

機関番号：33919

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008 年度 ～ 2010 年度

課題番号：20710010

研究課題名 (和文) 広域・高時間分解観測によるハロゲン化多環芳香族類の環境動態解析とリスク影響評価

研究課題名 (英文) Regional and high time resolution analysis and exposure risks of halogenated polycyclic aromatic hydrocarbons in the environment

研究代表者

大浦 健 (OHURA TAKESHI)

名城大学・農学部・准教授

研究者番号：60315851

研究成果の概要 (和文)：最近、大気環境中から多環芳香族炭化水素 (PAH) に塩素原子が複数置換したハロゲン化 PAH が見出されてきたが、ハロゲン化 PAH の環境動態に関する知見は極めて乏しく、未だ不明な点が数多く残されていた。本研究では、大気や土壌といった様々な環境中からハロゲン化 PAH が普遍的に存在していることを見出した。とくに臭素原子が PAH に置換した臭素化 PAH を初めて大気環境中から検出した。さらに大気の高時間分解観測により、ハロゲン化 PAH は太陽光により分解されることが示唆された。また、大気中のハロゲン化 PAH の曝露リスクをダイオキシン受容体活性から推定したところ、PAH 曝露リスクより低いことが推定された。

研究成果の概要 (英文)：Recently, the compounds that polycyclic aromatic hydrocarbons substituted chlorine atom, halogenated PAHs, have been found in the air, whereas there is a few information concerning environmental behaviors of halogenated PAHs. In this study, we found that halogenated PAHs are universally distributed in the environment such as air, soils and sediment. In particular, we firstly found that brominated PAHs are present in the particle phase in air. Diurnal variation analysis of halogenated PAHs indicated that halogenated PAHs in the air are susceptible to photodecay. In addition, exposure risks of ambient halogenated PAHs estimated from aryl hydrocarbon receptor binding activity were suggested to be considerably lower than those of PAHs.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：環境科学、環境分析

科研費の分科・細目：環境学・環境動態解析

キーワード：ハロゲン化 PAH、塩素化 PAH、臭素化 PAH、光分解、遺伝毒性、AhR、曝露リスク

1. 研究開始当初の背景

(1) 代表的な環境汚染物質である多環芳香族炭化水素 (PAH) やダイオキシン類は、共に芳香環を骨格とした化合物であり、燃焼過程の副生成物として環境中に放出されるこ

とが知られている。

(2) PAH とダイオキシン類の構造を併せ持ったハロゲン化 PAH は、上記の生成機構を考慮すると十分に生成されることが考えられ

る。しかしながらハロゲン化 PAH は PAH やダイオキシン類などと比べるとその環境動態や生体毒性に関する知見は極めて乏しく、不明な点が数多く残されていた。この理由としてはハロゲン化 PAH の標準試薬が市販されていない点が挙げられる。とくに臭素化した PAH に関する知見は皆無であった。

(3) PAH やダイオキシン類といった芳香族化合物の毒性発現にはダイオキシン受容体 (AhR) が関与することが知られている。最近になってリガンドと AhR と結合した複合体はさらに別の受容体へ結合し、遺伝子発現に関与 (クロストーク) していることが明らかになった。

2. 研究の目的

PAH に塩素原子もしくは臭素原子が複数置換したハロゲン化 PAH の環境動態ならびに生体影響を明らかにすることを目的とした。

①ハロゲン化 PAH は主に燃焼過程で精製されることが推測される。すなわち、大気環境中でのハロゲン化 PAH の動態がその他の環境汚染に大きく寄与することが推測される。そこでハロゲン化 PAH の環境動態解析として、大気高時間分解観測ならびに光分解試験から検討する。

②暴露リスク評価として、AhR 活性から算定した毒性等価係数を用い、ハロゲン化 PAH の毒性等量を算出する。生体毒性評価として、ハロゲン化 PAH の AhR を介したクロストーク能を乳がん細胞を用いて評価する。

3. 研究の方法

(1) ハロゲン化 PAH 標準品の合成

ハロゲン化 PAH の PAH 骨格として、3 環系、4 環系、5 環系の PAH から環境濃度を考慮して anthracene, phenanthrene, fluoranthene, pyrene, benz[a]anthracene, benzo[a]pyrene を選択した。塩素化 PAH の合成は上記それぞれの PAH に塩素化剤として N-クロロコハク酸イミド、臭素化 PAH の合成には臭素化剤として N-ブロモコハク酸イミドを用いて行った。所定時間反応後、HPLC を用いて反応生成物を分取し、GC/MS ならびに NMR から構造解析した。

