

財団法人日中医学協会

2008 年度共同研究等助成金－調査・共同研究－報告書

平成 21 年 3 月 12 日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った研究テーマについて報告いたします。

添付資料：研究報告書

受給者氏名： 喜多 和子 

所属機関名： 千葉大学大学院医学研究院

所属部署： 環境影響生化学 職名： 講師

〒260-8670

所在地： 千葉市中央区亥鼻 1-8-1

電話： 043-226-02041 内線：

1. 助成金額： 1,000,000 円

2. 研究テーマ

中国医療における水の安全性：環境因子のヒトへの有害性を高感度で検出する方法を用いる
安全性評価

3. 成果の概要（100 字程度）

日本や中国の医療機関へ供給されている水道水とその供給源である河川水などの自然環境水のヒトへの安全性を、培養ヒト細胞を用いた生命科学検査により検証した。限定された地域に関する調査ではあるが、必ずしも安心という水質レベルではないことが示唆された。

※発表論文等

4. 研究組織

日本側研究者氏名： 喜多 和子 職名： 講師

所属機関： 千葉大学大学院医学研究院 部署： 環境影響生化学

中国側研究者氏名： 董 玫 職名： 教授

所属機関： 河北医科大学 部署： 基礎医学院法医学

中国医療における水の安全性：環境因子のヒトへの有害性を高感度で検出する方法を用いる安全性評価

研究者氏名 喜多和子
所属機関 千葉大学大学院医学研究院・講師
研究協力者 呂 颯, 宋 丹, 胡高峰, 孫 卓, 陳仕萍
中国側共同研究代表者名
董 玫
所属機関 河北医科大学・教授

要旨

水に関する視点から人々の健康を守ることを目標とし、日本や中国の医療機関へ供給されている水道水とその供給源である河川水などの自然環境水について、ヒトへの安全性を培養ヒト細胞を用いて検証した。さらに、飲用者の血清における毒性物質の存在の可能性を検討するため、河川水や血清の生命科学的検査法を立案し活用した。種々の化合物に致死高感受性の培養ヒト細胞であるRSa細胞を用い、MTT法を用いて検査した。検査資料である水や緩衝液で希釈した血清をカラムクロマトグラフィー法で濃縮し、その濃縮液を培養液中へ添加することにより細胞生存率を測定に供した。その結果、水道水用取水口近辺での江戸川河川水による細胞生存率が多摩川水より低い値であった。また、1年間の月別の測定値は、両河川水ともに、生存率が夏期に低かった。多摩川水では4月でも低値を示した。一方、中国河北省滹沱川については、浄水場近辺の河川水の値が低く、その一因に上流域ダムの水の悪化が示唆された。なお、血清については、検査した10名の中で、1名において、生存率の低下レベルが大であるものが検出された。今後の精査を必要とすることが示唆された。以上の結果から、日本と中国における限定された地域での飲用水源地での河川に関する調査ではあるが、必ずしも安心という水質レベルではないことが示唆された。

Key Words 水質, 河川水, 培養ヒト細胞, 生命科学検査

緒言：

地球は表面の3分の2が水に覆われているが、人が直接使用できる水は、全体のたったの0.0001%に過ぎない(1)。そのように貴重な水の水質を管理して保全することは大変重要なことである。日本の水道水源は約7割が地表水で、残りの3割は伏流水や地下水等である。その地表の水源の中には河川水があり、我々が毎日使っている水道水の重要な取水源となっている。水道水は河川水を取水口から引き込み、浄水場で浄化後供給されている。

一方、中国における河川水による水道水の供給源の構成は日本と酷似している。河川上流域にダム湖を有し、中流域での取水である。河北省内を流れる滹沱川については、取水口の上流域に黄壁荘ダムを有し、さらにその上流域に岡南ダムを有している。日本の多摩川では、上述の取水口より上流域に多摩湖(小河内ダム)を有し、江戸川では、その河川水の供給源領域に複数のダムを有している。

