

大阪湾底質の魚類胚に与える汚染影響リスク評価と 今後の底質環境修復のための現状把握（その2）

宇野 誠一（鹿児島大学水産学部准教授）

國師 恵美子（鹿児島大学水産学部助教）

1. はじめに

大阪湾は紀伊半島から神戸市、淡路島に囲まれ、明石海峡と友ヶ島水道に2つの狭い湾口を持つ以外に水の出口がない。そのため、日本でも水交換率が特に悪い水域の1つとなっている。この海域は有数の大都市である大阪市や神戸市に接し、また神戸市から泉大津市までの海岸域一帯は大規模な工業地帯が連なっている。海岸域には阪神高速など交通量の多い幹線道があるため、自動車や工場排ガス、排水を介した人間活動由来の化学物質が常時流入する状態にある。湾内には淀川を初めとする幾つかの河川水が流れ込んでいるが、この多くが人口密集域を流れ、陸上域における人現活動由来の化学物質を大量に含むと考えられ、この流入負荷も無視できない。このような様々な要因により、大阪湾は化学物質汚染がかなり進んでいる。これまで我々は大阪湾において、底質や水生生物などの化学物質分布や動態を調査してきた。その結果、特に底質中からは数多くの化学物質をこれまで検出し、物質によってはかなり高い濃度で残留していることを明らかにしてきたが、これらの調査から特に人間の生活域に近い海岸線沿いの水環境汚染はかなり深刻であることが分かっている。

モニタリング調査から得られる化学物質濃度分布や動態パターンから、湾内底質に生息している生物に対する影響を予測するのは、実際はかなり困難である。それは、現在、化学物質審査法などによる化学物質管理においても、1) 生物影響評価は単一の物質に対してのみ行われており、実環境を考慮した複合暴露影響などを含む影響評価が行われておらず複合暴露影響までは考慮されていない、2) 湾内には通常の実験技術では検出不可可能な物質や未知の化学物質も多数あり、これらの生物影響は未知であるケースがほとんどである、などが要因となっている。さらに様々な科学物質が高濃度で残留している底質に着目した試験法は、確固たるものが確立されていない。しかし、大阪湾のような汚染の進んだ海域の環境修復・再生を効率良く行うためには、まず汚染や生物影響リスクの現状を知り、そのデータをもとに計画的に進めていくことが必要である。中でも海域の中でも恐らく最も汚染が進んでいる海底質のリスクをまず明らかにすることが重要であろう。

魚の卵(胚)は未成熟であり、魚類の発生段階の中で最も化学物質暴露影響を受けやすい。これまで魚卵を用いた毒性試験は数多く行われてきた。日本ではヒメダカ(*Olyzias latipes*)は多くの化学物質を対象としてその影響試験が行われており、多くの知見が蓄積されている。また飼育が容易なため、常時卵から成魚まで入手可能でいつでも容易に試験が行える。最近、我々は飼育水を必要とせず、間隙水の役割をする僅かな量の水を添加した底質上にヒメダカ胚を置き、孵化直前まで発生させる手法を確立した。本法は野外で採取した底質でも適用可

能である。また、ヒメダカ胚発生のためにこれまで底質影響の直接評価を難解にしていた直上水を加える必要がなく、底質に含まれる化学物質の胚の直接の影響を観察することが可能となった。この底質試験法を用いて、日本の幾つかの現場から底質を採取して、胚に対する影響を調べ、実際の試験に適用可能であることを確認した。本法ではそのエンドポイントとして致死、孵化率、そして孵化後の奇形発生率などを指標として、それを総合して底質の影響を判断する。

メタボロミクスは糖類やアミノ酸、有機酸など生体内代謝物の変動情報(メタボローム)を網羅的に収集し、生体内で今何が起きているかを調べる手法である。近年、環境汚染物質影響評価法としても注目されているが、実環境の汚染影響評価に適用した例は極めて少ない。我々は上記のヒメダカ胚を用いた底質試験法とメタボロミクスの数値化法を組み合わせ、軽度な健康影響から致死まで幾つかの段階での影響評価を 1 回の試験で可能とする、新しい魚類胚を用いた底質影響評価が行えるのではないかと考えた。そこで、本研究では実際に大阪湾で底質を採取して実験室に持ち帰り、底質の影響試験を行う。さらにメタボロミクスにより胚の健康状態をとらえ、死亡から微細な健康上影響まで全影響を総合して、底質のヒメダカ胚に対する影響の大きさを数値として表すことにより、大阪湾底質の生物に対するリスクの現状を明らかにすることを目的とした。リスクを示す数値を地点間で比較して、大阪湾底質の生物リスクの地点間差等を調べ、淡路島から和歌山側までの大阪湾底質汚染の現状を明らかにすることを最終目標とする。平成 26 年度は大阪市を中心とした海岸域の底質の影響評価を行って淀川河口付近底質のリスクがかなり大きいことを明らかにした。平成 27 年度は 26 年度と同様の方法により、神戸市を中心として、尼崎市～淡路島に至る兵庫県側の海岸域底質の影響評価を行った。

