

助成年度：平成 1 年度

[所属] 岡山大学 薬学部

[役職] 教授

[氏名] 早津 彦哉 (他計 3 名)

[課題]

都市域の環境中における健康影響因子の

評価と制御に関する新技法の開発

[内容]

人間の活動に伴い、環境中とくに都市域のそれには多種の物質が放出される。それら環境汚染物質は、従来主として物質構造、形態などに基づいて測定されてきた。最近になり人体影響の尺度として「変異原性」が盛んに取り上げられ始め、しばしば測定されるようになってきた。変異原性は発がん性と密接な関係があるため人間の健康因子の尺度として用い得る。しかしながら、環境の水域や大気について変異原性を測定する従来の方法には感度の低さや多大の労力と時間を必要とするなど多くの問題点がある。したがって、これらの問題点を克服する手法を開発することは、都市域での健康影響因子の評価と制御を行うにあたってきわめて重要と思われる。我々が開発したブルーコットンやブルーレーヨンが、環境中からの多環性変異原物質の回収に非常に効果的であることを確信しており、これらの新しい吸着剤を使用した水域や大気の変異原性測定の新技法について開発検討を行った。

従来水域環境中の変異原物質の濃縮には、樹脂充てんカラムを用いた吸着濃縮法が一般的に行われている。しかしこの方法は、多量の環境水を採取し、実験室での吸着操作を行わなければならないことなど、多くの労力を必要とする。そこで我々は新しい吸着剤であるブルーコットンやブルーレーヨンを使用するに際し、これらの吸着剤を環境水中に一定時間吊し、水の動きを利用して水中からの変異原物質の回収を行うことを考えた。この方法によれば、多地点での変異原性モニタリングを簡単に実施することが可能であるし、またある一定時間内での環境汚染の総合的評価を得ることもできる。そこでこの新しい方法による水域の変異原性評価を、近畿地方 1300 万人の飲料水の源である淀川水系と北アメリカ五大湖の一つ Erie 湖について行った。ブルーレーヨンを入れたネットを木製の板に取り付け、重りを付けて水中に吊し、24 時間後に回収した。回収したブルーレーヨンはメタノール濃アンモニア水 (50:1) による溶出操作を行い、得られた溶出試料について Ames 試験を行った。1988 年 2 月に淀川とその上流部の 3 河川 (木津川、宇治川、桂川) について調査を行ったところ、すべての河川でサルモネラ菌 TA98, +S9 での有意な変異原性が検出され、その変異原性には、dose response が見られた。とくに桂川宮前橋と桂川の影響を強く受けていると思われる淀川山崎では、ブルーレーヨン 0.1g 当たりの revertant 数が 3500~3900 という高い変異原性が検出された。そこで、1988 年 12 月に桂川の上流部についてさらに調査を行ったところ、桂川橋付近の下水処理場放流口の水から非常に高い変異原性 (ブルーレーヨン 0.1g 当り revertant 数 11000) が検出された。桂川橋と宮前橋の試料を薄層クロマトグラフィーと高速液体クロマトグラフィーによって分離分析したところ、少なくとも 4 種類のフレームシフト型間接変異原物質が含まれており、この 2 地点でまったく等しい変異原物質が存在することがわかった。以上のことから、淀川水系中の変異原性は主として京都市の下水処理水に由来すること、それらの変異原物質は河川の流下中に容易に分解するようなものではないことが明らかとなった。またブルーレーヨンによる再吸着実験から、これらの変異原物質は 3 環以上の縮合芳香環を構造に持つ物質であることが強く示唆された。しかし、既知の多環性変異原物質 16 種類との比較では該当するものはなく、未知の変異原物質である可能性がある。そこで下水放流水中の変異原物質の本体を明らかにするために分離と精製を試みたと

ころ、変異原物質 3 種の精製物および 1 種の粗精製物を得た。3 種の精製物の吸収スペクトルから、吸収極大波長での 10D ユニット当りの変異原活性 (*S. typhimurium* TA98, +S9) は、それぞれ 50, 000rev. (λ max. 291nm)、200, 000rev. (λ max. 393nm)、180, 000rev. (λ max. 391nm) と推定できた。したがって、これら物質の変異原性は非常に強いと考えられる。精製物および粗精製物について、0-アセチル転移酵素高産生株 YG1024 (+S9) での変異原活性を調べたところ、TA98 より 150~250 倍高い感受性を示した。このことからこれら 4 種の変異原物質は芳香族アミンであることが示唆された。また 1989 年の 7 月に北アメリカ五大湖の一つ Erie 湖の調査を、この方法で実施した。調査地点は、アメリカ Ohio 州 Cleveland 市を流れて Erie 湖にそそぐ Cuyahoga 川河口部を中心に、西の Edgewater State Park、東の Bratenahl の 3 地点で行った。結果は、3 地点とも *S. typhimurium* TA98, +S9 および TA100, +S9 で有意な変異原性が検出され、TA98, +S9 での変異原性には dose response が見られた。さらに Erie 湖試料について YG 株での変異原性を調べたところ、3 地点とも親株 YG1020 およびニトロ還元酵素高産生株 YG1021 に比較し、0-アセチル転移酵素高産生株 YG1024 で非常に高い変異原活性を示した。したがって、これら 3 地点の変異原性の原因物質も芳香族アミンである可能性が示唆される。以上の結果より、水域の変異原性測定にこのブルーレーヨンを用いた方法が、非常に簡便でかつ有効であることが確認できた。

大気中粒子状物質の変異原性は、現在超音波抽出法で得られたタールについて広く調べられているが、タール中の物質間に相互作用のあることが考えられる。Hi-vol エアーサンプラーで捕集した試料をメタノールで超音波抽出して得られるタールについて、直接 Ames 試験を行ったところ、ある濃度以上では revertant 数が横ばいあるいは killing 現象がみられた。しかし、このタールをジメチルスルホキシドと水で水溶液としブルーコットンで抽出した試料では、広い濃度範囲で dose response が保たれ、ブルーコットンに抽出されなかった残留物中に変異抑制因子の存在が示唆された。そこで、岡山市郊外で捕集した 80m³ 当量のブルーコットン抽出試料 (*S. typhimurium* TA98, -S9: 828 revertants/plate) に抽出残留物を加えたところ、revertant 数が濃度依存的に減少し、100m³ 当量以上の残留物の添加では killing が観察された。脂肪酸による抑制作用が疑われたので、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸の含有量を測定したところ、タール中にはこれらの脂肪酸が含まれ、ブルーコットンにはほとんど抽出されず、抽出残留物に残存することがわかった。各脂肪酸を残留物中の含有比で加えると、ブルーコットン抽出試料の変異原性は濃度依存的に抑制され、脂肪酸混合物では期待通りの抑制がみられた。また大気中粒子状物質の脂肪酸含有量の高い東京の試料では、岡山市郊外で捕集したサンプルと同傾向を示したが、脂肪酸含有量の低い福岡の資料では岡山や東京でみられた変異原性抑制作用や毒性作用がみられなかった。以上の結果より、この 4 脂肪酸の混合物が、大気中粒子状物質の変異原性抑制因子の一つであることがわかった。しかし脂肪酸には killing 効果は観察されず、未知の抑制因子の存在が示唆される。