

第30回麻布環境科学研究会 一般演題12

大気浮遊粉じんの発がんプロモーション活性について

佐藤 洋平^{1,4}, 大森 清美², 中島 大介³, 影山 志保³, 兼島 公香¹, 後藤 純雄¹¹麻布大学生命・環境科学部, ²神奈川県衛生研究所, ³国立環境研究所, ⁴東亜ディケーケー(株)

【はじめに】

環境空気中には種々の有害物質が粒子状またはガス状で存在している。その中には数十種之多環芳香族炭化水素類が存在し、ベンゾ(a)ピレンのように強力な発がん性を持つ物質も含まれている。これらは主として呼吸器系に沈着しやすいことから、経気道への曝露に伴う健康影響が懸念されており、曝露実態の把握やリスク評価に関わる知見の蓄積が対策を講ずる上で重要になってきている。一方、化学物質の発がん性予測のためのスクリーニング試験としては、変異原性試験が実施されているが、近年、発がんプロモーション活性の評価も必要とされてきている。そこで本研究では、夏季、冬季および春季に全国10地点で同時採取された大気浮遊粉じんについてBhas42細胞を用いた発がんプロモーション試験(Bhas42細胞形質転換試験)¹⁾を行い、季節変動および地域特性について検討を行った。

【研究方法】

大気試料の採取および抽出物の調製

試料の採取：大気試料の採取地点は、北海道札幌市、宮城県仙台市、群馬県前橋市、茨城県つくば市、東京都新宿区、神奈川県相模原市、静岡県静岡市、鳥取県東伯郡、福岡県北九州市、鹿児島県鹿児島市の10地点であった。採取にはハイボリュームエアースンプラーを用い、各日23時間ずつフィルター(粉じん)およびPUF(半揮発性物質)に分けて、流速700 L/minで捕集した。フィルター捕集物質およびPUF捕集物質について、アセトンを用いてソックスレー抽出し、抽出物をDMSOに溶解した。季節ごとに4日分を混合し、1試料液とした。

Bhas42細胞形質転換試験

細胞形質転換試験：細胞播種は、DF5F培地を用いて細胞浮遊液を調製し、6ウェルプレートに播種した。細胞播種から4, 7および11日後には、試料を添加した培地(DF5F)を調製し、1濃度あたり6ウェルで培地交換を行った。細胞播種14日後にDF5F培地を用いて培地交換を行い7日間培養を行った。細胞播種21日後に、ウェル内の培地を除去した後、メタノールで細胞固定を行った。5%ギムザ染色液を用いてウェル内の細胞を染色し、風乾した。ウェルごとに形質転換フォーカス数の計測し、1濃度あたり(6ウェル)の形質転換頻度(foci/well)の平均と標準偏差を計算した。結果の判定は、形質転換頻度(foci/well)が溶媒対照群に対して有意かつ2倍以上に増大する濃度群が存在する場合を陽性とした。形質転換頻度(foci/well)が溶媒対照群に対して有意に増大する濃度群でも、2倍以上に増大する濃度群も存在しない場合は陰性とした。また、1濃度あたり3ウェルで細胞形質転換試験と同様の操作を行い、細胞播種7日後にホルマリンで固定し、クリスタルバイオレット染色測定して相対的細胞増殖率(%)を求めた。

【結果および考察】

フィルター抽出物とPUF抽出物の形質転換試験結果

夏季、冬季および春季に全国10地点で同時採取された大気フィルター抽出物およびPUF抽出物についてBhas42細胞形質転換試験を行った結果、PUF抽出物では3季とも発がんプロモーション活性は認められなかった。

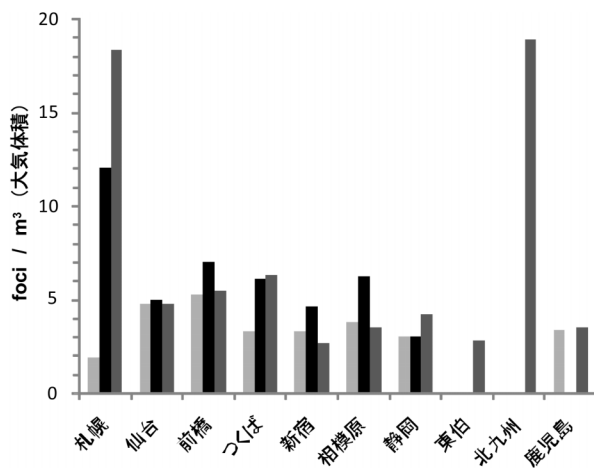


図-1 単位体積あたりの形質転換フォーカス数

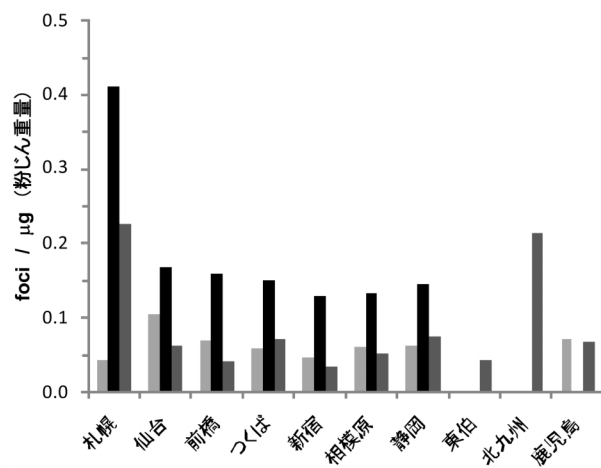


図-2 単位粉じん重量あたりの形質転換フォーカス数

■夏 ■冬 ■春

大気の発がんプロモーション活性

フィルター抽出物では試料採取地点により異なった発がんプロモーション活性が検出され、季節変動や地域特性があることが明らかになった。すなわち、図-1に示してあるように発がんプロモーション活性には、顕著な地域差が認められ、冬季は札幌、仙台、前橋、つくば、相模原では夏季の活性よりも高かった。春季が他の2季よりも高い活性を認めた地点は、北九州、札幌、つくばおよび静岡であった。

単位粉じん重量あたりの発がんプロモーション活性も、地点によって大きく異なった(図-2)。札幌と北九州の春季は、他の8地点の春季の活性と比べて2倍以上の高い活性が認められた。さらに、札幌では、春季に比べて冬季の活性が2倍近く高値となり、

他の9地点と比べて特徴的に高いことが明らかになった。一方、北九州は、春季以外の冬季および夏季のいずれにおいても活性が認められず、春季のみに発がんプロモーション活性が高かった。それらの2地点(札幌および北九州)間の距離は離れており、気候等も大きく異なることから、両地点の発がんプロモーション活性要因が大きく異なることなどが推測された。

【参考文献】

- 1) Ohmori, K. *et. al.*, An assay method for the prediction of tumor promoting potential of chemicals by the use of Bhas 42 cells, *Mutation. Research*, 557, 191-202 (2004)