の指標に統合できる可能性がある。本研究では、ため池の生物多様性に対するリスク要因の複合的な影響評価のための手法開発を目的とし、複数の生物多様性の状態指標を統合した指標を算出し、同時にその統合指標と複数の環境要因との関係を定量化する解析手法の開発をおこなった。

2.2.1 ため池における調査

調査では、兵庫県の64のため池で網羅的な生物群集の調査を実施し、水生植物、トンボ類、底生生物のリストを池ごとに作成した。そのデータをもとに、①水生植物の種数、②トンボ成虫の種数、③底生生物の種数、④水生植物の絶滅危惧種数、⑤トンボの絶滅危惧種数、⑥水生植物の機能的多様性、⑦トンボの機能的多様性、⑧底生生物の機能的多様性を算出し、各ため池の生物多様性の個別指標とした。

一方で、ため池の生物多様性に影響を及ぼす要因としては、富栄養化、生息地の破壊・劣化および侵略的外来種の3つのカテゴリーを設定した。その上で、富栄養化の指標としてクロロフィルa量、総リン量、シアノバクテリア量、懸濁物量、総窒素量を測定した。また、生息地の破壊・劣化の指標としては護岸率、都市域率、樹林率、水田率を測定・算出した。また、侵略的外来種としては、ブルーギル、アメリカザリガニ、ウシガエル、ブラックバスの個体数を指標とした。

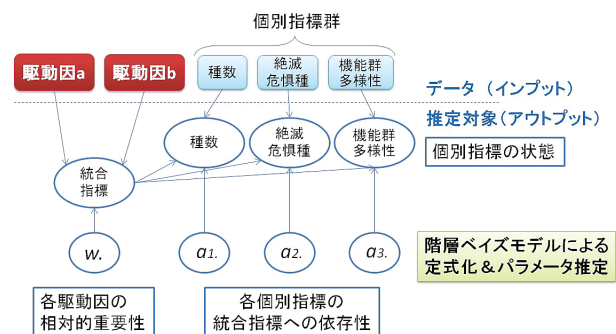


図33-1 統合指標モデルの概要

2.2.2 統合指標モデルの構築

これらの生物多様性の個別指標と複数のリスク要因との関係を下記に詳しく説明する統計モデル（図 33-1）を用いて分析した。本研究で構築した統計モデルは、 i 番目の池 j における生物多様性の個別指標（ Ind_{ij} ）は池 j における生物多様性統合指標（ Int_j ）の関数であると仮定する。すなわち、

$$Link(Ind_{ij}) = a_{1i}Int_j + a_{2i} \quad (1)$$

ここで、 $Link$ はリンク関数、 a_{1i} 、 a_{2i} は回帰係数と切片である。さらに、本モデルでは池 j における生物多様性統合指標（ Int_j ）は複数のリスク要因の関数（加重平均値）になっていると仮定する。すなわち、

$$Int_j = I_1 w_1 Press_{j1} + I_2 w_2 Press_{j2} + \dots + I_n w_n Press_{jn} \quad (2)$$

ただし、 $\sum_n w_n = 1$ 、

ここで、 I_n は n 番目のリスク要因の効果の向き（生物多様性に負の影響を与える場合は $I = -1$ 、そうでない場合は 1 をとる）、 w_n は n 番目のリスク要因の加重値、 $Press_{jn}$ は池 j における n 番目のリスク要因の値である。ベイズ統計の枠組みを用いて上記の統計モデルのパラメータを一括して推定することで、生物多様性の個別指標と複数のリスク要因との相互の関係を定量化すると同時に、多数の生物多様性の個別指標の値を説明可能な生物多様性統合指標を算出した。

2.2.3 統合指標モデルを用いた分析結果

実際の解析を行う際には、同じカテゴリー内のリスク要因間では相関が強かったため式 (2) に単一のリスク要因のみを考慮するモデルを各リスク要因について作成し、最もモデルのパフォーマンスが良くなる（DIC 値が低くなる）リスク要因を各カテゴリー（富栄養化、生息地の破壊・劣化、侵略的外来生物）ごとに一つずつ計 3 要因を選択し、モデルを構築した。この変数選択の過程で選ばれた要因は、富栄養化の指標としては、クロロフィル a 量、生息地の破壊・劣化の指標としては護岸率、侵略的外来生物としてはブルーギル個体数であった。この 3 つのリスク要因と前述の 8 つの生物多様性の個別指標を式 1、および 2 に入れて推定を行った結果、算出された生物多様性の統合指標は、底性生物の機能的多様性

をのぞき、ため池の生物多様性個別指標と 95 % 信用区間が 0 をまたがない有意な正の関係があることが示された（表 2）。各池の生物多様性統合指標を横軸、および 8 つの個別指標を縦軸として関係を比較したのが図 33-2 である。単一の統合指標が複数の個別指標の挙動をよく説明しているのが読み取れる。このような解析手法を用いることで、複数の環境要因が生物多様性の状態に対してどのような複合的影響をもたらすかについての知見を得ることができる。さらに、環境要因の広域的な把握が可能なりモートセンシングと組み合わせることで、ため池のように生物多様性の変化が一元的にとらえやすい系では、生物多様性の広域的な評価が可能になると考えられる。

表 2 統合指標モデルで推定されたパラメータ値と 95 % 信用区間

パラメータ	中央値	95 % 信用区間
加重値		
クロロフィル a 量	w_1	0.440 [0.327, 0.562]
護岸率	w_2	0.280 [0.183, 0.383]
ブルーギル個体数	w_3	0.279 [0.193, 0.362]
回帰係数		
水生植物種数	a_{11}	0.701 [0.500, 0.928]
トンボ成虫種数	a_{12}	0.373 [0.274, 0.477]
底生生物種数	a_{13}	0.281 [0.182, 0.384]
水生植物絶滅危惧種数	a_{14}	1.550 [0.896, 2.364]
トンボ絶滅危惧種数	a_{15}	2.600 [1.340, 4.294]
水生生物機能的多様性	a_{16}	0.081 [0.031, 0.131]
トンボ幼虫機能的多様性	a_{17}	0.122 [0.076, 0.168]
底生生物機能的多様性	a_{18}	0.020 [-0.030, 0.072]
切片		
水生植物種数	a_{21}	1.514 [1.389, 1.636]
トンボ成虫種数	a_{22}	2.677 [2.609, 2.743]
底生生物種数	a_{23}	2.640 [2.573, 2.708]
水生植物絶滅危惧種数	a_{24}	-0.566 [-1.054, -0.187]
トンボ絶滅危惧種数	a_{25}	-1.782 [-2.778, -1.037]
水生生物機能的多様性	a_{26}	0.221 [0.186, 0.256]
トンボ幼虫機能的多様性	a_{27}	0.276 [0.244, 0.310]
底生生物機能的多様性	a_{28}	0.550 [0.513, 0.588]

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

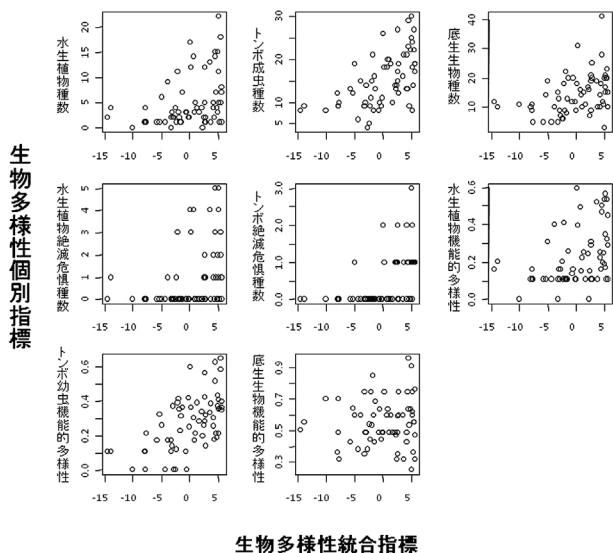


図 33-2 統合指標モデルから算出された生物多様性統合指標と各ため池で観察された生物多様性個別指標との関係

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。本課題では、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。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。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（授精）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。北海道において営業前の野生オオマル

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する器官）を摘出した。受精囊内の精子 DNA を分析した結果、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。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。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南アジアから輸入されている。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。アジア全体のヒラタクワガタ地域個体群の mtDNA-CO 遺伝子系統樹を構築した結果、500 万年以上の進化時間をへて地域ごとに固有の遺伝子組成をもつ集団（進化的重要単位）に分化していることを明らかにした。さらに系統樹多様性分析を行った結果、日本列島において相対 PD および固有性指数ともに高い地域個体群は南西諸島個体群であることが示された。次に、核 DNA である ITS-DNA 系統樹を構築した結果、アジア全体で最も固有の遺伝子をもつ個体群は南西諸島であることが示され、本地域の進化的重要性が示された。楕円フーリエ解析によりヒラタクワガタの大アゴ輪郭を数値化した結果、大アゴ形状に基づく系統樹は DNA 系統樹とは一致せず、一部に、離れた地域個体群間で共通の形状をもつ収斂進化も確認された（図 34-1）。以上のことからヒラタクワガタには、複雑で多様な進化的重要単位が存在することが明らかとなった。

日本産系統と外国産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。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。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



96hr LC50(ppm)	
クロヤマアリ	3.59
ハヤシクロヤマアリ	1.22
アミアリ	0.63
アメロアリ	1.35
トビロシロアリ	1.50
アルゼンチンアリ	0.02

外来種は高感受性

外来種防除後の在来種の回復が期待される

図 34-2 在来アリ類・アルゼンチンアリに対する防除剤フイプロニルの室内毒性試験

の組成が似ていることが明らかとなった。したがって、関東平野部の侵入個体群は今回調査した中国、韓国の個体群を起源の一部である可能性が示された。カワヒバリガイは主に輸入シジミ類などに付着して海外から侵入し、国内では利水施設を介した異なる水系の接続により水の流れに沿って分布拡大しているほか、人為的要因により水系を超えて飛び火的に新たな生息地へ侵入していると考えられる。今後の分布拡大を防止するには、利水施設の建設計画段階での影響評価、水産物の検疫強化が不可欠と考えられる。

カワヒバリガイの幼生の分散率が明らかではない状況下においても、最適駆除努力の空間配分を導きだすためのフレームワークを Information-Gap 理論を用いて構築できた。分散率以外の生態学的パラメータと組み合わせる事で、実際の管理に結び付けて行く事ができるようになった。また、構築したフレームワークは様々な不確実性に応用が可能であり、管理に必要なデータが十分に揃わない段階においても、効果的な管理計画を提示する事ができるようになった。特に侵入種の防除対策においては、早期に対策をとる事が大変重要であり、このフレームワークの適用範囲は広い

と言える。

2.3.5 カエルツボカビ菌の侵入実態調査

カエルツボカビ症はカエルツボカビ菌が原因となる両生類の新興感染症で、近年の世界的な両生類野生個体群の激減をもたらしている要因の一つとされる。2006年12月に日本国内でも輸入両生類において発症が確認され、本菌の分布拡大による日本両生類の危機が懸念された。我々は、本菌の国内・国外の分布実態を明らかにするとともに、菌の性状および在来両生類へのリスク評価を行った。

日本国内およびパナマ、オーストラリア、アメリカ合衆国の両生類、合計約 6,000 検体における感染状況およびカエルツボカビ菌の ITS-DNA 領域における変異の解析を実施した結果、日本国内の野生両生類にもカエルツボカビの感染が認められること、さらに日本国内で検出されたカエルツボカビには高い遺伝的多様性が存在し、ITS-DNA 領域に 50 のハプロタイプが存在することを明らかにした。特にその多様性が高い宿主は沖縄シリケンイモリであること、および日本固有の希少種オオサンショウウオに古い系統のカエルツボカビが感染していることも示唆された。海外の野生両生類からはこれらのごく一部のタイプのみが検出され、カエルツボカビの遺伝的多様性の中心が日本にあると考えられた。またシリケンイモリのカエルツボカビを海外産両生類に感染させた結果、顕著な病原性が示されたのに対して、在来両生類には抵抗性が認められた。以上の結果から、「カエルツボカビ・アジア起源説」を提唱した。

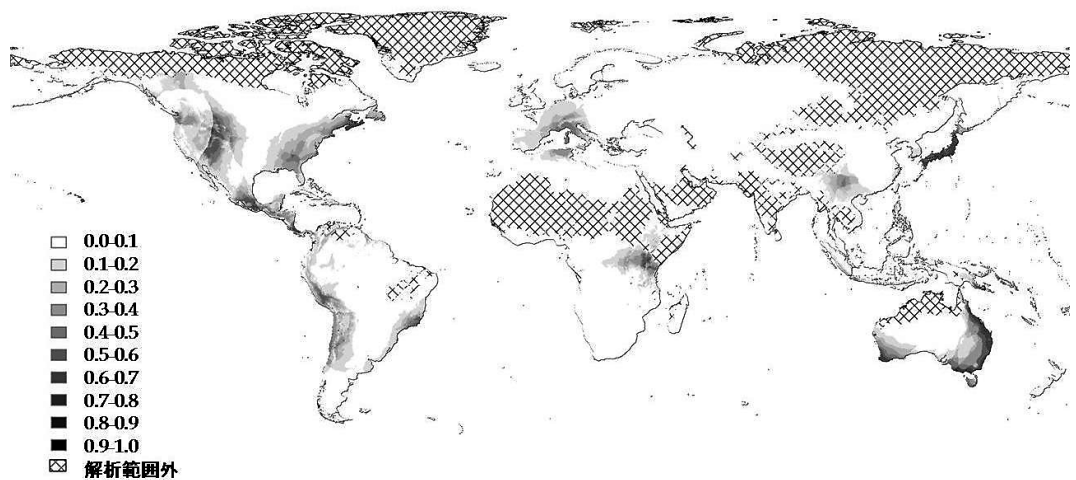


図 34-3 カエルツボカビのリスクマップ
リスクは 0~1 で表し、1 に近づくほどカエルツボカビの生息に適しているため感染リスクが高い地域を示す。

原産地である日本と侵入地である海外の感染地点情報を用いて気温と降水量よりカエルツボカビの世界分布を予測するリスクマップを作成した。その結果、日本以外でリスクが高かったオーストラリア、中南北米等の地域の多くは、原因不明とされる両生類の減少が報告されている地域と一致した（図 34-3）。

日本（アジア）のカエルツボカビが世界に拡散したプロセスとして、戦後の食用としてのウシガエルの輸出入が関与していることが疑われ、今後、原産地や世界各地のウシガエルの感染状況および両生類の移送記録と照らし合わせて検証する必要がある。また、本菌が、熱帯高地ジャングルで猛威を振るっている背景として、森林開発に加えて生態調査やエコツーリズムなどに伴って人為的に奥地に運び込まれた可能性があり、人為活動とカエルツボカビ感染拡大の関係について、社会学的視点からも調査していく必要がある。

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およびその個体群、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、生物群集攪乱による生態系機能変化に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た。

生態系影響評価の枠組みを構築するために、本研究では生態系機能の指標として栄養段階間の栄養転移効率に着目し、さらに環境要因に対する群集の応答を生物群集を構成する種の機能形質の変化として捉える手法の開発を行った。生態系を構成する機能群の特性と栄養転移効率との関係性と、群集内の形質動態に関する数理解析を行い、さらにこれらの解析結果を踏まえた野外データに基づく生態系影響評価を、霞ヶ浦動物プランクトン群集を対象に試みた。得られた研究成果は、長期モニタリングデータなどの環境データベースに基づく生態系影響評価法の今後の発展に貢献するものと期待される。

2.4.1 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に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）、 β ：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に摂食する量）、 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）。

系の動的な性質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）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35-1参照）。

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転移効率との関係を調べた。

藻類の内的自然増加率 r_{max} は、栄養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転移効率と強い正の関係があった。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。

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効率を高め、動物プランクトンの捕食耐性を高める形質

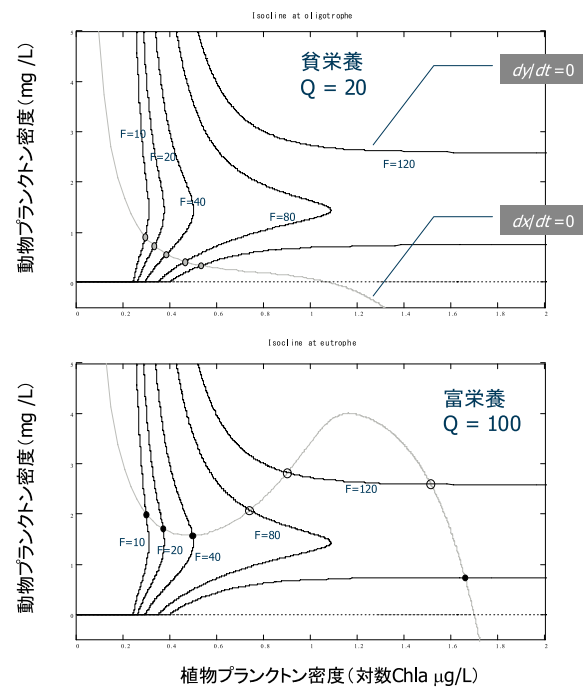


図35-1 植物プランクトンと動物プランクトンのゼロイソクライン。上図は栄養素負荷量が少ない場合、下図は栄養素負荷量が多い場合。黒実線は動物プランクトンのゼロイソクラインを、灰色実線は植物プランクトンのゼロイソクラインを示す。黒丸は安定平衡点、白抜き丸は不安定平衡点を示す。Fは様々な魚類密度。

が機能効果形質として有効であることが示された。

2.4.2 生物群集における機能形質の動態モデル

環境要因が変化したときに生物群集がどう反応するかを、群集内の機能形質の分布（形質の平均値など）の変化として解析する理論的枠組みを研究した。群集の平均形質値は、各構成種の形質値を種の相対頻度で重み付けした平均値なので、構成種の個体数の相対的な変化を反映する。群集の平均形質値の変化として、群集の環境応答を捉えるためには、群集の形質変化が種数や種間競争の強さによってどう影響されるかを考慮しなくてはならない。そこで、種間競争が群集内の形質動態に与える影響を、多種系ロトカ・ボルテラモデルに基づいて解析した。その結果、環境変化による群集内の平均形質値の変化は、種選択係数（種の適応度と形質値との関係を表す指数）と形質の分散に比例すること、種数が多い場合は種間相互作用によってほとんど影響されないことが解った。

多くの種がいくつかの異なる資源をめぐって競争しているとき、環境が変化した際の平均形質値の変化は次式

で近似される。

$$\Delta \bar{Z} = I_Z \text{Var}(Z) \left\{ 1 - \frac{2}{\beta} \left(1 + \frac{2}{s} \right) \sum_{k=1}^N \alpha_k \rho_k^2 \right\}$$

ここで、 I_Z は種選択係数、 $\text{Var}(Z)$ は形質の群集内分散、 β は種内競争係数、 s は種数、 N は資源の種類数、 α は種間競争係数、 ρ は種の形質が種間競争に関与する程度を表す指数（形質値と種のニッチ位置との相関係数）である。

実際の自然群集において形質ベースの解析をする場合、解析すべき種の形質が複数あり、それらが種間で相関していることを考慮しなければならない。また、生態系機能に寄与する形質（機能効果形質）と環境要因の変化に対する種の応答を左右する形質（機能反応形質）は異なる形質である場合が一般的である。複数形質の平均値変化は、種間相互作用の影響を無視すると、次式で表される。

$$\begin{pmatrix} \Delta \bar{Z}_1 \\ \Delta \bar{Z}_2 \\ \vdots \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} V_1 & C_{1,2} & \cdots \\ C_{1,2} & V_2 & \\ \vdots & & \ddots \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} I_{Z1} \\ I_{Z2} \\ \vdots \end{pmatrix}$$

ここで、添え字は形質の番号、 V は形質の群集内分散、 C は共分散、 I_Z は種選択係数を表す。右辺の第1項は、種形質の群集内における分散共分散行列である。この式は、環境駆動因が群集内の種形質を変化させる作用（直接的な効果は種選択係数で表される）は、形質の分散ばかりでなく、形質間の共分散（相関）によって変化することを意味している。

2.4.3 湖沼生態系機能に対する環境かく乱要因の形質ベース時系列データ解析

生態系機能及び群集の形質動態に関する理論的研究成果を踏まえ、湖沼生態系機能にあたる環境要因を、形質データと動物プランクトン群集の時系列モニタリングデータから推定した。動物プランクトン群集の時系列データとして、国立環境研究所で実施された霞ヶ浦長期モニタリングデータ（1980-2006年、地点番号St.9）を利用した（霞ヶ浦データベース <http://db.cger.nies.go.jp/gem/inter/GEMS/database/kasumi/top.html>）。解析した形質は、生態効率（EE：転換効率）、最適水温（OT：出現頻度で重み付けした出現時の平均水温）、水温レンジ（RT：出現時水温の標準偏差）、汚

水耐性（SI：種の腐水指数）、化学耐性（TL：カルバリル急性毒性値 [$\mu\text{g/L}$]）、餌サイズ（MF：最大餌サイズと最小餌サイズの間値）、体サイズ（BM：乾燥重量 [μg]）である。最適水温と水温レンジ以外の形質データは、文献調査、毒性データベース（Ecotox）、実測などによって求め、これら2形質については、1984-1986年の上記モニタリングデータから算定した。（生態効率の定義）対象種は、甲殻類ミジンコ目10種（*Alona* sp., *Bosmina fatalis*, *B. longirostris*, *Daphnia ambigua*, *D. galeata*, *Chydorus sphaericus*, *Ceriodaphnia cornuta*, *Moina micrura*, *M. nacrocopa*）、ワムシ目8種（*Asplanchna* spp., *Brachionus calyciflorus*, *Filinia longiseta*, *Keratella cochlearis*, *Polyarthra vulgaris*, *Synchaeta* sp., *Trichocerca birostris*, *Trichocerca* spp.）および *Calanoid copepodid* と *Cyclopoid copepodid* である。

霞ヶ浦モニタリングデータは、毎月ほぼ1回、1980-2006年では計392回実施され、定量サンプリングによって採集された種と個体密度が記録されている。これらのデータをミジンコ種構成の著しく異なる夏季（5-10月）と冬季（11月-翌年4月）に分け、各期の相対バイオマスで加重平均をとった形質値を、群集平均形質値の年次時系列データとした。

環境因子に関しては、長期モニタリングとして観測されてきた水温（水深5m）と水質データ（13項目）を用いた。水質項目は、時系列間の相関行列を基に多変量解析（主成分分析）を行い、4主成分（水質因子PC1-4）に集約した（PC1：溶存無機窒素と懸濁態有機窒素の比率因子、PC2：栄養塩類およびクロロフィル量と相関する一般的富栄養化因子、PC3：溶存無機窒素におけるアンモニア態と亜硝酸・硝酸態の比率因子、PC4：SS、全リン、透明度と強く相関する「底泥巻き上げ」因子）。

生態効率と平均体サイズの年次変動を図35-2、夏季の最適水温と水温、冬季の水温レンジと水温を図35-3、その他の形質と水質因子の年次変動を図35-4に示す。夏季の生態効率は、1980年代の後半に急落し、その大きな年次変動を伴いながら2000年代にかけて回復傾向にある。冬季の生態効率は、1980年代の中ごろに急上昇したのち、漸減傾向が続いている。どちらの変動も、大まかに平均体サイズの変動と同調する傾向があり、枝角類などの大型動物プランクトンの出現の寄与が示唆される。

2つの時系列データ間の相関を定量的に推定するために、局所的な周期変動解析の手法であるウェーブレット

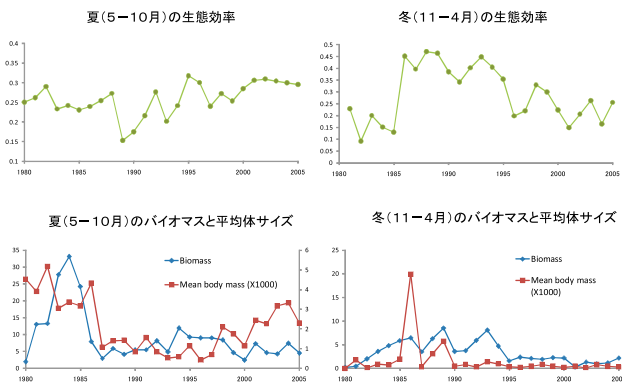


図 35-2 霞ヶ浦動物プランクトン群集における平均生態効率（同化転換効率）とバイオマスおよび平均体サイズの年次変動。（バイオマスは1リットル当たり乾燥重量 mg/L。体サイズは乾燥重量 mg）

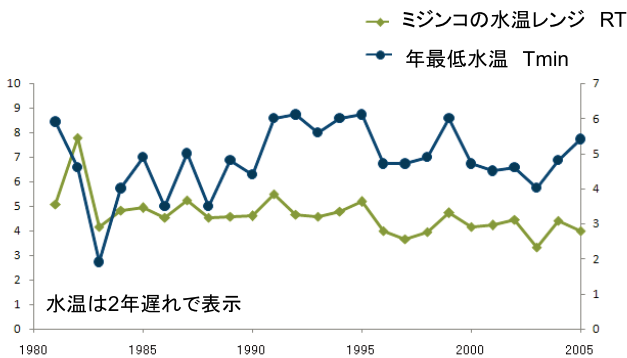
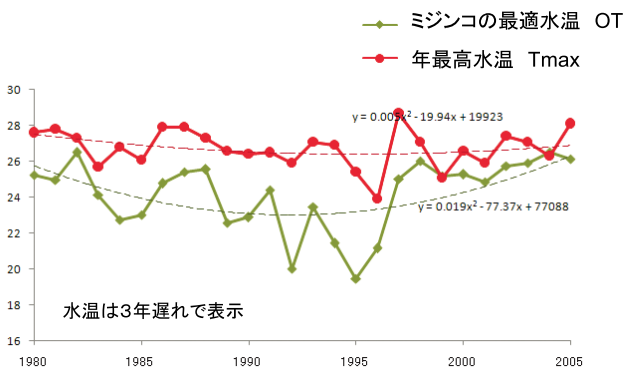


図 35-3 夏季における霞ヶ浦最高水温と動物プランクトン群集の平均最適水温（上図）、および冬季における霞ヶ浦最低水温と動物プランクトン平均水温レンジの年次変動。水温の表示は、夏季は2年、冬季は3年遅れで表示してある。

解析を適用した。この方法は、時系列データを変換点 τ （時系列の始点から終点までの任意の点）の周りで次のウェーブレット変換を行い、ウェーブレット変換値間の相関を計算する：

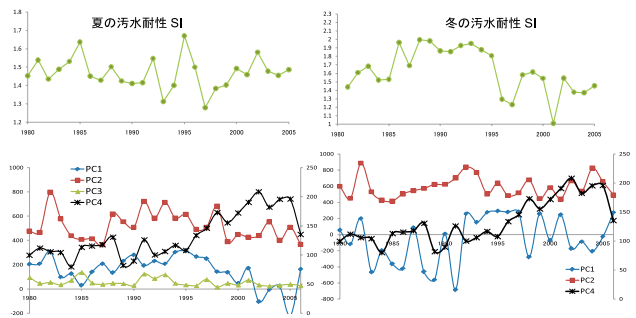


図 35-4 霞ヶ浦の夏季（左図）および冬季（右図）における水質因子（下図）と動物プランクトン群集の平均汚水耐性の年次変動。

$$w(s, \tau) = s^{-1/2} \int_{-\infty}^{+\infty} x(t) m\left(\frac{t-\tau}{s}\right) dt,$$

