

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：84407

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K11662

研究課題名（和文）塩素化PAHおよびその代謝物によるヒトリスク評価

研究課題名（英文）Human risk assessment of chlorinated PAHs and their metabolites

研究代表者

永吉 晴奈（Nagayoshi, Haruna）

地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所・衛生化学部・主幹研究員

研究者番号：70516757

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、塩素化PAHsのヒトへの曝露量評価とDNA損傷性に着目してヒトリスクに関する基礎的な知見を得ることを目的とした。

塩素化PAHのうち食品含有量が多いと考えられる1-クロロピレンの代謝物が親化合物より強く酵母に対する毒性を発揮した。そこで2種類の評価法でDNA損傷性を評価したところumu試験において変異原性の可能性が示唆された。

また、曝露量評価を行うために食品中塩素化PAHs測定法の検討を行った。食品分析に適用可能な感度を持つPAHs16種類および塩素化PAHs9種類の同時分析系を確立したが、分析対象とした畜水産食品からの効果的なPAHs分析前処理法を確立できなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Cl-PAHsによる環境汚染については大気、水道水、ごみ焼却灰、底質、粒子状物質などの媒体において報告がある。しかしながら、ヒトへの主要な曝露源である食事については全く調査されていない。さらにその毒性についてはほとんどわからないのが実情である。本研究の一つの成果として1-ClPyr代謝物が親化合物よりも毒性が強い即ち他のPAHsと同様代謝を受けることで毒性を発揮すること、つまり塩分の高い食品の調理において強いリスクを持つ物質が生じる可能性があることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：This study aimed to obtain basic knowledge on human risk by focusing on the assessment of human exposure to chlorinated PAHs and their DNA damaging properties.

Among chlorinated PAHs, metabolites of 1-chloropyrene, which is thought to be present in large amounts in food, were more toxic to yeast proliferation than the parent compound. We then used two types of assessment methods to assess DNA damaging properties, and the possibility of mutagenicity was suggested in the umu test.

In addition, we investigated a method for measuring chlorinated PAHs in food to assess exposure. We established a simultaneous analysis system for 16 types of PAHs and 9 types of chlorinated PAHs with sensitivity applicable to food analysis, but we were unable to establish an effective pretreatment method for PAHs analysis in the livestock and fishery foods that were the subject of the analysis.

研究分野：化学物質影響評価

キーワード：塩素化多環芳香族炭化水素 GC-MS/MS 一斉分析 DNA損傷性

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

塩素化多環芳香族炭化水素類(CI-PAHs)は化石燃料やごみの燃焼、水道水の塩素処理等で容易に生成するノンポイント汚染物質であり、その環境汚染については2000年以降懸念が高まり、様々な環境媒体の濃度が報告されている。さらにCI-PAHsは親化合物であるPAHsと同様にヒトへの発がん性が疑われており、リスクが懸念されている。我々は2015年に代表的CI-PAHsである1-クロロピレン(1-CIPyr)の代謝物を3種類(3-CIPyr-1-ol、6-CIPyr-1-ol、8-CIPyr-1-ol)同定した。また、尿中にこれらの代謝物が存在する、すなわちヒトが1-CIPyrを代表とするCI-PAHsに曝露されていることを見出した。PAHsは燻製や食品のコゲ等やから検出されることが知られており、CI-PAHsはPAHsが生成する環境下において塩素が共存する際に生成すると考えられる。よって、CI-PAHsが畜水産加工品等の塩分の高い食品の調理で生成し、主要な曝露源となると推察されているが、食品中のCI-PAHsに関する報告は見られない。

PAHsはダイオキシン受容体(AhR)の主要なリガンドである。PAHsがAhRを活性化し、それに伴って誘導されるCYP1A及びCYP1B、更にはepoxide hydroxylase等によって生じた代謝物がDNAと付加体を形成することで変異を誘発し、発がんを引き起こす。CI-PAHsもPAHsと同様にAhR活性を有し、更にはAmes試験において親化合物よりも強い変異原性を示す物質も存在するとの報告がある。しかしながら、CI-PAHsの毒性に関する報告は上記に留まり、DNA付加体の形成の有無を含む毒性メカニズムの大部分が未解明である。

