HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	廃棄物処理分野におけるバイオアッセイ手法の適用について
Author(s)	山田, 正人; 井上, 雄三; 大迫, 政浩 他
Description	第5回衛生工学シンポジウム（平成9年11月6日（木）-7日（金） 北海道大学学術交流会館） . 2 評価・モデル . 2-5
Citation	衛生工学シンポジウム論文集, 5, 76-81
Issue Date	1997-11-01
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/7708
Type	departmental bulletin paper
File Information	5-2-5_p76-81.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

2－5

廃棄物処理分野におけるバイオアッセイ手法の適用について

山田正人（国立公衆衛生院）、井上雄三（国立公衆衛生院）、大迫政浩（国立公衆衛生院）、
木苗直秀（静岡県立大学食品栄養科学部）、小野芳朗（岡山大学環境理工学部）、
吉野秀吉（神奈川県環境科学センター）、市川　勇（国立公衆衛生院）、田中　勝（国立公衆衛生院）

1．はじめに

我々はより快適で、より便利な生活をもとめる余り、十分な安全性を確認する手段のないまま有害な化学物質を含む生活用品を利用し、廃棄し続けてきた。また、廃棄物の処理・処分の過程で非意図的、副次的に有害物質が生成されていることもわかってきた。その結果、これら有害物質が我々の生活環境や自然環境を汚染し、生物濃縮等を経て人や野生動物を曝露し、人の健康や生態系に対するリスクを増大させている疑いが生じている。しかし、廃棄物処理・処分システムにおける有害物質の動態や、その人の健康や生態系に対するリスクに関しては、未だ十分な科学的知見が得られておらず、行政施策も十分満足なものとはなりえていない。このような状況が廃棄物処理処分施設に対する不信感をいたずらに煽る結果となっている。

これまでの有害物質の管理では、比較的高い濃度で短期的に人体に影響を与える物質を念頭におき、物質毎に人体影響を与える下限値を考慮して法的規制が行われてきた。しかし、微量かつ長期間の曝露により人体や生態系に影響が生ずる発ガン物質や内分泌撹乱物質等には、影響が現れる下限値（閾値）がないとされており、極微量でも存在する限り人の健康や生態系に対するリスクはゼロにならない。また、これら物質の多くは未同定かつ未規制である。さらに単一ではなく多数の有害物質が同時に作用して人の健康や生態系に影響を与える可能性がある。これらが現状の廃棄物処理処分施設の安全性に対して不確実性をもたらし、不安を煽る主な原因であり、我々は、現在だけでなく将来にわたって、未知かつ未規制なものを含めた化学物質のリスクを総合的に同定し、評価して、社会的に許容されるレベルまで制御するようなより厳重なリスク管理を廃棄物処理・処分システムにおいて行う必要がある。

我々は、廃棄物処理・処分過程に由来する化学物質の人の健康や生態系に対するリスクを効率的ならびに総合的に評価するバイオアッセイ手法として、変異原性試験に着目し、その廃棄物処理分野への適用法の検討を進めている。本稿では、その廃棄物処理・処分システムの支援技術としてバイオアッセイの位置づけと、その適用における問題点を議論する。

2．有害物質管理からみた廃棄物処理・処分システムの特徴

2．1　廃棄物処理・処分システム

廃棄物処理・処分システムは、生活や産業活動により生じた廃棄物を収集輸送し、再利用や再資源化できるものに選別・回収・前処理を行い、また、その他のものについては減容化・安定化・無害化の処理を施して、最終的に生じた残渣を一定の場所に周囲環境に悪影響を与えないように、安全かつ長期にわたって保管するシステムである。図１はこれらの諸過程と環境負荷経路を示したものである。平成５年度において、一般廃棄物は5,030万tが発生し、85%が減量処理され、74%が焼却処理されている。また、産業廃棄物の発生量は４億万tであり、このうち汚泥が46%を占め、8,400万tが最終処分されている[1)]。

一般廃棄物の管理では、最終処分量の減容化・安定化を行う中間処理として、焼却処理を経由するシステムが主流である。100tのごみを焼却した場合、目安として、ストーカー炉では焼却灰（底灰）が9tおよび飛灰が3t、流動床炉では炉底灰が5tおよび飛灰が8t生ずるため、重金属のような非消滅型の物質はこれら焼却残渣に濃縮される。炉内温度750～950℃という燃焼条件より、蒸気圧の高い金属化合物（Cd、Pb、As、Zn、Cu、Hg等）は主に飛灰に移行する。また、燃焼等により有機塩素化合物

