

大気中変異原性への多環芳香族炭化水素及びニトロ多環芳香族炭化水素の寄与

多賀里奈¹、唐寧¹、服部哲之¹、五十嵐一彦²、酒井茂克³、
田村憲治⁴、鳥羽陽¹、木津良一¹、早川和一¹
¹金沢大学大学院自然科学研究科、²金沢大学薬学部、
³北海道環境科学研究センター、⁴国立環境研究所

Mutagenicity in atmosphere and contribution of polycyclic aromatic hydrocarbons and/or nitropolycyclic aromatic hydrocarbons

Taga Rina¹, Tang Ning¹, Hattori Tetsuyuki¹, Igarashi Kazuhiko², Sakai Shigekatsu³,
Tamura Kenji⁴, Toriba Akira¹, Kizu Ryoichi¹, Hayakawa Kazuichi¹
¹Graduate School of Natural Science and Technology, Kanazawa University, ²Faculty
of Pharmaceutical Science, Kanazawa University, ³Hokkaido Institute of
Environmental Science, ⁴National Institute for Environmental Studies

【緒言】

人為起源の燃焼粉じんには、発がん物質を含む種々の有害化学物質が含まれており、高濃度の吸引は、呼吸器系あるいは心肺系などの病気の原因となることが分かっている。人為起源の燃焼粉じんは直接変異原性及び間接変異原性を示し、その主要原因物質としてそれぞれニトロ多環芳香族炭化水素(NPAH)及び多環芳香族炭化水素(PAH)が考えられている。中でも dinitropyrene (DNP)類や 3-nitrobenz- anthron(NBA)などの NPAH は極めて強い直接変異原性を示すとされている。日本の都市大気粉じんの主要因であるディーゼル粉じんは 1,3-, 1,6-, 1,8-DNP や 3-NBA などを含んでいる事も報告されている。これに対して、中国や極東ロシアの都市大気汚染の主原因と疑われる石炭燃焼粉じんについては、いくつかの PAH や NPAH が石炭浮遊灰から検出されているものの、変異原性の強さやそれに占める PAH や NPAH 本体がほとんど明らかにされていない。そこで本研究では、石炭燃焼粉じん抽出物の直接及び間接変異原性と PAH 及び NPAH を定量し、さらにその変異原性への寄与について明らかにすることを目的とした。

【実験】

1. サンプリング

中国瀋陽市の一般家庭で使用されている石炭暖房に付属している煙突の出口直後にローボリュームエアースンプラーを取りつけ、10 L/min の流量でフィルター上に捕集した。

2. 抽出

捕集した粉じん(2.45g)を benzene-ethanol (3:1, v/v) で 2 回超音波抽出し、ろ過して粗抽出物を得た。

3. 分画

粗抽出物溶液を減圧乾固し、残留物(7.5mg)を *n*-hexane 10 mL を用いて再溶解し、シリカゲルカラム(Wako gel Q200, 15x213 mm)に適用した。移動相には、(1) *n*-hexane 240 mL (2) *n*-hexane-dichloromethane (3:1, v/v) 200 mL (3) dichloromethane 200 mL (4) methanol 450 mL の順に使用し、これらに対応する溶出液(Fraction1-4)を得た。それぞれの分画を同じ容量で 2 つに分け、いずれも減圧乾固し、一方はアセトニトリルに再溶解し PAH 及び NPAH の定量分析に使用し、他方は DMSO に再溶解し Ames 試験に使用した。

4. 定量分析

PAH 定量は蛍光検出 HPLC、NPAH 定量については化学発光検出 HPLC を用いて分析を行った。

5. 変異原性試験

直接変異原性は、プレインキュベーション法による Ames test を用いて -S9 条件下、YG1024 株で評価した。変異原性の有無は、同一条件のコントロール値の 2 倍以上、復帰変異コロニーが認められたものを変異原性があると評価した。

【結果及び考察】

分画により得た 4 画分と Crude extract の Ames test の結果を試料 1mg あたりの復帰突然変異コロニー数で表したところ、4 分画の中で一番高い変異原性を示したのは Fr.2 であり、4 分画全体の直接変異原性の 69.9% を占めていた。次に変異原性の高かったのは Fr.3 で、この 2 分画のみで全体の変異原性の 89.3% を占めている。次に、HPLC による定量分析により、分析を行った 20 種の NPAH のうち 11 種類が検出された。1-NP のみは、Fr.3 で高濃度であったが他の 10 種についてはいずれも、最も直接変異原性の高い Fr.2 に検出されるのが高濃度であった。また、PAH の定量分析により、分析を行った 16 種の PAH のうち 13 種が検出され、また、これら全てが Fr.1 から検出される結果となった。4 つの画分の全変異原性は粗抽出物の変異原性よりも強く、およそ 12.5 倍である。これは以前の報告でも述べられているように、PAH の存在によりこれらの変異原性が抑制されている可能性があり、分画により完全に NPAH と PAH の溶出画分が分かれたため、変異原性の抑制物を含まない Fr.2、3 は変異原性が高く、Fr.1 では低くなったと考えられる。さらに、検出された 11 種の NPAH が Fr.2、3 の直接変異原性にどの程度寄与しているのかを調べたところ、NPAH の寄与は Fr.2 で 56.8%、Fr.3 で 21.0%、さらに全変異原性に対する NPAH の寄与は 36.6% であった。中でも Fr.2 で最も大きく寄与しているのは 3-NBA であり (27.2%)、1,6-及び 1,8-DNP の寄与も 17.5% を占めた。3-NBA は大気粉じんやディーゼル粉じんから検出されており、その濃度も今回の石炭燃焼粉じんから検出された濃度と比較できる程度であった。これらの結果より、直接変異原性の観点から考察すると 3-NBA は中国やロシアだけでなく、日本の都市大気粉じんにおいても最も危険な NPAH であるといえる。現在、間接変異原性においても検討を行っている。