

バイオマーカーを用いた沿岸生物影響評価（英国の事例）

（財）電力中央研究所 環境科学研究所 今村正裕

1. はじめに

河川を通じて沿岸域に流れ込む物質は、森林由来の懸濁物中有機物から工業排水中の化学物質まで多岐にわたっている。これらの物質が、沿岸生物や生態系に与える影響を評価することは、沿岸環境保全のためにも重要な課題である。特に低濃度の重金属や有機化合物であっても長期的には堆積物内部に残留していることが多く、長期的な視点にたった影響評価が必要である。

日本では、化審法や水生生物保護法により水域中の化学物質に対し急性毒性値や慢性毒性値、さらには水質環境基準の設置が進められている。これらの試験は OECD のガイドラインをベースに、藻類・ミジンコ・魚類およびユスリカへの急性・慢性（1 か月暴露、予測値）影響を、繁殖・死亡・行動の状態をエンドポイントとして評価している。しかしこれはあくまでも、水生生物保全のかかわる水質目標の設定が目的であり、現状においては環境変化に伴う生態系全体への影響そのものを評価する手法は確立していない。また、自力では移動をしないような堆積物中の生物（底生生物）や懸濁物食者（貝類）を対象に、さらに低濃度で中長期的な慢性影響を評価するための評価手法の実例は国内にはまだないのが現状である。

慢性影響評価の研究分野では、低濃度の化学物質であっても、生物体内にストレス物質が時間経過とともに生成されることがわかってきた。特に欧州では、このような生物生体内における情報（バイオマーカー）を用いた沿岸環境の保全プロジェクトが進んでいる（Bebiano and Serafim 1998, Erk et al. 2005, Langston et al. 2002）。

今回は、英国の環境・食料・農村省（DEFRA）で現在進められている環境保全・アセス事業の中で、生態系影響評価に実際使われているバイオマーカーの一部を紹介するとともに、著者が現地にて携わった適用事例について紹介する。

2. 生物バイオマーカーによる影響評価

英国では、2004 年に「我々の海の状態報告書（State of Our Seas report）」が作成され、海洋生物群に対する環境影響を遺伝子・細胞・生理レベルから評価する研究成果の一例として、バイオマーカーによる影響評価が報告されている。バイオマーカーによる生物影響評価は、スクリーニング的な意味合いが強いため、1 つのバイオマーカーで評価せず、複数を組み合わせることで、場の環境影

響を多面的に評価し、場の環境状態をモニタリングしている。複数のバイオマーカーの結果をどのように組み合わせ、評価するかについては、現在も適用研究が実施されている段階であり、データの蓄積が進められている。

3. バイオマーカー

(a) Total Oxyradical Scavenging Capacity (TOSC)

生物はさまざまな環境の変化にさらされており、適応範囲内（半致死レベル以下）であってもその変化に対し生体内では生理的な反応（変化）を示す。その代表的な一つが、体内の酸化的雰囲気（酸化）の増加である。酸化的な状態は、健全な生体内においても日々起こりうるが、健全な生体内では「抗酸化物質」が存在し、その働きにより酸化的状態は抑制されている。しかし、汚染物質等による環境ストレスが原因で、「抗酸化物質」が低下することがあり、バランスが崩れることで生体内では活性酸素種が増加してしまう。活性酸素種の増加は、生物体内でさまざまな生理学的影響を引き起こすと言われている（Sies 1985）。

抗酸化力試験（TOSC）は、生物に含まれるタンパク組織を抽出し、抽出タンパクが活性酸素種をどの程度抑えることができるかを分析し、生物もしくは各部位の抗酸化能力を測定する試験である。抗酸化力を決定する抗酸化物質の量は、生物がさらされるさまざまな環境により変化すると考えられる。そのため、TOSC 試験ではその定性・定量も含めて現在も研究段階にある（Regoli 2000）。日本における抗酸化力の測定は、動物や人の血中さらに食品中において例がある。しかし、沿岸環境の生物個体組織に対してこのような評価を用いた例は少ない。

(b) Metallothionein {MT}

メタロチオネイン (metallothionein) は、1957 年にウマの腎臓からカドミウムを結合するタンパク質として発見された金属結合性のタンパク質である。バクテリア、菌類、全ての真核植物、動物種など 種々の生物に広範に見られ、研究も進んでいる。その役割は主に、1) 過剰な重金属解毒、2) 活性酸素種などのラジカルやアルキル化剤の消去 である。前



写真 1 ムラサキガイ
(*Mytilus edulis*)

者は、分子中に金属を取り込む性質に由来し、亜鉛、カドミウム、水銀、銅などの必須金属、非必須金属の毒性や生化学と関連づけられることが多く、セレン・ビスマスといった他の金属/半金属との結合については、まだ解明が進んでいない。2)はMT タンパクの有するシステイン残基のチオール基がラジカル種と容易に反応する性質に由来する。すなわち、金属と結合していないチオールが毒性を有するラジカル種を消去している。また、メタロチオネインは20ものシステイン残基を有することから、この消去能は高く、酸化に対する防御能力を持っていることが最近の研究でわかってきた(Martín-Díaz *et al.* 2008, Viarengo *et al.* 1999)。

環境汚染のバイオマーカーとして MT を用いた事例は多く、その大部分が重金属汚染に限定されている。重金属汚染以外の環境汚染に対する MT のバイオマーカーとしての有用性についてはそれほど検討されていない。環境影響因子は様々であり、複合環境汚染バイオマーカーとしてこの MT が重要になると考えられている。