2. 方法

平成 26 年度は大阪市近郊の海岸域の 6 ヶ所から底質を採取したが、平成 27 年度は図 1 に示す St. 7～St. 15 の 9 地点から底質を採取し、その影響を調べた。採取した底質を遠心分離により余分な間隙水を取り除いた後、僅かな水分を含んだ状態でガラスシャーレに敷き詰めた。底質上にヒメダカ胚を設置し、23℃で 7 日間飼育し、発生させた。その後、滅菌水を入れたマイクロプレートに胚を移し、胚の生存確認、孵化までの日数の計測、発生の遅延などを顕微鏡観察し、さらに孵化仔魚の奇形の有無なども調べた。また、別途、メタボロミクス解析を行うために底質入りシャーレを各地点で 5 つずつ用意した。そこに 1 つのシャーレに胚を 25 個ずつ設置した。6 日目までインキュベータ内で飼育を行った後、胚をサンプリングして代謝物分析に供した。影響の数値は死亡率のファクターの比率が最も大きくなるように設定してあり、次に孵化率、孵化日数のファクターの順にその比率を小さく設定した。メタボロミクスから得られる数値は主成分分析の結果から算出した。

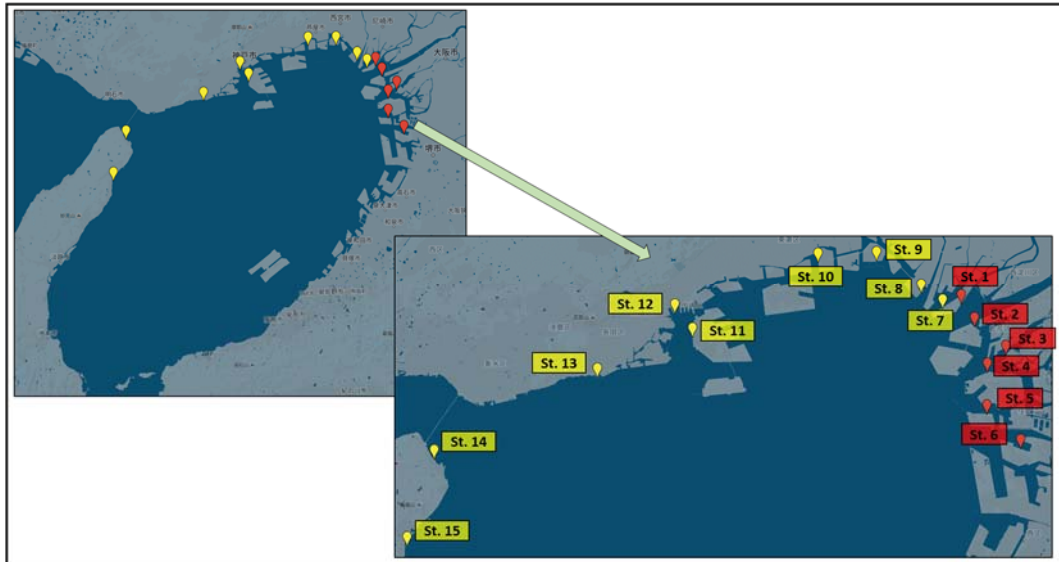


図1 サンプリング地点

3. 結果と考察

表1に底質毒性試験から得られた死亡率、孵化率、平均孵化日数(±標準偏差)とこれらから得られたリスクファクターを示した。死亡率から影響を評価する St. 12 が死亡率 10%と他の地域と比較すると僅かに高かったものの、その他の地域では底質から影響を受けた結果、死に至った例はなかった。孵化率も 26 年度の調査ではかなり孵化率が低下する地点が見られたが、今年度の地点では大きな孵化率低下は観察されなかった。孵化日数は St. 7 と 8 で 3 日程度遅くなる傾向が見られたが、大阪市側と比較すると、その影響は大きいとは言えない。しかし、自由に動き回れない卵の状態が長くなると、他の生物からの捕食リスクは高まるため、不可までの時間がメダカよりも長い魚は、そのリスクは大きくなる可能性はあるため、無視は出来ないだろう。今回、奇形を有した稚魚の孵化が数地点の底質で観察されたが、いずれの地点も 1 尾のみであり、底質の影響により、奇形仔魚が孵化したとは見なせないと判断した。さらに、表2にメタボロミクスから得られた健康リスクファクターを示す。そのリスクファクターは St. 9 と St. 10 が同レベルで大きく、さらに St. 8 が続いた。

