

多摩川底泥構成物質の毒性学的研究

I. 変異原性試験

1984年

大石真之

東京都立衛生研究所毒性部主任研究員

目 次

1. 緒 言	1
2. 実験方法	1
3. 結 果	2
4. 考 察	2
参考文献	3

研究組織

大石 真之 高橋 省 渡辺真利代

東京都立衛生研究所

東京都新宿区百人町 3 - 24 - 1

1. 緒 言

近年の都市河川には種々の産業廃棄物や生活排水が流入し、汚染が高度に生じている。これらの汚染は、法による規制や下水の完備により徐々に改善されてきてはいるが、多くの都市河川では未だ高度の汚染が続いている。これらの河川汚染物質中には、化学種が既知または未知を問わず生体に悪影響を及ぼす物質が数多く含まれていると考えられる。有機塩素系化合物や重金属のような化学種既知の有害汚染物質については、化学分析の手段を用いて汚染の実態の測定を行い、また法的規制によって、河川中濃度をある基準以下に抑制することが可能であるが、未知の物質についてはまったく無規制の状態である。これら化学種未知の物質の生体影響に関する研究はほとんど行われておらず、化学分析の手段も無い。そこで今回、河川中未知化学物質の毒性を知る系のモデルとして多摩川を選定し、その方法の開発と実態の調査を行った。

河川中の未知物質の毒性に関する研究としては、河川水の変異原性に関して、最近いくつかの報告がなされたが、河川底質に関しては、ごくわずがしか知られていない¹⁻⁴⁾。そこで多摩川中下流域の底質に焦点を絞り、また毒性の検出法としては、比較的大規模なスクリーニングが可能である微生物を用いた変異原性試験をまず行い、その結果が陽性となった地点について、更に動物実験に移行することとした。本報告は、最初の微生物によるスクリーニング試験に関する報告である。

2. 実験方法

採集地点：採集地点及び採集年月日は表1に示した。1地点につき10m以上の間隔を置き3内至4カ所より採取した。採取した底質は変異原性試験を行うまで -30°C で保存した。

変異原性試験：底質は凍結乾燥後、その300gを600mlの農薬分析用n-ヘキサン(Mallinckrodt製)で2回抽出し、抽出液を合わせて 40°C 以下で減圧濃縮乾固した。残渣に吸収スペクトル用ジメチルスルホキサイド(和光純薬製)5mlを加え溶解し、またこの液の一部を更に10倍希釈して、両者を変異原性の試験液とした。試験液0.1mlは底質を乾燥重量としてそれぞれ6g及び0.6g含む。

変異原性試験はSalmonella typhimurium TA 1535, TA 1537, TA 1538を用いるAmes法⁵⁾にほぼ従った。即ちVogel-Bonnerの最少倍地E⁶⁾に2%グルコース及び1.5%寒天を加えたアガープレート上に、0.05mMヒスチジン及び0.05mMピオチンを含む溶解ソフトアガーに菌懸濁液0.3ml、試験液0.1mlを加えて重層した。また肝ミクロゾーム分画による活性化試験にはオリエンタル酵母製ラット肝S-9(Lot. №581370)にCofactor(オリエンタル酵母製Lot. №301)S-9 mixをソフトアガーに更に加えた。本操作によれば、1プレート当りに含まれる底質量は乾燥重量で6gまたは0.6gとなる。また1地点につき3プレートを用い、結果は3プレートの平均とした。また結果の表示は、対照(底質を加えず他は全く同一の操作を行ったもの)に対する比で示し、1以下は-, 1-1.5倍は±, 1.5-3倍は+, 3-5倍は++, 5倍以上は+++で示した。

3. 結 果

TA 1535による多摩川底質の変異原性を表2に示した。S 9 mixに加えぬ群では六郷橋及び多摩水道橋に弱い変異原性がみられた。これらの地点の底質はS 9 mixを加えることにより変異原性が増加した。

TA 1537による底質の変異原性を表3に示した。S 9 mixマイナスで六郷橋、ガス橋及び多摩水道橋に強い変異原性がみられ、またS 9 mixを添加したものでは、更に大師橋、多摩川原橋に強い変異原性がみられた。また双子橋でやや強い変異原性を示した。

TA 1538による底質の変異原性を表4に示した。S 9 mixマイナスで丸子橋に強い変異原性が示された。またS 9 mix添加による代謝活性化では六郷橋、ガス橋及び双子橋に強い変異原性がみられた。

4. 考 察

1983年の6月から8月に採取した多摩川底質のヘキササン抽出物ではTA 1538及びTA 1537による変異原性試験で、全地点の試料により変異原性が示された。またTA 1535による変異原性試験では、六郷橋及び多摩川原橋のサンプルで代謝活性化によりやや強い変異原性を示した。