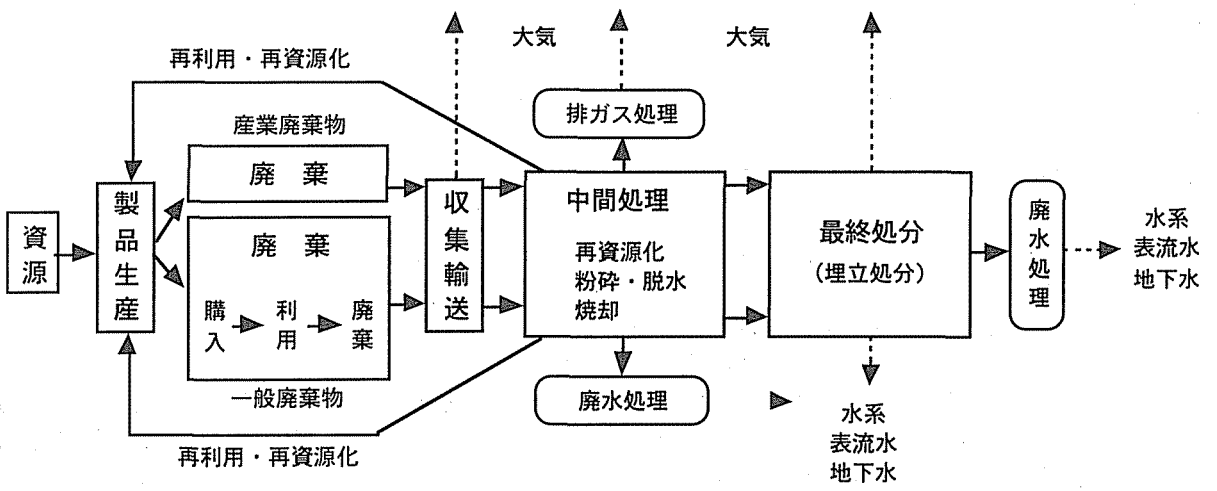

図１　廃棄物ライフサイクルと廃棄物処理・処分

等の有害物質が非意図的に生じ、高沸点な化合物は主に飛灰に移行する。飛灰は排ガス中から集塵機により除去される。

不燃物や焼却残渣（底灰、飛灰）は最終処分場に埋め立てられる。最終処分場は蓄積型（積分型）の施設であり、廃棄物を処理するのではなく、保管することを目的としている。また、特別な場合を除いて最終処分場は完全な閉鎖システムではなく、多くの場合、浸出水が排水処理で有害物質等を除去された後に水域へ、また埋立地ガスが大気中へ放出される。

最近では資源保全や最終処分量削減のため、リサイクル（再利用、再資源化）が廃棄物処理・処分システムで重要なプロセスとなりつつある。平成５年度では、一般廃棄物で発生量の8.0%がリサイクル、産業廃棄物で39%が再生利用されている[1)]。

２．２　廃棄物処理・処分システムにおける有害物質管理

有害物質管理においては、まずリスク発生を回避するため、有害物質をシステムへ取り込まないこと、またシステム内で発生させないことが重要である。しかし、環境への配慮よりは製品の機能の重視という功利主義から脱却できない社会が、製品の有害物質または有害物質へ変換されうる物質の含有を抑止することを困難にしている。また、焼却という高温反応炉を減容化・安定化するプロセスとしてシステムに組み込む限り、微量の有害有機化合物の生成から逃れることはできない。すなわち、現状の廃棄物処理・処分システムにおいては多種多様な有害物質の流入や発生が必須の前提条件となる。

次に、有害物質がシステムに取り込まれた場合には、環境中に移行する前にこれを媒体から除去し、環境から隔離することが重要である。水処理では液相から有害物質を取り除くことが主目的であるが、廃棄物処理・処分では媒体から除去された有害物質が再び廃棄物となるため、無害化および隔離が重要となる。ところが、環境に放出される媒体から全ての有害物質を完全に除去すること、また除去された（または残渣に濃縮された）全ての有害物質を無害化すること原理的および技術的にまず不可能であるし、ならば残ったものを全て遮断型処分場のような施設で完全に隔離しようとしても、主にコストの面で社会的に許容されない。

