

# カワウにおけるダイオキシン類曝露と生存リスク評価

井関 直政<sup>1)</sup>, 羽山 伸一<sup>2)</sup>, 益永 茂樹<sup>1,3)</sup>, 中西 準子<sup>1,3)</sup>

<sup>1)</sup> 横浜国立大学環境科学研究センター

<sup>2)</sup> 日本獣医畜産大学野生動物教室

<sup>3)</sup> 科学技術振興事業団戦略的基礎研究推進事業

## Abstract

東京湾周辺に生息するカワウの肝臓および卵中ダイオキシン類を分析し、その曝露レベルと生物濃縮、体内分布、毒性寄与についての考察をおこなった。カワウ肝臓中ダイオキシン類濃度は他鳥種よりも有意に高濃度であった。また肝臓や卵には 2,3,7,8-置換体が優占的に残留しており、それぞれ97%, 90%を占めた。中でも1,2,3,7,8-PeCDDと2,3,4,7,8-PeCDFはBMFも大きく肝臓に高濃度に蓄積する上TEFが1であることから大部分の毒性寄与を示した。また分析値を用いて体内半減期を推測したところ2,3,7,8-TCDDで43日と見積もられた。カワウにおけるPCDD/Fsの生物学的半減期は、Mono-ortho PCBs(数百日～数年)よりも短く、2,3,7,8-TCDFの3日から1,2,3,4,7,8,9-HpCDFの122日となった。これら体内分布や半減期を用いて採食する魚類中濃度から体内卵中濃度の推定をおこなった。また過去における環境中ダイオキシン類濃度の変化に伴う卵中濃度を予測した。これは底質コア中ダイオキシン類濃度からBSAFを用いて魚類中濃度を求め、それらを採食するという一定の仮定の下で計算された。さらにカワウ卵への曝露に基づいて孵化へのリスク変遷を見積もった。これらはCo-PCBs濃度に依存して変化し、リスクがピークに達した1970年代では、現在の2倍近い致死率であったと推定された。その後、リスクは減少した。

## 1. 緒言

ダイオキシン類は、いわゆるポリ塩化ジベンゾーパラジオキシン(PCDDs)およびポリジベンゾフラン(PCDFs)、コプラナーPCBsを含めた化学物質の総称である。これらは毒性の高いことからその毒性メカニズムや生成過程、汚染調査など広く研究され、わが国においても社会的関心の高まりとともにその緊急対策が実施された。

これらダイオキシン類は大気や土壌、水など様々な環境媒体を通して広く汚染している。これらの物質は難分解性であるとともに脂溶性が高いという物性的特徴から、生態系においては食物連鎖を通して生物へ蓄積される(Fletcher *et al.*, 1993)。このため高次栄養段階の生物、例えば海棲哺乳類や鳥類への高濃度曝露が懸念され、様々な毒性影響が化学物質の高濃度との関連が示唆されてきた(Norstrom *et al.*, 1990; Braune *et al.*, 1989)。特にアメリカ五大湖に生息する魚食性鳥類

における調査研究では、奇形や胚の死亡、生殖力や免疫力の低下と DDT や PCB, ダイオキシン類濃度との関連が議論されている (Postupalsky *et al.*, 1978; Gilbertson *et al.*, 1988; Fox *et al.*, 1991).

