

# 尿中 1-hydroxypyrene を用いた一般公衆の多環芳香族炭化水素類 (PAHs) の曝露源評価

環境システムコース 環境健康システム学分野 46753 鈴木香織

## 1. 緒言

あらゆる有機物の不完全燃焼によって発生する多環芳香族炭化水素類 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs) は様々な環境媒体中に存在し、その一部は人に対して発ガン性がある環境汚染化学物質として各機関において位置づけられている。発ガン性が懸念されている多くの PAHs の中でも Benzo(a)pyrene (B(a)P) は最も発ガン性が強い PAH として広く認識されている。日本において高度経済成長期に急激に大気汚染への関心が高まったこともあり、PAHs の大気からの経気道曝露が注目され始め、1970 年代を境として、燃料の良質化や燃焼装置の改良等に伴い大気中 PAHs 濃度が全国的に低下傾向にあることが報告されている<sup>[1]</sup>。一般に人への化学物質曝露には経気道曝露と並んで経口曝露があるが、PAHs については食物中濃度に関する情報が欠如しているため、日本人の PAHs 経口曝露量についての知見がほとんど得られていないのが現状である。唯一公表されている 1984 年の尾花らの各食品群中 B(a)P 量データ<sup>[2]</sup>と国民栄養調査の結果から経口曝露量をかなり大まかに試算してみると、一般公衆の場合、食物からの B(a)P 摂取量は約 50 ~ 200 ng/day となり、大気中 B(a)P 濃度データ<sup>[3]</sup>から経気道曝露量を試算すると、約 10 ng/day となる。このように、経口曝露量の方が明らかに高い可能性があるにもかかわらず、PAHs に関する研究や規制の取り組みは経気道曝露に集中している。また、発ガンリスクの観点から B(a)P について許容できる生涯発ガンリスクを  $10^{-6}$  とした場合の実質安全用量 (VSD: Virtually Safe Dose) と経口曝露量試算値を比較すると、VSD (6.8 ng/day) と同レベルもしくはそれ以上の B(a)P を日常の食事から摂取していることが懸念される。

そこで、本研究では、尿中 1-OHP 排泄量を体内へ取り込まれた B(a)P レベルの指標として、一般公衆の PAHs 曝露における食物からの経口摂取と大気からの経気道摂取のどちらが、体内に取り込まれる発ガン性の高い B(a)P レベルのより強い支配要因となるかを検討することを目的とした。

## 2. 調査方法

2005 年 4 月から 5 月及び 9 月から 10 月にかけて、東京近郊在住の非喫煙男子学生 14 名 (年齢  $25 \pm 2$ , AM  $\pm$  SD) を対象とし 24 時間分の尿、空気、食事を採取し、行動記録及び食事に関するアンケート調査を併せて実施した。採取した尿試料は分注し、分析時まで  $-20^{\circ}\text{C}$  にて保存した。1 日尿中 1-OHP 排泄量は測定濃度と 1 日排尿総量とから算出した。空気はグラスファイバーフィルター及びポリマービーズ XAD-2 を用いて捕集し、食事は陰膳法にて採取し均質化後  $-20^{\circ}\text{C}$  にて保存した。

## 3. 実験方法

### 3-1. 尿中 1-OHP 分析

尿試料は Fig. 1 のフローに沿って分析し、測定は HPLC-蛍光検出 (FL) を用いた。移動相にメタノール:水 (70:30) を用い、蛍光検出器は蛍光波長 242 nm、励起波長 388 nm を設定条件とした。

### 3-2. 大気試料中 PAHs 分析

PAHs 測定は HPLC-FL を用い、アセトニトリルと水の混合溶媒を移動相とした。また、移動相のグラジエントプログラム及び波長切り替えプログラムは、既存の測定条件<sup>[5]</sup>を最適化して用いた。測定対象とした PAHs は、Phenanthrene (Phe), Anthracene (Ant),

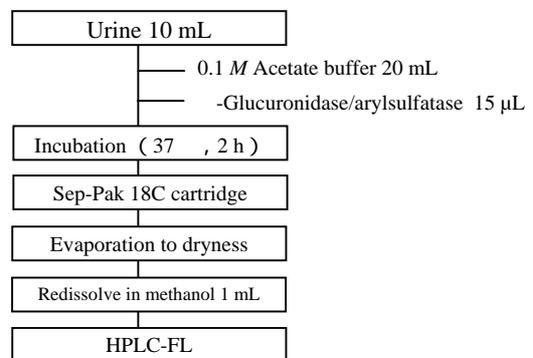


Fig. 1 Flow diagram for the urine sample preparation procedure<sup>[4]</sup>.