したがって、現状の廃棄物の処理・処分システムにおいては、①廃棄物が処理・処分プロセスに流入する際にリスクの大きい有害物質の含有を識別して特別に隔離したり、②排水処理や排ガス処理を行って有害物質が直接かつ大量に環境中へ放出されることをできるだけ回避する一方、それでもシステム内に残留する有害物質については、③中間処理や最終処分場における安定化の過程からわずかな量が環境中へ漏洩することを、拡散による希釈や自浄作用等により、ヒトの健康や環境へのリスクが無視できるほど小さくなると判断される程度に制御することが合理的である。

さらに、廃棄物をリサイクルする過程においては、再利用・再資源化の方法や再利用・再資源化物

の用途によっては有害物質が製品内に残留または濃縮される恐れがあり、これらの質の管理も必要である。

3．廃棄物処理・処分システムへのバイオアッセイの適用

3．1　システムにおいてリスクを評価する段階

前述のような多種多様な有害物質の流入を前提としたシステムでは、
①ごみの搬入時または再利用・再資源化物の出荷時等、
②処理プロセスが有害性の低減に対する評価、
③処理過程におけるガスや水等の放出後のモニタリング、
において存在する有害物質を同定し、その毒性を総合評価し、リスク管理への情報を与える必要がある。しかし、未知の幾千万あるやもしれぬ化学物質を従来の個別物質定量型の化学分析でいちいち調べてゆくことは、費用の面のみならず、汚染と曝露がすでに進行しているという認識に立てば、分析に時間がかかるということも不利である。化学物質の低濃度長期曝露による健康リスク増大を回避するためには、より濃度の低いレベルでこれら物質を検知しなければならないから、さらにこの傾向は増す。また、複数有害物質における複合効果もこれだけではではわからない。すなわち我々は、より費用と時間をかけずに、より総体的にシステムの各段階で有害性を検知する試験系を構築する必要がある。この際、生物学的な試験系であるバイオアッセイもしくはバイオモニタリングが、有害物質を生物に対する毒性としてダイレクトにかつ総体的に評価する手法として注目される。

3．2　バイオアッセイの適用性

バイオアッセイは、「対象物質を化学薬品の代わりに生物材料を用いて、化学反応の代わりに生物応答を測定し、物質量の代わりに生物作用量を分析値として評価する手法」[2]である。その利用目的により、ヒトの健康への毒性評価を指向したものと、生態系への毒性評価を指向した試験に、政策的には、化学物質の有害性を事前に把握する試験と環境中に放出後に監視する試験に、さらに、対象とする毒性では致死毒性物質の混入を瞬時に判定する緊急試験と慢性毒性物質の長期曝露評価試験がある。一方、供試生物材料からは、多細胞生物個体、単一細胞、細胞内器官（オルガネラ）を用いた試験があり、その毒性判定の指標（エンドポイント）によっても区別されている。なお、これまで開発されてきたバイオアッセイは、本来、医薬品などの単一物質に対する評価系であり、複数物質が混在している場合の結果の評価には種々の前提条件がともなうこと、また、人の健康への影響を考えるときに下等動物や細胞、細胞内器官を用いた簡易毒性試験を用いる場合は、人体での毒性発現との相関性が問題となる点が、まず留意すべき事項である。

環境汚染物質のヒトの健康や生態系への致死毒性を評価する際には、簡易性および迅速性が特に重要である。この致死毒物の混入や搬入を評価する試験には、例えば、最終処分場における搬入物管理で海洋性発光細菌を用いたマイクロトックス試験等が、排水監視では例えばOECDのガイドラインにある植物プランクトンや魚やミジンコを用いた試験等があり、諸外国ではこれらのいくつかを排水管理や廃棄物管理に導入している[3]。廃棄物管理においてこれらの試験は、規制値以外の毒性の総体を捉えるという意味もあるが、基本的に化学的な分析・定量に至る簡易なモニタリング法やスクリーニング法として位置づけられている。

微量な環境汚染物質への長期曝露による慢性毒性や発ガン性などの特殊毒性では、毒性に寄与する物質の多くが未知かつ情報が限られており、検知および評価法として、毒性応答という現象で総体的に有害性を捉えるバイオアッセイがより重要となる。この際、齧歯類等の動物固体を用いた長期投与試験や野生動物における腫瘍や奇形の発生のモニタリングが実際の毒性発現に最も近い試験であるが、費用がかかり熟練を要するため、廃棄物処理・処分施設の現場で日常的に用いることは現実的でない。また、物質がすでに環境中に放出されようとしている局面では、現象が観察されるまでにすでに重大な曝露が生じているかもしれないという問題がある。そこでここでは、特殊毒性、特に発ガン性に対して、スクリーニングレベルでより迅速に結â が得られる変異原性試験を、廃棄物処理・処分システムにおける包括的な毒性検知法として位置づけようと試みる。