日本では 1998 年より環境庁が野生動物のダイオキシン類汚染実態調査を実施しているが、体系的な評価はまだなされていない。すなわち、個体レベルの影響評価には、曝露と体内濃度およびその体内分布や挙動、半減期の考察を含んだ考察が必要である。本研究では、野生動物における曝露の実態として魚食性鳥類であるカワウを中心に様々な食性を考慮に入れた他鳥種と比較し、その特徴を明らかにした。また曝露評価する組織・器官の違いによる体内分布を調べた。こうした蓄積特性や体内分布の特徴を踏まえて、東京湾から採取した魚類中濃度と分析されたカワウ肝臓中濃度を用いて定常状態における体内半減期を推定した。さらにこれら半減期を用いて非定常状態での時間的変化や環境中濃度変化と体内濃度の関係を考察した。特に卵の実測値を基準にした卵濃度推定のための補正式を用いて環境中濃度変化と卵濃度の変化を求めた。ここでは、東京湾のダイオキシン類汚染を明らかにした東京湾底質コアの年代別分析値 (Yao *et al.*, 2000) より BSAF (生物/底質蓄積係数) を用いて過去の魚類中濃度を推定し、これらを採食するという一定の仮定の下、卵への濃度変遷を明らかにした。本研究では個体群へ最も影響が大きい卵の胚死亡をエンドポイントとし、その濃度における胚発生の影響をミミヒメウの LD 値 (Giesy *et al.*, 1994) からリスクとして表現した。このように本報告では、わが国における野生動物へのダイオキシン類の曝露評価の筋書きを示し、環境中濃度変化と次世代への影響をリスクとして考察したものである。

## 2. 試料および方法

### 2.1. 生体試料

分析に用いたカワウは、不忍池で屍体回収されたものや、行徳野鳥観察舎などで保護された後死亡したもの、また食性調査のために捕殺されたものであり、カワウ合計 16 検体を分析に供した。また、比較のため分析した他鳥種 10 種も保護の後死亡したものや、羽田空港で駆除されたものなどである。カワウ卵は 1998 年 2 月に環境庁鳥獣捕獲許可のもと 1 巣より 1 卵採取した合計 9 個を分析に供した。またカワウの餌として江戸川河口域から採集した 3 種の魚類は全身分析した。これら鳥類の試料は外部計測および解剖の後、肝臓が取り分けられた。卵は表面を洗浄した後、内容物を取り出した。すべての試料は分析までポリエチレン袋もしくはガラス密閉容器に入れ -30°C で保存したカワウと魚類試料を Table 1 にまとめた。

### 2.2. 化学分析

試料は、凍結乾燥 (48h) の後、脂肪抽出 (12h) をおこなった。脂肪の秤量後、内部標準物質 (<sup>13</sup>C ラベル化の 2,3,7,8 置換体の PCDD/Fs と 1,3,6,8-TCDFs, Co-PCBs (IUPAC No.77,81,105,114,118, 123,126,156,157,167,169,189) を添加した。Nakamura *et al.* (1997) および Sakurai *et al.* (1997) を参考にし、硫酸処理後、シリカゲルカラム、アルミナカラム、活性炭埋蔵シリカゲルカラムの各種クリーンアップをおこない分画・精製した。PCDD/Fs と non-ortho PCBs は最終濃縮を 25 μl とし、HRGC

(HP6890)/HRMS (Micro-mass Autospec-Ultima)によって分解能 10,000 (10% valley) 以上で定量した。PCDD/Fs の分析には、DB-5 と DB-17 (J&W) の GC カラムを用い、87 ピークを同定・定量した。また Co-PCBs においては、DB-5 (J&W Scientific) を用いた。