Hirayama⁴⁾らはTA 98を用いた変異原性試験を多摩川底質の水抽出物で行い、是政橋、双子橋、丸子橋、大師橋の各サンプルでやはり変異原性を示している。これらの結果により、多摩川底質中には水溶性及び脂溶性の変異原性物質が存在していると考えられる。

今回の実験では、TA 1537及びTA 1538による試験では全採取地点で変異原性が示されたが、TA 1535では丸子橋、双子橋、多摩水道橋では変異原性を認めなかった。Ames^{5,7)}によればTA 1535はbase pair change型の変異株であり、TA 1537、TA 1538はframe shift型の変異株であるとされている。このことより丸子橋、双子橋及び多摩水道橋のサンプルは主にframe shift型の変異原性物質を含み、他の地点はframe shift型及びbase pair change型両方の変異原物質を含んでいるものと考えられる。

Sato³⁾による長良川底質の変異原性の研究によれば、イソオクタン-ベンゼン抽出物にTA100株による変異原性物質を認め、これらはガスクロマトグラフィー-マススペクトロメトリー法により多環芳香族炭化水素であり、特にベンゾフルオランセン及びベンゾピレンであろうとしている。多摩川底質中にもこれら芳香族炭化水素の含有が報告されており、今回の変異原性物質の一部は、これら芳香族炭化水素によるものと考えられる。しかし他の未知の変異原性物質の存在も考えられるので、今後物質の同定を行う必要がある。また、これらの地点のサンプルについては、動物による毒性試験も必要であろう。

参 考 文 献

泉 秀 雄

1. B. L. Moore : *Water Res.*, 14, 917 (1980).

2. H. E. Allen, K. E. Noll, R. E. Nelson : *Environ. Tech. Lett.*, 4, 101 (1983).

3. T. Sato, T. Momma, Y. Ose, T. Ishikawa, K. Kato : *Mutation Res.*, 118, 257 (1983).

4. K. Hirayama, J. Suzuki, S. Suzuki : *Jpn. J. Limnol.*, 42, 82 (1981).

5. B. N. Ames, W. E. Durston, E. Yamagaki, F. D. Lee : *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 70, 2281 (1973).

6. H. J. Vogel, D. M. Bonner : *J. Biochem.* 218, 97 (1956).

7. B. N. Ames, F. D. Lee, W. E. Durston : *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 70, 782 (1973).

8. H. Matsushima : *Jpn. J. Limnol.*, 4, 0, 74 (1979).

表1. 多摩川底質採取地点及び採取日

採取地点	採取日
大師橋(神奈川県)	1983. 8. 22
六郷橋(東京都)	1983. 6. 2
ガス橋(東京都)	1983. 8. 23
丸子橋(神奈川県)	1983. 8. 23
双子橋(東京都)	1983. 8. 24
多摩水道橋(神奈川県)	1983. 8. 24
多摩川原橋(東京都)	1983. 8. 26
是政橋(東京都)	1983. 8. 26

表2. TA1535による多摩川底質の変異原性

サンプリング地点	底質 6g / プレート		底質 0.6g / プレート	
	-S9	+S9	-S9	+S9
大師橋	+	+	-	+
六郷橋	+	+	+	+
ガス橋	+	+	-	+
丸子橋	-	-	-	-
双子橋	-	-	-	-
多摩水道橋	-	-	+	-
多摩川原橋	+	+	+	+
是政橋	-	+	+	+

表 3. TA 1537 による多摩川底質の変異原性

サンプリング地点	底質 6g/プレート		底質 0.6g/プレート	
	-S9	+S9	-S9	+S9
大 師 橋	+	卍	卍	卍
六 郷 橋	卍	卍	卍	卍
ガ ス 橋	卍	卍	卍	卍
丸 子 橋	-	卍	卍	卍
双 子 橋	+	卍	卍	卍
多摩水道橋	卍	卍	卍	卍
多摩川原橋	+	卍	卍	卍
是 政 橋	±	+	+	+

資料提供の資料提供部より提供された資料

表 4. TA 1538 による多摩川底質の変異原性

サンプリング地点	底質 6g/プレート		底質 0.6g/プレート	
	-S9	+S9	-S9	+S9
大 師 橋	-	+	卍	卍
六 郷 橋	±	卍	卍	卍
ガ ス 橋	-	卍	卍	卍
丸 子 橋	卍	卍	卍	卍
双 子 橋	+	卍	卍	卍
多摩水道橋	-	+	卍	卍
多摩川原橋	+	卍	卍	卍
是 政 橋	-	+	±	卍