(2) 環境試料ならびに分析方法

大気試料は静岡市にある静岡県立大学屋上にてハイボリュームエアサンプラーを用いて行った。捕集時間は 3 時間から 1 週間単位で行った。また、土壌試料は某地域の工場跡地、スリランカ沿岸部の海底堆積試料を用いた。採取した環境試料はソックスレーにて抽出し、抽出液を濃縮後クリーンアップを行

い、高分解能 GC/MS に供した。

(3) 光分解試験

ハロゲン化 PAH の光分解試験は高圧水銀ランプを用いて、トルエンやシクロヘキサンなどの有機溶媒に溶解させて照射した。所定時間光照射後、試験溶液を分取し光分解生成物ならびにその毒性を GC/MS ならびに遺伝毒性試験から検討した。

(4) 生体影響評価

ハロゲン化 PAH の生体影響は Ames 試験による遺伝毒性と AhR を介したクロストークの影響を乳がん細胞を用いて評価した。

4. 研究成果

(1) ハロゲン化 PAH の環境分析

塩素化多環芳香族炭化水素 (ClPAHs) ならびに臭素化多環芳香族炭化水素 (BrPAHs) といったハロゲン化 PAHs の環境動態を明らかにするため標準試料の作製を行った。その結果、図 1 に示すような 3~5 環系の ClPAHs が 20 種、BrPAHs が 11 種得られ、これらを分析対象物質とした。

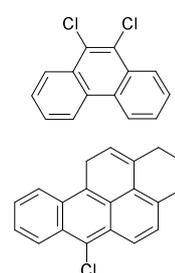


図 1. 合成された塩素化 PAHs の一例

静岡県内の大気中から粒子状ならびにガス状成分を分析したところ、対象とした ClPAH が全て検出された。ガス/粒子分配係数を算出した結果、ClPAH のガス/粒子分配は置換した塩素数よりも骨格の PAH 環数に依存していることがわかった。また、気温との関係を調べたところ、ガス状の ClPAH 濃度の 27~63% は気温の変動によるものであることが示唆された (図 2)。

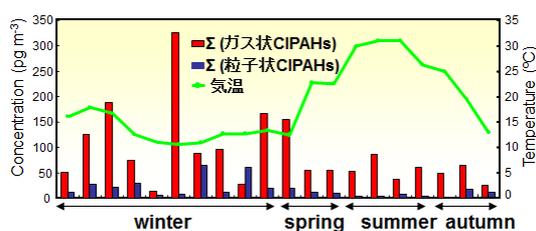


図 2. 大気中の ClPAH の季節変動

大気環境以外として、国内工場跡地土壌、米国河川土壌、中国家電リサイクル施設など広域環境分析に展開したところ、全ての試料から ClPAHs が検出された。すなわち、ClPAHs は環境中に普遍的に存在している可能性があり、今後更なる環境調査の必要性が認識された。とくに、4 塩素以上の高塩素化した PAH の存在も今回の環境分析から示唆されており、このような高ハロゲン化 PAH の環境分析

は今後重要な課題となると思われる。さらに、静岡県内の大気粉塵試料を高分解能 GC/MS に供したところ、11 種類の BrPAH 標準物質の内、7 種を世界で初めて検出することに成功した。大気粉塵中の BrPAHs は夏季に低濃度、冬季に高濃度になる傾向があり、親化合物である PAHs と同様の大気環境動態を示すと思われる。しかしながら、BrPAH と親 PAH の濃度間に有意な相関は認められなかったことから、BrPAHs の光安定性や発生源は PAH と異なることが示唆された。

(2) ハロゲン化 PAH の光分解機構

C1PAH の大気運命を検討するため、最も寄与が大きいとされる光分解性を調べた。C1PAH の光分解試験は大気粒子表面を模した有機溶媒中で光照射を行い、速度論解析によりその光分解性を明らかにした。その結果、C1PAH の光分解性は骨格の PAH に強く依存しており、置換した塩素数が増加するにつれて光安定性が増す傾向が見られた (図 3)。