表1 魚類胚の底質毒性試験における各地点の死亡率、孵化率、孵化日数、奇形率

地点	死亡率(%)	孵化率(%)	孵化日数(日)	奇形率(%)
コントロール	0	100	10.8 ± 1.1	0
St. 7	6.67	93.3	14.1 ± 0.9	3.3
St. 8	3.33	96.7	14.2 ± 0.7	0
St. 9	6.67	93.3	12.3 ± 1.1	3.3
St. 10	3.33	96.7	13.2 ± 1.2	0
St. 11	6.67	93.3	11.8 ± 1.0	3.3
St. 12	10.0	90.0	12.3 ± 0.8	3.3
St. 13	6.67	93.3	10.9 ± 0.3	0
St. 14	3.33	96.7	10.9 ± 0.9	0
St. 15	3.33	96.7	11.2 ± 0.4	3.3

上記結果から各リスクファクターを総合し、総リスクファクターとして示したものが図2のグラフである。ここでは26年度の調査結果と比較するために、26年度と27年度の結果を合わせて掲げている。総リスクファクターが最も大きかった地点は昨年度調査を行った St. 1 であり、27年度の調査ではこのようなリスクが高い地点はなかった。27年度の調査で最もリスクが大きかったのは St. 12 のメリケンパーク周辺海域であるが、この地点に関してなぜリスクが高いか、リスクを引き起こすような化学物質があるか、などの明瞭な原因は見出せなかった。その他では St. 7 や 8 はリスクファクターが比較的大きく、これの地点底質の影響は河川からの流入負荷する化学物質が原因ではないかと疑われた。さらに St. 10 も比較的高い値を示したが、ここに関しては St. 12 と同様に明瞭な原因が見出せなかった。また、昨年度と同様、沿岸域を汚染する代表的な化学物質として、多環芳香族炭化水素類、重金属類の測定をし、今回算出されたリスクへの各物質の寄与を調べたが、そこに明瞭な関連は見出せなかった。昨年度も述べたが、これらの物質が底質の生物影響に関与している可能性もあるが、それが単一物質由来のものであるとは考えにくく、複合的な要素により生物影響が生じている可能性は大いにあり得る。残念ながら現段階でこの複合影響について解析する手法がないが、早急に複合影響についての検証も必要だと思われる。

表2 メタボロミクスから得られた健康リスクファクター

地点	メタボロミクスから得られたファクター
St. 7	177
St. 8	208
St. 9	225
St. 10	225
St. 11	31
St. 12	88
St. 13	51
St. 14	2
St. 15	1

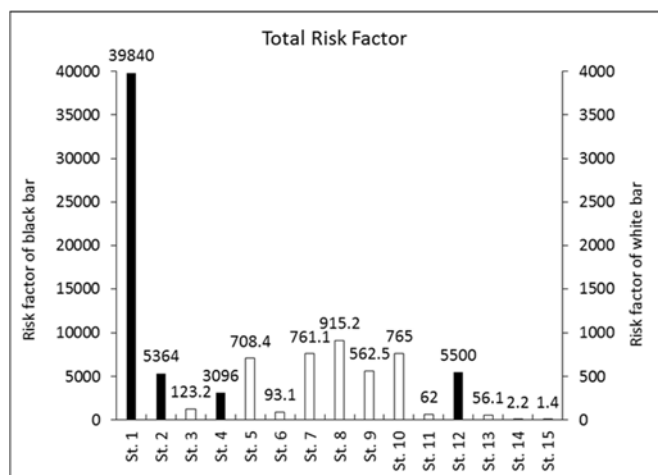


図2 各調査地点における総リスクファクター(黒い棒グラフのリスクファクターは左縦軸、白い棒グラフは右縦軸が数値を示す。棒グラフ上の数字は本研究の試験から得られたファクター)

4. 平成 28 年度の予定

28年度は堺市以南で調査を継続し、3年間の結果から大阪湾の底質リスクマップを作成することを最終目標としている。