

変異原性生成能を指標とした全国各地の河川水及び地下水の安全性評価

廃棄物・有害物管理工学研究室 大橋良太
 指導教官 小松俊哉 藤田昌一 姫野修司

1. はじめに

現在、日本の水道原水の高い地表水依存のため、生活排水、工業排水などによる水環境の悪化、今後予想される都市域の水需要の増加に対して地表水だけでは補えなくなるなどの問題を抱えている。そのため、大都市部では、安定した持続可能な水資源の確保、健全な水循環や水域生態系保全の観点から都市域自己水源活用が注目されている¹⁾。中でも涵養地下水の利用は地下水資源の確保や地盤沈下などの防止、特に自力的水資源の確保に有効であると考えられている。涵養地下水の利用は以前から注目されていたが、実際に普及しているとは言いがたい。原因としては涵養させた後の水試料の質の問題等が挙げられ、道路排水や雨水を涵養させるにあたっての道路粉塵などの混入による微量有害物質の影響が危惧されている。そこで、バイオアッセイ(生物検定)によって、個別測定が困難な、これら微量有害物質や化学物質の毒性や影響を総括的に評価することの有用性が高くなっており、特に遺伝子毒性の観点からは、変異原性を評価する代表的な試験方法である Ames 変異原性試験が有効である。

2. 本研究の目的

CREST(戦略的創造研究推進事業)との共同研究において本研究では涵養地下水等のリスクレベルを表流水等との比較によって明確にすることを最終的な目標としている。本研究ではその第一段階として、主に水道水源として用いられている全国各地の 19 一級河川 24 地点の河川水、および長岡市の地下水を試料水として Ames 変異原性試験を実施し、その変異原性レベルの全国的な実態を把握し、各種水質項目等が変異原性レベルに与える影響を考察した。尚、河川については各地方整備局内での流域面積の最大と最小の河川を選定し、河川水のサンプリングは、11月~12月の雨天でない平日に行った。

留萌川	信濃川B
石狩川	信濃川C
赤川	菊川
北上川	木曾川
-1多摩川	北川
-2多摩川	淀川
-3多摩川	小瀬川
鶴見川	江の川
利根川	土器川
梯川	吉野川
信濃川	本明川
信濃川A	筑後川



図1 採水河川

3. 試験方法²⁾

環境水は一般に塩素を添加することで変異原性レベルが上昇することが知られている。本研究では安全側の評価を行うため、また涵養地下水等の利用用途を最も高水質が求められる水道原水と想定していることから塩素を意図的に添加した試料水の変異原性、すなわち変異原性生成能(MFP: Mutagen Formation Potential)³⁾を測定した。

試料の調整方法と Ames 変異原性試験の条件を図2に示す。Ames 変異原性試験はカリフォルニア大学の B.N.Ames 教授が開発した特殊なサルモネラ菌を使用する。野生のサルモネラ菌は、9種の酵素が関与してヒスチジンを合成しているが、あらかじめ酵素の転写に対する DNA に突然

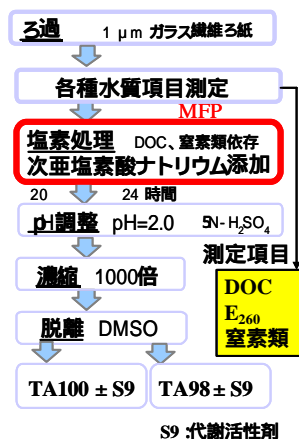


図2 試験条件

変異を起こした変異株は、ヒスチジン合成能を欠損し、ヒスチジンがないと増殖できない。しかし、この突然変異株が変異原性物質の作用により本来の DNA に復帰すると、ヒスチジンがなくても増殖できるようになる。Ames 変異原性試験は、変異原性の作用によりヒスチジン合成能を有する菌に復帰する程度を形成コロニー数で判定するものである。本試験は、労働省のガイドブックに示された方法に準じて行った。同時に DOC、E₂₆₀、各態窒素の測定も行った。