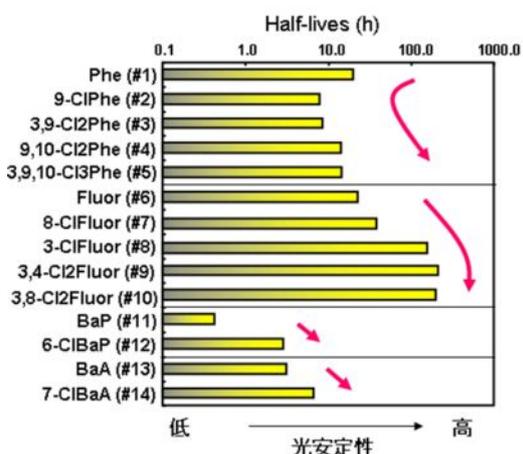


図 3. C1PAH の光安定性

さらに構造活性相関解析により C1PAH の光分解は ELUMO+1、total energy、表面積が関与していることが示唆された。また、同様の手法で BrPAHs の光安定性を評価したところ、同属体の C1PAH より速やかに光分解する傾向が見られた。

C1PAH の発生源調査の一環として焼却灰中の C1PAH 濃度を分析したところ、その組成比は大気中のそれと類似していたことから、焼却施設は大気中の C1PAH の主要な発生源であることが示唆された。また、同属体を比較したところ、焼却灰中では塩素数が増加するにつれてその濃度が増加する傾向が見られたことから、C1PAH の生成は塩素に二次的な反応により進行していることが推測された。

(3) ハロゲン化 PAH の生体影響評価

新規な環境汚染物質である BrPAHs の毒性評価として、遺伝子組み換え酵母を用いて BrPAHs の AhR 活性を評価したところ、それぞ

れの塩素化体と同程度の活性を示した。これらの結果は、PAHs のハロゲン置換による物性・毒性変化は、置換したハロゲンよりも骨格の PAH に大きく依存していると思われる。さらに、これらの活性値を用いてハロゲン化 PAH の暴露リスクを算定したところ、PAH の 1/100 程度であることが推定された。さらにハロゲン化 PAH の生体影響評価の一つとして、乳がん細胞による暴露試験を行ったところ、エストロゲン受容体とのクロストークが生じていることが確認された。しかしハロゲン化 PAH の体内動態に関しては未だ不明な点が多いため、今後更なる検討が必要であると思われる。

ハロゲン化 PAH の変質における生体影響の関係について検討を行った。被験物質として 3 環系の phenanthrene の 1 塩素、2 塩素置換体を用い、所定時間有機溶媒 (シクロヘキサン) 中で光照射を行い、光分解産物の遺伝毒性を Ames 試験にて評価した。Ames 試験の結果、phenanthrene の 2 塩素置換 (9,10-dichlorophenanthrene, 9,10-C12Phe) は 9 時間光照射することで照射前に比べて有意に復帰コロニー数が増加し、9,10-C12Phe の光分解産物は直接変異原性を有することが示唆された。今後、ハロゲン化 PAH の環境・生体分解産物の毒性評価を進めることで暴露リスク評価を更に高度化できるとと思われる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

- ① T. Ohura, R. Kurihara, S. Hashimoto. Aryl hydrocarbon receptor activities of hydroxylated polycyclic aromatic hydrocarbons in recombinant yeast cells. *Toxicol. Environ. Chem.*, 92, 737-742 (2010). 査読有
- ② T. Ohura, M. Morita, R. Kuruto-Niwa, T. Amagai, H. Sakakibara, K. Shimoi. Differential action of chlorinated polycyclic aromatic hydrocarbons on aryl hydrocarbon receptor-mediated signaling in breast cancer cells. *Environ. Toxicol.*, 25, 180-187 (2010). 査読有
- ③ T. Ohura, K. Sawada, T. Amagai, M. Shinomiya. Discovery of novel halogenated polycyclic aromatic hydrocarbons in urban particulate matters: Occurrence, photostability, and AhR activity. *Environ. Sci. Technol.*, 43, 2269-2275 (2009). 査読有