ここで、 $x(t)$ は時間 t におけるデータ、 s は周期スケールで、変数変換のウィンドウの幅を制御するパラメータ、 $m\left(\frac{t-\tau}{s}\right)$ はウェーブレット・マザー関数で、本研究ではメキシカンハット関数と呼ばれる最も一般的な関数を使った。ウェーブレット変換値は、ある変換点を中心としたある幅 (s) を持った波形とデータが一致するほど1に近づき、無関係な場合は0となる。2つの時系列データのウェーブレット変換値間の相関が1（もしくは-1）に近づくほど2つの時系列データが共変動して、共通要因に支配されていることを示唆する。

プランクトン群集に与える環境因子の解像度を上げるために比較的短いスケール（3年から7年の平均）に着目し、ウェーブレット変換値間の相関を計算した。ミジンコ群集の夏の最適水温と冬の水温レンジは、それぞれ年最高水温と年最低水温と、3年および2年遅れで同調する傾向が強いことを示した（相関係数：0.7）。

さらに、環境要因が機能形質を介してミジンコ群集の生態系機能を変化させる大きさを解析するために、対象とした形質及び環境要因間の全ての時系列自己相関係数を計算した。形質間の種間相関は環境要因による群集の形質変化に大きな影響を与える（2.4.2参照）。そこで、形質間の相関による影響を除外した環境要因と形質変化との関係を明らかにするために、経路解析（共分散構造解析）を行った。先験的に設定したモデルは、水温⇒最適水温もしくは水温レンジ、水質因子⇒汚水耐性、各形質⇒生態効率という経路によって因果関係が連結されると仮定している。植食者ミジンコ群集の生態効率は生態系の栄養段階間栄養転移効率に大きく作用し、生態系機

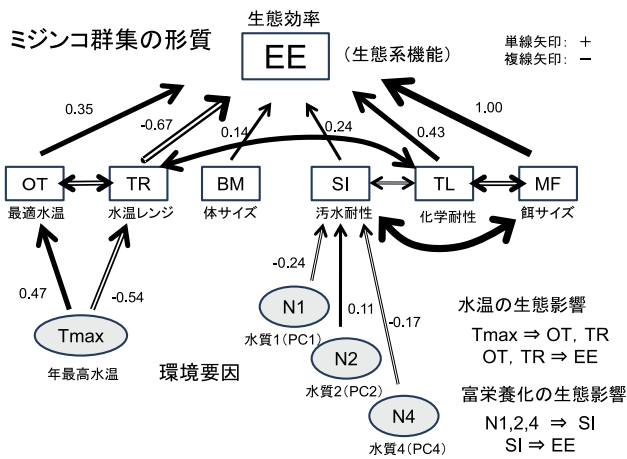


図 35-5 夏の霞ヶ浦における環境要因と動物プランクトン群集の機能形質の相関関係。長方形ボックスは機能形質、楕円は環境要因を表す。矢印の太さは共分散構造解析における編回帰係数（数字）の相対的な大きさを、単線か複線かは相関の符号を表す（単線+、複線-）。両矢印は、形質間の相関を示す。

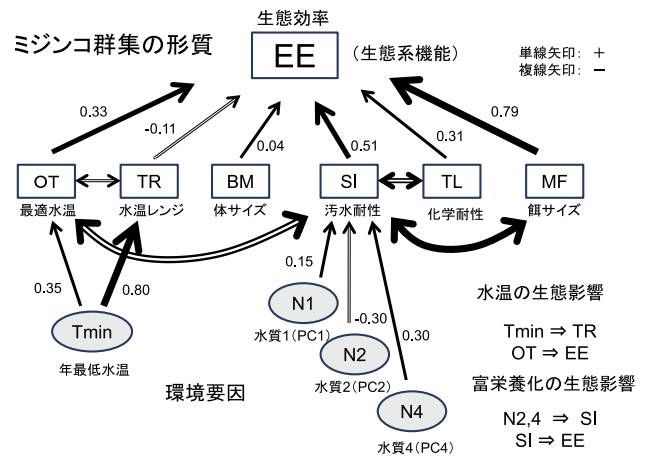


図 35-6 冬の霞ヶ浦における環境要因と動物プランクトン群集の機能形質の相関関係。長方形ボックスは機能形質、楕円は環境要因を表す。矢印の太さは共分散構造解析における編回帰係数（数字）の相対的な大きさを、単線か複線かは相関の符号を表す（単線+、複線-）。両矢印は、形質間の相関を示す。

能に大きなインパクトを与えるので（2.4.1 参照）、生態系機能の指標になると考えられる。

要因分析の結果、夏季の霞ヶ浦においては、水温（年最高水温）の年変動がミジンコ群集の変動に大きな影響を与えていること、さらにミジンコの機能形質（最適水温および水温レンジ）と生態効率との種間相関を通じて、生態系機能にも大きなインパクトを与えていることが示唆された。一方、水質因子と機能形質との相関は明確でなかった（図 35-5）。冬では、水温（最低水温）とミジンコ類の水温レンジが強く同調し、ミジンコ群集が水温の影響を強く受けて変動していることを示唆した。しかし、水温レンジは、生態効率とも生態効率と強く相関する他の機能形質ともほとんど相関せず、生態系の機能に影響している証拠は得られなかった。一方、生態効率と餌サイズ、汚水耐性は強く相関し、これらの機能形質との経路を介する水質要因の影響が存在することを示した（図 35-6）。ミジンコ群集の変動からは、夏季には水温変動の影響が冬季には水質要因の影響が生態系機能に大きな影響を与えていることが示唆された。

2.4.4 アクアリウム生態系による検証実験

数理モデルによる研究が示したミジンコ類の機能形質と生態系の栄養段階間栄養転移効率の関係を藻類-ミジンコ類-メダカから構成されるアクアリウム実験生態系によって検証した。ミジンコ群集が感受性の低い種と高

い種で構成されている場合、化学物質の曝露により感受性の高い種が減少もしくは消失しても、感受性の低い種が補償することによって生態系の栄養転移効率は保持されると考えられる。そこで、淡水生態系を模した藻類-ミジンコ-メダカからなる実験系を 100L 水槽内に作成し、藻類（生クロレラ）の一定バイオマス添加によるメダカのバイオマス増加量から、1次消費者（ミジンコ類）を介する栄養転移効率を実験的に推定した。殺虫剤メソミルに対して感受性の高い種と感受性の低い種でミジンコ群集を構成し、殺虫剤を曝露した場合（曝露濃度：8 $\mu\text{g/L}$ ）と曝露しなかった場合のメダカの総体重の増加

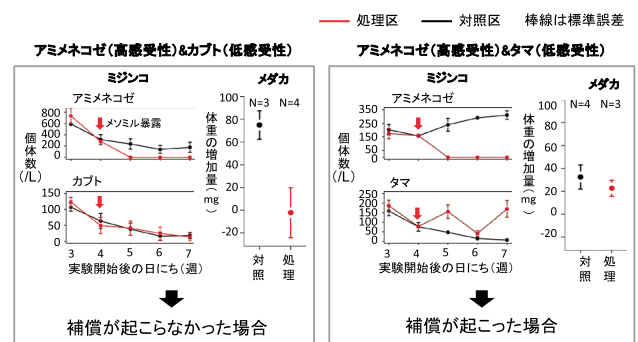


図 35-7 アクアリウム実験生態系における、殺虫剤メソミルによる生態系機能かく乱実験の結果。1次消費者であるミジンコ群集には、高感受性のアミメネコゼミジンコ (*Ceriodaphnia cornuta*) と中感受性のカプトミジンコ (*Daphnia galeata*) および低感受性のタマミジンコ (*Moina macrocopa*) を組み合わせた。

量を比較した。

感受性の高い種（アミメネコゼミジンコ [メソミル急性毒性値：2.1 $\mu\text{g/L}$]）と中程度および低い種（カブトミジンコ [メソミル急性毒性値：12.0 $\mu\text{g/L}$]、タマミジンコ [メソミル急性毒性値：135.7 $\mu\text{g/L}$]）で群集を構成すると、種の組み合わせによって殺虫剤の曝露があってもメダカの体重増加が維持されることがあった。体重の増加が維持された場合、感受性の高い種の個体数が減少するとともに感受性の低い種の個体数増加がみられた

（図 35-7）。

実験結果は、化学物質が曝露されたときに感受性の高い種と低い種で構成されたミジンコ群集においては、感受性の低い種が感受性の高い種を補償することによって生態系機能が維持されること（機能の冗長性）を示した。また、機能の冗長性の有無は、化学物質などの環境かく乱要因に曝された生態系が機能を維持する上で重要であることを示唆した。

VI. 関連研究プロジェクト

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では、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 36-1)。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

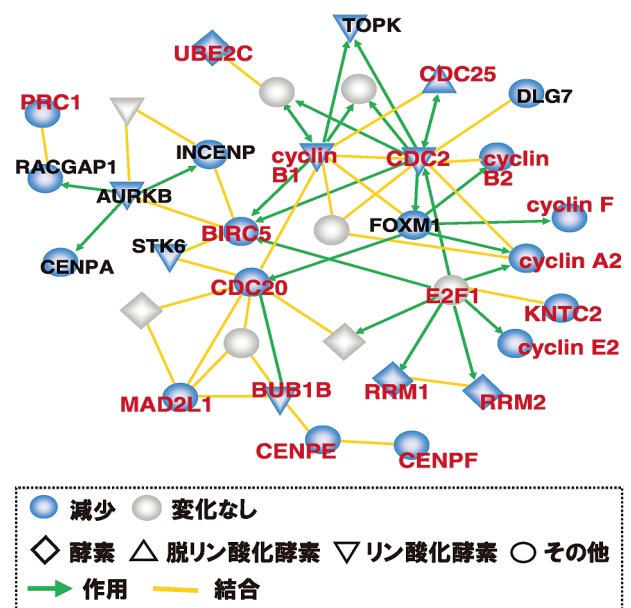


図 36-1 亜ヒ酸で発現が低下した遺伝子群ネットワーク
赤字は細胞周期進行に関与する遺伝子

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応答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36-2)。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36-3)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。

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。

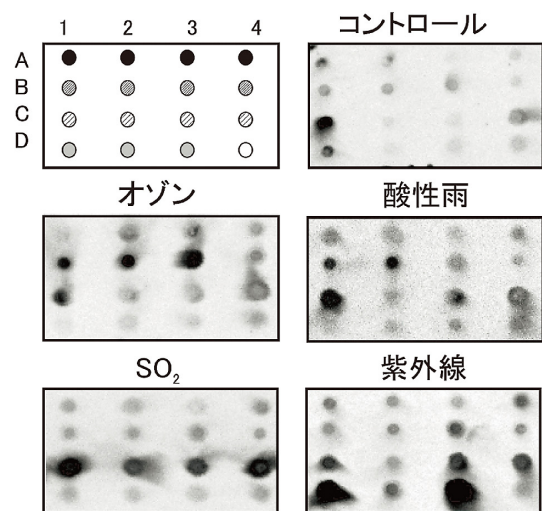


図36-2 ミニマクロアレイによるストレス診断
ミニマクロアレイを用いた様々なストレスにおける遺伝子発現パターンを示す。
A1~4: 酸性雨誘導性遺伝子、B1~4: オゾン誘導性遺伝子、C1~4: SO₂誘導性遺伝子、D1~3: 紫外線誘導性遺伝子、D4: コントロール遺伝子



図36-3 NIESトキシコゲノミクスサイトのトップページ

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。エピジェネティック作用の主なメカニズムは、遺伝子（DNA）のメチル化と DNA が巻きついているヒストンタンパクのメチル化やアセチル化修飾等の、いわゆるエピジェネティック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ック作用によって発癌増加をおこす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むことが予想されるが、無機ヒ素のエピジェネティック作用に関してはまだ不明の点が多く残されている。

このような背景から、本研究では無機ヒ素を中心に、実験動物において高感受性期や標的遺伝子、後発・経世代影響等に注目してそのエピジェネティック作用を検索し、生体影響との関連や機序を明らかにすることを目的とした。この研究によって環境化学物質のエピジェネティック作用が生体影響においてどの程度重要であるかの見通しを示したいと考え、本プロジェクトを進めた。

哺乳類の DNA メチル化修飾はほとんどがシトシン-グアニン（CpG）配列の C（シトシン）の 5 位がメチル化される 5 メチルシトシン（5meC）修飾である。哺乳類ゲノムには大量の反復配列が存在し、これらの反復配列は高度にメチル化されている。ゲノム全体の 5meC 量の変化、すなわちグローバル DNA メチル化変化の量は主にこれらの反復配列における 5meC 量の変化を反映していると考えられ、グローバル DNA 低メチル化は染色体の不安定化につながると考えられている。

米国のグループの研究により、C57BL/6 マウスを低

メチル食または低メチル食 + 50 ppm 亜ヒ酸ナトリウムを含む飲水で 5 カ月間飼育すると、メチル補充食群と比べて低メチル食群で DNA メチル化が約 25 %、低メチル食 + ヒ素群で約 60 ~ 95 % 低下することが報告されている。このことは、低メチル食および無機ヒ素投与が肝臓のゲノム不安定化を招く可能性を示しており、これが無機ヒ素の発癌増加作用と関連する可能性も考えられる。人間生活の中では栄養状態の悪い地域での低たんぱく食などで低メチル状態がおこる可能性がある。

上述の先行研究では、DNA メチル化変化量はメチル化酵素存在下でのメチル基の取り込み量の変化として相対値のみが測定されていた。そこで本研究では、まずゲノム中の 5meC 量を精密に分析するために、DNA をヌクレオシドに水解し、deoxycytidine (dC) と 5-methyldeoxycytidine (5medC) の比を液体クロマトグラフィー / エレクトロスプレーイオン化マスペクトロメトリー (LC/ESI-MS) によって測定する方法を確立した。イオン化効率補正用に 5medC の安定同位体標識化合物を合成し、市販の dC の安定同位体標識化合物とともに用いることによって、5 メチルシトシンの絶対量を精密に測定することが可能となった (図 37-1)。

雌雄 C57BL/6 マウスをメチル補充食、低メチル食または低メチル食 + 50 ppm 亜ヒ酸ナトリウムを含む飲水で 5 カ月間飼育し、上記の方法を用いて肝臓の 5meC 量の測定を行った。その結果、全シトシン中の 5meC 量の割合は表 3 に示す通りで、雌雄あわせて 4.8 % ~ 5.3 % の間で変動するのみで、従来報告されているような大きな変動はないことが明らかとなった。さらに雄で

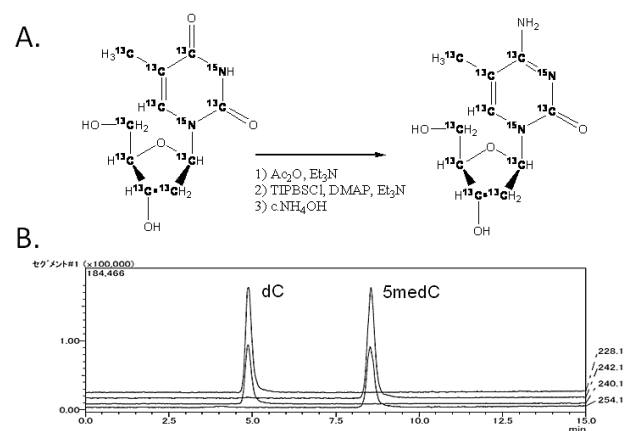


図 37-1 グローバル DNA メチル化量の精密測定法の確立
A. 安定同位体標識チミジンからの 5medC の合成。
B. dC および 5medC の LC-MS チャート。

は5meC量はメチル補充食>低メチル食>低メチル食+ヒ素投与の順に低下傾向を示し、雌では反対にメチル補充食<低メチル食<低メチル食+ヒ素投与の順に増加することが明らかとなり、ヒ素や低メチル食によるDNAメチル化変化に性差があることがわかった。

DNAのメチル化は3種類のDNAメチル基転移酵素(DNMT)、DNMT1、DNMT3a、DNMT3bが担当する。これらの発現量を検討した結果、オスの肝臓ではDNMT1遺伝子の発現がメチル補充食>低メチル食>低メチル食+ヒ素投与の順に低下し、5meC量の変化と対応した。すなわち、低メチル食や無機ヒ素投与によってオスの肝臓でDNAメチル化が低下する原因として、*DNMT1*の発現阻害がある可能性が示唆された。

また本研究によって、*DNMT3b*の発現に顕著な概日リズムがあることが明らかとなった。*DNMT*発現の日内周期に関してはこれまで報告がなく、本研究で得られた新規な知見の1つである。

以上より、低メチル食や無機ヒ素投与によるDNAメチル化変化や*DNMT*の発現変化に性差が見つかった。無機ヒ素による発癌やその他の生体影響に性差があることが報告されているが、これらの性差にDNAメチル化感受性の性差が関与する可能性が考えられた。またエピジェネティック変化を誘導する主要な酵素である*DNMT*の発現に日内周期があることがみいだされた。今後は*DNMT*が時計遺伝子のいずれかと共通の因子によって制御されている可能性や、食事等の外的要因との関連についての検討を行うことによって、*DNMT*発現の制御メカニズムの一端や、環境因子の作用機序が明らかとなること、さらには環境因子のエピジェネティック変化を介した生体影響とその機序の解明の糸口となることが期待される。

さらに化学物質によるグローバルメチル化変化の原因を探索する目的で、無機ヒ素等の化学物質が酸化ストレスを生じることに着目し、代表的な酸化DNA損傷で

表3 肝臓DNA全シトシン中の5meC含量(%)

	メチル補充食	低メチル食	低メチル食+ヒ素群
オス	5.26 ± 0.13 (100)	5.07 ± 0.16 (96.4)	5.01 ± 0.23 (95.2)
メス	4.89 ± 0.09 (100)	4.91 ± 0.13 (100.4)	5.20 ± 0.10 ^{a*} (106.3)

ある8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8OHdG)と5meC量の関係について検討した。5meC量は上記の方法で、8OHdGはDNAの酸化を防ぐ方法で抽出して感度・定量性とも優れるHPLC-ECD法で、それぞれ精密測定した。

メチル基代謝に必要なメチオニンとコリンを除いたメチオニン・コリン欠乏食(MC欠乏食)やMC欠乏食+無機ヒ素を3週間投与したC57BL/6マウスの肝臓について測定を行った結果、雌雄共にMC欠乏食、MC欠乏食+ヒ素投与群で8OHdGが増加することが明らかになった。これらの群では酸化ストレスによって誘導されるヘムオキシゲナーゼ1(HO-1)の誘導が確認され、酸化ストレスによって8OHdGが増加したことが示唆された。一方、5meCは雄ではMC欠乏食、MC欠乏食+ヒ素投与群で有意な減少が検出され、雌ではヒ素、MC欠乏食+ヒ素投与群で有意な減少が検出された。これらの5meCと8OHdG量は図37-2に示すように極めて高い負の相関を示し、酸化DNA損傷がDNAメチル化量の調節に関与することが示唆された。

妊娠中に無機ヒ素曝露を受けたC3Hマウスの仔が1年5カ月令以降に肝癌を高率に発症することが報告されている。その機序として、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(ERα)遺伝子プロモーター領域のDNA低メチル化がおこり、その結果ERαの発現が上昇し、癌につながるということが示唆されている。この実験系において、ヒ素の発癌への影響および各種後発影響とエピジェネティック作用の関連を検討する研究を行った。

無機ヒ素曝露したマウスより生まれた仔(ヒ素曝露群、F1)の雄でのみ約1年5カ月令で肝臓腫瘍の増加を確

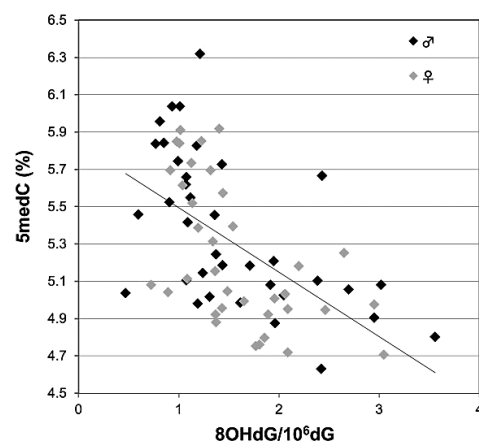


図37-2 8OHdGと5meCの相関図

認し、先行研究と同一の結果を得た。しかし、対照群とヒ素曝露群マウスのそれぞれ正常肝、腫瘍肝正常部分および腫瘍部分の検討を行った結果、先行研究で報告されたヒ素曝露による ER α プロモーター領域の DNA メチル化低下および ER α の発現上昇は認められなかった。すなわち、ヒ素による腫瘍の増加には ER α の DNA メチル化変化と発現変化は必須でないことが示された。

この他の新たな結果として、胎児期のみのヒ素曝露によって、雄の仔の肝臓で6週令までは変化がないが、49週令以降または74週令で後発的に発現変化する遺伝子の存在をみいだした。これらの遺伝子の中にはプロモーター領域のヒストン修飾が変化しているものが含まれ、ヒストン修飾が遺伝子発現変化に関与することが示唆された。一方顕著な DNA メチル化変化は検出されなかった。また F1 雌雄の仔 (F2) の肝臓では同様な遺伝子発現変化は観察されず、F2 への経世代影響は見られなかった。

また胎児期ヒ素曝露を受けた雄の仔が成長後にインスリン抵抗性と血糖上昇を示すことをみいだした。上記の後発的に発現変動する遺伝子の中には脂質代謝に関与する遺伝子も含まれ、後発的生体影響と遺伝子発現変化、およびエピジェネティクスの関与に関しては今後さらなる検討が必要と考えられた。

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 メチル化増加をおこ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、C57BL/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 37-3)。p16^{INK4a} プロモーター領域では、バイサルファイトシークエンス法での検討によってメチル化状態は無機ヒ素曝露により変化していないことが示された。一方、クロマチン免疫沈降法によって転写抑制性のヒストン H3K9 ジメチル化の増加、およびそのメチル化を担当する酵素で

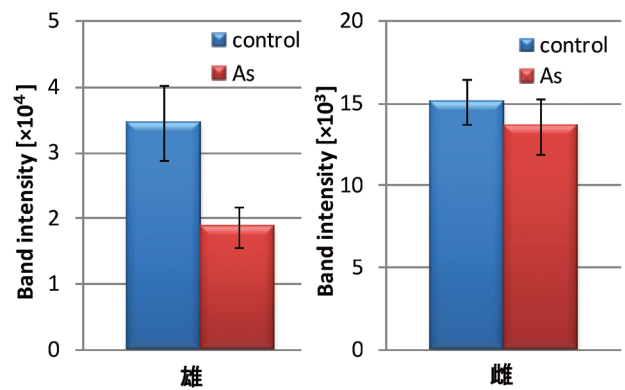


図 37-3 p16^{INK4a} の発現変化

ある G9a の集積が観察された。

以上の結果から、ヒ素による p16^{INK4a} の発現変化には性差があり、オスの肝臓においては p16^{INK4a} のプロモーター領域への G9a のリクルートによる H3K9 ジメチル化レベルの増加が p16^{INK4a} の発現抑制に関与していることが示唆された。これらの現象は癌が発症していない組織で観察されたことから、癌の結果ではなく、ヒ素が直接または間接的にエピジェネティック修飾を変化させ癌関連遺伝子の発現を調節している可能性を示唆した。

本研究では、無機ヒ素の胎児期曝露や長期曝露によってグローバル DNA メチル化やヒストン修飾、また遺伝子発現、生体影響に性依存的な影響が現れることを明らかにした。しかし本研究の過程で、従来報告されている遺伝子特異的 DNA メチル化変化などのヒ素のエピジェネティック作用に関しては検出できないものも多かった。エピジェネティクスの指標をリスク評価にとりいれるためには、化学物質のエピジェネティック作用に関して、生体影響に必須であるか否かなどの因果関係や機序を含めて、確実な結果を現時点よりも蓄積する必要があると考えられた。

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を調査し、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 38-1)。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ものではなく、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。

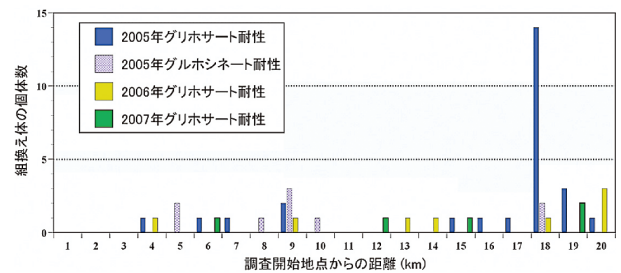


図 38-1 国道 51 号線沿いにおける GM セイヨウアブラナの分布

(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団に分化していることが明らかとなった (図 38-2)。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、スンドラ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

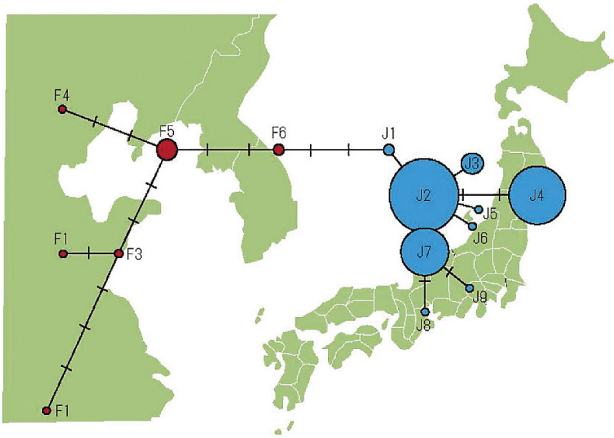


図 38-2 クロマルハナバチの mtDNA-CO1 遺伝子ハプロタイプネットワーク系統樹。F1～F6が中国・韓国産個体で、J1～J9が日本列島産個体。日本産個体が大陸産個体から派生して分化していることがわかる。

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 塩基配列変異を用いて確認され（図 38-3）、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