水道水の重要な水源として利用される河川水の水質は、ヒトの健康にも直接影響すると考えられる。我々が飲用水や料理水として毎日使っている水道水は、本当に安全かという問題がある(2)。過去には、河川水の水質汚濁により、ヒトの健康被害が指摘されてきている。多摩川の水を例にすると、1950年代後半からの高度成長期に向けて、汚染が激しくなってきた。特に、「アンモニア性窒素」の濃度は1960年代に入ると激増し、同時に、BOD値も急上昇した。1960年後半～1970年代には、魚類の生息限界のBOD値までに達していた。1970年9月19日朝日新聞の一面トップでは、多摩川の水を飲むとカシンベック病になるのでは？という疑いの記事が発表されたが、当時、水俣

病やイタイタイ病のいわゆる公害病も注目されていたことから大騒ぎとなった。カシンベック病は、直接死に繋がることはないが、骨の成長期に軟骨に異常が出るもので、成長と共に「骨多孔症」という症状が見られ、骨が脆弱になる。また、関節部分が竹の節のようにゴツゴツと膨れてしまい、外見上目立ってしまう疾病である。その他、多摩川の水質汚濁には、石炭酸の流出により水道水に異臭が発生したという例や、多摩川へのシアン流出により玉川浄水場が 34 時間取水停止という例がある。江戸川にも漁業被害という例があった。都市化が進行した高度成長期以降、江戸川の水質は急速に悪化した。原因のひとつが、東京のベッドタウン化した地域を流れる 16 の支流の水質悪化であった(3,4)。

現在の中国においては、水質悪化と共に水量の枯渇という深刻な問題が発生している。本研究ではこのような多摩川や江戸川の歴史を配慮しつつ、また、中国でも同様な歴史をくりかえさないためにも、病院で使用されている水道水の供給源としての河川水については、取水口周辺とその上流域での河川水の水質を独自の生命科学検査法で調査することとした。

対象と方法：

1. 水サンプルの採取

日本においては、各月別の水サンプルを得た。採水場所は多摩川の小作浄水場近くと、江戸川の金町浄水場近くとした。また、千葉県内と東京都内の水道水も、病院や家庭などで採取した。中国においては、董玫河北医科大学教授が滹沱川の水や水道水を採取した。採水した水サンプルを -20°C で保存した。

2. 水含有成分の濃縮

ペリスタポンプを用いて、水サンプル 250 ml をウォーターズの OASIS HLB カラム(1 ml)に 190 ml/h の流速で通過させ、水の中にある有機化合物を吸着させた。このカラムを 5%メタノール 2.0 ml で洗浄後、吸着成分を 100%メタノール 2.0 ml で溶出し、デシケーターで減圧乾燥後、DMSO 20 μl で溶かし、約 10,000 倍の濃縮サンプルとした。濃縮サンプルを -20°C で保存した。

3. MTT assay

様々な化合物に致死高感受性の培養ヒト細胞 R5a を用い、既報(5)の方法により細胞の生存レベルを MTT 法で測定した。いわゆる環境ホルモンの一種である bisphenol A あるいは濃縮サンプルを培養液中へ添加後、48 時間培養し、MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) tetrazolium bromide)液を添加し、4時間後波長 570 nm で吸光度を測定した。

4. 血清とその成分の準備

検査希望者の血液について、日本においては、報告者所属の論理審査に基づき、インフォームドコンセントを施行の上、採取した。中国の人々については、中国において招携研究者が収集した。それぞれの施設において、通例の遠心操作法により、凝固層から解離した血清を得て、その血清に 100 倍量の平衡液を加えて、水と同様に血清成分の濃縮を行った。

結果：

1. Bisphenol A 処理細胞の生存率

Bisphenol A の濃度が 200 μM 以上に高くなると、生存率が下がり、500 μM 以上では細胞は殆んど生存しなかった(Fig. 1)。

2. 多摩川の水質検査の結果

多摩川の河川水は上流から下流にいくに従い、細胞生存率が低くなった(Fig. 2)。多摩川中流域の小作で行った定点観察では、4 月と 7 月に細胞の生存率が著しく低かった(Fig. 3)。