- ④ Y. Horii, J. S. Khim, E. B. Higley, J. P. Giesy, T. Ohura, K. Kannan. Relative potencies of individual chlorinated and brominated polycyclic aromatic hydrocarbons for induction of aryl hydrocarbon receptor-mediated responses. *Environ. Sci. Technol.*, 43, 2159-2165 (2009). 査読有
- ⑤ J. Ma, Y. Horii, J. Cheng, W. Wang, Q. Wu, T. Ohura, K. Kannan. Chlorinated and parent polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples from an electronic waste recycling facility and a chemical industrial complex in China. *Environ. Sci. Technol.*, 43, 643-649 (2009). 査読有
- ⑥ H. Sakakibara, T. Ohura, M. Morita, S. Hirabayashi, R. Kuruto-Niwa, T. Amagai, K. Shimoi. Aryl hydrocarbon receptor-mediated gene expression by chlorinated polycyclic aromatic hydrocarbons and cross-talk with estrogen receptors. *Interdiscip. Stud. Environ. Chem.*, 2, 197-202 (2009). 査読無
- ⑦ Y. Horii, T. Ohura, N. Yamashita, K. Kannan. Occurrence and profiles of chlorinated and brominated PAHs in sediments from industrial areas in Japan and United State. *Organohalogen Compd.*, 71, 1410-1415 (2009) 査読有
- ⑧ T. Yamamoto, K. Higashino, T. Ohura, T. Amagai, H. Takemori, T. Takasuga, Y. Sasaki. Laboratory investigation of PCDD/Fs and dioxin-like compounds formation during chlor-alkali process. *Organohalogen Compd.*, 71, 863-868 (2009) 査読有
- ⑨ Y. Horii, T. Ohura, N. Yamashita, K. Kannan. Chlorinated polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from industrial areas in Japan and the United States. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 57, 651-660 (2009). 査読有
- ⑩ Y. Horii, G. Ok, T. Ohura, K. Kannan. Occurrences and profiles of chlorinated and brominated polycyclic aromatic hydrocarbons in waste incinerators. *Environ. Sci. Technol.*, 42, 1904-1909 (2008). 査読有
- ⑪ T. Ohura, T. Amagai, M. Makino. Behavior and prediction of photochemical degradation of chlorinated polycyclic aromatic hydrocarbons in cyclohexane. *Chemosphere*, 70, 2110-2117 (2008). 査

読有

- ⑫ T. Ohura, S. Fujima, T. Amagai, M. Shinomiya. Chlorinated polycyclic aromatic hydrocarbons in the atmosphere: Seasonal levels, gas-particle partitioning, and origin. *Environ. Sci. Technol.*, 42, 3296-3302 (2008). 査読有

[学会発表] (計 19 件)

- ① 久留戸涼子・大浦健・榊原啓之・下位香代子. 多環芳香族炭化水素及びその臭素置換体の遺伝子発現に及ぼす影響. 環境ホルモン学会第 13 回研究発表会. 2010 年 12 月 16-17 日. 東京
- ② T. Kido, H. Sakakibara, T. Ohura, Keerthi S. Guruge, M. Kojima, J. Hasegawa, T. Iwamura, N. Yamanaka, S. Masuda, M. Sakaguchi, T. Amagai, K. Shimoi. Effects of 7-chlorinated benz[*a*]anthracene on hepatic CYP1 family expression in rats, and mutagenic activity in *Salmonella typhimurium*, 2nd Asian Conference on Environmental Mutagens. 2010 年 12 月 15-18 日. Pattaya, Thailand
- ③ 貴戸武利・グルゲ・キールティ・シリ・榊原啓之・大浦健・小島光博・山中典子・谷村信彦・山田雅己・能美健彦・雨谷敬史・下位香代子. 7-クロロベンゾ[*a*]アントラセンのラット肝における CYP1A2 誘導と変異原性. 変異機構研究会第 23 回夏の学校. 2010 年 7 月 10 日. 名古屋
- ④ 東野和雄・山本 央・大浦健・雨谷敬史・佐々木裕子・橋本俊次・柏木宣久・嶽盛公昭・高菅卓三・高橋明宏. 食塩電解過程に由来するダイオキシン類の異性体/同族体比率による発生源推定. 第 19 回環境化学討論会. 2010 年 6 月 21-23 日. 春日井
- ⑤ 家田曜世・落合伸夫・宮脇俊文・堀井勇一・細野繁雄・大浦健. GC x GC-高分解能 TOF-MS による環境試料中の塩素化・臭素化 PAHs 及びその他有機ハロゲン化合物の網羅的分析. 第 19 回環境化学討論会. 2010 年 6 月 21-23 日. 春日井
- ⑥ 小島光博・大浦健・榊原啓之・貴戸武利・Keerthi S. Guruge・雨谷敬史. ラットにおける 7-クロロベンゾ[*a*]アントラセンの生体蓄積性の評価. 第 19 回環境化学討論会. 2010 年 6 月 21-23 日. 春日井
- ⑦ 貴戸武利・Keerthi S. Guruge・榊原啓之・大浦健・小島光博・山中典子・谷村信彦・山田雅己・能美健彦・雨谷敬史・下位香代子. シトクロム P450 1A2 が誘発する 7-クロロベンゾ[*a*]アントラセン