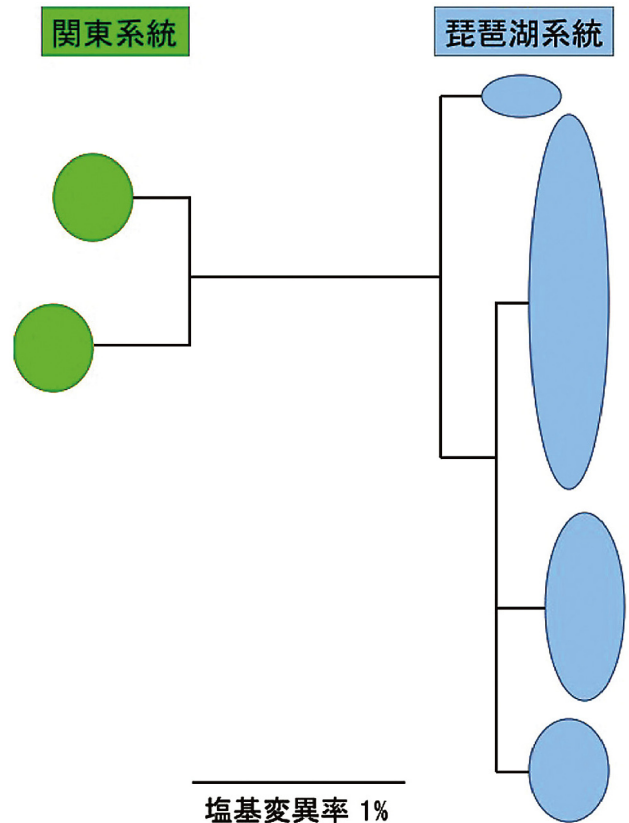


図 38-3 関東河川産オイカワから見つかったミトコンドリア DNA 塩基配列変異群の系統樹
 関東系統（緑色）・琵琶湖系統（水色）は各々 2 群・4 群にまとめられた。横軸は塩基変異率（%）、楕円の高さは各群に含まれる変異配列の概数を表わす。

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。

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。そこで本課題では、影響評価に用いる情報や環境動態モデル等のツール類を GIS 上に展開するために、データと動態モデルの共通データ基盤システムを構築した。一般に、GIS 上でのデータ操作は、多くの作業量や熟練を必要とし、また特殊なアプリケーションソフトの活用を必要とするなど、利用に係る障壁が大きい。そこで、本課題では、広く利用可能なデータ・動態モデル共通基盤システムを構築した。

システムにおいては、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、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 39-1)。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。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。

また、多媒体モデルである G-CIEMS モデルの出力結果等の GIS 上への表示を容易にするため、可視化ツールを開発した(図 39-2)。ここでは、既存の GIS 表示エンジンにおいて利用可能な形で G-CIEMS モデル計算結果等を出力することにより、地理属性を持つデータセットの可視化操作を容易にする。

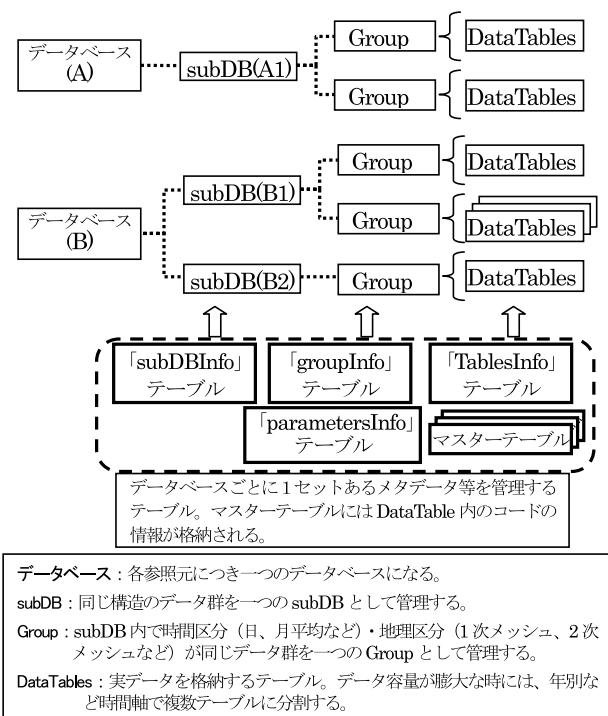


図 39-1 様々なデータに対応可能なデータベースの設計

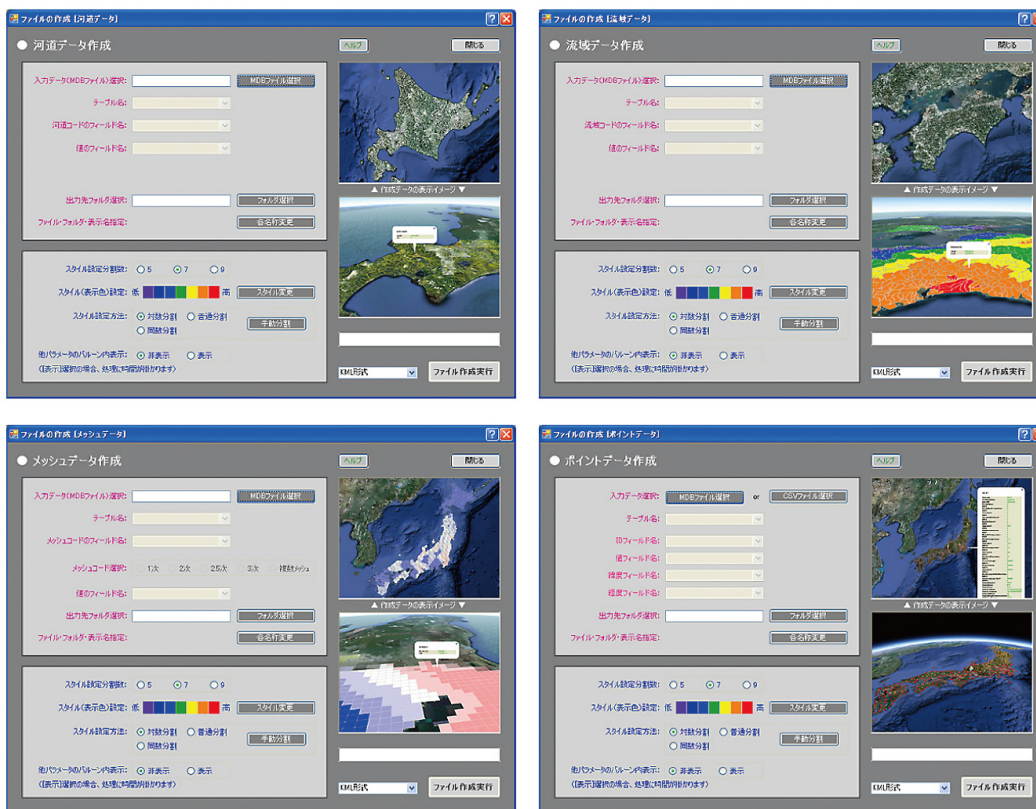
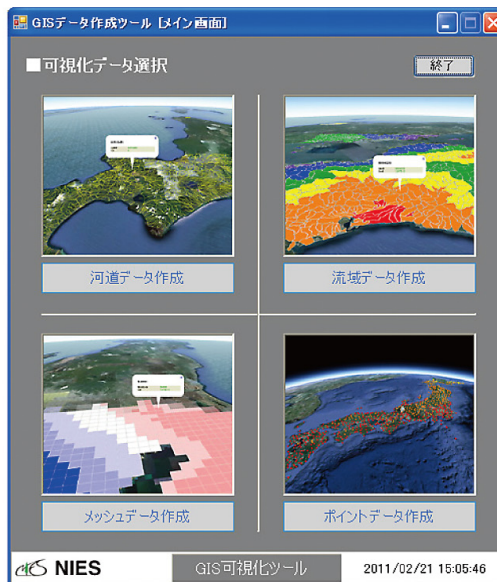


図 39-2 可視化ツールのインターフェースの例

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

化学物質の環境調査による曝露評価の高度化のため、機器分析法とバイオアッセイ手法の両面における測定手法の開発を進めることを目的とした。

血液や尿などの生体試料中については特にトルエンを取り上げ、その代謝物も含めた分析法の開発及び適用を

行った。一方、環境試料については、モニタリングに資するバイオアッセイ手法の開発として、河川水や大気などの環境試料中に存在する様々な汚染物質による生態リスクや健康リスクを評価するためのバイオアッセイ手法の構築を行い、国内多地点での環境試料によるデータを蓄積した。

2.2 研究の成果

2.2.1 生体試料中有機毒性物質の簡易測定法の開発及び毒性評価

トルエン曝露量評価の手法開発として、ヘッドスペース-SPME法を適用し、最適化した。その結果、5 μ Lの微量血液を用い、9 ppmのトルエンを鼻部曝露した妊娠ラットの胎仔血液から有為に高いトルエンが検出された。さらに、曝露濃度の上昇に応じた胎仔血中トルエン濃度の増加も認められ、胎仔血中濃度（血液量あたり）は母体血中濃度よりも低い傾向であることが認められた。

一方、上記のヘッドスペース-SPME法はマウス乳仔の脳と胃内に残存していた母乳中トルエン濃度の測定にも適用可能であることが確認された。本法を用いて母仔ともにトルエンに全身曝露したマウスを測定した結果、血液・脳中トルエン濃度は同程度であったのに対し、胃内の母乳中濃度は約10倍であり、乳仔の曝露経路として母乳の寄与が大きいことが示唆された。

トルエン曝露量評価の手法開発の一環として、羊水中当該物質の代謝物濃度の測定を行った。代表的な代謝物である馬尿酸をLC/MS/MSによって定量する方法が確立できた。

クロルピリホス曝露評価の手法開発において、その代謝物（クロルピリホスオキソン体、TCP）のLC/MS/MSによる分析法を作成した。即ち、MRMモードを用い2 pgで十分なS/N比を得られること、0.2 ng/mL～50 ng/mLの範囲で直線性が認められることが確認された（図40-1）。これらの検討に加え、固相抽出を用いる尿試料の前処理法等も作成した。本法を用いてクロルピリホスを腹腔内投与したラット尿について分析したところ、ほとんどがTCPのグルクロン酸抱合体として検出され、投与後1日で最大となり、その後減少してゆくことが確認された。

2.2.2 環境モニタリングに資するバイオアッセイ手法の開発と適用

河川水や大気中の化学物質の環境調査による曝露評価の高度化のため、酵母アッセイを用いた様々なホルモン受容体結合活性を指標とする新たな環境調査手法の構築を行った。また、本法を用いて化学物質のスクリーニング並びに水質調査を実施した。

ダイオキシンやある種の多環芳香族等と強い親和性を

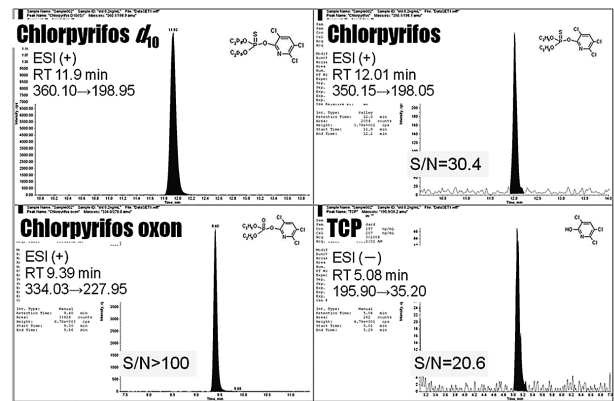


図40-1 クロルピリホス及び代謝物のクロマトグラム（各2 pg）

持つことで知られているアリルヒドロカーボン受容体（AhR）の導入酵母による迅速で簡便なバイオアッセイシステムを構築した。本法を用い、PCBの24化合物とその代謝産物として知られる水酸化PCBの84化合物についてAhRアゴニスト活性をスクリーニングしたところ、PCBの12化合物（50%）、水酸化PCBの52化合物（62%）から活性が検出され、水酸化PCBの中には、ダイオキシンに匹敵する強い活性を示す化合物が見出された。

メダカ・エストロゲン受容体（medER）導入酵母アッセイによる環境調査において、河川水から特異な活性を示す未知の化学物質が検出され、排出源の工場排水から抽出を行い、同定を試みたところ、TOFMSにより4-(3-phenylpropyl) phenolが検出された。本化合物を合成し、medER酵母アッセイを用いてエストロゲン活性を測定したところ、bisphenol Aに比べて約20倍強い活性を示し、廃プラスチックの燃焼過程で生じる新たな活性物質であることを明らかにした。なお、medER酵母アッセイ法の河川水等の環境曝露モニタリングへの適用は、エストロゲン活性を示す工業系化学物質に対して鋭敏であることから、魚類など生態系生物への曝露及び影響評価の高度化につながる事が期待される。

生体内リガンドであるall-trans レチノイン酸の過剰曝露が奇形を引き起こすことが知られているレチノイン酸受容体（RAR）導入酵母アッセイの環境調査への適用において、特定の河川や溜め池から特異的な強い活性が検出された。強いRAR結合活性物質は藻類などの水生植物からの遊離が確認され、藻類に含まれるRAR結合活性物質の同定を試みたところ、7-hydroxy レチノイン酸の異性体の混合物であることが判明した（図40-2）。

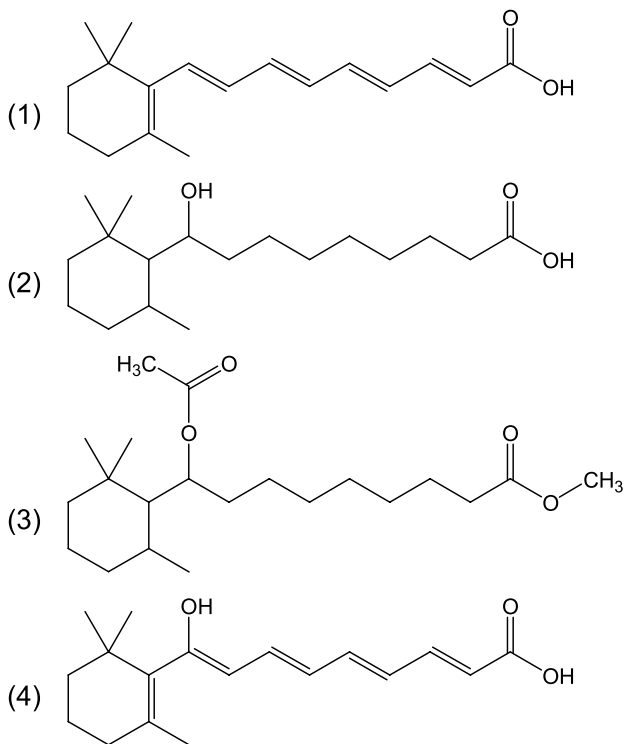


図 40-2 藻類に含まれる強い RAR 結合活性を示す化合物

- (1) all-trans レチノイン酸 (生体内リガンド)
 (2) ~ (4) 藻類の 7-hydroxy レチノイン酸

一方、大気粉じん調査において、北海道、茨城、群馬、東京の冬季試料から比較的強い AhR 結合活性が検出された。なお、大気中に存在する発がんイニシエーション活性物質としてジベンゾチオフェン、ベンゾ[b]ナフト[2,1-d]ナフトチオフェンの測定法を作成し、大気試料中からそれぞれの化合物を検出すると共に、その国内分布を明らかにした。

本課題では、曝露評価の高度化のために有効と期待できる様々なホルモン受容体導入酵母アッセイ法を構築し、その適用性を確認した。本法は水環境や大気環境の新たなモニタリング手法として、化学分析と相補的に利用されることが期待される。

3. 生態影響試験法の開発及び動向把握

3.1 背景

化学物質管理のため各国政府は製造輸入事業者には当該物質の諸情報の提出を要求し、かつ試験法を定めている。化学物質管理を目的とする試験法に関し、経済協力開発機構 (OECD) は試験ガイドラインを採択し化学物質の登録情報の加盟国間の相互承認を求めている。本研究は生態影響試験に関し OECD の試験ガイドラインプログ

ラムの活動に対応し新規試験法の制定または改定について情報の収集と詳細についての確認を行うこと、様々な試験法の国内での円滑な実施のための検討を行うことである。これらは、リスク評価手法の重要な過程であり、化学物質による生物への影響を防止するための方策の検討に寄与することになるため、リスク評価および化学物質管理手法の進展にあわせた試験法の開発など総合的な見地から検討を進めることとする。さらに、本研究では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の繁殖試験法の検討を行った。殺菌剤のペノミルを用いた繁殖試験では、良好な用量反応関係が得られ、試験の結果は国際リングテストの結果とよく一致した。この検討に基づいて国内の生態影響試験を実施している GLP (優良試験所基準) 試験機関の協力をえつつ試験機関向けの標準試験手順案をまとめた。また、同種を用いた生物蓄積性試験法 (TG316) が新規提案されて、化学物質のシマミミズへの生物利用可能性に関係があるため情報の収集に努めた。シマミミズ以外の土壌生物種として、原始的な昆虫類のトビムシ (TG232) および捕食性土壌ダニ (TG226) の繁殖試験法については横浜国立大学と共同して検討した。前者に関しては、試験ガイドライン化に向けた国際リングテストに参加し、OECD の同試験の妥当性検証報告書の作成に貢献したほか、試験結果についてその変動要因の解析と留意事項をまとめた。

底生生物を用いた生態影響試験法の検討

オヨギミミズの繁殖試験法の OECD 試験ガイドライン (TG225) が採択された。本種は分裂という特殊な繁殖法で増殖する種であるため国産種のイトミミズを用いた試験手法とは異なるため、ガイドラインの検討はその実験室での飼育法や繁殖率の確認から行った。試験生物を入手後、飼育水温、餌料、底質の検討を行い人工環境下での試験生物としての飼育法を確立した。続いて TG225 の規定による試験条件下での観察と繁殖率を

測定した結果、推奨される人工底質ではオヨギミズが底質層に掘潜しにくいことがわかった。そのため、詳しい底質の調製に関する情報の入手、もしくは代替法の開発が必要となった。しかしながら、現行手順でもガイドラインの定める妥当性基準は満たすことから今後さらに検討は必要ではあるが本試験法は妥当であると判断された。

底生生物ユスリカを用いた内分泌攪乱物質のための試験法としてライフサイクル試験 (TG233) が採択された。本試験は既存のユスリカを用いた試験法を延長して交尾・繁殖・次世代への影響を指標とする試験である。欧州諸国で多く使用される種については適用可能であることが確認されているが、国産種セスジユスリカが使用できるか検証した。その結果、少なくとも繁殖率に関する試験の妥当性基準は満足することが確認されたが、今後さらに検討し試験手順の確立が求められる。

内分泌攪乱物質のための試験法の開発

OECD の内分泌攪乱物質に対応した試験法開発プロジェクトに対応して日米および日英などの共同研究を進める中で、新たな試験手法を OECD に提案してきた。無脊椎動物ではオオミジンコ繁殖試験 (TG211) を改訂し観察項目にオス個体の出現を指標とするオプションを追加した。さらに魚類を用いた試験法 (TG230)、両生類を用いた試験法 (TG231) の共同提案国となった。

その他の試験法の検討

ミジンコ繁殖試験 (TG211) の影響指標の変更を求める改訂提案がなされた。提案は従来法が親世代の死亡がないことを前提に死亡した雌の産仔データは除いて1雌の累積産仔数に基づき毒性値を算出するのに対し、提案法では親世代の死亡が化学物質の毒性影響であると見なす場合親の生死に拘わらず全個体の産仔データを用いるとしていた。環境省が行ってきた同試験結果を基に本提案を検証するため、提案法を用いて毒性値を算出し、従来法と比較した。見直し対象 277 試験中、従来法の NOEC 値に近い濃度区で死亡が見られることから 53 試験で毒性値が異なる可能性があるが、再計算の結果従来法と同じ 37 試験、14 試験では従来法よりも低く推定されたが、2 試験では逆に高くなった (表 4)。このように改訂提案は毒性値を引き下げる場合があるが、その割合は多くないという結果であり、検討結果は OECD 事務

局および提案国に回覧された。

表 4 オオミジンコ繁殖試験の新たに提案された毒性値算出法による再計算結果

対象とした試験数	277
毒性値が変わる可能性のある試験数	53*
再計算の結果、NOEC は変わらない	37
従来法より小さい	14
従来法より大きい	2

* 曝露した化学物質の影響と見られる親の死亡が見られないか、従来の LOEC 値よりも遙かに高い能動でのみ死亡がみられる場合は、NOEC 値が変わらないとみて除外した。

藻類微弱発光測定手法を利用して藻類生長阻害試験の改良・高効率化を図る手法の開発を行った。化学物質を緑藻に曝露し、曝露 24 時間後の生物微弱発光量を測定した。測定は励起光を遮断した後 1 分間の累積光子数として、対照区と曝露区の発光量を比較すると曝露濃度に応じて発光量が減少しているため、対照区と比較した発光阻害率と曝露濃度から 50 % 発光阻害濃度を算出した (予測値とする)。別に環境省が求めて公表している OECD-TG201 (藻類生長阻害試験) 毒性値 (報告値) を比較した (図 41)。予測値は一部の揮発性物質を除いて概ね一致した。

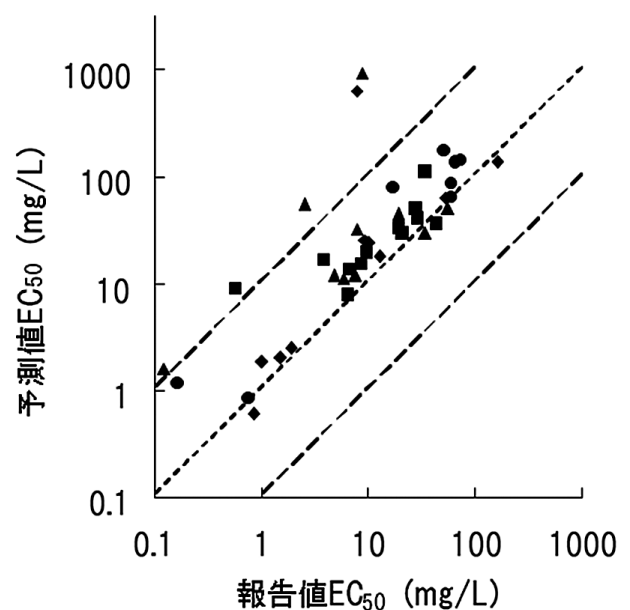


図 41 OECD TG 201 実測 EC50 と生物微弱発光計測法による予測値 EC50 の関係

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。その結果、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、シミュレーションで除草剤のボトムアップ効果が大きいことが示唆された。

4. 構造活性相関等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WSSD2020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)」<http://kate.nies.go.jp>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。この試用版KATE ver0.1では、化学物質の部分構造の取得は商用プログラムを用いており、商用のプログラムを無料配布することが不可能であること、利用者に対して費用負担を求めることは避けたいことから、独自プログラム構築の実績がある大分大学と共同研究を行い、パソコンにインストールして使用するス

タンドアロン版「KATE on PAS」とインターネット上のブラウザ画面で操作するインターネット版「KATE on NET」をその成果をもとに平成21年3月に公開した。試用版からの変更は、実測LogP値による毒性予測を基本とすることであり、ユーザーがLogP値を指定しない場合は、「KATE on NET」ではBioByte社のアルゴリズムにより算出したCLogP結果を用い、「KATE on PAS」ではUS EPAで開発されたKOWWINによる計算LogP値を用いた。著作権および技術的な問題から異なる予測値を用いざるを得なかったが、化学構造を認識するための部分構造の取得プログラムには「FITS; Fragment Identification by Tree Structure」を共通に導入し、構造分類のプログラムの変更、環境省の生態毒性試験結果を追加し、化学物質の部分構造の分類ルールおよび部分構造の切り出しの定義を変更し、QSARモデルの見直しを行った。平成23年3月には環境省により報告された参照物質および実測log Pデータを追加しQSAR式の更新、ClogPを用いたQSAR式の種類の更新、QSARモデルの更新も同時に行った。構造C判定に皮膚感作性の反応性に関する部分構造の一部修正と精度向上のための部分構造を追加した。

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、甲殻類（オオミジンコ）、藻類、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）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42-1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42-1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。さらに、生物濃縮係数に係る記述子として $\log\text{BCF_TOX}$ 、反応性に係る記述子としてThe Partial Equalization of Orbital Electronegativities (PEOE)の導入が有効であ

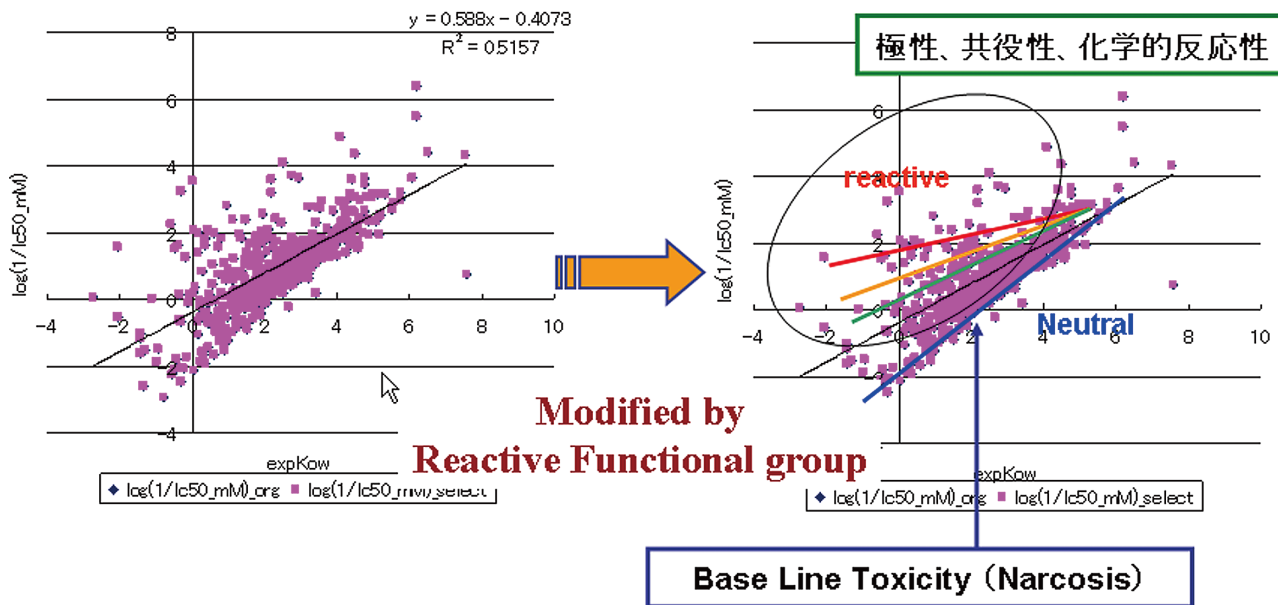


図 42-1 A) 魚類 96hLC50 と水-オクタノール分配係数（実測値）との関係、B) KATE モデルの構築方針

ることを認め、これらの記述子に対応できるよう KATE システム上の改変を完了している。

物質の構造が SMILES 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 QSAR 式の検索、③メカニズムにより再定義されたクラス (Neutral Organics など) の検索、④毒性値の計算、⑤適用ドメイン判定を下す。KATE2009 以降では構造解析のプラットフォームに FITS を利用し、さらに、構造式描画プログラムについて、KATE on PAS で開発された構造式描画プログラムを KATE on NET で使用できるよう移植作業を行った。具体的には VB.net プログラムを Java アプレットに移植した。これにより、両方で生成する SMILE に差異が生じることはなくなった。一方、試用版で準備していた LogP 予測、生分解性予測は当面廃止し、既存ツールを活用することとした。FITS により記述される化学物質の部分構造は、個別の QSAR 式に特有な部分構造および化学反応性を表現する部分構造に区分し、それぞれクラス 1 およびクラス 3 としている。部分構造クラス 1 の組み合わせと順位付けを記載したルール (クラス 2) に基づいて分類され、QSAR 式を割り当てる。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 QSAR 式は再定義ルール (モードオブアクション MoA) 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、記述子の範囲の拡大を通じて、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。