3.1 試験条件

突然変異株としては多くの種類があるが、本研究では一般的な TA98 株（フレームシフト型変異原性物質検出用）と TA100 株（塩基対置換型変異原性物質検出用）を用い試験を行った。また、哺乳類から得られる代謝活性剤 S9mix の添加の有無により、それ自体で変異原性を示す物質（直接変異原性物質）と、動物体内で代謝を受けて初めて変異原性を示す物質（間接変異原性物質）の評価を併せて行った。一般に塩素処理を施した試料水には TA100-S9 での感度が最も良いことが本研究室でも確かめられている。そこで TA100±S9 条件については全検体での試験を実施し TA98±S9 については検討のため半分の検体で試験を行った。

3.2 評価方法³⁾

変異原性試験の評価についてはいくつかの方法が提示されているが、ここでは MR 値と正味の復帰コロニー数についての評価方法を示す。まず、MR 値とは復帰コロニー数が自然復帰コロニー数（陰性対照）の何倍であるかを示して評価する方法で、MR 値 1.4 以上を擬陽性、2 以上を陽性として評価する。二つ目は正味の復帰コロニー数（net rev./L）による評価（図3参照）で、検体の添加量（L/plate）を横軸に、その際の復帰コロニー数（rev./plate）を縦軸に用量作用曲線を描き、その直線の傾きから変異原性強度（net rev./L）を評価する方法である。これら、二つの方法で以後、評価を行った。

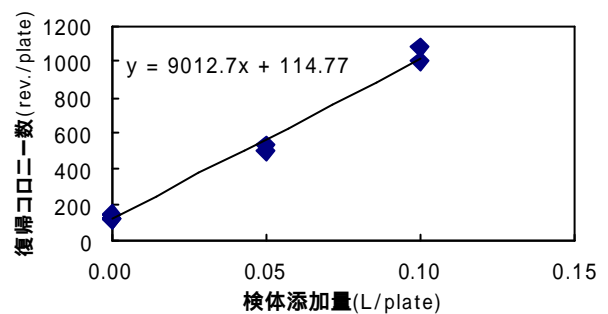


図3 評価方法例

4 . 結果と考察

試験条件 TA100±S9、TA98±S9 による試験結果を以下の表 1 に示す。

河川水（19 河川 24 地点）の TA100-S9 条件での MFP レベルは 210（net rev./L、以下単位省略）から 9010 と大きな幅を持つことが明らかになった。その中でも同じ関東内の多摩川と鶴見川の間には約 4 倍の差がでた。これは、河川の利用形態による影響が考えられる。鶴見川は元々、水質汚染の激しい川でかつ治水利用のみであることから、利水利用されている多摩川等と比べ処理方法の違い等の影響から高いレベルになった事が考えられる。

同一地方においては流域面積の大きい河川の方が MFP が高い傾向にあることが認められた。また、人口密度の違いによる比較を行ったところ、流域人口密度の平均 588（人/km²）を超える河川の MFP 平均は 4210、それ以下の河川の MFP 平均は 1540 と約 3 倍の差が確認された。これにより、人口密度の増加に伴う変異原性強度の増大が認められた。

また、四国においては吉野川、土器川の両河川とも N.D.（検出限界以下）であったが、他は地

方による目立った特徴は認められなかった。

水道水の変異原性レベルにおいて重点的な対策が望ましいとされる 3000³⁾ を超える河川は全体の 13% であった。また、今回の結果で、特出していた鶴見川を除いた平均値は 1660 であったことから、2003 年に毎月 1 回測定した信濃川流域の河川水の MFP 平均値 1460⁴⁾ に近いレベルであることが分かった。

MR 値での評価では、MR 値 1.4 以下の陰性は地点中 2 地点、1.4 以上 2.0 以下の擬陽性は 5 地点、2.0 以上の陽性は 17 地点と陽性が全体の約 70% を占めた結果となった。