- の変異原性. 第 19 回環境化学討論会. 2010 年 6 月 21-23 日. 春日井
- ⑧ 堀井勇一・大塚宜寿・蓑毛康太郎・野尻喜好・大浦健. 焼却排ガス中塩素化・臭素化多環芳香族炭化水素の分布. 第 19 回環境化学討論会. 2010 年 6 月 21-23 日. 春日井
- ⑨ T. Ieda, N. Ochiai, T. Miyawaki, Y. Horii, S. Hosono, T. Ohura. Analysis of Cl-/Br-PAHs and other organohalogen compounds in environmental samples by GC x GC - high resolution TOF-MS. 7th GC x GC symposium. 2010 年 6 月 1-4 日. Riva del Garda, Italy.
- ⑩ 家田曜世, 落合伸夫, 宮脇俊文, 堀井勇一, 細野繁雄, 大浦健. GCxGC-高分解能 TOF-MS による環境試料中塩素化・臭素化 PAHs の分析. 日本分析化学会 第 58 年会. 2009 年 9 月 24 日. 北海道大学高等教育機能開発総合センター (札幌)
- ⑪ 山本央, 東野和雄, 大浦健, 雨谷敬史, 嶽盛公昭, 高菅卓三, 橋本俊次, 柏木宣久, 佐々木裕子. 食塩電解過程に由来するダイオキシン類及び類縁化合物. 第 18 回環境化学討論会. 2009 年 6 月 9 日. つくば国際会議場 (つくば)
- ⑫ 大浦健, 山本央, 東野和雄, 雨谷敬史, 四ノ宮美保, 佐々木裕子. 塩素化多環芳香族炭化水素の土壤汚染と発生源に関する研究. 第 18 回環境化学討論会. 2009 年 6 月 9 日. つくば国際会議場 (つくば)
- ⑬ 久留戸涼子, 大浦健, 下位香代子. 多環芳香族炭化水素及びその塩素置換体の遺伝子発現解析による生体への影響評価. 第 11 回ホルモン学会研究発表会. 2008 年 12 月 13 日. 東京
- ⑭ 平林 賢, 大浦健, 森田真紀, 久留戸涼子, 榊原啓之, 雨谷敬史, 下位香代子. 塩素化および臭素化多環芳香族炭化水素類による AhR-ER クロストークを介した遺伝子発現について. 富士山麓アカデミック&サイエンスフェア 2008. 2008 年 12 月 11 日. 静岡
- ⑮ 平林賢, 大浦健, 森田真紀, 久留戸涼子, 榊原啓之, 雨谷敬史, 下位香代子. ハロゲン化多環芳香族炭化水素による AhR および ER クロストークを介した遺伝子発現. 日本環境変異原学会第 37 回大会. 2008 年 12 月 5 日. 沖縄
- ⑯ 大浦健, 小田美光, 山田雅巳, 能美健彦, 雨谷敬史, 下位香代子. 塩素化多環芳香族炭化水素類の変異原性評価. 日本環境変異原学会第 37 回大会. 2008 年 12 月 5 日. 沖縄
- ⑰ Y. Horii, N. Yamashita, T. Kunisue, K. Kannan, T. Ohura. Occurrence and profiles of chlorinated polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and mussels from selected contaminated sites in Japan and the USA. SETAC North America 29th Annual Meeting. Nov. 16, 2008. Florida, USA
- ⑱ H. Sakakibara, T. Ohura, M. Morita, S. Hirabayashi, R. Kuruto-Niwa, T. Amagai, K. Shimoi. Aryl Hydrocarbon Receptor-mediated Gene Expression by Chlorinated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Interdisciplinary Symposium on Environmental Sciences. Nov. 12, 2008. 愛媛
- ⑲ T. Ohura, S. Fujima, T. Amagai, M. Shinomiya. Chlorinated polycyclic aromatic hydrocarbons in the atmosphere: Levels, gas-particle partitioning, and fates. 5th SETAC World Congress. Aug. 4, 2008. Sydney, Australia

〔図書〕 (計 4 件)

- ① T. Ohura. NOVA Science Publishers, NY. Environment and Regional Air Pollution (D. Gallo & R. Mancini, Eds.). 2009. 496.
- ② T. Ohura. NOVA Science Publishers, NY. Airborne Particulates (M. Cheng & W. Liu, Eds.). 2009. 343.
- ③ T. Ohura, H. Sakakibara. NOVA Science Publishers, NY. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Pollution, Health Effects and Chemistry (Pierre A. Haines & Milton D. Hendrickson, Eds.). 2009. 361.
- ④ T. Ohura, A. Kitazawa, K. Sawada, T. Amagai, M. Shinomiya, M. Morita, Ehime University. POPs Research in Asia. 2008. 583.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大浦 健 (OHURA TAKESHI)
名城大学・農学部・准教授
研究者番号: 60315851