KATE で考慮する適用ドメイン判定は以下のである。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および麻酔作用 (Neutral Organics) を構成する参照物質には含まれない部分構造 (クラス 3) がある場合に × を示す。記述子判定：入力された構造が当該クラスを構成する参照物質の記述子上限と下限の間に無い場合に × 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 × 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は、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 42-2)。各 QSAR モデルを用いるにあたり、毒性値既知の物質による検証を行った。検証に用いたデータセットは、魚類については、平成 22 年 3 月公開版及びその後試験された一部の環境省生態影響試験結果 (限度試験を除く) 及び EPA Fathead Minnow デー

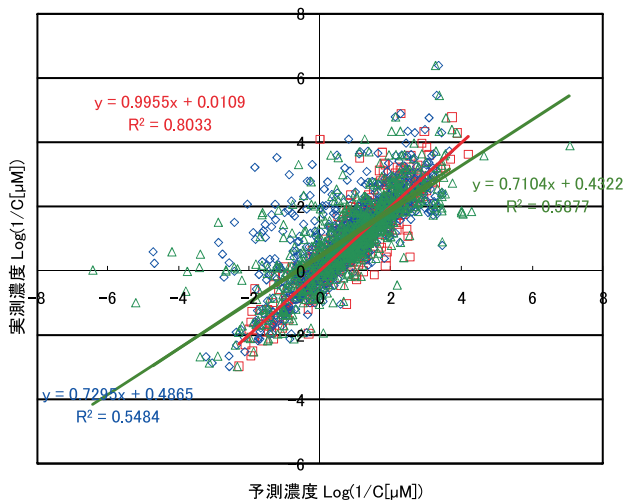


図 42-2a 各 QSAR モデルによる魚類毒性の予測値と実測値の比較 (□: KATE、△: ECOSAR、◇: TIMES)

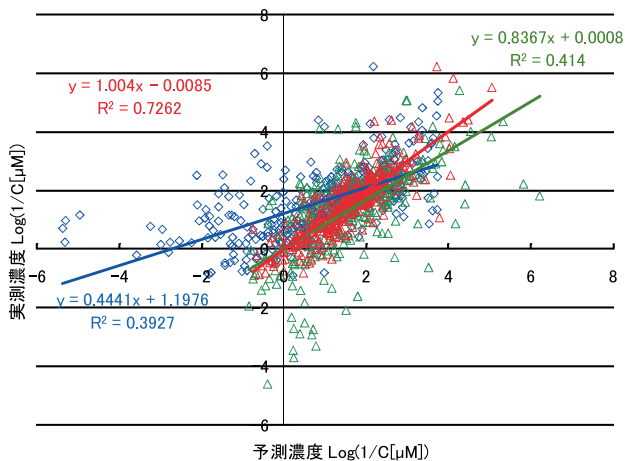


図 42-2b 各 QSAR モデルによる甲殻類毒性の予測値と実測値の比較 (□: KATE、△: ECOSAR、◇: TIMES)

データベースの (ファットヘッドミノー) を、甲殻類については、魚類同様に環境省影響試験結果 (限度試験を除く) 物質である。検証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、決定係数等を計算した。

ECOSAR の決定係数は魚類で 0.58、甲殻類で 0.41 であった。Times での結果は、決定係数は魚類で 0.54、甲殻類で 0.39 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 0.80、甲殻類で 0.72 であり、誤差も他と比較して小さな結果を得ている。総合的には KATE モデルによる予測が実測値と比較的高い一致を示しており、部分

構造等によるクラス分類を行う点で共通する ECOSAR と比較して似通った傾向はあるもののバラつきは小さく抑えられている。

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、2 回の更新を経て現在 KATE2011 版を公開している。生態毒性を予測する他の 2 つのモデルと比較しても同等の性能が期待できる。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、LogP 以外の記述子の検討、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。外部参照物質による QSAR 式の検証などの作業によりモデルの改良が引き続き必要である。

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、化学物質曝露のヒトに対する発がん作用のリスクを、トランスジェニック動物を用いた *in vivo* 変異原性 (*in vivo* mutagenicity) 試験、バクテリアを用いた Ames 試験等の *in vitro* 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、非意図的生成物の影響を重点的に検討した。

トランスジェニック動物を用いた *in vivo* 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。

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トランスジェニックマウスを用いる *in vivo* 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。そこで、土壌等から検出された3,6-Dinitrobenzo[e]pyrene (3,6-DNB_eP) 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の突然変異検出の標的として大腸菌 *rpsL* 遺伝子を導入した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。

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し、さらに *in vivo* 変異原性と実験動物での発がん性を比較し相関性を検討した。また、1) 化学物質が実験動物の組織中で誘導する突然変異と、ヒトがん組織中のp53遺伝子(がん抑制遺伝子)の突然変異の比較、および、2) 化学発がんによる実験動物における10⁻⁵リスクレベルと、疫学研究から導出した10⁻⁵リスクレベルをもたらし曝露濃度の比較から、化学物質が実験動物で示す発がん性と人で示す発がん性の同等性を作用機序の観点から検討した。

5.2 研究の成果

5.2.1 トランスジェニックゼブラフィッシュを用いたPBTA-6とベンゾ[a]ピレン (BaP) の *in vivo* 変異原性の検出と *in vitro* 変異原性試験の結果との比較

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はAmes試験でBaPと遜色のない強力な変異原性を示すことが分かっている。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Tg-ZF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。

PBTA-6はフレームシフト変異を検出するTA98株によるAmes試験ではB[a]P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43-1、表5-1)

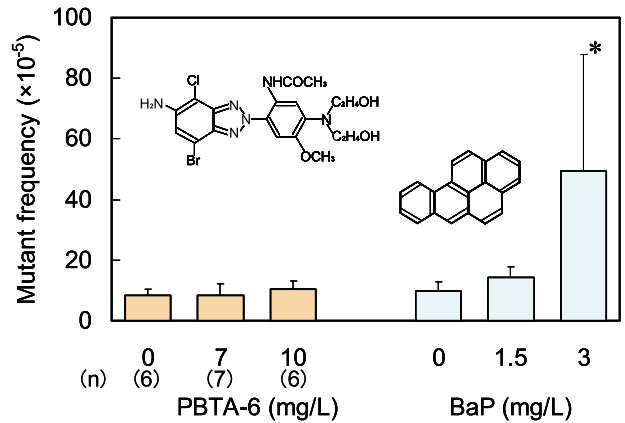


図43-1 PBTA-6を曝露した *rpsL* トランスジェニックゼブラフィッシュのエラにおける突然変異頻度-ベンゾ[a]ピレン処理ゼブラフィッシュとの比較- (**p* < 0.05)

表5-1 PBTA-6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 μM**
	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

5.2.2 トランスジェニックマウスを用いた3,6-DNB_ePの *in vivo* 変異原性試験

3,6-DNB_ePは *in vivo* 変異原性検出用トランスジェニックマウス・*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。Ames試験では3,6-DNB_ePも、大気中の浮遊粒子状物質に含まれる1,6-ジニトロピレンと同等以上の強い変異原性を示すが、*gpt delta* マウスでは変異頻度の上昇が観察されなかった。

5.2.3 化学物質の発がん性と *in vivo* 変異原性の相関性

従来から、 *in vivo* 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り、化学物質の発がん性と *in vivo* 変異原性の相関性を詳細に解析した。

表 5-2 各化学物質の TD50 と in vivo 変異原性

肝臓

Chemicals	dose/IMF	データ数	TD50	データ数	投与経路
2-acetylaminofluorene	231	3	5.52	9	d
4-aminodiphenyl	16.3	3	1.58	2	g
4-chloro-o-phenyldiamine	7700	4	1340	2	d
2,4,-diaminotoluene	1690	2	26.7	1	d
Dichloroacetic acid	67000	2	155	6	w
MeIQ	272	1	27.1	1	d
MeIQx	320	7	24.3	2	d
N-Nitrosodimethylamina	0.72	33	0.236	2	g
Oxazepam	1020	2	35.8	4	d
Urethane	2730	1	39.1	4	d ^{*)} .g+d ^{**)}

総投与量(dose)/IMF, mg TD50, mg/kg/day d, 混餌投与 g, 強制経口投与 w, 飲水投与 ^{*)}does/IMF ^{**)}TD50

肺

Chemicals	dose/IMF	データ数	TD50	データ数	投与経路
Benzene	4800	1	141 ^{*)}	1	ih
1,3-Butadiene	510	1	30	3	ih
cyclophosphamide	15.9	9	5.9	2	ip
Chlorambucil	6.2	2	0.13	2	ip
Ethylene oxide	862	1	61.8	1	ih
Urethane	303	1	26.9	4	d

ih, 経気道曝露 ip, 腹腔内投与 d, 混餌投与 ^{*)}CA Snyder et al Arch Toxicol (1988) 62, 331-335

化学物質の発がん性の強さは、動物への一生涯の投与により、50%の動物にがんが発症する投与量 (TD50) で表現される (TD50の値が小さいほど発がん性が高い)。そこで、1) 発がん性は Carcinogenic Potency Data Base (UC/Berkley) に記載された TD50 値のデータベース、2) in vivo 変異原性は OECD (2004) が収集した遺伝子導入動物への投与実験に関する既存文献情報のデータベースの両者に共通した化学物質について、動物種、投与経路、標的臓器毎に TD50 と in vivo 変異原性 (総投与量 / 突然変異頻度増加 (IMF)) を比較した (表 5-2)。TD50 と in vivo 変異原性の対数値には高い相関性 (マウスの肝臓 $r^2 = 0.82$ 、マウスの肺 $r^2 = 0.85$) が認められた。

5.2.4 化学物質曝露によりトランスジェニックマウス体内で誘導された突然変異と人がん組織 p53 遺伝子上の突然変異の比較

化学物質を曝露した実験動物体内での in vivo 変異原性と発がん性には高い相関性があることから、トランスジェニック動物体内で化学物質により誘導された突然変

異と、ヒトがん組織で発生した突然変異が同等であるかを検証した。

ヒトがん組織の p53 遺伝子 (がん抑制遺伝子) 上の突然変異は系統的に解析されており、既に約 50 種の組織についてデータベース化されている (http://p53.free.fr/Database/p53_database.html)。肺がんでは他のがん に比べ p53 遺伝子の突然変異発生頻度が高く、6126 例中 2314 例 (38%) で突然変異が発生している。一方、マウス肺中で発生した in vivo 突然変異については、我々が得ている化学物質等の曝露により *gpt delta* マウス肺中で発生した突然変異の解析結果を利用し、マウス肺中の突然変異スペクトルとヒト肺がん組織の p53 遺伝子上の突然変異スペクトルの類似性を比較した。

ゲノム上で突然変異の発生頻度が高い塩基をホットスポットと呼ぶが、ヒト肺がんの p53 遺伝子上ではコドン 157、273 の cgt、コドン 245、248 の cgg、コドン 158 の cgc、コドン 175、249 の ggt 配列の中央のグアニン (g) がホットスポットとなっていた。一方、大気中含まれる有害化学物質 BaP、1,6-ジニトロピレン (デー

タは示さず)を気管内投与、ディーゼル排気曝露 (DE inhalation)、あるいはディーゼル粒子 (DEP) を気管内投与した肺に曝露した *gpt delta* マウス肺では、同じく *cgt*, *cgg*, *cgc* 配列の中央のグアニン (g) がホットスポットであった (図 43-2)。化学物質を曝露したマウスの突然変異スペクトルと、ヒト肺がん組織中の p53 遺伝子(発がん遺伝子) 上の突然変異スペクトルは類似していた。このことはヒト肺とマウス肺では同等の突然変異が発生し、ヒトの場合はがん発症の原因の一つになっていることを示唆するものである。

5.2.5 化学物質による発がん性のヒトと実験動物間の同等性の検討

ヒトへの外挿の観点から動物実験データの有用性を検証するために、既に疫学データから発がん性をエンドポイントとして評価が行われ、大気環境指針値が設定されている化学物質のリスクを、動物実験データから再評価して、疫学データによる評価と比較した。検証のための対象化学物質としては、実験データが完備している塩化ビニルモノマー (VCM) と 1,3-ブタジエン (1,3-BD) を選択した (表 5-3)。

VCM 曝露の場合、ヒトでは肝・胆道系、脳神経系、呼吸器系のがんの発症が知られ、実験動物では肝血管肉腫の発生が知られている。また、1,3-BD の場合、ヒトではリンパ・造血器系のがん、実験動物では悪性リンパ腫及び組織球性肉腫、乳腺腫瘍が発生し、経気道曝露で比較する限り発がん部位は同様であった。

大気環境指針値は疫学データから 10^{-5} の発がんリスクレベルを示す曝露濃度を基準に設定されていることから、発がん実験の用量作用データからベンチマークドース法を用いて 10^{-5} レベルの曝露濃度を算出した。その結果、VCM では $1.7 \sim 19 \text{ mg/m}^3$ と指針値 10 mg/m^3 、

1,3-BD では $0.6 \sim 7.2 \text{ mg/m}^3$ と指針値 2.5 mg/m^3 と共に同程度の値となった。経気道曝露で比較し、かつ同じ発がん部位で比較する場合には、化学物質による発がん性の強さはヒトと実験動物の間で同等であった。

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、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が考えられる。一方、化学物質が *in vivo* 変異原性を示す場合、動物種、投与経路、標的臓器が同じ条件で比較すると、発がん性との間にはよい相関性が認められた。従って、*in vivo* 変異原性から化学物質の実験動物に対する発がん性は予測できることが示唆された。

次の課題は、*in vivo* 変異原性のデータから、ヒトにおける発がん性が予測できるか否かである。この課題を明らかにするには、実験動物とヒトで同様の作用機序で肺がんが発症するか、さらに、実験動物とヒト発がん性 (Carcinogenic Potency) が同様であるかを確認する必要がある。

第一に、作用機序の同等性を確認するために、有害な大気汚染物質の *gpt delta* マウスの肺への曝露により発生する突然変異のホットスポットを、ヒトでの肺がんの発症原因の一つと考えられる p53 遺伝子上の突然変異と比較した結果、両者とも *cgt*, *cgg*, *cgc* がホットスポットとなっていた。有害大気汚染物質がマウス肺で誘導するホットスポットと同じ突然変異がヒト肺がんの原因となっていることから考えると、有害大気汚染物質の曝露によってもマウス p53 遺伝子上にヒトと同様の突然変異が発生し、マウスでの化学物質による肺がん発症の原因

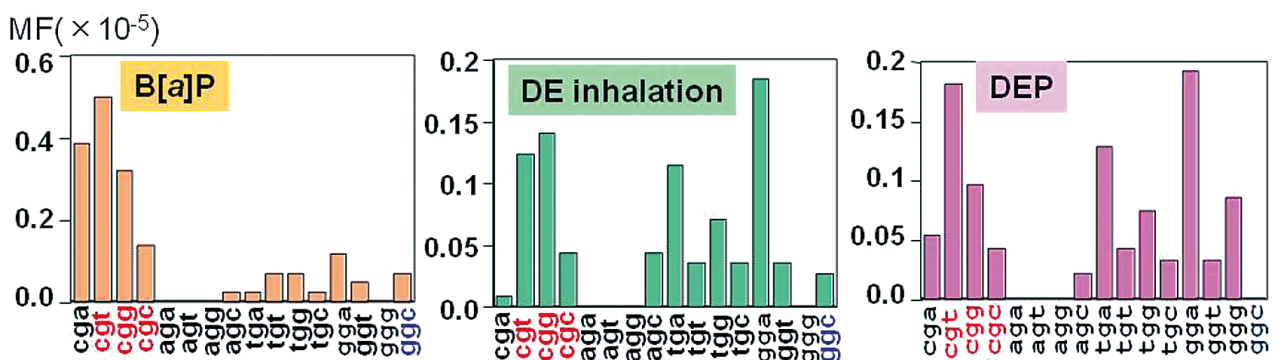


図 43-2 *gpt delta* マウス肺で高頻度に突然変異が発生する塩基配列

になっていると推察される。マウスとヒトの肺での発がんメカニズムは同等と考えられる。

さらに、2種類の有害大気汚染物質（VCM、1,3-BD）の曝露による 10^{-5} の肺がんリスクレベルをヒトと実験動物で比較すると、両者は同様であった。投与経路とエンドポイントが同じ場合は、化学物質のヒトでの発がん性を実験動物のデータから予測することは妥当であることが示された。

すでに、別の研究から都市大気から採取した粒子状物質の抽出物が、十分な *in vivo* 変異原性を示すことをすでに明らかにしている。今後は、既往の知見等の詳細な解析を進め、*in vivo* 変異原性のデータからヒトにおける発がん性が予測することの妥当性を検証し、*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、大気など環境から曝露される化学物質総体の影響による発がんリスク等の健康リスクを推測する手法についてもさらに検討を進めたい。

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

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。一方で、化学物質の曝露が、ヒトを含む生物の健康に、どのように影響しているかについての研究が、様々な確度からなされてきたが、研究者の興味やその時々の問題に応じて行われ、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。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、既存化学物質の毒性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（情報科学）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

表5-3 発がん性を有する有害大気汚染物質の動物発がんデータからのリスク評価結果

	大気環境基準 または指針値 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	動物発がんデータによる評価	
		UR (per $\mu\text{g}/\text{m}^3$)	文献, 種, 系統, 性別, 曝露期間, 曝露濃度, エンドポイント
		Conc. at RL 10^{-5} ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	
塩化ビニルモノマー	10	$5.3 \sim 6.3 \times 10^{-7}$	Maltoni et al.(1981), rat, SD, 雌雄, 52週, 50-10000 ppm, 肝血管肉腫
		16~19	
		5.8×10^{-6}	Maltoni et al.(1981), rat, SD, 雌雄, 52週, 100-200 ppm, 悪性腫瘍
		1.7	
		1.9×10^{-6}	Maltoni et al.(1981), rat, SD, 雌雄, 52週, 100-200 ppm, 肝血管肉腫
		5.4	
		1.3×10^{-6}	Hong et al.(1981), mouse, CD-1, 雌雄, 1-12月(累積), 50-1000 ppm, 肝血管肉腫
		7.8	
1,3-ブタジエン	2.5	6.7×10^{-7}	Hong et al.(1981), rat, CD, 雌雄, 1-12月(累積), 50-1000 ppm, 肝血管肉腫
		15	
		$2.3 \sim 3.8 \times 10^{-6}$	NTP (1993), mouse, B6C3F1, 雄, 2年, 6.25-625 ppm, 悪性リンパ腫/組織球性肉腫
		2.6~4.5	
		$1.4 \sim 1.9 \times 10^{-6}$	同上 雌
		5.2~7.2	
		$1.8 \sim 1.9 \times 10^{-6}$	同上 雌雄
		5.3~5.6	
		$1.6 \sim 1.7 \times 10^{-5}$	NTP (1993), mouse, B6C3F1, 雌, 2年, 6.25-625 ppm, 乳腺腫瘍
		0.58~0.64	

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。従って、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。

そのために、本研究では、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ためのデータベースとデータ解析システムの構築を行った。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。具体的には、3種のシステムの構築を考案した（図44-1）。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データベース、毒性大量データ取得システム（Chemical Toxicity & Gene expression, ChemToxGen）である。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CASNo.による検索に対応してGEO（Gene Expression Omnibus, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>



図44-1 健康影響の統合データベース HEALS（Health Effects Alert System）の構築
 化学物質の毒性予測と新たなリスク評価手法確立のために、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。

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、ChemToxGen のカテゴリ検索に搭載した。ChemToxGen に搭載している化学物質と、米国環境省の公開データベース DSSTox (URL: <http://www.epa.gov/ncct/dsstox.html>)、

ToxCast 搭載 11141 物質をつき合わせて、整理、集約し、現在約 5000 の化学物質に関する毒性情報を毒性のカテゴリに分けて、外部公開用の ChemToxGen に搭載している。

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 44-2)。pCEC は、産業技術総合研究所との共同研究により開発した、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、

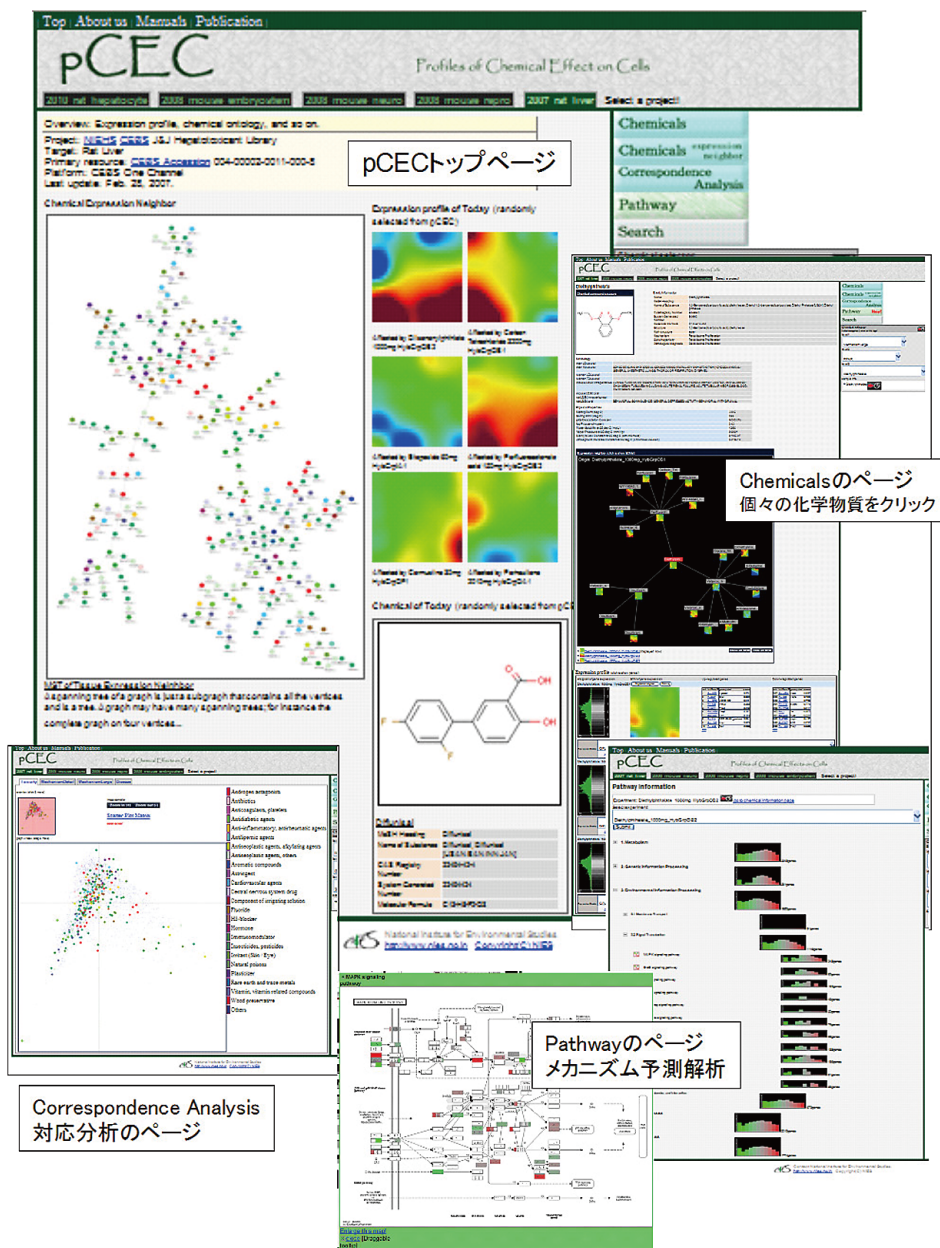


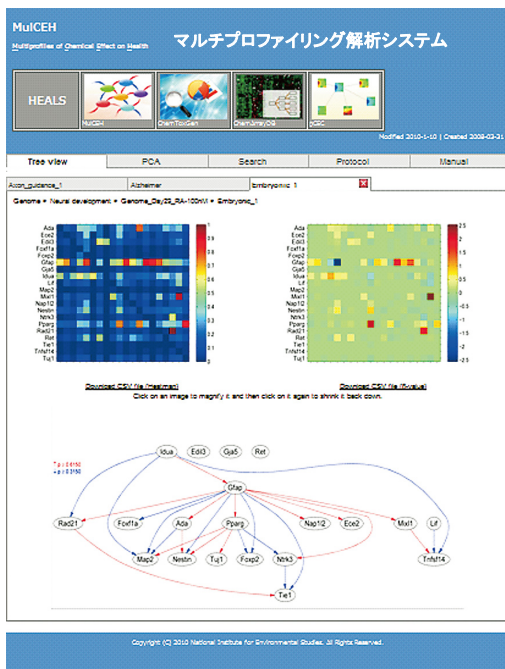
図 44-2 化学物質の影響による類型化システム pCEC の概要
pCEC のトップ、Chemicals、Correspondence Analysis 及び、Pathway のページを示した。

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提示するようにシステムを構築した。現在、外部公開データベース GEO からラット肝細胞、神経細胞、生殖系細胞のデータ、NIEHS/CEBS からラット肝臓、インハウスのオリジナルデータであるマウス胚性幹細胞（GEO に登録済み）のデータを搭載している。これらは、遺伝子発現を指標に延べ 144 の化学物質について、類型化データを搭載している。

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, MulCEH）である（図 44-3）。MulCEH は、ベイズ推定の一つであるベイジアンネットワーク手法によって、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表現型データを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。現在、内部公開中の MulCEH には、pCEC のマウス胚性幹細胞から神経分化への影響を調べた 12 化学物質の遺伝子発現ネットワークと神経塊のサイズや神経突起に関する形態指標データによって解析したマルチプロファイリングの解析結果を搭載している。その結果は、先述した pCEC によって、マイクロアレイデータから細胞機能や疾患に特化した遺伝子を選び出して遺伝子セットとし、初期曝露による遺伝子変化と神経細胞の形態変化を指標とした晩発影響（胎生プログラミング異常）の予測ネットワーク図を掲載している。同様な解析をラット肝臓における遺伝子発現と、前癌病変、発がん率データを用いて発癌予測解析も行った。

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・病態レベルの情報を網羅的に収集し、スコアリング化することにより、迅速な未知物質の影響予測が可能になると考えている。



マルチプロファイリング解析システムに用いているベイジアンネットワークの原理

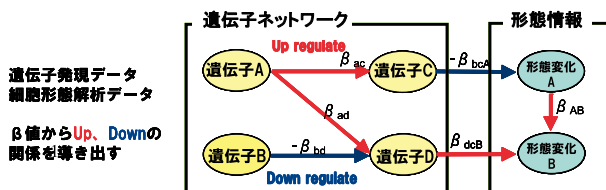


図 44-3 マルチプロファイリングシステム（MulCEH）の概要と原理

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。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。また、リスクコミュニケーションの課題としては、ケーススタディとして生物多様性の保全への取り組みを取り上げた。