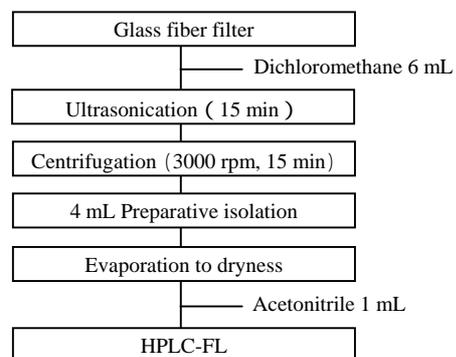


Fig. 2 Flow diagram for the filter sample preparation procedure.

Fluoranthene (Flu), Pyrene (Py),  
 Benzo(a)anthracene (B(a)A), Chrysene (Chy),  
 Benzo(b)fluoranthene (B(b)F),  
 Benzo(k)fluoranthene (B(k)F), Benzo(a)pyrene  
 (B(a)P), Dibenzo(a,h)anthracene (Db(ah)A),  
 Benzo(g,h,i)perylene (B(ghi)P), Indeno(1,2,3-  
 c,d)pyrene (IP)の計 12 物質である。フィルター  
 試料の分析方法は Fig. 2 に示した通りである。

### 3-3. 陰膳試料中 PAHs 分析

陰膳試料は ASE (高速溶媒抽出法) を用い  
 て抽出し、その後 Fig. 3 に示したような精製  
 処理を行なった。分析対象とする PAHs は測  
 定値の再現性、添加回収率及び認証標準物質  
 SRM2977 Mussel Tissue (NIST)の分析値の検討  
 結果を基に選択し、Pyrene、B(k)F、B(a)P の  
 計 3 物質とした。

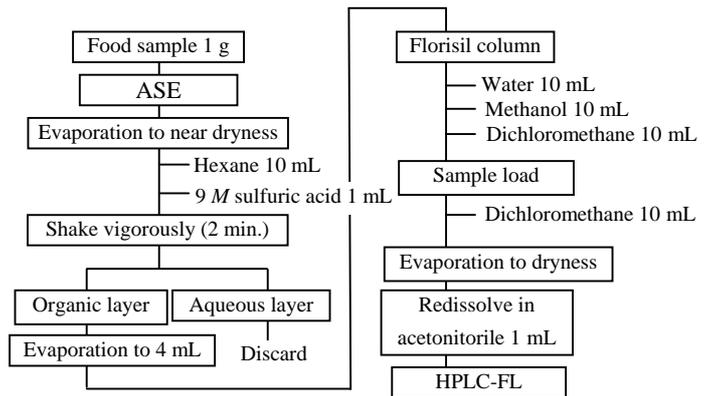


Fig. 3 Flow diagram for the food sample preparation procedure<sup>[6]</sup>.

## 4. 結果及び考察

### 4-1. 尿中 1-OHP 排泄量

対象者 14 名の尿中 1-OHP 排泄量は 32 (2) ng/day (GM (GSD)) であり、最小値-最大値は 10 – 80 ng/day であった。これは非喫煙者の尿中 1-OHP 濃度に関する文献値<sup>[4]</sup>からクレアチニン量 1.5 g/day を用いて 1 日排泄量に換算した値  $66.1 \pm 83.5$  ng/day とほぼ同じ排泄レベルであった。

### 4-2. PAHs 経気道曝露量

各 PAHs の経気道曝露量及び大気中 PAHs 濃度に関する文献値<sup>[3]</sup>から算出した試算値を Table 1 に示した。今回は気相中 PAHs を分析しなかつたため、気相中 PAHs を過少評価していることは否めないが、Pyrene より蒸気圧が低い物質については室内外の滞在時間を考慮した試算値とほぼ同レベルの曝露量であった。このことから、大気中の PAHs は 4 環の構造を持つ Pyrene と B(a)A を境にして気相と固相における存在割合が変化していることが推測され、Phenanthrene から Pyrene まではおよそ 90% が気相中に存在し、B(a)A 及び Chrysene は約 40%、その他分子量が大きい PAHs に関しては、主に固相に存在するという既存の報告とほぼ一致する結果となった<sup>[7]</sup>。

また、Fig. 4 より、各対象が調査期間中に取り込んでいた大気中の各 PAHs の相対的な存在率が類似していた。PAHs の組成は発生源によって特異的であると言われており、今回の対象者が経気道曝露していた PAHs の発生源が同じである可能性が考えられた。PAHs の組成からその発生源を推測する既存の文献<sup>[8]</sup>より、自動車排ガス由来の粉塵中の特異的な PAHs 組成が、本研究で得られた大気中 PAHs と類似していることから、今回の調査で得られた大気捕集試料中の PAHs の発生源は、大気粉塵の大部分を占める自動車排

Table 1 Mean inhalation exposure level of PAHs and estimations (n=14).