4. 現地モニタリング

英国ウェールズ州の沿岸国立公園(Pembrokeshire Coast National Park)では、アセスメントのための調査方法について検討が進められている。国立公園内にある港(Milford Haven)には、英国で2番目に大きい石油精製施設およびLNG生成工場がある。それを挟むように上流側・河口下流域が国立公園となっている。今後計画されている大規模なガスパイプライン工事計画も見据え、環境影響評価の調査方法が検討されている。

予備調査が2007年9月 2008年3月の2回実施された。調査では、ムラサキガイ(*Mytilus edulis*)、二枚貝(*cockle*)および海藻(*Fucus vesiculosus*)の3種生物を9地点(対照地点も含む)にて採取した。すべての生物個体は、重金属含有量を測定。ムラサキガイは部位(えら Gill, 胃部 DG: Digestive Grand)別に TOSC と MT を測定した。

ムラサキガイ(写真-1)の TOSC 分析結果を図-1に示す。比較対象地点(黄色: 国立公園から数キロ離れた地点+河口)と調査地点間には、一部で統計的な有意差がみられた(Gill)。また、工場立地地点(赤色)で TOSC 値が高くなる傾向にあった。生物中の重金属量および汚染物質の分析結果から、As や Se などの重金属が工場地帯さらには公園内にあるヨットハーバーにて高い値を示した。しかし、今回の調査では汚染物質と TOSC・MT との間で統計的に有意な相関は見られなかった。

一方、胃部(DG)の TOSC 値は河口から工場地点にかけて低下し、上流地点(青色)では逆に増加していた。貝殻の長さや湿重量から成長率を評価する指標(Condition Index: CI)と比較すると、CI は河口から上流方向に小さくなる傾向があり、上流部での TOSC の増加

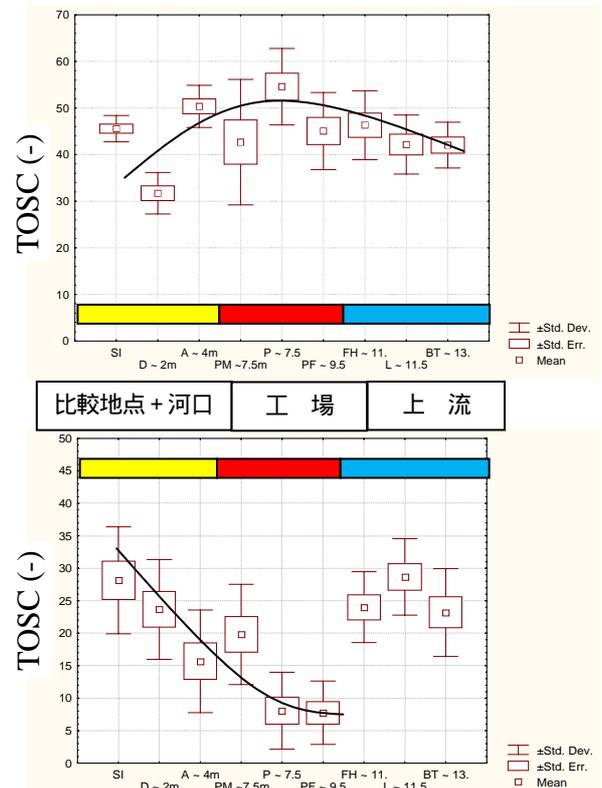


図 1 抗酸化力試験結果
(上段: Gill, 下段: DG)

は、餌環境ストレスによる成長抑制が原因と考えられた。

今回の調査では、重金属や汚染物質と環境ストレス物質との関係には有意差は見られなかった。今後、継続したモニタリングとバイオマーカーによる評価を行い、アセスメントのためのデータを蓄積する方針である。

参考文献

- Bebianno, M.J. and Serafim M.A. (1998): Comparison of metallothionein induction in response to cadmium in the gills of the bivalve molluscs *Mytilus galloprovincialis* and *Ruditapes decussatus*. *The Sci. Total Environ.* 214, 123-131.
- Erk, M., A. Ruus, K. Ingebrigtsen and Hylland, K. (2005): Cadmium accumulation and Cd-binding proteins in marine invertebrates-A radiotracer study. *Chemosphere* 61, 1651-1664.
- Langston, W.J., B.S. Chesman, G.R. Burt, N.D. Pope and McEvoy, J. (2002): Metallothionein in liver of eels *Anguilla anguilla* from the Thames Estuary: an indicator of environmental quality? *Mar. Environ. Res.* 53, 263-293.
- Martín-Díaz M.L., J. Blasco, D. Sales and T.A. Delvalls(2008): Field validation of a battery of biomarkers to assess sediment quality in Spanish ports, *Environmental Pollution*, 151, 631-640.
- Regoli, F. (2000): Total oxyradical scavenging capacity (TOSC) in polluted and translocated mussels: a predictive biomarker of oxidative stress. *Aqua. Toxicol.* 50, 351-361.
- Sies, H. (1985): Oxidative stress: introductory remarks. In: Sies, H. (Ed.), *Oxidative Stress*. Academic Press, Harcourt Brace Jovanovich Publishers, London, New York, 1-8.
- Viarengo, A., B. Burlando, M. Cavaletto, B. Marchi, E. Ponzano and Blasco, J. (1999): Role of metallothionein against oxidative stress in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* 277, 1612-1619.