(1) リスク評価及びリスク管理に関する動向の把握

OEDD（経済協力開発機構）化学品プログラムにおけるテストガイドライン、曝露評価、および高生産量化学物質のリスク評価に関する会合への参加を通して動向を把握した。この他、他の国際機関や主要国における化学物質管理制度や関連資料の収集を行った。

(2) 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月に垂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、それぞれの評価手法がその適用する行政判断の差異から必ずしも整合している状況ではない。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、総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が、知見の多寡が目標値そのものに影響すること、短期試験と長期試験データを同列で利用することに関してはその妥当性に疑問があった。そのため、答申の改訂を目指した検討を行った。その中で、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。また導出スキームでは長期試験データを優先利用を含む大幅な改訂提案を行った。

(3) 化学物質の毒性、生態毒性等に関する知見の集積

環境リスク評価およびリスク管理手法の検討のため、化学物質に関する物理化学的性状、環境運命、環境中の存在状況及び生態毒性に関する情報の集積を進めた。その結果、本中期計画期間中に1500物質のばく露情報、約7000件の生態毒性1次データ（原著論文・試験報告書）を収集し、環境毒性信頼性評価のために3800件の情報シートを作成した。これらの蓄積にたつて138物質の初期リスク評価等の基礎データとして活用された。

(4) リスクコミュニケーションに向けた検討

地方公共団体向けのリスク評価の方法と結果に関する解説をまとめた。

また、ケーススタディとして、リスクとしての認知度が低い生物多様性について、地域の農業用ため池の保全を通して環境保全に取り組んでいる兵庫県播磨地域を対象に、主に社会学的な視点から研究分析を進め、「環境価値」と個人の行動について分析を行った。

第一に、ため池生態系を脅かすリスクのひとつとして、ため池の水管理手法の変化に着目し、冬季の水利慣行である「池干し」の実施の有無と、実施理由の変化について明らかにした。その結果、調査対象地の約半数の地域で、ため池の改修などを理由に池干しを実施しなくなった一方、一部地域で外来魚駆除を理由に池干しを再開している事例が見られた。そこで、「外来魚駆除を目的とした池干し」が、ため池生態系のサイクルを維持するのに役立っていると想定し、池干し再開に至った背景について、行政的支援のあり方についてヒアリング調査を行った。その結果、東播磨地域では、およそ53地区で、ため池の池干しによる外来魚駆除が、行政の支援のもとに実施されていることがわかった。

第二に、ため池に対する農業・環境という価値観が、ため池の保全行動の意思決定にどのように影響するかを検討するために、1つの集落を事例に、社会心理学的な手法を用いた、ため池の保全に関する意識調査（集落全戸へのアンケート調査）を実施した。その結果、人々の身近な環境資源の管理行動に至る意思決定プロセスにおいても社会的な行動理論が適用できること、“社会規範”（他者の動向）が環境配慮行動に与える影響は有意に大きいことなどが明らかになった。

そこで、この研究例を発展させるため、都市域にあるため池を対象により規模の大きな調査を実施し、農業者ではない一般住民の行動に関する調査と解析を実施した。

8. 化学物質の定量的環境リスク評価と費用便益分析

化学物質が、自然生態系に与える負の影響を定量的に推定する生態リスク評価は従来、藻類、ミジンコ、メダカなどの試験生物を使った急性もしくは慢性毒性値と、環境中化学物質濃度との比率に基づいた指標が用いられてきた。しかし、この指標は、急性－慢性外挿や安全係数の高精度化が達成されたとしても、実験室で飼育され

てきた試験生物を使って推定した毒性データに基づくので、実際に野外に生息している生物が化学物質の影響をどの程度被っているかを直接示すものではない。

本研究では、この点を克服する方法として、野外生物を調べる生物モニタリング、特に、生物が適応進化によって化学物質への耐性を獲得することを利用して、化学物質の生態リスクを推定する集団遺伝学的生物モニタリングを開発した。

化学物質の生態影響評価の高精度化とともに、科学的知見に基づいた合理的な化学物質管理法を構築するためには、管理もしくは化学物質の排出削減コストと生態影響低減の利得の算定に基づいた最適管理手法の開発が必要である。2番目のサブテーマでは、毒性影響や管理コストなどに情報の不確実性が伴う場合の管理法の最適化に関する理論的な研究を行った。

(1) 集団遺伝学的モニタリング手法の開発

生物のあらゆる性質（形質）は、進化によって遺伝的に変化することが知られている。殺虫剤に対する昆虫の耐性の獲得は、生物の小進化（種分化を伴わない形質の適応進化）の例である。このことは、野外に生息する生物が化学物質への耐性をどれだけ獲得しているかを調べれば、化学物質汚染の程度を間接的に推定できることを意味している。実際、化学物質耐性の地域個体群間変異の研究は、生態毒性学における重要な研究テーマの一つとなっている。生物の個体群が、ある化学物質への耐性を獲得しているということは、その個体群がその化学物質に長い間曝されてきたことの強い証拠となるからである。

本研究では、耐性の個体群間変異を検出するだけでなく、耐性の適応度コストを実験室内で推定し、数理生態学モデルで解析することにより、生物個体群が被っている個体群レベル影響を定量的に推定することを試みた。事例研究としては、ミジンコの1種（カブトミジンコ *D. galeata*）を対象種に選定し、霞ヶ浦においてフェンバレート（殺虫剤）による汚染がどの程度であるか、集団遺伝学的モニタリング法による推定を試みた。霞ヶ浦（恋瀬川河口および湖心）で採集したカブトミジンコと汚染の少ないため池（大膳池）で採集したカブトミジンコの耐性を比較した。フェンバレートに対する急性毒性値（半数致死濃度）は、霞ヶ浦の個体群では、汚染のほとんど無いため池の個体群と比較して数倍から十倍

近くも高いことがわかった。マイクロサテライト DNA を遺伝マーカーとして個体群間の遺伝的な違いを調べると、全体のミジンコ個体群が2つのグループに分類されるという結果が得られ、同じ湖に生息する同種のミジンコでも地理的な障壁（距離による隔離）によって遺伝的に分化していることがわかった。つまり、個体群間の遺伝子流動は十分に小さく、観測された耐性の個体群間の差異は、個体群の局所的適応によるものと解釈された。

化学物質への耐性の高い個体もしくは系統は、化学物質の曝露が無い環境では、感受性の高い個体や系統より繁殖能力が低くなる一般的な傾向があることが知られており、耐性の（遺伝的）コストと呼ばれている。野外で採集したカブトミジンコの多数系統（同一メス親クローン isofemale clone）に対して、フェンバレート急性毒性値と内的自然増加率（個体群の増加率）を実験室内で測定したところ、化学物質耐性の高いクローンは、化学物質曝露が無い条件下では、耐性の低いクローンに比べて繁殖能力が低い傾向があり、耐性のコストが定量的に検出された（急性毒性値 [対数スケール] に対する内的自然増加率の回帰係数が 0.045；図 45-1）。

生物は、理想的な条件下では、自然選択によって適応度が最大となる最適な状態にまで進化するという集団生物学の定理（適応度最大化原理）を採用することによって、耐性のコストとベネフィット（化学物質曝露がある条件下においては、感受性系統と比較して適応度が高いこと）のバランスから、ミジンコが曝されてきた化学物質濃度を逆推定することができる。

淡水動物植物プランクトンの内的自然増加率は、化学物質の曝露濃度が高くなるにしたがって、ほぼ2次関数的に低下することが先行研究から明らかになっている（図 45-2）。耐性のコストが、耐性値に対して直線的に

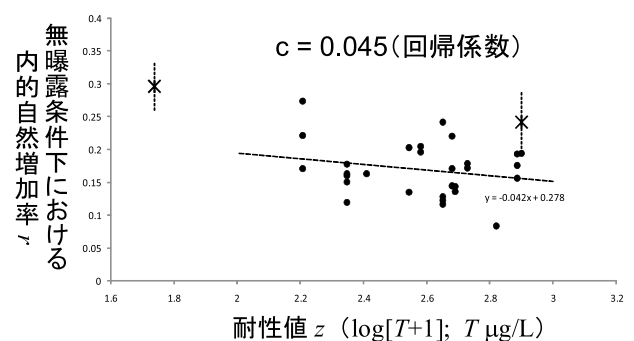


図 45-1 カブトミジンコ (*Daphnia galeata*) におけるフェンバレート耐性の適応度コスト

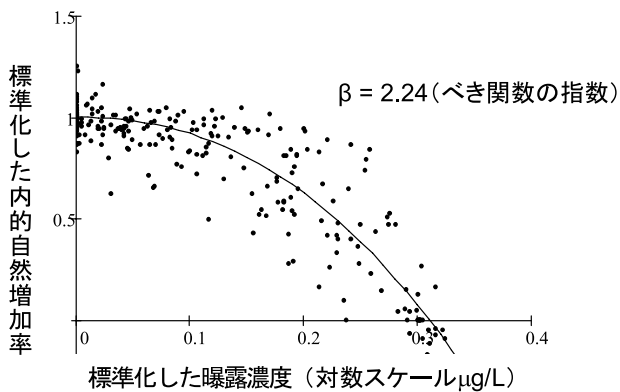


図 45-2 化学物質の生活史毒性データに対するメタ解析に基づく濃度-内的自然増加率曲線

増加すると仮定すると、適応度関数は次式で表される：

$$r_{x,z} = \{r_{\max} - c(z - z_{\text{ref}})\} \left\{ 1 - \left(\frac{x}{z} \right)^\beta \right\}$$

(r_{\max} :最大内的自然増加率、 c :耐性のコスト、 z_{ref} :レファレンス集団の耐性値、 β :2.24、 x :曝露濃度)。化学物質の平衡曝露濃度の予測値は、適応度の極大値をもたらす数値として推定した。その結果、定常的な曝露濃度は、恋瀬川（高浜入り）で $15 \mu\text{g/L}$ 、湖心で $14 \mu\text{g/L}$ と推定され、内的自然増加率の減少率として表した生態リスクは、23%と推定された。曝露の濃度は、これらの個体群の急性毒性値の100分の1程度であることが示唆された。

(2) 不確実性に頑健な化学物質の排水規制値を導き出すための理論的研究

化学物質の排水規制値を設定する際、様々な不確実性に対処せねばならない。数種の試験生物による毒性実験で得られた結果が、必ずしも生態系全体の影響に当てはまるとは限らない。また、排水中の濃度を規制する事によって、環境中の濃度が実際にどう変化するかは明らかでない。一方、化学物質の排水濃度を低減させるためには、設備への投資等によりコストを伴う。そのために、生物の影響を減らすベネフィットと化学物質の排水中濃度を削減するコストの両方を考慮に入れて意思決定を行う理論的枠組みが必要となる。そこで、**Information-Gap** 理論を用いて不確実性に頑健な化学物質の排出規制値を導き出す手法を考案した。化学物質により影響を受ける生物の割合に重み付けをしたもの（生態系の価値）と、化学物質を減らすことに伴うコストの和を全コストと定義した。全コストがある値より大きくならないことを管理目標と設定し、最も大きな不確実性の下で管理の目標を達成できる排水規制値を導き出した。生態系の価値が大きく、化学物質の排水濃度を低減させるためのコストがそれほど大きくない場合、特に排水基準値を厳しくすべきであることの理論的な根拠を示すことができた。今回構築した意思決定の枠組みは、不確実性を伴う様々な化学物質管理に今後応用できると期待される。

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。

研究の成果

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、不適正な入力の影響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、更に当研究センター内または他機関のデータベースシステムとの連携・統合を図った（図 46）。

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

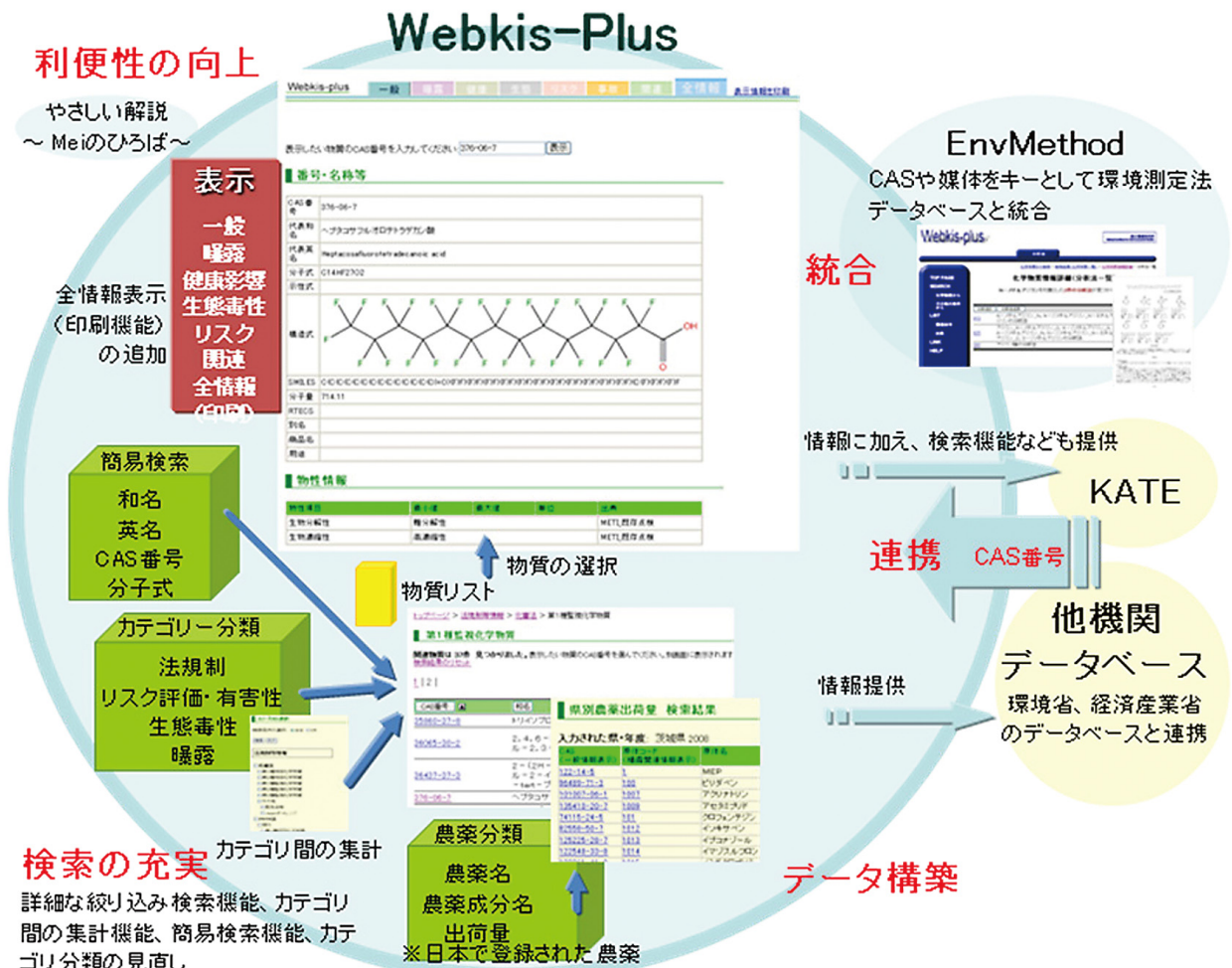


図 46 Webkis-Plus での化学物質の検索と情報の表示

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。検索の結果を情報毎に表示すると共に、全情報を一画面表示して印刷する機能を追加し、利便性の向上を図った。

データベースの統合により登録化学物質数が増大し、CAS番号の総データ数が利用規約による制限を越えるため、生態毒性データに関しては米国EPAのAquireデータベースを当面停止し、環境省等が実施する生態毒性試験結果のデータベース化に資源を集中し、テーブル設計などデータベース化に必要な作業を行い、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22年3月版生態影響試験結果一覧)を更新し、生態影響関連のデータの充実をはかった。また、リスク評価・有害性情報に環境リスク初期評価(第1巻～第8巻)、International Chemical Safety Cards(ICSCs)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、PRTR届出・届出外排出量、環境中濃度測定値として2008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、特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律、環境基本法、大気汚染防止法、悪臭防止法、水質汚濁防止法、水道法、下水道法、土壌汚染対策法、ダイオキシン類対策特別措置法の規制対象物質・基準値・指定値・許容濃度について、可能な限り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)との連携を図り、同じく別途公開中である環境測定法データベース(EnvMethod)とのCAS番号・媒体による統合を行った。更に、他機関である環境省の化学物質データベース検索支援システム「ChemiCOCO」、経済産業省の化学物質の安全性情報基盤システム「CIBS」との連携を進めた。

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。全情報の一画面表示・印刷などの機能を追加し、利便性の向上を図った。別途公開しているデータベースシステムとの連携や統合、更に他機関データベースとの連携を図った。現時点でデータベースに登録されている物質数は11669物質であり、このうちカテゴリー分類されたものは9770物質(内訳:法規制5768物質、リスク評価・有害性3882物質、曝露関連4731物質、生態影響591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損失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。2010年名古屋市で開催された第10回生物多様性条約締結国会議では、2002年オランダ・ハーグで採択された「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2010年目標の達成に失敗した現実を踏まえ、「生物多様性の損失を止めるために効果的かつ緊急な行動を実施する」ため2020年に向けた20の新戦略計画(愛知目標)が決議された。こうしたミッションを受け、今後は、保全のための施策を進めると同時に、生物多様性を適切に監視し、適切に評価する手法が必要となる。評価手法の開発や具体的な評価では、既存のデータの活用が重要になるとともに、生き物そのものの状態を指標する、より簡便な環境情報の活用が課題となる。しかし、生物多様性に関する情報は、これまで体系的に整理されることはなく、個別の研究報告や研究論文として、あるいは研究者個人のフィールドノートに

存在しているものがほとんどである。

一方、2010年5月に生物多様性条約事務局から出版されたGB03 (Global Biodiversity Outlook 3)によると、淡水域は生物多様性の損失が極めて深刻な生態系である。ため池は、稲作の灌漑用水供給のために人が造った二次的自然であるが、淡水域の多様な生き物の避難場所として機能し、多くの絶滅危惧種が生育・生息する空間である。しかし、ため池の生物相も、農家の高齢化や農業の衰退、ダム水の利用、都市化、池の管理手法の近代化、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対象地区(約30-40km四方)とし、研究のプロセスで生み出される生物多様性の評価に必要な生物ならびに流域詳細情報を整備した。

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ことで生物多様性の維持に寄与するとともに、水質浄化などの高い生態系機能を有する。従って、植生が消失したり、富栄養化が進行するとアオコが大発生して生物多様性の損失や生態系機能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類、種多様度、植生群落の被度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、新たな現地調査、既存の調査情報の収集、空中写真の判読などからデータベース化する作業を実施した。また、中核研究プロジェクトの研究成果から、ため池生態系における生物多様性を統合的に示す指標(統合指標)がクロロフィルa濃度および周辺の市街化率から導き出されることが明らかになった。そこで、市街化率を対象域全域について整備するとともに、衛星画像からため池のクロロフィルa濃度を推定する手法を検討した。さらに、生物多様性の低下をもたらすリスク要因と考えられる他の環境の情報も空間情報として整備した。

2.1 生物多様性や生態系機能に関する情報の整備

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をうけ統一フォーマット

にて整備した。

植生群落の被度は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として整備した。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全ての池に対し作成した。

池の夏季のクロロフィルa濃度は、将来的な水域の広域評価を目指す目的で、衛星画像から推定する手法を検討した。まず、2006年秋に取得したAVNIR-2センサによる衛星画像と現地調査による実測値をもとにクロロフィルa濃度を推定するアルゴリズムを開発し、比較的高い相関が得られた($R = .74$)。しかし、解像度等の制約から、対象とする池は比較的大型のため池で、かつ、植生が発達しないため池に限られた。そこで、2010年夏季に高解像度衛星Quick birdの衛星画像と取得日と同時期に実施した現地調査による実測値を用いて、小規模な池に対しても適応可能なモデルの構築を試みたが予測値と実測値の相関は満足できるものではなかった($R = .55$)。今後、対象領域のテクスチャも考慮したモデルを構築することで、モデルを高精度化することが求められた。

2.2 環境情報の整備

利用する可能性のある空間情報は、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。
- ・ため池の護岸率の情報は、撮影した空中写真と1/2500地形図から判読して、水生植物の調査を実施し

た池について整備した。

- ・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た。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、土地利用の変化について、過去にさかのぼり、時間軸にそったデータも整備した。

こうした情報整備に加え、これまで国立環境研究所の調査で得たため池に関するデータを整理し、メタデータ集を出版した(国立環境研究所業務報告F-116-2011「ため池に出現する生物とその環境(メタデータ集)」。また、インターネットを通じた公開に問題のない情報や解析により得られた知見を公開するためのサイト「ため池の生物多様性評価」を構築し(図47)、ため池の生物多様性を保全することの重要性やため池の生物多様性についての調査方法や研究結果を判り易く説明する解説ペー

ジを作成した。今後、本サイトを活用し、広く全国の淡水域での生物多様性評価のために必要な科学情報を提供する。

3. 侵入生物データベースの管理

目的と経緯

日本国内においても世界においても、生物多様性保全は環境行政の重要な課題の一つとされている。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、生物が人為的要因により本来の生息地外へ導入され、現地の生態系をかく乱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ため広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して回復を非常に困難にするうえ、自律的に影響を拡大させるという厄介な性質を持つ。外来種問題は世界的な問題であるうえに原因・影響とも多岐にわたり、そのため、あらゆる地域の様々な主体の間で情報を整理・共有することが不可欠である。2010年に名古屋で開催された生物多様性条約第10回締約国会議(COP10)の決議においても、データベースの公開などによる外来生物情報の共有化が明確に奨励されている。

このような状況を踏まえ、本研究業務では、日本における外来生物問題に関する様々な情報を整理・体系化してウェブサイト「侵入生物データベース」(<http://www.nies.go.jp/biodiversity/invasive/>)上で公開し、情報共有の促進を通じた外来生物問題の対策および一般への普及・啓発の促進を目的としている。

内容

2008年度末時点で、430種余りの外来生物情報が図鑑形式で整理され、分類群別のリストをもとに参照できるウェブデータベースとして公開されていた。本研究業務ではこれをさらに発展させ、本データベースを日本の外来生物情報のポータルとして機能させることを目指して様々な面で改良を加えた。現在、日本の外来生物に関する情報を図鑑形式で整理・体系化した従来の主要コンテンツ(「日本の侵入生物図鑑」)に加え、国内外の有用サイトを収録したリンク集を公開している。また、外来生物問題のグローバル性への対応として、英語版の構築も



図47 ため池の生物多様性評価のウェブサイト

行った。

<侵入生物図鑑について>

「侵入生物図鑑」の収録情報について整理・分析し、各外来生物情報ページのフォーマットの統一・改良を行った。これにより、生物学的基礎情報(分類、自然分布、生態など)と侵入関連情報(外来分布、導入時期・経路、影響、対策法など)が、より見やすい形で一覧できるようになった。また、収録情報を計算機で容易に取り扱える“データ”として書き直し、これに基づいて情報検索システムを開発し、ウェブ上で公開した。これにより、分類、分布、生息環境、導入時期・経路、影響など様々な属性に基づく外来生物情報の検索が可能になった。また、検索システムと並行して管理用ソフトウェアを開発し、情報の追加・更新を効率化させた。さらに、情報入力時に更新情報をウェブのトップページとRSSを通じて随時配信する機能を持たせた。

「侵入生物図鑑」に収録されているほとんどの外来生物について、最新の文献情報に基づく更新および誤記の修正を行うとともに、約80種の情報を追加した。これにより、2011年5月20日現在で515種類の外来生物情報が収録されている。うち418種類は現在日本国内に定着済みのもので、残る97種類は未定着のものである。すでに定着している418種は、国内・国外起源を問わず、様々な分類群、生息環境、導入起源・時期・経路、影響、対策法のものを含むよう選択されており、原因・影響とも多岐にわたる日本の外来生物問題の全体像を俯瞰できるよう配慮されている。未定着の97種類は、外来生物法の特定外来生物・要注意外来生物指定種のほか、海外で大きな生態影響を持つものなどを各種ブラックリストから選定した。これらにより、本データベースでは、日本で現在進行している問題の紹介と同時に、潜在的なリスクへの注意喚起という機能も持っている。

以上の改良を取り入れたうえで、「侵入生物図鑑」の

The image shows a composite of three screenshots from the 'Invasive Species Database' website. The top-left screenshot shows the main search interface with filters for 'Classification' (e.g., Mammals, Birds, Reptiles, Amphibians, Fish, Insects, etc.) and 'Origin' (Domestic, Foreign, etc.). The top-right screenshot, titled '簡易検索機能付きリンク集' (Simple Search Function with Link Collection), shows a table of search results with columns for Title, Site Type, Target Area, Target Species, and Distribution Status. The bottom screenshot shows a detailed entry for the Japanese Tortoise (ニホンスクワン), including its scientific name, distribution map, and a detailed description of its status as an invasive species.