### 3. 結果および考察

#### 3.1. カワウ肝臓および卵中 PCDD/Fs, Co-PCBs 濃度レベル

分析されたカワウ肝臓中ダイオキシン類濃度と他鳥種の濃度を比較すると、PCDD/Fs と Co-PCBs のいずれもカワウが有意に高濃度であり、カワウ肝臓中 (n=16) で、PCDD/Fs および Co-PCBs がそれぞれ平均 33,000 pg/g fat, 平均 33,000 ng/g fat であった (Fig.1)。またすべての鳥類肝臓中の PCDD/Fs 異性体は 2,3,7,8-置換体が優占的に残留しており、カワウではその割合は肝臓と卵でそれぞれ 97%, 90% であった (Table2)。また 1,2,3,7,8-PeCDD, 1,2,3,6,7,8-HxCDD および 2,3,4,7,8-PeCDF などが高濃度でみられた。これらの異性体は魚類中異性体プロファイルとも類似しており、カワウ肝臓中濃度は魚類の蓄積パターンを反映したものであると示唆された。餌である 3 種の魚類 (スズキ, コノシロ, アナゴ) の全身の PCDD/Fs と Co-PCBs 濃度は、それぞれ 210~710pg/g fat, 54~470ng/g fat であり、魚種によって差が見られた。魚類中 PCDD/Fs 異性体の組成比が似ていることから、ここでは平均値を用いて各異性体の相対的な BMF (生物蓄積係数) を求めた。カワウ肝臓および卵における PCDD/Fs および Co-PCBs の BMF を比較すると、肝臓における BMF は卵よりも 10 倍大きくなり肝臓への高い蓄積傾向がみられた (Fig.2, 3)。特に肝臓中 PCDDs では、1,2,3,6,7,8-HxCDD (300) > 1,2,3,4,7,8-HxCDD (200) > 1,2,3,7,8-PeCDD (140)、また PCDFs では 2,3,4,7,8-PeCDF (340) > 1,2,3,6,7,8-HxCDF (290)、Co-PCBs では、CB189 (3100) > CB169 (420) などが高い値を示した。一方、2,3,7,8-TCDF (1.9) や CB77 (6.9) は小さい値となった。このように組織や異性体によって蓄積レベルが異なることから、カワウ独自の蓄積や代謝が関係していることが示唆された。

#### 3.2. PCDD/Fs および Co-PCBs の体内分布

食餌経路からの曝露について、一旦、体内に取りこまれたダイオキシン類がどのように各組織に分布するのかを同一個体から採取された組織・器官を分析し、比較した。分析された個体は輸卵管に産卵直前の卵を持っており、筋肉、肝臓、腎臓、血液の合計 5 部位の組織・器官で分析をおこなった。脂肪あたりで PCDD/Fs を比較したところ、OCDD を除くすべての 2,3,7,8-置換体は、肝臓中が高濃度であった (Fig.4)。OCDD は血液中で高濃度であった。特に、1,2,3,7,8-PeCDD, 1,2,3,6,7,8-HxCDD, 2,3,4,7,8-PeCDF は、肝臓に特異的に蓄積する傾向がみられた。Co-PCBs では、non-ortho PCBs の CB126 や CB169 だけが肝臓への高い蓄積傾向がみられた。Mono-ortho PCBs の異性体では血中濃度で若干高濃度であるが脂肪重量あたりの濃度は同レベルであることが明らかとなった。

#### 3.3. 毒性等価量 (TEQ) と寄与割合

WHO-birds TEF (Van den Berg *et al.*, 1998) を用いてカワウ肝臓および卵中、魚類のダイオキシン類の TEQ を算出した。総 TEQ は、カワウ肝臓で 27,300, カワウ卵で 3,600, 魚類で 330pgTEQ/g fat であった。すべてのカワウ試料に共通して PCDDs は 1,2,3,7,8-PeCDD, PCDFs は 2,3,4,7,8-PeCDF が大部分を占めた。PCDD/Fs の寄与割合は、カワウ卵で約 30% であるのに対し、カワウ肝臓では 50% を越えた。Co-PCBs では、non-ortho PCBs が大きく寄与した。特にカワウ試料では CB126 が、魚類試料では CB77 が優占的であった (Fig.5)。

五大湖に生息するミミヒメウでは、繁殖調査と H4IIE による卵中 TEQ 濃度の相関が報告され、死亡胚の影響濃度を LD 値としてまとめられている (Giesy *et al.*, 1994)。いくつかの TEQ 濃度における LD 値をプロットして回帰直線を求めた。これに東京産カワウ卵の実測値である TEQ 濃度を代入して LD 値を求めた結果、その値は 27 となった。これは個体群全体の 27% 影響を受けていることを意味する。五大湖と東京湾の汚染パターンや魚類中 TEQ の組成や濃度分布に違いがあるが、本研究では、卵中 TEQ 濃度と回帰直線から見積もられる LD 値を用いて評価をおこなった。