3. 江戸川の水質結果

江戸川の金町浄水場近辺で行った定点観察では、8月に細胞生存率が一番低くなった(Fig. 3)。

4. 中国検査の結果

上流の岡南ダム地域での河川水における生存率は90%と100%の間であったが、下流へいくに従い、多摩川と同様に低下した(表1)。

5. 中国人血清成分処理細胞の生存率

9名の血清で80%前後の生存率であったが、1名が70%より低値であった(Fig. 4)。

考察：

1. 水質検査

現在日本において設定されている水質基準は、人の健康の保護の観点から設定された項目と、生活利用上障害が生ずるおそれがないかという観点から設定された項目からなる。人の健康の保護の観点から設定された項目は、1番目の一般細菌から31番目ホルムアルデヒドまでの31項目がある(平成20年4月1日より、塩素酸が水質基準に追加されている)。また、生活利用上障害が生ずるおそれの有無の観点から設定された項目には、32番目の亜鉛及びその化合物から51番目の濁度までの20項目がある(6)。今回調査した bisphenol A が環境ホルモン作用として存在するとされている濃度は100 μM よりも低い濃度である。従って、200 μM 以上で生存率低下が見られたことから、今回の水の検査で生存率が下がれば、生存に有害な因子が混入している可能性はある。

多摩川と江戸川の2つの河川水の結果を同一の図にして比べると、江戸川のほうが細胞の生存率が多摩川より低い傾向が見られた(Fig. 3)。また、季節の変化では、両河川水ともに、夏季に生存率が低くなることが示唆された。理由は不明であるが、河川流域では、夏期に除草剤などの使用が増えることが一つの可能性として考えられる。また、高温のため水質の悪化がすすむことが影響する可能性も考えられよう。一方、中国においては、中流ダム湖周辺での水質悪化が示唆され、その理由が、日本の両河川水の夏期における悪化と同じか否か問題となる。

2. ヒト血清検査

ヒト血清による細胞生存率への影響を見ることの最終的目標は、飲用水なかの毒性因子がヒト血液中に残存していることを推測する方策である。サイトカイン類など細胞の増殖を抑制する因子が血液中に存在することが、ある程度の生存率低下は予測される。しかし、極度に低い検体も存在していたことから、そのような内因的原因以外にも、日々飲用する水も含めて、特定地域で特定の時期に生存率低下が著しい場合、その原因を精査する必要があるとの示唆を得た。

引用文献：

1. 水の百科事典, 丸善株式会社, 2000, 2, 10.
2. 鈴木信夫, 喜多和子, 長谷川博之: 水から学ぶ健康の泉, 2008, 4, 26.
3. 関東甲信越: 日本の水環境 3, 日本水環境学会, 技報堂出版, 2000, 9, 25.
4. 高井雄: 水のなかの有害元素(元素をめぐって 4), 研成社, 1999, 4, 30.
5. Wano C, Kita K, Takahashi S, Sugaya S, Hino M, Hosoya H and Suzuki N, Protective role of HSP27 against UVC-induced cell death in human cells. *Exp. Cell. Res.*, 298, 584-592, 2004.
6. 東京都水道局水質情報の水質基準
URA http://www.waterworks.metro.tokyo.jp/w_info/s.kijun1.htm

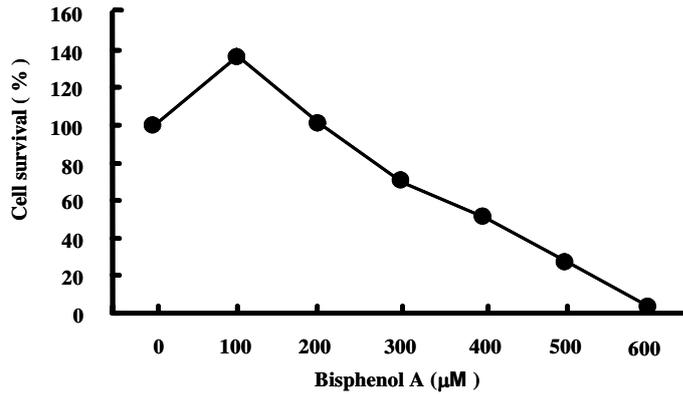


Fig. 1. Effects of bisphenol A on RSa cell viability. The survival rate of cells treated with distilled water samples was estimated as 100%.