検索機能付き侵入生物図鑑

英語版を作成・公開した。英語版も日本語版と同じく、現時点で515種類の外来生物情報が掲載されており、ほぼ同等の機能を持つ検索機能も備えている。これにより、海外に向けて日本国内の外来生物情報が発信され、世界的な情報共有への貢献が期待される。

<外部情報源のリンク集について>

従来の図鑑形式のコンテンツに加え、インターネット上に公開されている有用な外部情報源を集めたリンク集を作成した。これは、各地域ごとの外来種リストやデータベース、防除マニュアル、各種活動団体のサイトなど、関連する様々なウェブサイトを取録している。本リンク集は、サイトの形式、対象分類群、対象地域、収録情報の種類に基づいた簡易検索機能を備えており、欲しい情

報を容易に探せるよう作られている。現在は日本国内のサイトを対象とした試作版のみ稼働しているが、全世界を対象とした完全版の開発も進行しつつある。

今後の展望

以上の改良・拡張により、侵入生物データベースを通じて様々な外来生物情報へアクセスできる、日本国内における外来生物情報ポータルとしての機能が備わりつつある。今後、「侵入生物図鑑」・リンク集とも、機能・コンテンツ・使いやすさを更に強化することで、研究者・実務者・一般市民などの間における情報共有化を促進し、外来生物の種々の防除活動を支援するとともに、知識の普及・啓発に幅広く貢献することを目指す。

[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^{*)}

青木康展

研究調整主幹

山崎邦彦^{*)}

菅谷芳雄

曝露評価研究室

鈴木規之

櫻井健郎

今泉圭隆

小林 淳

河合 徹

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

古濱彩子

天沼喜美子^{*)}

永野麗子^{*)}

今西 哲^{*)}

赤沼宏美

座波ひろ子

佐藤陽美

黄倉雅宏^{*)}

生態リスク評価研究室

田中嘉成

菅谷芳雄

立田晴記^{*)}

瀬戸繭美^{*)}

横溝裕行

林 岳彦

中嶋美冬^{*)}

真野浩行

坂本正樹^{*)}

環境曝露計測研究室

白石不二雄

鑑迫典久

中島大介

高感受性影響研究室

鎌田 亮
平井滋恵*)
小田重人
岡 知宏
影山志保
柏田祥策*)
小塩正朗
藤巻秀和
石堂正美
山元昭二**)
黒河住香
塚原伸治*)
鈴木純子
北條理恵子*)

Tin-Tin-Win-Shwe

環境ナノ生体影響研究室

黒田淑子*)
福島 篤*)
平野靖史郎
鈴木 明*)
古山昭子
藤谷雄二
太田悠葵
菅野さな枝*)
種田晋二*)
李 春梅*)
高村典子

生態系影響評価研究室

西川 潮*)
赤坂宗光
伊藤 洋
今田美穂
今井葉子
松崎慎一郎*)
後藤純雄*)
堀口敏宏
五箇公一
李 政勲
郡 麻里*)
児玉圭太
漆谷博志
辻 宣行*)
中原美里*)
堂園いくみ*)

(主席研究員)

	今藤夏子 ^{*)}
	国武陽子 ^{*)}
	井上真紀
	富永 篤 ^{*)}
	岡本 卓
	森口紗千子
	早坂大亮
	小林亜玲 ^{*)}
	米田昌浩 ^{*)}
	鈴木一隆
(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
	樋田竜男 ^{*)}
	藤原 好
	蓮沼和夫
	鈴木広子 ^{*)}
	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 ^{*)}
	馬場 崇 ^{*)}
	前川文彦
	内匠正太
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
	角谷 拓
	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	
陸域モニタリング推進室	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。

**) 平成 21 年 10 月 21 日逝去

[B 特別客員研究員]

内山巖雄	(京都大学大学院)	平成 18 年度～ 22 年度
遠山千春	(東京大学大学院)	平成 18 年度～ 20 年度
中杉修身	(上智大学大学院)	平成 18 年度～ 22 年度
森田昌敏	(愛媛大学)	平成 18 年度～ 22 年度
若林明子	(淑徳大学)	平成 18 年度～ 20 年度
鈴木和夫	(千葉大学大学院)	平成 20 年度～ 21 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～ 22 年度
高橋 悟	(岩手県環境保健研究センター)	平成 18 年度～ 21 年度
大谷仁己	(群馬県衛生環境研究所)	平成 18 年度～ 20 年度
原口公子	(北九州市環境科学研究所)	平成 18 年度～ 20 年度
寺崎正紀	(静岡県立大学環境科学研究所)	平成 18 年度～ 22 年度
肥田嘉文	(滋賀県立大学環境科学部)	平成 18 年度～ 22 年度
沢辺昭義	(近畿大学農学部)	平成 18 年度～ 22 年度
西川淳一	(武庫川女子大学薬学部)	平成 18 年度～ 22 年度
門上希和夫	(北九州市立国際環境工学部)	平成 18 年度～ 22 年度
伏脇裕一	(神奈川県衛生研究所)	平成 18 年度～ 20 年度
辻 清美	(神奈川県衛生研究所)	平成 18 年度～ 22 年度
大森清美	(神奈川県衛生研究所)	平成 18 年度～ 22 年度
陰地義樹	(奈良県保健環境研究センター)	平成 18 年度～ 22 年度
大金仁一	(宮城県保健環境センター)	平成 18 年度～ 20 年度
杉田和俊	(株式会社三菱化学アナリテック)	平成 18 年度～ 22 年度
田中憲穂	(財団法人食品薬品安全センター)	平成 18 年度～ 19 年度
峯木 茂	(東京理科大学理工学部)	平成 18 年度～ 20 年度
中島晴信	(大阪府立公衆衛生研究所)	平成 18 年度～ 22 年度
後藤純雄	(麻布大学生命・環境科学部)	平成 18 年度～ 22 年度
嵐谷奎一	(産業医科大学産業保健学部)	平成 18 年度～ 21 年度
市川眞澄	(財団法人東京都医学研究機構)	平成 18 年度～ 22 年度
小川園子	(筑波大学大学院)	平成 18 年度～ 22 年度
小田嶋博	(国立病院機構福岡病院)	平成 18 年度～ 21 年度

掛山正心	(東京大学大学院医学系研究科)	平成 18 年度～ 21 年度
川崎勝義	(星薬科大学心理学研究室)	平成 18 年度～ 22 年度
坂部 貢	(東海大学)	平成 18 年度～ 21 年度
角野康郎	(神戸大学大学院理学研究科)	平成 18 年度～ 22 年度
三橋弘宗	(兵庫県立大学)	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系研究科)	平成 18 年度～ 22 年度
浦川秀敏	(東京大学海洋研究所)	平成 18 年度
吉岡義正	(大分大学教育福祉科学部)	平成 18 年度～ 22 年度
丹野恵一	(神戸市看護大学)	平成 18 年度～ 22 年度
太田康彦	(鳥取大学農学部)	平成 19 年度～ 22 年度
野波 寛	(関西学院大学社会学部)	平成 19 年度～ 22 年度
西村久雄	(愛知みずほ大学人間科学部)	平成 19 年度～ 21 年度
丸尾直子	(東ソー株式会社)	平成 19 年度
宮原裕一	(信州大学山岳科学総合研究所)	平成 19 年度～ 22 年度
森下文浩	(広島大学大学院理学研究科)	平成 19 年度～ 22 年度
天沼喜美子	(国立医薬品食品衛生研究所)	平成 20 年度～ 22 年度
今井利為	(財団法人神奈川県栽培漁業協会)	平成 20 年度～ 22 年度
立田晴記	(琉球大学農学部)	平成 20 年度～ 22 年度
畠山成久	(元(独) 国立環境研究所)	平成 19 年度～ 22 年度
吉野正史	(広島大学大学院理学研究科)	平成 20 年度～ 22 年度
山口敦子	(長崎大学水産学部)	平成 20 年度～ 22 年度
巖佐 庸	(九州大学理学研究院)	平成 21 年度
鬼頭秀一	(東京大学大学院)	平成 21 年度
柘植隆宏	(甲南大学経済学部)	平成 21 年度～ 22 年度
塚原伸治	(埼玉大学大学院理工学研究科)	平成 21 年度
西川 潮	(新潟大学超域研究機構)	平成 21 年度～ 22 年度
山崎聖美	((独) 国立健康・栄養研究所)	平成 21 年度～ 22 年度
伊藤隆明	(熊本大学大学院)	平成 21 年度～ 22 年度
馬場 崇	(九州大学大学院)	平成 21 年度
東海明宏	(大阪大学大学院)	平成 22 年度
日吉孝子	((元) 静岡県立大学看護学部)	平成 22 年度
吉田安宏	(産業医科大学医学部)	平成 22 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、**平成 21 年 10 月 21 日逝去)

(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・林 岳彦・Solovieva Elena・白石不二雄・鑑迫典久・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・河合 徹・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・石堂正美・福島 篤・青木康展・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・井上健一郎・高野裕久・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^{*)}・角谷 拓・赤坂宗光・伊藤 洋・松崎慎一郎・五箇公一・田中嘉成・菅谷芳雄・横溝裕行・真野浩行・李 政勲・漆谷博志・立田晴記^{*)}・瀬戸繭美・国武陽子・今藤夏子・郡 麻里・中嶋美冬・米田昌浩

(5) 関連研究プロジェクト

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^{*)}

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・柳澤利枝・立石幸代・西村典子・塚原伸治^{*)}・馬場 崇^{*)}・前川文彦・内匠正太

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・高村健二・中原真裕子・米田昌浩

(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・鑑迫典久・中島大介・櫻井健郎・白石寛明・鎌田 亮・塚原伸治^{*)}

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・鑑迫典久

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・櫻井健郎・古濱彩子・樋田竜男・蓮沼和夫

⑤発がん性評価と予測のための手法の開発

青木康展・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

曾根秀子・米元純三・永野麗子・座波ひろ子・赤沼宏美・黄倉雅宏

⑦化学物質の環境リスク評価のための基盤整備

菅谷芳雄・今井葉子・山崎邦彦・鈴木広子

⑧化学物質の定量的環境リスク評価と費用便益分析

田中嘉成

(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・今田美穂

③侵入生物データベースの管理

五箇公一・郡 麻里・辻 宣行・岡本 卓

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

Allinson G., Allinson M., Salzman S., Shiraishi F., Myers J., Theodoropoulos T., Hermon K., Wightwick A. (2007) - Hormones in Recycled Water, Final Report (Allinson G. et al., DPI, 64p.)

Cao H., Suzuki N., Sakurai T., Matsuzaki K., Shiraishi H., Morita M. (2008) Probabilistic estimation of dietary exposure of the general Japanese population to dioxins in fish, using region-specific fish monitoring data. *J. Exposure Sci. Environ. Epidemiol.*, 18, 236-245

Cao H., Suzuki N., Sakurai T. (2009) Probabilistic estimation of regional dietary exposure to dioxins in fish in Japan on the basis of market and fish distribution network data. *Hum. Ecol. Risk Assess.*, 15 (5), 890-906

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) メダカビ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

Endo O., Matsumoto M., Inaba Y., Sugita K., Nakajima D., Goto S., Ogata H., Suzuki G. (2009) Nicotine, tar, and mutagenicity of mainstream smoke generated by machine smoking with International Organization for Standardization and Health Canada Intense regimens of major Japanese cigarette brands. *J. Health Sci.*, 55 (3), 421-427

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

Goto S., Nagaosa D., Kageyama S., Nakajima D., Mineki S., Yamamura T., Endo O., Kohzaki K., Takagi Y. (2009) Mutagenicity and PAH contents of soil in forests or planted areas in Japan. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 83 (5), 742-746

Handoh I.C., Kawai T. (2010) Uncertainty analysis of the global dynamic of polychlorinated biohenyls using a bayesian emulator of the finely-advanced transboundary environmental model (FATE). *Organohalogen Compd.*, 72, 112-115

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

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

Hollander A., Scheringer M., Shatalov V., Mantseva E., Sweetman A., Roemer M., Baart A., Suzuki N., Wegmann F., Meent D. (2008) Estimating overall persistence and long-range transport potential of persistent organic pollutants: a comparison of seven multimedia mass balance models and atmospheric transport models. *J. Environ. Monit.*, 10, 1139-1147

Imaizumi Y., Suzuki N., Shiraishi H. (2006) Bootstrap methods for confidence intervals of percentiles from dataset containing nondetected observations using lognormal distribution. *J. Chemometrics*, 20 (1/2), 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 <第15回環境化学論文賞受賞>

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

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. Vitro*, 22 (4), 1050-1061

- 鎌田亮, 白石不二雄, 中島大介, 影山志保, 大谷仁己, 大金仁一, 生嶋一貴, 白石寛明, 鈴木規之 (2009) 各種受容体導入酵母アッセイを用いた河川水の曝露モニタリング: 茨城県と東京都を例として. *環境化学*, 19 (4), 509-517
- Kamata R., Shiraishi F., Takahashi S., Shimizu A., Shiraishi H. (2010) Reevaluation of the developmental toxicity of dieldrin by the use of fertilized Japanese quail eggs. *Comp. Biochem. Physiol., C*, 152 (1), 84-90
- 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
- Kawai T., Handoh IC. (2010) Fate of the polychlorinated biphenyls in the global oceans predicted by the finely-advanced transboundary environmental model (FATE). *Organohalogen Compd.*, 72, 247-250
- Kawai T., Kanda M. (2010) Urban energy balance obtained from the comprehensive outdoor scale model experiment. Part II: Comparison with field data using an improved energy partition. *J. Appl. Meteorol. Clim.*, 49 (7), 1360-1376
- Kawai T., Kanda M. (2010) Urban energy balance obtained from the comprehensive outdoor scale model experiment. Part I: Basic features of the surface energy balance. *J. Appl. Meteorol. Clim.*, 49 (7), 1341-1359
- Kawahara J., Tanaka S., Tanaka C., Hikihara Y., Aoki Y., Yonemoto J. (2010) Estimation of the respiratory ventilation rate of preschool children in daily life by using accelerometers. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 61, 46-54
- Kitamura K., Sakurai T., Choi J-W., Kobayashi J., Imaizumi Y., Suzuki N., Morita M. (2009) Particle-size fractioned transfer of dioxins from sediments to water columns by resuspension process. *Environ. Pollut.*, 157 (7), 2159-2165
- Kobayashi J., Serizawa S., Sakurai T., Imaizumi Y., Suzuki N., Horiguchi T. (2010) Spatial distribution and partitioning of polychlorinated biphenyls in Tokyo Bay, Japan. *J. Environ. Monit.*, 12 (4), 838-845
- Kobayashi J., Sakurai T., Suzuki N. (2010) Transfer of polychlorinated biphenyls from marine sediment to a benthic fish (*Pleuronectes yokohamae*). *J. Environ. Monit.*, 12 (3), 647-653
- Kobayashi J., Kinoshita K., Mizukawa K., Sakurai T., Imaizumi Y., Takada H., Suzuki N. (2011) Dietary uptake kinetics of polychlorinated biphenyls from sediment-contaminated sandworms in a marine benthic fish (*Pseudopleuronectes yokohamae*). *Chemosphere*, 82 (5), 745-750
- Kubo T., Matsumoto H., Shiraishi F., Nomachi 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
- 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
- Kurihara R., Watanabe E., Ueda Y., Kakuno A., Fujii 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
- Mato Y., Suzuki N., Katatani N., Kadokami K., Nakano T., Nakayama S., Sekii H., Komoto S., Miyake S., Morita M. (2007) Human intake of PCDDs, PCDFs, and dioxin like PCBs in Japan, 2001 and 2002. *Chemosphere*, 67, S247-S255
- Mineki S., Kobayashi A., Kageyama S., Nakajima D., Shiraishi F., Takagi Y., Onodera S., Takeda K., Goto S. (2008) Detection of mutagenicity by Ames preincubation method of fine commercial particles. *Mater. Technol.*, 26 (6), 303-310
- 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. *J. Environ. Chem. (環境化学)*, 18 (1), 43-50
- Mispagel C., Allinson G., Allinson M., Shiraishi F., Nishikawa M., Moore M.R. (2009) Observations on the estrogenic activity and concentration of 17 β -estradiol in the discharges of 12 wastewater treatment plants in southern Australia. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 56 (4), 631-637
- 中川理緒, 加藤三和, 鎌迫典久, 有園幸司, 安原一哉 (2009) リサイクルタイヤチップの水生生物におよぼす影響. 第8回環境地盤工学シンポジウム発表論文集, 291-296

- 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
- 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
- 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, 鐘迫典久, 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
- 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
- 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
- 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
- 西野貴裕, 大野正彦, 佐々木裕子, 磯部慶, 鐘江宏, 村上治, 鈴木規之, 中杉修身 (2008) 都内河川における1,4-ジオキサンの動態. 環境化学, 18 (3), 333-340
- 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 J.K., Tatarazako N., Watanabe H., Iguchi T. (2008) Molecular cloning and sexually dimorphic expression of DM-domain genes in *Daphnia magna*. Genomics, 91, 94-101
- 陰地義樹, 武田耕三, 松浦洋文, 芳賀敏実, 中島大介, 高木敬彦, 後藤純雄 (2007) 空气中真菌類の分子マーカーとしてのエルゴステロールの大量注入 GC/MS 分析. 環境化学, 17 (1), 47-52
- 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
- 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
- Puzyn T., Mostrag A., Suzuki N., Falandysz J. (2008) QSPR-based estimation of the atmospheric persistence for chloronaphthalene congeners. Atmos. Environ., 42 (27), 6627-6636
- Puzyn T., Suzuki N., Haranczyk M., Rak J. (2008) Calculation of quantum-mechanical descriptors for QSPR at the DFT level: Is it necessary?. J. Chem. Inf. Model., 48 (6), 1174-1180
- Puzyn T., Suzuki N., Haranczyk M. (2008) How do the partitioning properties of polyhalogenated POPs change when chlorine is replaced with bromine?. Environ. Sci. Technol., 42 (14), 5189-5195
- Sakurai T., Kobayashi J., Suzuki N. (2008) Transfer of sediment-associated persistent organic pollutants to benthic fish in laboratory tanks. In: Persistent Organic Pollutants (POPs) Research in Asia, 96-101
- Sakurai T., Kobayashi J., Imaizumi Y., Suzuki N. (2009) Non-food-chain transfer of sediment-associated persistent organic pollutants to a marine benthic fish. Mar. Pollut. Bull., 58 (7), 1072-1077

- Sakurai T., Serizawa S., Isobe T., Kobayashi J., Kodama K., Kume G., Lee J-H., Maki H., Imaizumi Y., Suzuki N., Horiguchi T., Morita M., Shiraishi H. (2010) Spatial, phase, and temporal distributions of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in Tokyo Bay, Japan. *Environ. Sci. Technol.*, 44 (11), 4110-4115
- Scheringer M., Fiedler H., Suzuki N., Holoubek I., Zetzsch C., Bergman A. (2006) Initiative for an International Panel on Chemical Pollution (IPCP). *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 13 (6), 432-434
- 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
- 鈴木規之 (2007) 化学物質の環境動態とリスク評価. *薬学雑誌*, 127 (3), 437-447
- 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
- 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*, 92 (12), 62-63
- Suzuki N., Morita M. (2008) Potential needs on the global framework for the control of chemical pollution: Existing international framework and expected perspectives for the IPCP-international panel on chemical pollution. In: *Persistent Organic Pollutants (POPs) Research in Asia*, 572-576
- 鈴木規之 (2009) 地球規模汚染物質としての水銀に関する考え方. *環境情報科学*, 38 (2), 91-94
- 鈴木規之 (2009) 東アジアの大気環境. *大気環境学会誌*, 44 (6), 342
- 鈴木規之 (2010) 化学物質の多重曝露と複合影響の環境リスク評価への試論. *公衆衛生*, 74 (4), 270-274
- 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
- 高木敬彦, 船田時行, 加藤行男, Okatani A.T., 光崎研一, 中島大介, 白石不二雄, 後藤純雄 (2006) 深度 1m までの土壌の抽出物の変異原性. *環境化学*, 16 (4), 627-633
- Takagi Y., Nakajima D., Kato Y., Okatani A.T., Kohzaki K., Inaba K., Mineki S., Goto S. (2008) Mutagenicity of surface sand in park sandboxes. *J. Environ. Chem.*, 18 (2), 187-195
- Takagi Y., Mineki S., Sera N., Nakajima D., Okatani A.T., Kato Y., Kohzaki K-i., Hisamatsu S., Goto S. (2008) Measurement of concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sandboxes in 51 Japanese parks. *Polycycl. Aromat. Compd.*, 28 (4・5), 451-461
- 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
- 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. (2007) 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 (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, 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
- 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
- 鑑迫典久 (2009) 新しい排水管理の手法 - 日本版「WET」の提案 -. 水と水技術, (3), 68-74
- 鑑迫典久, 水上春樹 (2009) 今後期待される環境管理手法 ~ WET (生物指標を用いた水質評価). バイオサイエンスとインダストリー, 67 (1), 32-38
- 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
- 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
- Terasaki M., Kamata R., Shiraishi F., Makino M. (2009) Evaluation of estrogenic activity of parabens and their chlorinated derivatives by using the yeast two-hybrid assay and the enzyme-linked immunosorbent assay. *Environ. Toxicol. Chem.*, 28 (1), 204-208
- Wang Q., Nakamura S., Gong X., Lu S., Nakajima D., Wu D., Suzuki M., Sakamoto K., Miwa M. (2010) Evaluation of elution behavior and morphological change of the *Cryptomeria japonica* pollen grain and release of its daughter allergenic particles by air polluted rainfall. *WIT Trans. Ecol. Environ. Air Pollut.* 18, 136, 185-197
- 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 Yuki, Nakamura Y., Nakamura Y., Kitani C., Sekizawa J., Koshio M., Hirai N., Tatarazako N. et al. (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 ((Suppl.)), 73-87
- Yamamoto H., Nakamura Y., Nakamura Yuki, Kitani C., Imari T., Sekizawa J., Takao Y., Hirai N., Oda S., Tatarazako N. et al. (2007) Initial ecological risk assessment of eight selected human pharmaceuticals in Japan. *Environ. Sci.*, 14 (4), 177-193
- 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 (1), 38-47
- 山本裕史, 関澤純, 鑑迫典久, 平井慈恵, 石橋弘志, 有蘭幸司 (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 (7), 594-602
- 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
- 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

(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

- 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
- Ahmed S., Tin-Tin-Win-Shwe, 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. In: Tabira T., Yamamura T., Kira J. eds., 361-367

- Ahmed S., Tin-Tin-Win-Shwe, 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
- Ahmed S., Tsukahara S., Tin-Tin-Win-Shwe, 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
- Alam M.S., Ohsako S., Matsuwaki T., Zhu X.B., Tsunekawa N., Kanai Y., Sone H., Tohyama C., Kurohmaru M. (2010) Induction of spermatogenic cell apoptosis in prepubertal rat testes irrespective of testicular steroidogenesis: a possible estrogenic effect of di (n-butyl) phthalate. *Reproduction*. 139 (2), 427-437
- 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
- 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
- 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
- 藤巻秀和 (2008) ディーゼル排気微粒子のアジュバンド効果 (質疑応答 公衆衛生). *日本医事新報*, 4395, 97-98
- 藤巻秀和 (2008) 粒子状物質と肺の免疫機能. *呼吸器科*, 14 (3), 191-197
- Fujimaki H., Tin-Tin-Win-Shwe, Yamamoto S., Nakajima D., Goto S. (2009) The expression of nerve growth factor in mice lung following low-level toluene exposure. *Toxicol. Lett.*, 191 (2/3), 240-245
- Fujimaki H., Tin-Tin-Win-Shwe, Yamamoto S., Kunugita N., Yoshida Y., Arashidani K. (2010) Different sensitivity in expression of transcription factor mRNAs in congenic mice following exposure to low-level toluene. *Inhal. Toxicol.*, 22 (11), 903-909
- 藤巻秀和 (2010) 健康影響と感受性. *大気環境学会誌*, 45 (2), 49-55
- 藤巻秀和 (2010) 入門講座 大気環境の健康影響と植物影響—第4講 大気汚染物質による健康影響の分子メカニズム—. *大気環境学会誌*, 45 (4), A47-A53
- Fujimaki H., Tin-Tin Win-Shwe, Yoshida Y., Kunugita N., Arashidani K. (2011) Dysregulation of immune responses in an allergic mouse model following low-level toluene exposure. *Toxicology* (286), 28-35
- 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
- Imanishi S., Okura M., Zaha H., Yamamoto T., Akanuma H., Nagano R., Shiraishi H., Fujimaki H., Sone H. (2011) Prenatal exposure to permethrin influences vascular development of fetal brain and adult behavior in mice offspring. *Environ. Tox.* 26(6), DOI: 10.1002/tox.20758
- 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
- Ishido M. (2006) Chapter 51. Interactions of melatonin with environmental factors. *Melatonin* (Pandi-Perumal S.R., Cardinali P. eds., Nova Sci. Publ.)
- Ishido M. (2006) Prevention by melatonin of maneb-induced mitochondrial dysfunction in rat pheochromocytoma cells. *Antioxidants* (Panglossi H. V. ed., Nova Sci. Publ., 207p.), 149-157

- 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
- 石堂正美 (2007) 環境毒性の分子生物学, *物性研究*, 88 (4), 572-579
- Ishido M., Morita M. (2008) Environmental evaluation of neurotoxicity of bisphenol A. In: *Persistent Organic Pollutants (POPs) Research in Asia*, 262-270
- Ishido M. (2008) The modification of biocellular chemical reactions by environmental physicochemicals. *Prog. Theor. Phys.*, ((Suppl.173)), 124-133
- Ishido M. (2009) Evaluation of neurotoxicity of environmental chemicals using neural stem cells and neuroblastoma cells. In: Kamihira M., Katakura Y., Ito A. eds., *Basic and Applied Aspects: Proceedings of the 21st Annual and International Meeting of the Japanese Association for Animal Cell Technology (JAACT)*, Fukuoka, Japan, November 24-27, 2008, Springer, 43-46
- Ishido M. (2009) Effects of p-nitrotoluene on cultured mesencephalic neural stem cells. *J. Health Sci.*, 55 (1), 114-118
- Ishido M., Suzuki J. (2010) Inhibition by rotenone of mesencephalic neural stem-cell migration in a neurosphere assay in vitro. *Toxicol. Vitro*, 24 (2), 552-557
- Ishido M., Suzuki J. (2010) Quantitative analyses of inhibitory effects of bisphenol A on neural stem-cell migration using a neurosphere assay in vitro. *J. Health Sci.*, 56 (2), 175-181
- Ishido M. (2010) Activation of STAT3 by pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) during PACAP-promoted neurite outgrowth of PC12 cells. *J. Mol. Neurosci.*, 42 (3), 349-358
- Ishido M. (2010) Evaluation of neurotoxicity of environmental chemicals using neural stem cells and neuroblastoma cells. *Animal Cell Technol.*, 16, 41-44
- 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
- Jia G., Takahashi R., Zhang Z., Tsuji Y., Sone H.. (2006) Aldo-keto reductase 1 family B7 is the gene induced in response to oxidative stress in the livers of Long-Evans Cinnamon rats. *Int. J. Oncol.* 29 (4), 829-838
- Kekeyama M., Sone H., Tohyama C. (2008) Perinatal exposure of female rats to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin induces central precocious puberty in the offspring. *J. Endocrinol.* 197 (2), 351-358
- Liu J., Yoshida Y., Kunugita N., Noguchi J., Sugiura T., Ding N., Arashidani K., Fujimaki H., Yamashita Y. (2010) Toluene inhalation induces activation of the transcription factors NF- κ B, STAT5, and NF-AT in immune cells. *J. Appl. Toxicol.*, 30 (7), 656-660
- 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
- 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
- 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
- Mitsuhashi T., Yonemoto J., Sone H., Kosuge Y., Kosaki K., Takahashi T. (2010) In utero exposure to dioxin causes neocortical dysgenesis through the actions of p27Kip1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 107(37), 16331-16335

- 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
- Tin-Tin-Win-Shwe, Nakajima D., Fujimaki H. (2010) Can T-cell deficiency affect spatial learning ability following toluene exposure?. *Neuroimmunomodulation*, 17 (2), 132-134
- 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
- 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
- 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
- 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)
- Vogel C., Nishimura N., Sciuolo 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., 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 (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., Nishimura H., Ito T., Miyata C., Izumi K., Fujimaki H., Matsumura F. (2009) Dioxin-induced up-regulation of the active form of vitamin D is the main cause for its inhibitory action on osteoblast activities leading to developmental bone toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 236 (3), 301-309
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- Sarkar P., Shiizaki K., Yonemoto J., Sone H. (2006) Activation of telomerase in BeWo cells by estrogen and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in co-operation with c-Myc. *Int. J. Oncol.* 28 (1), 43-51