### 3.4. カワウにおける 2,3,7,8-置換体 PCDD/Fs および Co-PCBs の体内半減期

生物への化学物質の曝露評価をおこなう上では、評価する組織中濃度を予測することが望ましい。例えば筋肉や肝臓、卵での濃度に一定の関係があれば、そのいずれかの組織中濃度から他組織の未知濃度が推定できる。体内分布を比較した結果から、PCDD/Fs の肝臓への特異的な蓄積が明らかになった。よって、肝臓中脂肪濃度を基にした他組織の脂肪あたりの濃度推定は過大評価となる。したがって餌濃度から体内組織への蓄積を推察するためには、肝臓への蓄積など各異性体ごとに考慮しなければならない。そこで本研究では、カワウ雌個体の詳細解剖のデータにもとづいて、体重あたりの各組織・器官重量を求め、体内分布を調べた個体の各組織濃度を乗じて体内負荷量を求めた。ここでは、筋肉、肝臓、腎臓、血液、卵、その他内臓と皮ふの負荷量の合計を 1 とし、各異性体ごとの組織分配はその負荷量にしめる組織の存在比から決めた。ここでは骨や羽は脂肪含有量が小さいと考えられるため負荷量の考察からは外した。またカワウの場合、ほとんどの個体で皮下脂肪がみられなかったことより脂肪組織も無視した。各パラメーター Table 3 に示す。ただしその他については筋肉の脂肪割合と濃度を用いた。

定常状態を仮定した摂取量と肝臓中濃度の関係は、肝臓への組織分配比を含んだ下記の式から説明できる。

$$\frac{C_{Fish} \times AD \times f}{Fat_{liver}} \times \frac{T_{1/2}}{\log_e 2} \times Ratio_{liver} = C_{liver}$$

本研究では、全身分析した東京湾魚類 ( $n=5$ ) の算術平均値と成鳥のカワウ肝臓中濃度の平均値を式に代入することより半減期 ( $T_{1/2}$ ) を算出した (Table 4)。ただし体内半減期は魚類中濃度に大きく左右される。東京都による魚類の分析値 ( $n=90$ ) から濃度の標準偏差を考慮に入れると 2,3,7,8-TCDD の体内半減期は 31~69 日と数十日の範囲が考えられた。カワウの 2,3,7,8-TCDD の

体内半減期は、実験動物のマウス(11~24 日)、ラット(17~31 日)に近いものとなった(Streit *et al.*1992)。毒性の大きい1,2,3,7,8-PeCDD や 2,3,4,7,8-PeCDF の半減期は 2,3,7,8-TCDD のそれぞれ 1.37 倍, 1.67 倍であった。

### 3.5. 体内半減期の検証

これらの半減期を用いた非定常の式で、5 歳齢を仮定しておこなった肝臓中濃度の計算結果は、5 歳齢と同定された個体の肝臓中濃度の実測値と非常に近い値であった。しかし、同様に卵中濃度の計算を行うと卵( $n=9$ )の実測値よりも大きく上回る結果となり、卵との分配比の設定などいくつかの課題が残された。ここでは、実測値に合わせるために計算値に 0.2 を補正值として乗じた。

### 3.6. 東京産カワウにおけるダイオキシン類の曝露とリスク変遷

東京湾における年代別(1935~1993 年)底質コア中ダイオキシン類濃度の変遷が調査されている(Yao *et al.*,2000)。過去の汚染状況下におけるカワウ卵への曝露を予測し、リスク変遷を推定した。1998 年に捕獲された魚類中平均濃度と 1993 年の底質中濃度から BSAF を求めた。ここでは魚類中の湿重当たりの濃度として扱うため、魚類中脂肪含量や底質中有機物量(OM)は、均一という仮定で計算した。1990~99 年までの東京都が調査した魚類中濃度には大きな変化はみられず、計算に用いた分析値と同レベルであることからこれらの設定は妥当であると考えられる。年代別底質コア濃度から BSAF を用いて過去の魚類中濃度を予測した。Bird-TEF から魚類中 TEQ 濃度を求めたところ、1960 年から魚類中 TEQ 濃度は上昇し、1967~72 年に最大となった。魚類中 TEQ 寄与においては CB77 が 50~60%、CB126 が 10%前後を占めた。当時のカワウがそれらの魚類を採食するという一定の仮定の上で、半減期をもちいて卵への濃度を推定した。卵中 TEQ 濃度と死亡胚の回帰直線式から各年代における卵の LD 値を計算し、リスクとして変遷を示した(Fig.6)。その結果、1960 年前半からリスクは急激に上昇し 1967~72 年をピークにリスクは減衰するという結果が得られた。中でも CB126、CB77 の寄与が大きく、それらの環境中濃度の変化は個体への毒性にも大きく寄与した。しかしながら、PCDD/Fs のリスクは、1970 年代から若干大きくなったが、その大きさは今もそれほど小さくはなっていないと推定された。