長岡市の地下水については、両地下水とも N.D.(検出限界以下) となり、変異原性の観点から極めて安全性の高い地下水であることが明らかとなった。

表 1 試験結果

地方名	河川 地下水名	流域面積 (km ²)	TA100-S9		TA100+S9		TA98-S9		TA98+S9	
			MFP	MR値	MFP	MR値	MFP	MR値	MFP	MR値
北海道	留萌川	270	1900	2.5	240	N.D.(1.3)	160	2.1	-20	N.D.(0.9)
	石狩川	14330	2840	3.4	110	N.D.(1.1)	150	2.1	40	N.D.(1.1)
東北	赤川	860	870	1.7	320	N.D.(1.4)	120	1.8	-60	N.D.(0.8)
	北上川	10150	1120	1.9	80	N.D.(1.1)	110	1.8	30	N.D.(1.1)
関東	-1多摩川 上流	1240	750	1.6	120	N.D.(1.1)	50	N.D.(1.3)	0	N.D.(1.0)
	-2多摩川 中流	1240	2690	3.3	70	N.D.(1.1)	150	2.1	-10	N.D.(0.9)
	-3多摩川 下流	1240	2760	3.3	-90	N.D.(0.9)	150	2.1	30	N.D.(1.1)
	鶴見川	240	9010	8.9	280	N.D.(1.3)	290	3.0	40	N.D.(1.2)
	利根川	16840	2380	3.0	750	1.7	140	2.0	-90	N.D.(0.7)
北陸	梯川	270	1510	2.3	260	N.D.(1.3)	80	2.4	60	N.D.(1.3)
	信濃川 下流	11900	2300	2.9	170	N.D.(1.2)	100	2.6	60	N.D.(1.3)
	-A信濃川 上流	11900	910	2.2	-	-	-	-	-	-
	-B信濃川 中流	11900	1000	2.3	-	-	-	-	-	-
中部	菊川	160	1990	2.6	60	N.D.(1.1)	-	-	-	-
	木曾川	9100	2230	2.8	-70	N.D.(0.9)	-	-	-	-
近畿	北川	210	660	1.5	-290	N.D.(0.7)	-	-	-	-
	淀川	8240	3390	3.8	40	N.D.(1.0)	-	-	-	-
中国	小瀬川	340	1310	2.1	10	N.D.(1.0)	-	-	-	-
	江の川	3900	860	1.7	-160	N.D.(0.9)	-	-	-	-
四国	土器川	140	210	N.D.(1.2)	150	N.D.(1.1)	-	-	-	-
	吉野川	3750	480	N.D.(1.3)	280	N.D.(1.3)	-	-	-	-
九州	本明川	90	3340	3.8	130	N.D.(1.1)	-	-	-	-
	筑後川	2870	1420	2.2	190	N.D.(1.2)	-	-	-	-
長岡	地下水(水道原水)	-	80	N.D.(1.1)	-	-	-	-	-	-
	地下水(消雪水)	-	270	N.D.(1.2)	-	-	-	-	-	-

MFP :(net rev./L) - 未測定

TA100-S9 条件以外の結果については、TA98-S9 では若干の感度を示したが、やはり TA100-S9 条件での寄与率が最も高かった。一方、TA98、TA100 とともに+S9 条件ではほとんどが N.D. であった。

図 3 に河川水の DOC、E₂₆₀、NH₄⁺-N、NO₂⁻ N+NO₃⁻ N と MFP との相関関係を示した。既往の研究⁴⁾ の信濃川河川水は E₂₆₀ との間に正の相関が認められたが (r=0.53)、今回の MFP は DOC、E₂₆₀ との間にある程度の正の相関が確認され、鶴見川のデータを除いた相関係数は DOC : r=0.65、E₂₆₀ : r=0.50、NH₄⁺-N : r=0.06、NO₂⁻ N+NO₃⁻ N : r=0.34 であった。この結果、水質項目との相関性は低いことから、バイオアッセイによる評価の必要性が示唆された。

