

環境汚染物質の変異原性に関する研究 — ディーゼルエンジン排出粉じんの変異原性 —

大山 謙一 遠藤 立一 川原 浩
佐々木 裕子 泉川 碩雄
(多摩環境保全事務所) (大気部)

1 はじめに

ディーゼルエンジンから排出される粒子状物質には、多環芳香族炭化水素 (PAH) やPAHがニトロ化したニトロアレン類の変異原物質が含まれていることが知られている。しかし、排出粒子状物質の変異原性はこれらの物質だけでは説明できない部分があり、他の高活性変異原物質の存在が考えられる。そこで未知の高活性変異原物質について検索した。

2 実 験

(1) 検 体

ディーゼルエンジン (直噴式3.68ℓ) をエンジンダイナモメーター上で定速40km/h運転し、希釈トンネルで調整された排出ガス中の粉じんをハイボリュームエアサンプラーで石英ろ紙 (Pallflex Type 2500) 上に採取した。このろ紙をベンゼン・エタノール (4:1, V/V) で超音波抽出し、溶媒をロータリーエバポレーターで除去後、乾固物をジメチルスルフォキシド (DMSO) に溶解、ろ過滅菌して検体とした。

(2) 使用菌株, 変異原性試験

Amesの *Salmonella typhimurium* TA100, TA98, TA98NR, TA98/1,8DNP₆の4株を用いた。

TA100は塩基対置換型の変異原物質の検索に、TA98はフレームシフト型の変異原物質の検索に用いられている。TA98NRはニトロ還元酵素を欠失しており、2-ニトロフルオレン (2-NF) や1-ニトロピレン (1-NP) に対して親株TA98より低い変異原性を示す。TA98/1,8DNP₆は特定のO-アセチル転移酵素を欠失しており、2-NFや1,8-ジニトロピレンに対してTA98よりも低い変異原性を示す。これらの性質を利用して変異原物質にニトロ基が存在するかどうかを検索できる。

変異原性試験はpreincubation法で行い、代謝活性化には、ウイスター系ラット胚の肝S9 (PCB誘導) を用いて調整したS9 mixを使用した。但し、TA98NRとTA98/1,8DNP₆ではS9 mixを使用しなかった。

(3) 方 法

① 検体を液々分配、カラムクロマトグラフにより分画し、変異原性試験を実施した。高変異原活性を示した画分をさらに液々分配、カラムクロマトグラフで分画し変異原性試験を繰り返していった。

② 得られた各高変異原活性画分をガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) で分析した。

③ GC-MSの結果より存在が推定された物質に構造の類似したもの内、入手可能な市販試薬に対して変異原性試験を試みた。

④ 排出粒子状物質が高温でNO₂に接することや、PAHがニトロ化されると変異原性が高まる場合があることから、これらの試薬に硝酸-酢酸 (1:1, V/V) を加え、室温暗所に24時間静置してニトロ化を試みた。得られた物質について変異原性試験を行った。

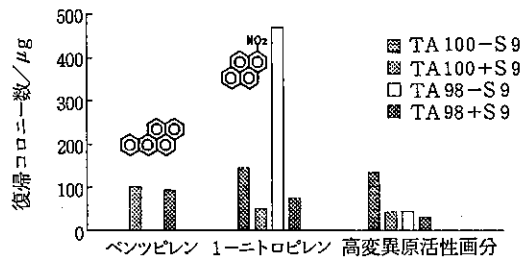


図1 ディーゼルエンジン排出粒子状物質の変異原性

3 結 果

図1に、ディーゼルエンジンから排出された粒子状物質に含まれていることが知られているベンツピレン (BaP) 及びニトロピレン以外の変異原物質を含んでいる画分の変異原性と、参考としてBaPと1-NPの変異原性について示した。BaPではTA100, TA98共にS9 mix無添加 (-S9) では変異原性を示さないが、S9 mix添加 (+S9) では高い変異原性を示す。また、1-ニトロピレンではTA100, TA98共に-S9及び+S9で変異原性を示し、変異原性活性は+S9よりも-S9の方が高く、特にTA98-S9で非常に高い変異原性を示す。しかし、今回得られた高変異原活性画分はTA100, TA98共に-S9及び+S9で変異原性を示すが、TA100-S9で最も高い塩基対置換型の変異原性を示した。

この画分をGC-MSで分析した結果、含窒素化合物 (キノキサリン、フェナジン、シノリンの誘導体等) が検出された。これらの物質に構造の類似した市販試薬の6種、ベンゾシノリン、フェナジン、7,8-ベンゾキノリン、5,6-ベンゾキノリン、ネオカプロイン、及びキノキサリンについて変異原性試験を実施したが、変異原性は認められなかった。しかし、図2に示すようにニトロ化処理後のキノキサリンではTA98-S9で高変

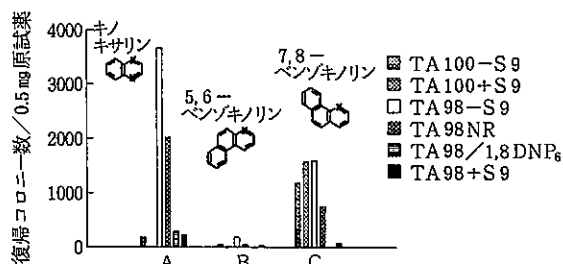


図2 ニトロ化処理物の変異原性

A: キノキサリンのニトロ化処理物
 B: 5,6-ベンゾキノリンのニトロ化処理物
 C: 7,8-ベンゾキノリンのニトロ化処理物

異原活性が認められたが、TA98NRとTA98/1,8DNP6ではそれより低い値を示した。ニトロ化処理後の5,6-ベンゾキノリンではTA98-S9で僅かに変異原性が見られたが、TA98NRではそれより低くTA98/1,8DNP6では陰性であった。ニトロ化処理後の7,8-ベンゾキノリンではTA100-S9, +S9, TA98-S9で変異原性が認められたが、TA98NRではTA98-S9よりも低い値を示し、TA98/1,8DNP6では陰性であった。