4．変異原性試験の有害物質スクリーニングとしての位置づけ

表１　主な変異原性試験の種類[4)]

1．遺伝子突然変異を指標とする試験
a．微生物（サルモネラ菌、大腸菌など）を用いる遺伝子突然変異試験
b．哺乳類培養細胞を用いる遺伝子突然変異試験
c．ショウジョウバエを用いる試験
d．マウスを用いるスポットテスト
e．マウスを用いる特定座位試験
2．染色体異常を指標とする試験
a．哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験
b．げっ歯類の骨髄細胞を用いる染色体異常試験
c．げっ歯類を用いる小核試験
d．げっ歯類の生殖細胞を用いる染色体異常試験
e．げっ歯類を用いる優性致死試験
3．ＤＮＡ損傷を指標とする試験
a．微生物を用いるＤＮＡ修復試験（Rec-assay）
b．哺乳類細胞を用いる不定期ＤＮＡ合成（UDS）試験
c．哺乳類細胞を用いる姉妹染色分体交換（SCE）試験
4．その他の試験
a．酵母を用いる体細胞組換えおよび遺伝子転換試験
b．マウスを用いる精子形態異常試験
c．哺乳類培養細胞を用いる形質転換試験

現在ある変異原性試験は表１[4)]に示すように、遺伝子突然変異、染色体異常ならびにDNA損傷を指標とする試験とその他に分類される。遺伝子突然変異を指標とする試験には、例えば、細菌の復帰変異試験であるAmes 試験や、マウスや魚の細胞における突然変異を遺伝子工学的手法を用いて検出するトランスジェニック動物がある。染色体異常を指標とする試験には、例えば、高等哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験や生体内における髄細胞や赤血球の染色体異常を検知する小核試験がある。DNA損傷を指標とする試験には、枯草菌を用いるrec-assayとサルモネラ菌を用いる*umu*試験がよく用いられている。また、最近、単一細胞の核がDNA損傷を受けた結果生ずるDNA一本鎖切断とアルカリ易溶出部分を電気泳動によって検出するSCG（Single cell gel）試験が開発され、環境モニタリングへの活用が期待されている。これらのうち、廃棄物処理分野では、Ames試験を最終処分場浸出水について[5)~7)]、都市ごみを焼却した際に生ずる煤塵について[8)、9)]、また焼却施設の排ガスについて[10)、11)]適用した例が報告されている。

変異原性試験を有害物質検知法としての適用する際には、いくつかの留意点がある。

①毒性評価値を健康リスク（または人体影響）にどう結びつけるか、

②複数物質が毒性に影響する場合に定量性があるか（相加性、相乗性、相殺性）、ならびに、

③手法（前処理や毒性試験法）が結果に与える影響（物質への特異性）をいかに少なくするか。

変異原性試験は、発ガン性や催奇形性に至る機序の一部である突然変異や染色体異常を検知する試験系であるから、試験結果を健康リスクや人体影響に結びつけるためには、いくつかの仮定を入れなければならない。また、複合汚染を取り扱う場合、物質間の相加性、相乗性ならびに相殺性を考えると、その仮定はより複雑になり、結果の量的な評価が難しくなる。また、変異原性試験では短期的に結â を求めるため高用量を用いる必要があること、さらに、*in vitro*試験の場合、一般に被験物質は水や溶媒に溶かした状態で供試生物に曝露させることから、環境試料を濃縮・抽出する前処理が必要となり、この操作による被験物質の選別や試料マトリックスの改変が避けられない。すなわち、現段階では、変異原性試験の結果そのものを健康リスクや人体影響に定量的に結びつけることは難しく、あくまでも化学分析値と生物個体を用いた試験結果をからリスクを定量すべきである。スクリーニング法としては、なるべく幅広い物質を検知できることが望ましい。現段階では、全ての物質にオールマイティーな濃縮・抽出法や変異原性試験法は存在しないから、複数の試験法を同時に適用することによって、物質のとりこぼし（false negative）を無くすことが唯一の道である。

こうした条件の元で考えられる適用分野とその意味付けは、

①周辺環境の事後管理におけるモニタリングと、

②搬入物の事前審査やモニタリングにおける異常値の精査、ならびに処理プロセスの評価における化学分析の前段としてのスクリーニングである。

図２に最終処分場のリスク管理を念頭においた例を示す。

モニタリングでは、浸出水について、周辺環境に存在する生物（例えば魚）を利用して、地理的、時間的なバックグラウンドとの比較により異常を検知しようとする。この際には、同じ個体を用いて