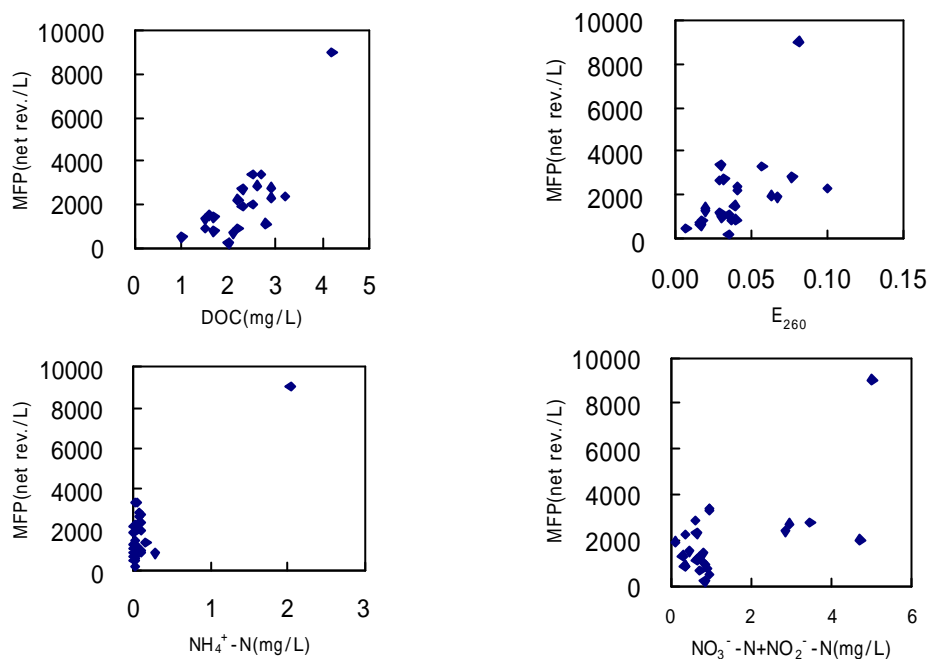


図3 水質項目との相関

5. まとめ

本研究においても TA100-S9 条件の寄与率が最も高かった。

全国の河川の変異原性レベルは 210~9010(net rev./L)と大きな幅となった。

鶴見川の MFP、各種水質項目は特出していた。

四国の吉野川、土器川は両河川とも N.D.(検出限界以下)を示したが、他は地方による目立った特徴は認められなかった。

同一地方では流域面積の大きい河川のほうが MFP が大きい傾向が認められた。

人口密度の増加に伴い MFP も増加する傾向が認められた。

変異原性レベルにおいて重点的な対策が望ましいとされる MFP3000(net rev./L)を超える河川は 24 地点中 3 地点と全体の 13%であった。

水質項目等の相関については DOC、E₂₆₀、との間にある程度の正の相関性が認められたが、各態窒素からは相関傾向をみることが出来なかった。

今回試験した長岡市の地下水(水道原水・消雪水)は、塩素処理を施しても変異原性物質の変化が見られなかったことから、変異原性前駆物質が確認されず、消毒生成物の観点から極めて安全な水であることが確認できた。

参考文献

- 1) 古米弘明：第7回日本水環境学会シンポジウム講演集、137-138,2004
- 2) 浦野紘平ら：水試料の Ames 変異原性試験マニュアル(), 用水と廃水, 39(2)41 - 46, 1997
- 3) 高梨啓和：変異原性による水道水の安全性管理手法に関する研究、東京大学大学院博士論文、1,1999
- 4) 奥田絵美ら：第41回環境工学研究フォーラム講演集 152-154,2004