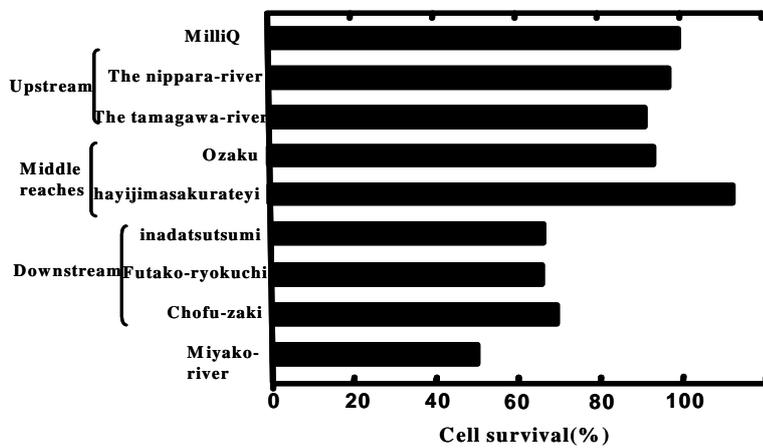


Fig. 2. Effects of water samples from various points of the Tamagawa river on RSa cell viability. The survival rate of cells treated with distilled water samples was estimated as 100%.

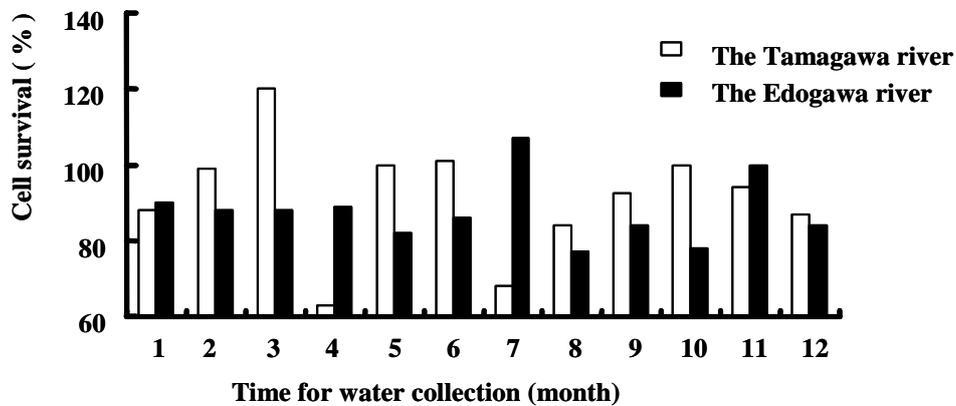


Fig. 3. Effects of the Tamagawa (Ozaku) river and Edogawa (Kanamachi) river water on RSa cell viability during one year. The survival rate of cells treated with distilled water samples was estimated as 100%.

表 1 日本の多摩川と中国の滹沱川の上流域における水質検査阻害率の比較

	多摩川	滹沱川
上流ダム	101%	96%
中流ダム	—	53%
ダム下流	90—60%	86—71%

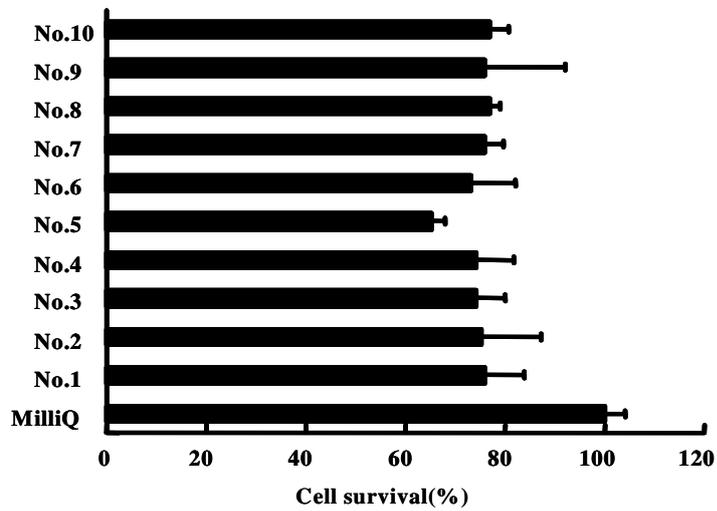


Fig. 4. Effects of serum from Chinese on RSa cell viability.

作成日: 2009年3月10日