- Tin-Tin-Win-Shwe, 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
- Tin-Tin-Win-Shwe, 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
- Tin-Tin-Win-Shwe, Mitsushima D., Nakajima D., Ahmed S., Yamamoto S., Tsukahara S., Kakeyama 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
- 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 mice olfactory bulb following nanoparticle exposure, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 226, 192-198
- Tanaka J., Yonemoto J., Zaha H., Kiyama R., Sone H. (2007) Estrogen-responsive genes newly found to be modified by TCDD exposure in human cell lines and mouse systems. *Mol. Cell. Endocrinol.* 272 (1-2), 38-49
- 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
- Tin-Tin-Win-Shwe, Yamamoto S., Fujitani Y., Hirano S., Fujimaki H. (2008) Spatial learning and memory function-related gene expression in the hippocampus of mouse exposed to nanoparticle-rich diesel exhaust. *Neurotoxicology*, 29 (6), 940-947
- Tin-Tin-Win-Shwe, Mitsushima D., Yamamoto S., Fujitani Y., Funabashi T., Hirano S., Fujimaki H. (2009) Extracellular glutamate level and NMDA receptor subunit expression in mouse olfactory bulb following nanoparticle-rich diesel exhaust exposure. *Inhal. Toxicol.*, 21 (10), 828-836
- Tin-Tin-Win-Shwe, Fujimaki H. (2010) Neurotoxicity of toluene. *Toxicol Lett.*, 198 (2), 93-99
- Tin-Tin-Win-Shwe, Tsukahara S., Yamamoto S., Fukushima A., Kunugita N., Arashidani K., Fujimaki H. (2010) Up-regulation of neurotrophin-related gene expression in mouse hippocampus following low-level toluene exposure. *Neuro Toxicol.*, 31 (1), 85-93
- Tin-Tin-Win-Shwe, Kageyama S., Tsukahara S., Nakajima D., Fujimaki H. (2010) The effect of D-cycloserine on spatial learning performance and memory function-related gene expression in mice following toluene exposure. *J. Uoeh*, 32 (2), 127-140
- Tin-Tin-Win-Shwe, Kunugita N., Yamamoto S., Arashidani K., Fujimaki H. (2010) Strain differences influence N-Methyl-D-Aspartate receptor subunit gene expression in the olfactory bulb of an allergic mouse model following toluene exposure. *Neuroimmunomodulation*, 17 (5), 340-347
- Tin-Tin-Win-Shwe, Yoshida Y., Kunugita N., Tsukahara S., Fujimaki H. (2010) Does early life toluene exposure alter the expression of NMDA receptor subunits and signal transduction pathway in infant mouse hippocampus?. *Neurotoxicology*, 31 (6), 647-653
- Tin-Tin-Win-Shwe, Kunugita N., Yoshida Y., Nakajima D., Tsukahara S., Fujimaki H., Differential mRNA expression of neuroimmune markers in the hippocampus of infant mice following toluene exposure during brain developmental period. *J Appl Toxicol* (in press)
- 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
- 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
- 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

- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 山元昭二, Tin-Tin-Win-Shwe, 藤巻秀和 (2010) 揮発性有機化合物の胎仔期曝露による仔マウスの Th1, Th2 型免疫応答のかく乱. *岡山実験動物研究会報*, (26), 33-36
- Yamamoto S., Tin-Tin-Win-Shwe, Yoshida Y., Kunugita N., Arashidani K., Fujimaki H. (2009) Suppression of Th1- and Th2-type immune responses in infant mouse spleen after prenatal and postnatal exposure to low-level toluene and peptidoglycan. *Inhal.Toxicol.*, 21 (9), 793-802
- Yamamoto S., Tin-Tin-Win-Shwe, Yoshida Y., Kunugita N., Arashidani K., Fujimaki H. (2009) Children's Immunology, what can we learn from animal studies (2): Modulation of systemic Th1/Th2 immune response in infant mice after prenatal exposure to low-level toluene and toll-like receptor (TLR) 2 ligand. *J. Toxicol. Sci.*, 34 (Spec. Issue 2), SP341-SP348
- 山元昭二, Tin-Tin-Win-Shwe, 藤巻秀和 (2009) 特集:気道曝露(吸入, 気管内投与等)法を用いた動物実験モデル: 環境ナノ粒子の気道曝露によるマウス呼吸器系および脳神経系への影響. *アニテックス*, 21 (5), 16-21
- 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. (2008) Effects of maternal exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate during fetal and/or neonatal periods on atopic dermatitis in male offspring, *Environ. Health Persp.* 116, 1136-1141
- Ohsako S., Fukuzawa N., Ishimura R., Kawakami T., Wu Q., Nagano R., Zaha H., Sone H., Yonemoto J., Tohyama C. (2010) Comparative contribution of the aryl hydrocarbon receptor gene to perinatal stage development and dioxin-induced toxicity between the urogenital complex and testis in the mouse. *Biol. Reprod.* 82 (3), 636-643

(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

- 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., 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
- 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
- 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 impactation substrate materials., *Atmospheric Environment.*, 40, 3221-3229
- 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 (2007) 国立環境研究所 ナノ粒子健康影響実験施設. *Engine Technol.*, 8 (6), 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
- 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., 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
- 藤谷雄二, 小林隆弘 (2008) ナノ材料製造現場におけるナノ粒子を含めたエアロゾルの現状. *金属*, 78 (9), 865-869
- 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. (2008) Measurement of aerosols in engineered nanomaterials factories for risk assessment. *Nano*, 3 (4), 245-249
- 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. *J. Occup. Environ. Hyg.*, 5 (6), 380-389
- Fujitani Y., Hirano S., Kobayashi S., Tanabe K., Suzuki A.K., Furuyama A., Kobayashi T. (2009) Characterization of dilution conditions for diesel nanoparticle inhalation studies. *Inhal.Toxicol.*, 21 (3), 200-209
- 藤谷雄二 (2011) 環境中のナノ粒子の空間分布. *エアロゾル研究*, 26 (1), 72-73
- Fujitani Y., Kobayashi T. : Measurement of Aerosols in Engineered Nanomaterials Factories for Risk Assessment. *Nano*, Accepted.
- 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
- Furuta C., Noda S., Li C., Suzuki A.K., 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
- Furuta C., Suzuki A.K., Watanabe G.Li C., Taneda S., Taya K. (2008) Nitrophenols isolated from diesel exhaust particles promote the growth of MCF-7 breast adenocarcinoma cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 230, 320-326
- Furuyama A., Hosokawa T., Mochidate K. (2008) Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha have opposite effects on fibroblasts and epithelial cells during basement membrane formation. *Matrix Biol.*, 27, 429-440
- Furuyama A., Kanno S., Kobayashi T., Hirano S. (2009) Extrapulmonary translocation of intratracheally instilled fine and ultrafine particles via direct and alveolar macrophage-associated routes. *Arch. Toxicol.*, 83 (5), 429-437

- Hirano S., Kanno S., Furuyama A. (2008) Multi-walled carbon nanotubes injure the plasma membrane of macrophages. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 232: 244-251
- 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
- 平野靖史郎 (2010) PM2.5- 第3講 PM2.5の毒性. 大気環境学会誌, 45 (5), A69-A73
- 平野靖史郎 (2010) カーボンナノ粒子/ナノトキシコロジー. 分子予防環境医学研究会編, 分子予防環境医学—生命科学の予防・環境医学への統合, 本の泉社, 703-710
- Hirano S., Fujitani Y., Furuyama A., Kanno S. (2010) Uptake and Cytotoxic Effects of Multi-Walled Carbon Nanotubes in Human Bronchial Epithelial Cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 249: 8-15
- 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
- Inoue K., Takano H., Satoh M. (2008) Protective role of metallothionein in coagulatory disturbance accompanied by acute liver injury induced by LPS/D-GaIN. *Thromb Haemost.*, 99, 980-983
- Inoue H., Shimada A., Kaewamatawong T., Naota M., Morita T., Ohta Y., Inoue Ken-ichiro, Takano H. (2009) Ultrastructural changes of the air-blood barrier in mice after intratracheal instillation of lipopolysaccharide and ultrafine carbon black particles. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 61 (8), 51-58
- Inoue K., Koike E., Yanagisawa R., Hirano S., Nishikawa M., Takano H. (2009) Effects of multi-walled carbon nanotubes on a murine allergic airway inflammation model. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 237 (3), 306-316
- Inoue K., Takano H., Yanagisawa R., Yoshikawa T. (2009) Airborne particles in pulmonary diseases. *Curr. Respir. Med. Rev.*, 5, 69-72
- Tin-Tin-Win-Shwe, Mitsushima D., Yamamoto S., Fujitani Y., Funabashi T., Hirano S., Fujimaki H. (2009) Extracellular glutamate level and NMDA receptor subunit expression in mouse olfactory bulb following nanoparticle-rich diesel exhaust exposure. *Inhal. Toxicol.*, 21 (10), 828-836
- 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. (2007) A murine scavenger receptor MARCO recognizes polystyrene nanoparticles., *Toxicol. Sci.*
- 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)
- Li C., Suzuki A.K., Takahash S., Taneda S., Watanabe G., Taya K. (2008) Effects of 3-methyl-4-nitrophenol on the reproductive toxicity in female Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Biol. Pharm. Bull.*, 31 (11), 2158-2161
- Li C., Taneda S., Taya K., Watanabe G., Li X., Fujitani Y., Nakajima T., Suzuki A.K. (2009) Effects of in utero exposure to nanoparticle-rich diesel exhaust on testicular function in immature male rats. *Toxicol.Lett.*, 185 (1), 1-8
- Maruyama W., Hirano S., Kobayashi T., Aoki Y. (2006) Quantitative risk analysis of particulate matter in the Air: Interspecies extrapolation with bioassay and mathematical models. *Inhal. Toxicol.*, 18, 1013-1023
- 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
- Noya Y., Mikami Y., Taneda S., Mori Y., Suzuki A.K., 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

- 鈴木明 (2008) 環境ナノ粒子の健康影響. 呼吸器科, 14 (3), 230-239
- 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
- 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
- Tin-Tin-Win-Shwe, Yamamoto S., Fujitani Y., Hirano S., Fujimaki H. (2008) Spatial learning and memory function-related gene expression in the hippocampus of mouse exposed to nanoparticle-rich diesel exhaust. *Neurotoxicology*, 29 (6), 940-947
- 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
- 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
- 山元昭二 (2007) 4-2-(2) 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. (独) 国立環境研究所, 平成 18 年度自動車排出ガスに起因する環境ナノ粒子の生体影響調査 (実験的研究) 環境省委託業務結果報告書, 92-110
- 山元昭二 (2007) 3-(2) ナノ粒子の *in vivo* 影響. (独) 国立環境研究所, 平成 18 年度自動車排出ガスに起因する環境ナノ粒子の生体影響調査 (文献調査) 環境省委託業務結果報告書, 88-89
- 山元昭二, Tin-Tin-Win-Shwe, 藤巻秀和 (2009) 特集: 気道暴露 (吸入, 気管内投与等) 法を用いた動物実験モデル: 環境ナノ粒子の気道暴露によるマウス呼吸器系および脳神経系への影響. *アニテックス*, 21 (5), 16-21

(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

- 赤坂宗光, 北川理恵 (2007) 紙地図, 文献などのアナログ情報からのデータ収集. 長澤良太, 原慶太郎, 金子正美編, 自然環境解析のためのリモートセンシング・GIS ハンドブック, 古今書院, 59-71
- Akasaka M., Tsuyuaki S. (2007) Annual growth of invasive *Larix kaempferi* seedlings with reference to microhabitat and ectomycorrhizal colonization on a volcano. *J. Plant Res.*, 120, 329-336
- 赤坂宗光, 大澤剛士 (2008) 特定外来生物オオハングウソウによる在来植物群集への影響および地下部再生能力の解明. 環境科学総合研究所年報, 27, 35-43
- 赤坂宗光 (2010) 外来生物の侵略性に関わる形質の解明に向けて. 日本生態学会誌, 60 (2), 207-215
- Akasaka T., Akasaka M., Yanagawa H. (2010) Relative importance of the environmental factors at site and landscape scales for bats along the riparian zone. *Landscape Ecol. Eng.*, 6 (2), 247-255
- 天野達也, 赤坂宗光, 石濱史子, 角谷拓, 杉浦真治, 滝久智, 山浦悠一, 横溝裕行 (2010) 日本の保全生物学が必要とするマクロスケールからの視点. 日本生態学会誌, 60 (3), 385-392
- Akasaka M., Takamura N. (2011) The relative importance of dispersal and the local environment for species richness in two aquatic plant growth forms. *Oikos*, 120 (1), 38-46

- 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 (3), 315-325
- Dohzono I., Kunitake Y.K., Yokoyama J., Goka K. (2008) Alien bumble bee affects native plant reproduction through interactions with native bumble bees. *Ecology*, 89 (11), 3082-3092
- Goka K., Okabe K., Yoneda M. (2006) Worldwide migration of parasitic mites as a result of bumblebee commercialization, *Population Ecology*, 48, 285-291
- 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 (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 (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)
- 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 (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 (2008) 日本のカエルが危ない?~カエルツボカビ症の現状. *グローバルネット*, (215), 26-27
- 五箇公一(2008)輸入昆虫のリスク評価とリスク管理-特定外来生物セイヨウオオマルハナバチのリスク管理-. 日本農学会編, *外来生物のリスク管理と有効利用 (シリーズ 21世紀の農学)*, 養賢堂, 187-203
- 五箇公一(2008)クワガタムシ好きの日本人がクワガタムシを減らす. *イミダス編集部編, SPECIAL imidas 時事力*, 集英社, 142-143
- 五箇公一 (2008) 時代とともに変遷する外来昆虫類とその生態的・社会的影響. *生物多様性と人間生活を脅かす目に見えない侵入生物. 種生物学会編, 共進化の生態学 生物間相互作用が織りなす多様性 種生物学研究 第31号*, 文一総合出版
- Goka K., Yokoyama J., Une Y., Kuroki T., Suzuki K., Nakahara M., Kobayashi A., Inaba S., Mizutani T., Hyatt A.D. (2009) Amphibian chytridiomycosis in Japan: distribution, haplotypes, and possible route of entry into Japan. *Mol. Ecol.*, 18 (12), 4757-4774
- 五箇公一 (2010) 外来生物の生物多様性影響. *遺伝* (2009) 11月号
- 五箇公一 (2010) なぜ外来生物は増え続けるのか?. *日本の科学者*, 45 (10), 35-39
- 五箇公一 (2010) 外来生物の生物学. *Biophilia*, 7 (3), 24-31
- 五箇公一 (2010) 両生類の新興感染症カエルツボカビの起源は日本か?. *獣医畜産新報*, 64 (1), 27-32
- Goka K. (2010) Biosecurity measures to prevent the incursion of invasive alien species in Japan and to mitigate their impact. *Rev. Sci. Tech.*, 29 (2), 299-310
- Goka K (2010) Introduction to the Special Issue for Ecological Risk Assessment of Introduced Bumblebees; Status of the European bumblebee, *Bombus terrestris*, in Japan as a beneficial pollinator and an invasive alien species. *Appl. Entomol. Zool.* 45 (1): 1-6
- 五箇公一 (2010) 昆虫の生物多様性を脅かす化学物質. *外来生物が日本の昆虫の生物多様性に与える影響*. 石井実監修, *日本の昆虫の衰亡と保護*, 北隆館, 28-40. 41-53
- Goka K (2010) How to prevent invasion, bio-security measures, and mitigation of impact. *OIE Scientific and Technical Review*, Vol. 29 (1): 299-310
- Ha K., Takamura N., Jang M-H. (2009) Microcystin production by microcystis aeruginosa exposed to phytoplanktivorous and omnivorous fish at different kairomone concentrations. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 83 (5), 761-765
- 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., Shiraiishi, 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
- 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
- Horiguchi, T., Ohta, Y., Nishikawa, T., Shiraishi, F., Shiraishi, H., Morita, M. (2008) Exposure to 9-cis retinoic acid induces penis and vas deferens development in the female rock shell, *Thais clavigera*. *Cell Biol. Toxicol.* 24, 553-562
- 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
- Horiguchi, T., Nishikawa, T., Ohta, Y., Shiraishi, H., Morita, M.: Time course of expression of the retinoid X receptor gene and induction of imposex in the rock shell, *Thais clavigera*, exposed to triphenyltin chloride. *Analytical & Bioanalytical Chemistry* 396: 597-607, 2010 (doi: 10.1007/s00216-009-3230-x, 2009)
- Horiguchi, T., Urushitani, H., Ohta, Y., Iguchi, T., Shiraishi, H.: Establishment of a polyclonal antibody against the retinoid X receptor of the rock shell *Thais clavigera* and its application to rock shell tissues for imposex research. *Ecotoxicology*, 19: 571-576, 2010 (DOI: 10.1007/s10646-009-0447-6, 2009)
- 李政勲, 児玉圭太, 大山政明, 堀口敏宏 (2010) 東京湾におけるマコガレイの浮游仔稚魚の出現様式. *東京湾の漁業と環境*, 1, 16
- 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
- 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), 1-10
- 今田美穂, 青柳みどり, 渡辺貴史, 高村典子 (2009) ため池の管理組織形態と存続をめぐる費用負担の実態 - 兵庫県北播磨・東播磨地域を事例に -. *農村計画学会誌*, 27, 239-244
- 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
- 今井葉子, 野波寛, 高村典子 (2010) ため池に対する価値観が環境保全の態度と行動意図に与える影響 - 兵庫県東播磨地域における社会心理学的研究 -. *農村計画学会誌*, 28 (論文特集号), 219-224
- Inoue M., Ishikawa S., Inoue T., Washitani I. (2009) Conservation ecological study of invasion of *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) into a preserved area of the Notsuke Peninsula of eastern Hokkaido, Japan. *Appl. Entomol. Zool.*, 44 (3), 337-342
- Inoue M., Goka K. (2009) The invasion of alien ants across continents with special reference to Argentine Ants and Red Imported Fire Ants. *Biodiversity*. 10 (2/3): 67-71
- Inoue M., Yokoyama J., Tsuchida K. (2010) Colony growth and reproductive ability of feral nests of the introduced bumblebee *Bombus terrestris* in northern Japan. *Insect. Soc.*, 57 (1), 29-38
- Inoue M., Yokoyama J. (2010) Status of the invasion and range expansion of an introduced bumblebee, *Bombus terrestris* (L.), in Japan. *Appl. Entomol. Zool.*, 45 (1), 21-27
- Inoue M., Makino T.T., Yokoyama J., Sakai S. (2010) Is *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae) a stronger competitor against native Japanese species? A comparison of foraging efficiency. *Appl. Entomol. Zool.*, 45 (1), 71-75
- Inoue M. (2011) Size-dependent selection against small queens of the invasive bumblebee *Bombus terrestris* (L.) in Japan. *Entomol. Exp. Appl.*, 138 (1), 65-70
- 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
- 一色竜也, 李政勲, 大山政明, 児玉圭太, 堀口敏宏 (2010) 神奈川県における水揚情報を基にした東京湾におけるマコガレイの資源構造. *東京湾の漁業と環境*, 1, 9-14
- Iwasa Y., Suzuki-Ohno Y., Yokomizo H. (2010) Paradox of nutrient removal in coupled socio-economic and ecological dynamics for lake water pollution. *Theor. Ecol.*, 3 (2), 113-122

- Jagawa A., Sugaya Y., Goka K., Attwood T.S., Chandler G.T., Kashiwada S. (2009) Application of an in situ hepatic and gill CYP1A activity assay to river water quality monitoring using the See-through Medaka, *Oryzias latipes*. *Jpn. J. Environ.Toxicol.*, 12 (1), 55–58
- 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 *Microcystis* bloom. *Environ. Contam.Toxicol.*, 76, 957–962
- Jang M.-H., Ha K., Takamura N. (2007) Reciprocal allelopathic responses 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. *Limnol. Oceanogr.*, 52 (4), 1454–1466
- Jang M.-H., Ha K., Takamura N. (2008) Microcystin production by *Microcystis aeruginosa* exposed to different stages of herbivorous zooplankton. *Toxicon*, 51, 882–889
- Y. Kanbe, I. Okada, M. Yoneda, K. Goka and K. Tsuchida (2008) Interspecific mating of the introduced bumblebee *Bombus terrestris* and the native Japanese bumblebee *Bombus hypocrita sapporoensis* results in inviable hybrids. *Naturwissenschaften* 95: 1003–1008
- Kashiwada S., Kameshiro M., Tatsuta H., Sugaya Y., Kullman S.W., Hinton D.E., Goka K. (2007) Estrogenic modulation of CYP3A38, CYP3A40, and CYP19 in mature male medaka (*Oryzias latipes*). *Comp. Biochem. Physiol. C*, 145 (3), 370–378
- Kawada H., Tatsuta H., Arikawa K., Takagi M. (2006) Comparative study on the relationship between photoperiodic host-seeking behavioral patterns and the eye parameters of mosquitoes. *J. Insect Physiol.*, 52 (1), 67–75
- Ki, J.S., Lee, Y.M., Jung, S.O., Horiguchi, T., Cho, H.S., Lee, J.S.: Mitochondrial genome of *Thais clavigera* (Mollusca: Gastropoda): affirmation of the conserved, ancestral gene pattern within the mollusks. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54: 1016–1020, 2010
- Kobayashi, J., Serizawa, S., Sakurai, T., Imaizumi, Y., Suzuki, N., Horiguchi, T.: Spatial distribution and partitioning of polychlorinated biphenyls in Tokyo Bay, Japan. *J. Environ. Monit.*, 12: 838–845, 2010 (doi: 10.1039/B925541A, 2010)
- 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, processed-meat length and seasonal change in net processed-meat yield of Japanese mantis shrimp *Oratosquilla oratoria* in Tokyo Bay. *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
- Kodama K., Oyama M., Lee J.-H., Akaba Y., Tajima Y., Shimizu T., Shiraishi H., Horiguchi T. (2009) Interannual variation in quantitative relationships among egg production and densities of larvae and juveniles of the Japanese mantis shrimp *Oratosquilla oratoria* in Tokyo Bay, Japan. *Fish.Sci.*, 75 (4), 875–886
- Kodama K., Shiraishi H., Morita M., Horiguchi T. (2009) Reproductive biology of the Japanese mantis shrimp *Oratosquilla oratoria* (Crustacea Stomatopoda): Annual cycle of gonadal development and copulation. *Mar. Biol. Res.*, 5 (5), 415–426
- Kodama, K., Oyama, M., Kume, G., Serizawa, S., Shiraishi, H., Shibata, Y., Shimizu, M., Horiguchi, T.: Impaired megabenthic community structure caused by summer hypoxia in a eutrophic coastal bay. *Ecotoxicology*, 19: 479–492, 2010 (DOI: 10.1007/s10646-009-0438-7, 2009)
- Kodama, K., Oyama, M., Lee, J.H., Kume, G., Yamaguchi, A., Shibata, Y., Shiraishi, H., Morita, M., Shimizu, M., Horiguchi, T.: Drastic and synchronous changes in megabenthic community structure concurrent with environmental variations in a eutrophic coastal bay. *Progress in Oceanography*, 87: 157–167, 2010 (DOI: 10.1016/j.pocean.2010.09.003, 2010.)
- Kori M. (2008) 14 The expansion of woody shrub vegetation (*Elaeagnus umbellata*) along a regulated river channel. In: Sakio H., Tamura T. eds., *Ecology of Riparian Forests in Japan-Disturbance, Life History, and Regeneration*, Springer, 205–221

- 郡麻里 (2009) アキグミ, エノキ, カワラハンノキ, ニセアカシア, ネコヤナギ. 高橋裕編, 川の百科事典, 丸善, 126, 175, 257, 533, 537
- 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
- Kokuvo N., Toquenaga Y., Goka K. (2009) Effective paternity in natural colonies of Japanese native bumble bees. *Ecol. Res.* 24(5): 1111-1115
- 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
- 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
- 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かできるか?, *Wildlife forum*, 12 (2)
- 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
- 栗山武夫, 岡本卓, 長谷川雅美, 疋田努, 五箇公一 (2009) 伊豆諸島八丈島へのニホントカゲの侵入. *爬虫両棲類学会報*. 2009 (2) : 124-127
- Lee J-H., Kodama K., Kume G., Oyama M., Katayama S., Takao Y., Horiguchi T. (2009) Comparison between surface-reading and cross-section methods using sagittal otolith for age determination of the marbled sole *Pseudopleuronectes yokohamae*. *Fish. Sci.*, 75 (2), 379-385
- Lee J-H., Kodama K., Oyama M., Kume G., Takao Y., Shiraishi H., Horiguchi T. (2009) Changes in growth of marbled sole *Pseudopleuronectes yokohamae* between high and low stock-size periods in Tokyo Bay, Japan. *Fish.Sci.*, 75 (4), 929-935
- 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
- 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
- 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
- Mano H., Sakamoto M., Tanaka A. (2010) A comparative study of insecticide toxicity among seven cladoceran species. *Ecotoxicology*, 19 (8), 1620-1625
- Mano H., Ogamino Y., Sakamoto M., Tanaka Y. (2011) Acute toxic impacts of three heavy metals (copper, zinc, and cadmium) on *Diaphanosoma brachyurum* (Cladocera: Sididae). *Limnology* (in press)
- Matsui M, Tominaga A, Liu W, Khonsue W, Grismer L.L., Diesmos A.C., Das I, Sudin A, Yambun P, Yong H. (2010) Phylogenetic relationships of *Ansonia* from Southeast Asia inferred from mitochondrial DNA sequences: Systematic and biogeographic implications (*Anura: Bufonidae*). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 54 (2), 561-570
- 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

- 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 Hydrobiology*, 168 (1), 27-38
- Matsuzaki S., Usio N., Takamura N., Washitani I. (2009) Contrasting impacts of invasive engineers on freshwater ecosystems: an experiment and meta-analysis. *Oecologia*, 158 (4), 673-686
- Matsuzaki S.S., Mabuchi K., Takamura N., Nishida M., Washitani I. (2009) Behavioural and morphological differences between feral and domesticated strains of common carp *Cyprinus carpio*. *J. Fish Biol.*, 75 (6), 1206-1220
- Mizutani T and K Goka. (2010) Japan's Invasive Alien Species Act. *Appl. Entomol. Zool.* 45: 65-69
- Morishita, F., 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
- 中野伸一, 鎌内宏光, 高村典子 (2010) 陸水学会第74回大分大会シンポジウム「陸水生態系の長期・広域的観測研究の将来」シンポジウム. *陸水学雑誌*, 71 (1), 61-67
- 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
- Nakajima M., Kodama K., Horiguchi T., Tanaka Y., Shiraiishi H. (2010) Impacts of shifts in spawning seasonality and size at maturation on the population growth of mantis shrimp in Tokyo Bay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 418, 179-188
- 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
- Nakamura K., Kayaba Y., Nishihiro J., Takamura N. (2008) Effects of submerged plants on water quality and biota in large-scale experimental ponds. *Landsc. Ecol. Eng.*, 4 (1), 1-9
- 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), 1-21
- 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
- Ushio N., Kamiyama R., Saji A., Takamura N. (2009) Size-dependent impacts of invasive alien crayfish on a littoral marsh community. *Biol. Conserv.*, 142 (7), 1480-1490
- 西川潮, 今田美穂, 赤坂宗光, 高村典子 (2009) ため池の管理形態が水棲外来動物の分布に及ぼす影響. *陸水学雑誌*, 70 (3), 261-266
- 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 (3), 471-482
- Ohba S., Tatsuta H., Sasaki M. (2006) Raptorial legs and claws are not influenced by food condition in nymphal stages of *Lethocerus deyrolli* (Heteroptera: Belostomatidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 99 (1), 151-156
- 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
- 岡本卓, 疋田努 (2009) オカダトカゲの分布とその起源 - 伊豆半島に乗ってきたトカゲ -. *日本生態学会関東地区会報*, (58), 44-49
- 大澤剛士, 赤坂宗光 (2008) 特定外来生物オオハンゴンソウ (*Rudbeckia laciniata* L.) 駆除方法としての年1回地上部刈り取りの有効性. *保全生態学研究*, 12, 151-155
- 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)
- 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ク -. *野生動物医学雑誌*, 12, 19-26