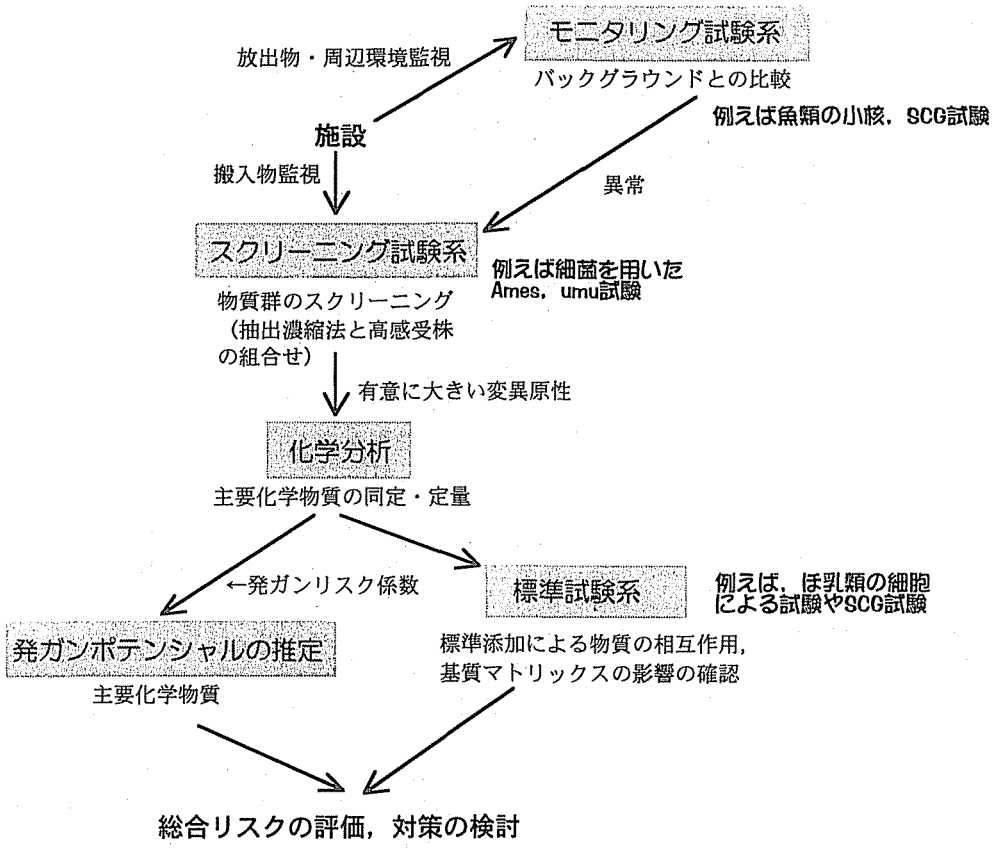

図２　変異原性試験を用いたリスク検知システムの例

異なるエンドポイントを検知し、かつ生物試料を殺さず長期監視が可能な小核試験やSCG試験等が適しているだろう。

スクリーニング試験系では、複数の前処理手法と複数の試験手法を用い、それぞれの感受性または選択性を組み合わせて、特に変異原活性の高い変異原物質群（例えば、塩素や二トロ基等の官能基、VOCとPAHs等）とその順位を推定し、後段の化学分析へ情報を与えようとする。この際には、様々な高感受性株を有するAmes試験、*umu*試験などの細菌試験が適当であろう。これらの情報により詳細に分析すべき変異原物質がある程度特定でき、化学分析の手間と時間が軽減されるだろう。

さらに別系統で、変異原物質以外の基質マトリックスの影響または複合作用による毒性効果を補完するために標準試験系を設ける。これには、よりヒトに近い系として哺乳類の培養細胞による染色体異常試験やSCG試験が適していると考えられるが、詳細な試験手法については検討が必要である。

以上にように優先順位づけられた物質群について得られた化学分析値は、全ての物質が特定できれば直接、また、同定できない部分があれば、例えば、スクリーニング試験における相対的な変異原性の大きさを用い、ベンゾ［a］ピレンのような代表的な毒性物質に対する当量値として、既知の生物個体を用いた試験の結果やそのデータベースから発ガンリスクポテンシャル等へと半定量的に変換される。そして、この結果に標準試験系で得られた基質マトリックスや複合作用の影響を加味して、最終的に総合的なリスク評価を行おうとするものである。