2. 研究の目的

申請者らはこれまでCI-PAHsの環境内挙動とヒト代謝物について研究を重ねてきた。本研究課題ではヒトへのCI-PAHsの曝露経路を解明すると共にヒトへの毒性について基礎的情報を収集することを目的とした。具体的には、(1)食事を介したCI-PAHs摂取量の評価と(2)遺伝毒性に着目した1-CIPyrおよびその代謝物の毒性メカニズムの解明である。

3. 研究の方法

(1) 食事を介したCI-PAHs摂取量の評価

まずPAHs並びにCI-PAHsの同時分析系の確立を試みた。US EPAが指定するPAHs16種類に加えて9種類のCI-PAHsを検討対象とした。各濃度の混合液を作成し、定量下限値を求めるとともに既報と比較して検出感度として食品中PAHsおよびCI-PAHsの分析に耐えうるか評価した。

次に食品前処理法を検討した。生鮮食品のPAHs分析については種々の先行研究が存在する。本研究の主な分析対象は塩分濃度の高い畜水産加工食品であるが、生鮮食品の分析前処理法を基本としてQuEChERS法の検討を行った。

(2) 遺伝毒性に着目した1-CIPyrおよびその代謝物の毒性メカニズム

PAHsによる毒性はヒト体内で酸化されて生じた代謝物によるDNA損傷性である。そこでCI-PAHsにも同様の作用があると仮定してCI-PAHs代謝物の毒性を検討した。対象物質はCI-PAHsのうち最も環境中濃度が高く食品中でも同様に濃度が高いと考えられた1-CIPyrとその代謝物を対象とした。まず酵母において1-CIPyrとその3種の代謝物3-CIPyr-1-ol、6-CIPyr-1-ol、8-CIPyr-1-olについて細胞毒性試験と実施し、伝統的DNA損傷性試験である枯草菌Recアッセイとumu試験を実施し、1-CIPyrおよびその代謝物のDNA損傷性を評価した。

4. 研究成果

(1) 食事を介したCI-PAHs摂取量の評価

US EPA指定のPAHs16種類と塩素化PAHs9種類を超高感度四重極GC-MS/MS(Agilent 7010B)を用いて分析した結果、同時分析系を確立した。食品中のPAHsの分析において妥当であると考えられる定量下限値としてPAHsについては0.1ppb、塩素化PAHsについては0.01ppbを満たした。次に食品前処理法を検討した。まず超音波抽出とオープンカラムクロマトグラフィーによる検討を行ったが、シリカゲルとアルミナによる精製では十分な回収率が得られなかった。次に近年食品中PAHsの分析で一般的なQuEChERS法による前処理法を検討した。CI-PAHsを含有すると考えられるベーコンとマグロオイル漬けを食品試料に選択し、抽出溶媒、塩析に用いる塩の最適条件を検討したが、前処理後に油が残存すること、畜産物と水産物で抽出される油の融点が大きく異なることが判明し、効果的な前処理法の確立には至らなかった。

(2) 遺伝毒性に着目した1-CIPyrおよびその代謝物の毒性メカニズム

酵母に1-CIPyrとその3種の代謝物3-CIPyr-1-ol、6-CIPyr-1-ol、8-CIPyr-1-olの濃度希釈系列を作製し曝露した。16時間培養後の細胞濃度を測定した結果1-CIPyrでは細胞増殖に影響は見られなかったが3種の代謝物では曝露濃度2 μ Mで細胞増殖が著しく阻害された。つまり親化合物より代謝物の方に強い細胞毒性がある可能性が示唆された。つぎにDNA損傷性を評価する試験として枯草菌Recアッセイとumu試験を実施した。枯草菌Recアッセイでは1-CIPyr、3-

CIPyr-1-ol、6-CIPyr-1-ol、8-CIPyr-1-ol において明確な DNA 損傷性は確認できなかった。一方 umu 試験では S9 mix 共存下における CIPyr-1-ol、6-CIPyr-1-ol、8-CIPyr-1-ol 曝露群で DNA 損傷関与遺伝子の発現量が上昇傾向であることを確認した。すなわち CIPyr-1-ol、6-CIPyr-1-ol、8-CIPyr-1-ol の変異原性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------