- 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
- Sakurai, T., Serizawa, S., Isobe, T., Kobayashi, J., Kodama, K., Kume, G., Lee, J.H., Maki, H., Imaizumi, Y., Suzuki, N., Horiguchi, T., Morita, M., Shiraiishi, H.: Spatial, phase, and temporal distribution of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in Tokyo Bay, Japan. *Environ. Sci & Technol.* In press, 2010 (doi: 10.1021/es1007609, 2010)
- Suzuki-Ohno Y., Inoue M., Ohno K. (2010) Applying geographic profiling used in the field of criminology for predicting the nest locations of bumble bees. *J. Theor. Biol.*, 265 (2), 211-217
- 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
- 高村典子, 中川恵, 一柳英隆 (2008) 2-4) ダム貯水池におけるプランクトンの出場特性-評価のための課題. 水源地生態研究会議編, 水源地生態研究会議10周年報告書, ダム水源地環境整備センター 研究第三部, 153-166
- 高村典子 (2008) 絶滅危惧種が集中する“小さな池”. 鷺谷いづみ編, 消える日本の自然, 恒星社厚生閣, 154-157
- 高村典子 (2008) セストン・全炭酸・ニューストン・ネクトン・プランクトン・溶存態無機炭素・溶存態無機窒素・溶存態無機リン. 日本科学者会議編, 環境事典, 旬報社, 597-598. 610. 793. 798. 894. 1000. 1000. 1000.
- 高村典子, 小坂幸夫 (2008) 全窒素 [total nitrogen (TN)]. 全リン [total phosphorous (TP)]. 日本科学者会議編, 環境事典, 旬報社, 611. 614
- 高村典子 (2009) 湖沼という環境. 高村典子編著, 生態系再生の新しい視点-湖沼からの提案-, 共立出版, 1-48
- 高村典子 (編集) (2009) -. 高村典子編著, 生態系再生の新しい視点-湖沼からの提案-, 共立出版, 225p
- 高村典子 (2009) プランクトン [plankton]. 山口英昌監修, 食の安全事典, 旬報社, 277
- 高村典子 (2010) なぜ, どのように, 湖沼や池の生きものを守るのか?. 日本生態学会編, エコロジー講座3 なぜ地球の生きものを守るのか, 文一総合出版, 20-31
- 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
- Takamura N., Ito T., Ueno R., Ohtaka A., Wakana I., Nakagawa M., Ueno Y., Nakajima H. (2009) Environmental gradients determining the distribution of benthic macroinvertebrates in Lake Takkobu, Kushiro wetland, northern Japan. *Ecol. Res.*, 24 (2), 371-381
- 高村典子 (2009) 湖は, どうしたら蘇るのだろうか. 中尾正義, 銭新, 鄭躍軍 編, 中国の水環境問題 開発のもたらす水不足, 勉誠出版, 65-88
- 高村典子 (2010) 第4章 ダム湖に出現するプランクトンの動態. 谷田一三, 村上哲生編, ダム湖・ダム河川の生態系と管理 日本における特性・動態・評価, 名古屋大学出版会, 77-103
- Tanaka, Y. (2007) Introgressive hybridization as the breakdown of postzygotic isolation: a theoretical perspective, *Ecol Res.*, 22, 929-939
- Tanaka Y., Yoshino M. (2009) Predicting the phenotypic response of resource-competing communities to environmental change. *J. Theor. Biol.*, 257 (4), 627-641
- 田中嘉成 (2009) 生態系機能から湖沼生態系を評価する. 高村典子編著, 生態系再生の新しい視点-湖沼からの提案-, 共立出版, 95-135
- Tanaka Y. (2010) Apparent directional selection by biased pleiotropic mutation. *Genetica*, 138 (7), 717-723
- Tanaka Y. (2010) Recombination and epistasis facilitate introgressive hybridization across reproductively isolated populations: a gamete-based simulation. *Evol. Ecol. Res.*, 12, 523-544
- 田中嘉成 (2010) マクロ生態学において形質ベースアプローチは有効か? -群集の生態系機能に関して-. 日本生態学会誌, 60, 249-253

- Tanaka Y. (2011) Trait response in communities to environmental change: Effect of interspecific competition and trait covariance structure. *Theoretical Ecology* (in press)
- Tatsuta H., Takano-Shimizu T. (2006) Genetic architecture of variation in sex-comb tooth number in *Drosophila simulans*. *Genet. Res. Cambridge*, 87 (2), 93-107
- 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
- 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 (4), 573-581
- Tokoro S, Yoneda M, Kunitake Y, Goka K (2010) Geographic variation in mitochondrial DNA of *bombus ignitus*. *Appl. Entomol. Zool.* 45 (1): 77-87
- Tominaga A., Goka K., Kimura T., Ito K. (2009) Genetic structure of Japanese introduced populations of the Golden Mussel, *Limnoperna Fortunei*, and the estimation of their range expansion process. *Biodiversity*, 10 (2/3), 61-66
- Tominaga A., Matsui M., Ota H. (2010) Phylogeny and phylogeography of the sword-tailed newt, *Cynops ensicauda* (Amphibia: Caudata), as revealed by nucleotide sequences of mitochondrial DNA. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 54 (2), 561-570
- Tsuchida K., Kondo N., Inoue M., Goka K. (2010) Reproductive disturbance risks to indigenous Japanese bumblebees form introduced *Bombus terrestris*. *Appl. Entomol. Zool.*, 45 (1), 49-58
- 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 (3), 425-432
- Une Y., Kadokaru S., Tamukai K., Goka K., Kuroki T. (2008) First report of spontaneous chytridiomycosis in frogs in Asia. *Dis. Aquat. Org.*, 82, 157-160
- Urushitani, H., Katsu, Y., Ohta, Y., Shiraiishi, H., Iguchi, T., Horiguchi, T.: Cloning and characterization of retinoid X receptor (RXR) isoforms in the rock shell, *Thais clavigera*. *Aquat. Toxicol.* 103: 101-111, 2011 (DOI: 10.1016/j.aquatox.2011.02.012)
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- Yoshida K. (2008) The relationship between the duration of food web evolution and the vulnerability to biological invasion. *Ecol. Complex.*, 5 (2), 86-98
- Yoshio M., Asada M., Ochiai K., Goka K., Murase K., Miyashita T., Tatsuta H. (2008) Spatially heterogeneous distribution of mtDNA haplotypes in a sika deer (*Cervus nippon*) population on the Boso Peninsula, central Japan. *Mammal Study*, 33 (2), 59-69
- Yoshio M., Asada M., Ochiai K., Goka K., Murase K., Miyashita T., Tatsuta H. (2009) Evidence for cryptic genetic discontinuity in a recently expanded sika deer population on the Boso Peninsula, central Japan. *Zool. Sci.*, 26 (1), 48-53

- Amanuma K, Nakajima N, Hashimoto A, Aoki Y (2008) Genetically Modified, Red Fluorescent Zebrafish: Detection, Crossing, inheritance of Red Fluorescence, and Tolerance to Low Temperatures. *J. Environ Biotech* 8: 105-110
- Ao K., Suzuki T., Murai H., Matsumoto M., Nagai H., Miyamoto Y., Tohyama C. and Nohara K. (2009) Comparison of immunotoxicity among tetrachloro-, pentachloro-, tetrabromo- and pentabromo-dibenzo-p-dioxins in mice, *Toxicology*, 256, 25-31
- Aono M., Wakiyama S., Nagatsu M., Nakajima N., Tamaoki M., Kubo A., and Saji H (2006). Detection of feral transgenic oilseed rape with double-herbicide resistance in Japan. *Environ. Biosafety Res.*, 5 (2), 77-87
- Cui X., Kobayashi Y., Akashi M. and Okayasu R. (2008) Metabolism and the paradoxical effects of arsenic: Carcinogenesis and anticancer, *Curr. Med. Chem.*, 15, 2293-2304
- Funatake C.J., Ao K., Suzuki T., Murai H., Yamamoto M., Fujii-Kuriyama Y., Kerkvliet N.I. and Nohara K. (2009) Expression of constitutively-active aryl hydrocarbon receptor in T-cells enhances the down-regulation of CD62L, but does not alter expression of CD25 or suppress the allogeneic CTL response, *J. Immunotoxicol.*, 6, 194-203
- Hashimoto A.H., Amanuma K., Iwasaki K., Aoki Y. (2009) Examination of integrated pML4 DNA transfer from genetically modified zebrafish to bacteria. *J. Environ. Biotechnol.* 9, 31-36
- Ishimura R., Kawakami T., Ohsako S., Nohara K., Tohyama C. (2006) Suppressive effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on vascular remodeling that takes place in the normal labyrinth zone of rat placenta during late gestation, *Toxicol. Sci.*, 91, 265-274
- Ito T., Nagai H., Lin T-M., Peterson R.E., Tohyama C., Kobayashi T., Nohara K. (2006) Organic chemicals adsorbed onto diesel exhaust particles directly alter the differentiation of fetal thymocytes through arylhydrocarbon receptor but not oxidative stress responses, *J. Immunotoxicol.*, 3, 21-30
- 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
- Iwai S., Kurisu F., Urakawa H., Yagi O., Furumai H. (2007) Development of a 60-mer oligonucleotide microarray on the basis of benzene monooxygenase gene diversity, *Appl. Microbiol. Biotech.*, 75, 929-39
- 岩崎一弘, 矢木修身 (2006) 遺伝子組換え微生物の第一種使用における安全性評価, *J. Environ. Biotechnol.*, 6, 7-15
- Kawakami T., Ishimura R., Nohara K., Takeda K., Tohyama C., Ohsako S. (2006) Differential susceptibilities of Holtzman and Sprague-Dawley rats to fetal death and placental dysfunction induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) despite the identical primary structure of the aryl hydrocarbon receptor, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 212, 224-236
- 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
- Kimura A., Naka T., Nakahama T., Chinen I., Masuda K., Nohara K., Fujii-Kuriyama Y., Kishimoto T. (2009) Aryl hydrocarbon receptor in combination with Stat1 regulates LPS-induced inflammatory responses, *J. Exp. Med.*, 206, 2027-2035
- Kobayashi Y., Negishi T., Mizumura A., Watanabe T., Hirano S. (2008) Distribution and excretion of arsenic in cynomolgus monkey following repeated administration of diphenylarsinic acid, *Arch. Toxicol.*, 82, 553-561
- Kobayashi Y., Hirano S. (2008) Effects of endogenous hydrogen peroxide and glutathione on the stability of arsenic metabolites in rat bile, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 232, 33-40
- Koike-Kuroda Y., Takeyama M., Fujimaki H., Tsukahara S. (2010) Use of live imaging analysis for evaluation of cytotoxic chemicals that induce apoptotic cell death, *Toxicology In Vitro*, 24, 2012-2020
- 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
- Maekawa F., Nakamori T., Uchimura M., Fujiwara K., Yada T., Tsukahara S., Kanamatsu T., Tanaka K., Ohki-Hamazaki H. (2007) Activation of cholecystinin neurons in the dorsal pallidum of the telencephalon is indispensable for the acquisition of chick imprinting behavior, *J. Neurochem.*, 102, 1645-1657

- Mera N., Iwasaki K. (2006) Use of plate-wash samples to evaluate bacterial population dynamics in mercury- and trichloroethylene-contaminated soils, *J. Environ. Biotechnol.*, 6, 115-122
- Mizumura A., Watanabe T., Kobayashi Y., Hirano S. (2010) Identification of arsenite-and arsenic diglutathione-binding proteins in human hepatocarcinoma cells, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 242, 119-125
- Mori H., Matsuda KI., Tsukahara S., Kawata M. (2010) Intrauterine position affects estrogen receptor alpha expression in the ventromedial nucleus of the hypothalamus via promoter DNA methylation, *Endocrinology*, 151, 5775-5781
- Nagai H., Kubo M., Abe R., Yamamoto M., Nohara K. (2006) Constitutive activation of the aryl hydrocarbon receptor in T-lineage cells induces thymus involution independently of the Fas/Fas ligand signaling pathway, *Int. Immunopharmacol.*, 6, 279-286
- Nguyen NT., Kimura A., Nakahama T., Chinen I., Masuda K., Nohara K., Fujii-Kuriyama Y., Kishimoto T. (2010) Aryl hydrocarbon receptor negatively regulated dendritic cell immunogenicity via a kynurenine-dependent mechanism, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 107, 19961-19966
- Nishizawa T, Nakajima N, Aono M, Tamaoki M, Kubo A, Saji H (2009) Monitoring the occurrence of genetically modified oilseed rape growing along a Japanese roadside: 3-year observations. *Environ. Biosafety Res.* 8, 33-44. 2009
- Nohara K., Ao K., Miyamoto Y., Ito T., Suzuki T., Toyoshiba H., Tohyama C. (2006) Comparison of the 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) -induced CYP1A1 gene expression profile in lymphocytes from mice, rats, and humans: Most potent induction in humans, *Toxicology*, 225, 204-213
- 野原恵子 (2006) ダイオキシンによる免疫細胞での転写因子 AhR の活性化と免疫毒性 *ファルマシア* 42, 700-704
- 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
- Nohara K., Suzuki T., Ao K., Murai H., Miyamoto Y., Inouye K., Pan X., Motohashi H., Fujii-Kuriyama Y., Yamamoto M., Tohyama C. (2009) Constitutively active aryl hydrocarbon receptor expressed in T cells increases immunization-induced IFN- γ production in mice but does not suppress Th2-cytokine production or antibody production, *Int. Immunology*, 21, 769-777
- 野原恵子 (2010) 無機ヒ素の胎児期曝露によるジェネティック/エピジェネティック変化, *臨床環境医学*, 19, 66-71
- 野原恵子 (2011) 環境化学物質の健康影響研究－エピジェネティクスの導入によるの新展開, *科学技術動向* 2011年1月号
- Nohara K., Baba T., Murai H., Kobayashi Y., Suzuki T., Tateishi Y., Matsumoto M., Nishimura N., Sano T.: Global DNA methylation in the mouse liver is affected by methyl deficiency and arsenic in a sex-dependent manner, *Arch. Toxicol.*, (in press)
- Kobayashi Y. (2010) Elucidation of the metabolic pathways of selenium and arsenic by analytical toxicology, *J. Health Sci.* 56, 154-160
- Ohtake F, Baba A, Takada I, Okada M, Iwasaki K, Miki H, Takahashi S, Kouzmenko A, Nohara K, Chiba T, Fujii-Kuriyama Y, Kato S. (2007) Dioxin receptor is a ligand-dependent E3 ubiquitin ligase, *Nature*, 446, 562-566
- 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
- 内匠正太, 村井景, 佐野友春, 野原恵子 (2011) メチル欠乏食及びヒ素投与マウス肝臓における酸化的 DNA 損傷と DNA メチル化解析, *日本衛生学会誌* 66, 438
- Tamaoki M., Imai H., Toda Y., Niwa Y., Nakajima N., Kubo A., Aono M., Saji H. (2006). Development of visual markers for transgenic plants and their availability for environmental risk assessment. *Z. Naturforsch.*, 61c, 377-386
- Tamaoki M. (2008) Isolation of O3-response genes from *Arabidopsis thaliana* using cDNA macroarray, *Meth. Mol. Biol.*, 410, 29-42
- 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
- Tsukahara S. (2009) Sex differences and roles of sex steroids in apoptosis of sexually dimorphic nuclei of preoptic area in postnatal rats, *J. Neuroendocrinol.* 21, 370-376

Urakawa H., Matsumoto J., Hoshino T., Tsuneda S. (2007) Direct profiling of rRNA in saline wastewater treatment samples using an oligonucleotide microarray, *Microb. Environ.*, 22, 116-122

山内兄人, 塚原伸治 (2009) ロードーシス神経制御機構の性差, *Clinical Neuroscience*, 27, 1120-1123

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: 39-44

(6) その他の課題

Amanuma K., Tone S., Nagaya M., Matsumoto M., Watanabe T., Totsuka Y., Wakabayashi K., Aoki Y. (2008) Mutagenicity of 2-[2-(acetylamino)-4-[bis(2-hydroxyethyl)amino]-5-methoxyphenyl]-5-amino-7-bromo-4-chloro-2H-benzotriazole (PBTA-6) and benzo[a]pyrene (BaP) in the gill and hepatopancreas of *rpsL* transgenic zebrafish. *Mutat. Res.* 656, 36-43
 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

Aoki Y., Hashimoto A.H., Amanuma K., Matsumoto M. (2010) Potency of air pollutants at DNA adduct formation and assessment by in vivo mutagenesis. In DNA adduct formation, detection and mutagenesis. (ed. Alvarez E. and Cunha R.) Nova Science Publishers. pp 143-153

Fujibuchi W., Kim H., Okada Y., Taniguchi T., Sone H. (2009) High-performance gene expression module analysis tool and its application to chemical toxicity data. *Methods Mol. Biol.* 577, 55-65

Furuhashi A., Toida T., Nishikawa N., Aoki Y., Yoshioka Y., Shiraiishi H. (2010) Development of an ecotoxicity QSAR model for the KAshinhou Tool for Ecotoxicity (KATE) system, March 2009 version. *SAR QSAR Environ. Res.*, 21 (5/6), 403-413

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

Hashimoto A.H., Amanuma K., Masumura K., Nohmi T., Aoki Y. (2009) In vivo mutagenesis caused by diesel exhaust in the testis of *gpt delta* transgenic mice. *Genes Environ.* 31, 1-8

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

Toyoshiba H., Sone H., Yamanaka T., Parham F.M., Irwin R.D., Boorman G.A., Portier C.J. (2006) Gene interaction network analysis suggests differences between high and low doses of acetaminophen. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 215 (3), 306-316

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

松本幸雄, 松本理 (2008) 環境リスクの諸側面—化学物質環境リスクを中心に—. *計量生物学*, 29 ((Spec. Issue2)), S177-S189

松本理 (2009) メラミンによるペットの急性腎障害の原因はシアヌル酸との共結晶であった. *ファルマシア*, 45 (5), 469-471

- 松本幸雄, 松本理 (2009) 環境のリスク解析－化学物質の健康リスクの例. *Estrela*, (183), 14-19
- 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
- Sone H., Okura M., Zaha H., Fujibuchi W., Taniguchi T., Akanuma H., Nagano R., Ohsako S., Yonemoto J. (2010) Profiles of Chemical Effects on Cells (pCEC): a toxicogenomics database with a toxicoinformatics system for risk evaluation and toxicity prediction of environmental chemicals. *J. Toxicol. Sci.* 35 (1), 115-123
- Sone H., Akanuma H., Fukuda T. (2010) Oxygenomics in environmental stress. *Redox Rep.* 15 (3), 98-114
- Qin X.Y., Zaha H., Nagano R., Yoshinaga J., Yonemoto J., Sone H. (2011) Xenoestrogens down-regulate aryl-hydrocarbon receptor nuclear translocator 2 mRNA expression in human breast cancer cells via an estrogen receptor alpha-dependent mechanism. *Toxicol. Lett.* 206 (2), 152-157
-

2 書籍

(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・出版社・総頁数

Allinson G., Allinson M., Salzman S., Shiraishi F., Myers J., Theodoropoulos T., Hermon K., Wightwick A. (2007) -. Allinson G. et al., DPI, 64p

Handoh IC., Kawai T. (2011) Bayesian uncertainty analysis of the global dynamics of persistent organic pollutants: Towards quantifying the planetary boundaries for chemical pollution. In: Omori K. et al.eds., Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry-Marine Environmental Modeling and Analysis, Terrapub, 179-187

Kawai T., Handoh IC., Suzuki N. (2011) The Roles of Marine Phytoplankton and Ocean Circulation in Determining the Global Fate of Polychlorinated Biphenyls. In: Omori K. et al.eds., Interdisciplinary Studies on Environmental Chemistry-Marine Environmental Modeling and Analysis, Terrapub, 169-178

中島大介 (編集) (2010) -. 室内環境学会編, 室内環境学概論, 東京電機大学出版局, 246p

白石不二雄 (2007) 3.4.12 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. 日本化学会編, 実験化学講座 20-2 環境化学 (第5版), 丸善, 479-483

白石不二雄 (2008) (2) 毒性試験に用いる微生物. 渡邊信, 広木幹也他編, 微生物の事典, 朝倉書店, 568-570

鈴木規之 (2009) 鈴木規之著, 環境リスク再考: 化学物質のリスクを制御する新体系, 丸善, 150p

鈴木規之 (2009) 第11章 微量化学物質汚染に対する新たな取り組み. 日本水環境学会編, 日本の水環境行政, ぎょうせい, 203-224

Suzuki N., Shibata Y., Ogasawara K. (2009) Chapter 12 Monitoring and modeling the fate of mercury species in Japan. In: Pirrone N., Mason R. eds., Mercury Fate and Transport in the Global Atmosphere: Emissions, Measurements and Models, Springer, 381-390

鑑迫典久 (2010) 廃液処理技術. 鮫島正浩監修, 次世代バイオエタノール生産の技術革新と事業展開, フロンティア出版, 183-191

(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・出版社・総頁数

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

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

石堂正美 (2006) メラトニンの作用機構と機能., 1-4

Ishido M. (2009) Environmental contributions to attention deficit hyperactivity disorders. In: Gordon S.M., Mitchell A.E. eds., Attention Deficit Hyperactivity Disorder (ADHD) (Psychiatry-Theory, Applications, and Treatments Series), Nova Science Publishers, 223-228

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

(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

発表者・(刊年)・題目・出版社・総頁数

平野靖史郎 (2010) カーボンナノ粒子/ナノトキシコロジー. 分子予防環境医学研究会編, 分子予防環境医学—生命科学研究の予防・環境医学への統合, 本の泉社, 703-710

(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・出版社・総頁数

赤坂宗光, 北川理恵 (2007) 紙地図, 文献などのアナログ情報からのデータ収集. 長澤良太, 原慶太郎, 金子正美編, 自然環境解析のためのリモートセンシング・GIS ハンドブック, 古今書院, 59-71

- 五箇公一 (2008) 時代とともに変遷する外来昆虫類とその生態的・社会的影響. 生物多様性と人間生活を脅かす目に見えない侵入生物. 種生物学会編, 共進化の生態学 生物間相互作用が織りなす多様性 種生物学研究 第 31 号, 文一総合出版, ページ番号なし ページ番号なし
- 五箇公一 (2010) クワガタムシが語る生物多様性 集英社 205p
- 五箇公一 (2010) 昆虫の生物多様性を脅かす化学物質. (石井実監修, 日本の昆虫の衰亡と保護.) 北隆館, 222-234
- 五箇公一 (2010) 外来生物が日本の昆虫の生物多様性に与える影響. (石井実監修, 日本の昆虫の衰亡と保護.) 北隆館, 235-247
- 堀口敏宏 (2006) 海の汚染とインボセックスー環境ホルモンによる巻貝への影響ー. 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 (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) 生物学的研究手法による解析. 山田久編, 有機スズと環境科学ー進展する研究の成果ー, 恒星社厚生閣, 112-139
- 堀口敏宏 (2007) 巻貝類のインボセックス発症機構. 山田久編, 有機スズと環境科学ー進展する研究の成果ー, 恒星社厚生閣, 210-217
- 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)
- Horiguchi, T.: Chapter 7, Mechanism of imposex induced by organotins in gastropods. *Ecotoxicology of Antifouling Biocides* (Arai, T, Harino, H, Ohji, M, Langston, WJ eds., Springer, Tokyo, Japan, 437p.), pp.111-124, 2009
- Horiguchi, T.: Chapter 8, The endocrine-disrupting effect of organotin compounds for aquatic organisms. *Ecotoxicology of Antifouling Biocides* (Arai, T, Harino, H, Ohji, M, Langston, WJ eds., Springer, Tokyo, Japan, 437p.), pp.125-146, 2009
- Kori M. (2008) 14 The expansion of woody shrub vegetation (*Elaeagnus umbellata*) along a regulated river channel. In: Sakio H., Tamura T. eds., *Ecology of Riparian Forests in Japan-Disturbance, Life History, and Regeneration*, Springer, 205-221
- 高村典子 (2009) プランクトン [plankton]. 山口英昌監修, 食の安全事典, 旬報社, 277
- 高村典子 (2008) 絶滅危惧種が集中する“小さな池”. 鷺谷いづみ編, 消える日本の自然, 恒星社厚生閣, 154-157
- 高村典子 (2008) セストン. 全炭酸. ニューストン. ネクトン. プランクトン. 溶存態無機炭素. 溶存態無機窒素. 溶存態無機リン. 日本科学者会議編, 環境事典, 旬報社, 597-598. 610. 793. 798. 894. 1000. 1000. 1000
- 高村典子 (2010) なぜ, どのように, 湖沼や池の生きものを守るのか?. 日本生態学会編, エコロジー講座 3 なぜ地球の生きものを守るのか, 文一総合出版, 20-31
- 高村典子 (2010) 第 4 章 ダム湖に出現するプランクトンの動態. 谷田一三, 村上哲生編, ダム湖・ダム河川の生態系と管理 日本における特性・動態・評価, 名古屋大学出版会, 77-103
- 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
- 高村典子, 小坂幸夫 (2008) 全窒素 [total nitrogen (TN)]. 全リン [total phosphorous (TP)]. 日本科学者会議編, 環境事典, 旬報社, 611. 614
- 高村典子 (2009) 湖は, どうしたら蘇るのだろうか. 中尾正義, 銭新, 鄭躍軍 編, 中国の水環境問題 開発のもたらす水不足, 勉誠出版, 65-88
- 高村典子 (2009) 湖沼という環境. 高村典子編著, 生態系再生の新しい視点ー湖沼からの提案ー, 共立出版, 1-48
- 田中嘉成 (2008) 生態毒性学. 日本科学者会議編, 環境事典, 旬報社, 575
- 田中嘉成 (2009) 生態系機能から湖沼生態系を評価する. 高村典子編著, 生態系再生の新しい視点ー湖沼からの提案ー, 共立出版, 95-135

(5) 関連研究プロジェクト

- 塚原伸治 (2010) 哺乳類の性分化 (4 章)「脳とホルモンの行動学ー行動神経内分泌学への招待ー (編集:近藤保彦, 小川園子, 菊水建史, 山田一夫, 富原一哉)」西村書店, 37-48

(6) その他の課題

発表者・(刊年)・題目・掲載誌・巻(号)・頁

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

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

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

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 - 98 - 2011

平成 23 年 12 月 28 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 2011

無断転載を禁じます

リサイクル適性の表示：紙へリサイクル可
本冊子は、グリーン購入法に基づく基本方針における「印刷」に係る判断の基準にしたがい、印刷用の紙へのリサイクルに適した材料 [A ランク] のみを用いて作製しています。