ここで示したこの試験システムの例は、将来的な技術開発の見込みを含めて現在利用可能な手法を組み立てたものであり、実際の廃棄物処理・処分システムにおける適用性や妥当性は今後の検討課題である。しかし、バイオアッセイと化学分析を相補的に用いて、リスクの大きい物質群とその優先順位を把握し、総合的なリスクを半定量的に得ようとする考え方は、廃棄物処理分野におけるリスク管理支援ツールとして合理的であると考える。

5．おわりに

本稿では、廃棄物処理・処分システムにおいて発生する有害物質による人の健康や生態系に対するリスクの特性を整理し、リスク管理における支援システムとして、バイオアッセイ、特に変異原性試験を適用する際の諸問題について議論した。 図２で示した試験システムのそれぞれの試験法には、まだ研究段階であったり、特に手法の簡易性、定量性、再現性という面から課題が残されているものがある。また、複数の試験法における結果の相互関係や複合物質に対する応答はほとんど明らかにされていない。さらに、試料の前処理手法の特性についても情報は限られている。

我々は、これらの点について、厚生省公衆衛生調査研究推進費「廃棄物ライフサイクルにおける有害物質の環境・健康リスクに関する研究」のなかで検討を進めている。この検討では、まず焼却処理を経由する廃棄物処理・処分システムを念頭において、焼却底灰・飛灰、ならびに最終処分場浸出水を当面の評価対象とし、これら試料中に含まれるであろう重金属類、多環芳香族等のモデル物質を設定している（表２）。現在、これらの試料およびモデル物質に、変異原性試験としてAmes試験、*umu*試験、小核試験、SCG試験、ならびに齧歯類への長期投与試験を同時に適用し、前処理法の影響を含めた廃棄物試料の試験法への適用性やそれぞれの試験株、試験法の特性について検討しているところであり、詳しい結果が得られ次第報告したい。

表２　焼却処理を経由する廃棄物処理・処分システムを想定したモデル物質

－金属－：廃棄物由来
(1) 鉛
(2) アンチモン（Sb^{3+}、Sb^{5+}）
(3) カドミウム（Cd^{2+}）
－有機化合物－：中間処理（焼却）過程における生成物
(4) ベンゾ［a］ピレン
(5) ジニトロピレン類
(5)-1 1,6－ジニトロピレン
(5)-2 1,8－ジニトロピレン
(5)-3 1,3－ジニトロピレン
(6) Trp-P-2
(7) クロロフェノール類
(7)-1 ペンタクロロフェノール
(7)-2 2,4,6－トリクロロフェノール
(7)-3 2,4－ジクロロフェノール
(8)フロランテン類
(8)-1 フロランテン
(8)-2 ベンゾ［b］フロランテン

［参考文献］

1）厚生省生活衛生局水道環境部環境整備課監修（1996）：日本の廃棄物'96、（社）全国都市清掃会議、東京

2）内海英雄（1996）：水環境の安全性評価のためのバイオアッセイの今後、水環境学会誌、19、758-763

3）大迫政浩ら（1997）：廃棄物埋立処分場における有害性モニタリングへの生物学的アプローチ、用水と廃水、39、805-819

4）祖父尼俊雄（1993）：環境物質の変異原性の検出法、薬局、44、1699-1705

5）染谷　孝ら（1992）：変異原性試験による廃棄物埋立地浸出水中の微量汚染物質のサーベイランス、水環境学会誌、15、244-253

6）染谷　孝ら（1992）：廃棄物最終処分場の浸出水処理過程における変異原性活性の消長、水環境学会誌、15、321-326

7）鯉川寿美子ら（1992）：廃棄物埋立処分場浸出水に含まれる変異原物質の特性、廃棄物学会論文誌、3、51-56

8）吉野秀吉、浦野紘平（1993）：廃棄物焼却炉飛灰の変異原性試験のための試料調製方法、廃棄物学会論文誌、4、64-71

9）吉野秀吉、浦野紘平（1994）：一般廃棄物焼却灰の変異原性の実態と特性、廃棄物学会論文誌、5、11-18

10）吉野秀吉、浦野紘平（1994）：廃棄物焼却炉排ガスの変異原性試験のための試料採取・調製方法、大気汚染学会誌、29、245-253

11）H. Yoshino & K. Urano （1995）：Mutagenicity of exhaust gas from incineration plants of municipal waste, The Science of the Total Environment, 162, 23-50