カワウは 1970 年に個体数を約 170 羽まで減少させており(Ishida *et al.*,2000)、生態学の研究者は環境汚染の影響によるものと考えていたが、本研究によって推定された過去から近年にかけてのカワウのダイオキシン汚染の推定は、この考察を支持するものとなった。しかし、ダイオキシン以外の汚染物質や環境要因による影響の大きさについてはまだ十分検証できておらず、現時点では一つの仮説の域を超えていない。

## 4. 結論

日本におけるダイオキシン類の野生鳥類への曝露の実態をふまえ、生物に与える影響を定量的に評価した。まず東京湾周辺に生息する魚食性鳥類のカワウの肝臓および卵を分析しダイオキシン類の蓄積傾向を明らかにした。カワウ肝臓中濃度は他鳥種よりもきわめて高く、2,3,7,8-置換体が

97%以上を占めた。また卵でも同様の傾向を示した。魚類中濃度と比較した結果、異性体プロファイルは類似しており魚類からの曝露を反映していることが伺えた。特に肝臓に対する BMF では、PCDD/Fs や Co-PCBs の異性体によって大きな差がみられ、カワウ独自の蓄積傾向がみられた。さらに 5 部位の組織・器官を分析し、体内分布を比較した結果、2,3,4,7,8-PeCDF などの肝臓への高い蓄積性が認められた。カワウのダイオキシン類曝露評価には、これら BMF や体内分布にみられる異性体の蓄積特性から各異性体ごとの体内蓄積性を考慮した考察が必要であることを示した。肝臓と卵中ダイオキシン類濃度を 2,3,7,8-TCDD 毒性等価係数(WHO Birds-TEF)を用いて等価量(TEQ)に換算した結果、肝臓における毒性寄与はPCDD/Fs が50%を占め、卵ではCo-PCBs が70%を占めた。このように肝臓と卵では毒性寄与に違いがあることを明らかにした。魚類および成鳥の肝臓中平均濃度、体内分布から求めた組織分配比を用いて定常状態を仮定した体内半減期を算出した。また東京湾における環境濃度の過去からの変遷は底質コア中ダイオキシン類濃度に基づくとして、BSAFを用いて餌の濃度変遷を推定した。推定された過去の魚類中濃度から、これを採食するという仮定の上で、半減期と補正式を用いてカワウ卵への濃度を推定しその変遷を推定した。過去の年代別におけるカワウ卵中 TEQ 濃度を、五大湖のミミヒメウの毒性影響値から LD 値というリスクとして示した。このようにして算出したカワウ卵の生存リスク変遷は、1960 年前半からリスクは急激に上昇し1970 年代をピークに減衰した。最も毒性に寄与が大きかったのはCB126やCB77などのCo-PCBsであった。このように環境濃度の変化によるカワウ卵への影響は、速やかにかつ顕著に現れると考えられた。

## 5. 謝辞

本研究は、科学技術振興事業団の戦略的基礎研究事業(CREST)と文部科学省科学研究費補助金(No.11680527)「水棲生物食物連鎖におけるダイオキシン類の生物濃縮に関する研究」の支援のもとに推進された。サンプリングおよび生態情報においては、行徳野鳥観察舎の蓮尾嘉彪氏、蓮尾純子氏、日本野鳥の会の成末雅恵氏、加藤七枝氏を初め諸氏に、また東京大学野生動物学研究室の松沢友紀氏に御協力を頂いた。ここにあわせて感謝します。