	(ng/day)	
	GM (GSD)	estimation
Phenanthrene	0.83 (2.31)	615
Anthracene	N.D.	24
Fluoranthene	1.32 (3.29)	98
Pyrene	1.43 (1.90)	78
-----		
B(a)A	0.50 (3.74)	2.25
Chrysene	1.15 (2.89)	5.55
B(b)F	2.93 (2.46)	8.55
B(k)F	1.57 (2.32)	3.30
B(a)P	2.22 (2.01)	5.40
Db(ah)A	0.48 (2.34)	0.99
B(ghi)P	2.95 (1.93)	9.45
IP	2.56 (1.72)	8.70

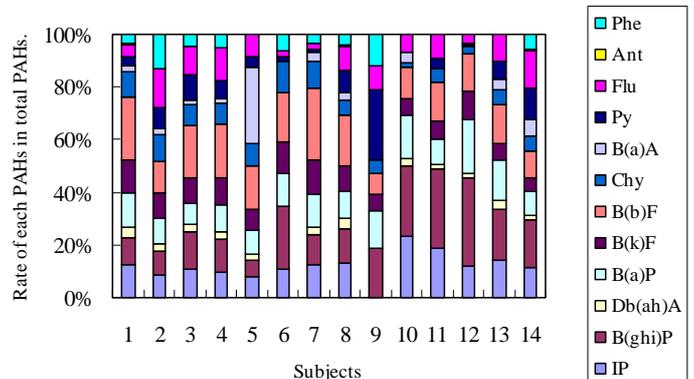


Fig. 4 Fractions of 12 PAHs in total PAHs.

ガスであることが予想された。さらに、対象者らの行動記録票によると、いずれの対象者も1日の80%以上を室内で過ごしていることから、対象者が曝露していた室内空気中のPAHs汚染に支配的に影響しているのは自動車排ガスを含んだ外気であったことが考えられる。

### 4-3. PAHs 経口曝露量

各PAHsの平均経口曝露量及び試算値をTable 2に示した。試算値は、各食品群中PAHs濃度に関する文献値<sup>[2]</sup>に平均摂取量を乗じた和とした。いずれのPAHsでもおよそ試算値と同レベルの経口曝露量であった。本研究で得られた曝露量の方が若干高い原因として、試算値はあくまでも調理を考慮に入れていないため、実際よりも過少評価されている可能性が考えられる。また、本研究で得られたB(a)P経口曝露量

91 ng/day とVSD 6.8 ng/day とを比較すると、同じレベルもしくは10倍以上のB(a)Pを食事から曝露していることが示唆され、冒頭で述べた予測と一致する結果となった。

**Table 2** Mean dietary ingestion level of PAHs and estimations (n=14).

	(ng/day)	
	GM (GSD)	estimation
Pyrene	796 (2)	433
B(k)F	28 (2)	40
B(a)P	91 (2)	47

### 4-4. 各経路からのPAHs曝露量比較

空気及び食事からのPyrene、B(k)F、B(a)P曝露量及び総曝露量に対する寄与率をTable 3に示した。いずれの対象物質でも食事からの摂取量の方が大気からよりも圧倒的に高く、これは試算と合致する結果であった。一般公衆かつ非喫煙者のPAHs曝露量をやはり食事からのPAHs曝露の方が大気からの曝露よりも今回対象とした物質に関しては高いことが明らかとなった。また、人を対象としたPyrene投与研究において得られた48時間以内の平均尿中1-OHP排泄率3.67%を用いて<sup>[9]</sup>、今回得られた尿中1-OHP排泄量平均値からPyreneの平均経口曝露量を予測すると、およそ872 ng/dayとなり、実測値の平均値796 ng/dayに近い値となった。このことから、本調査における代謝時間を考慮した、少なくとも食事及び尿のサンプリング方法が適切であったことが考えられる。

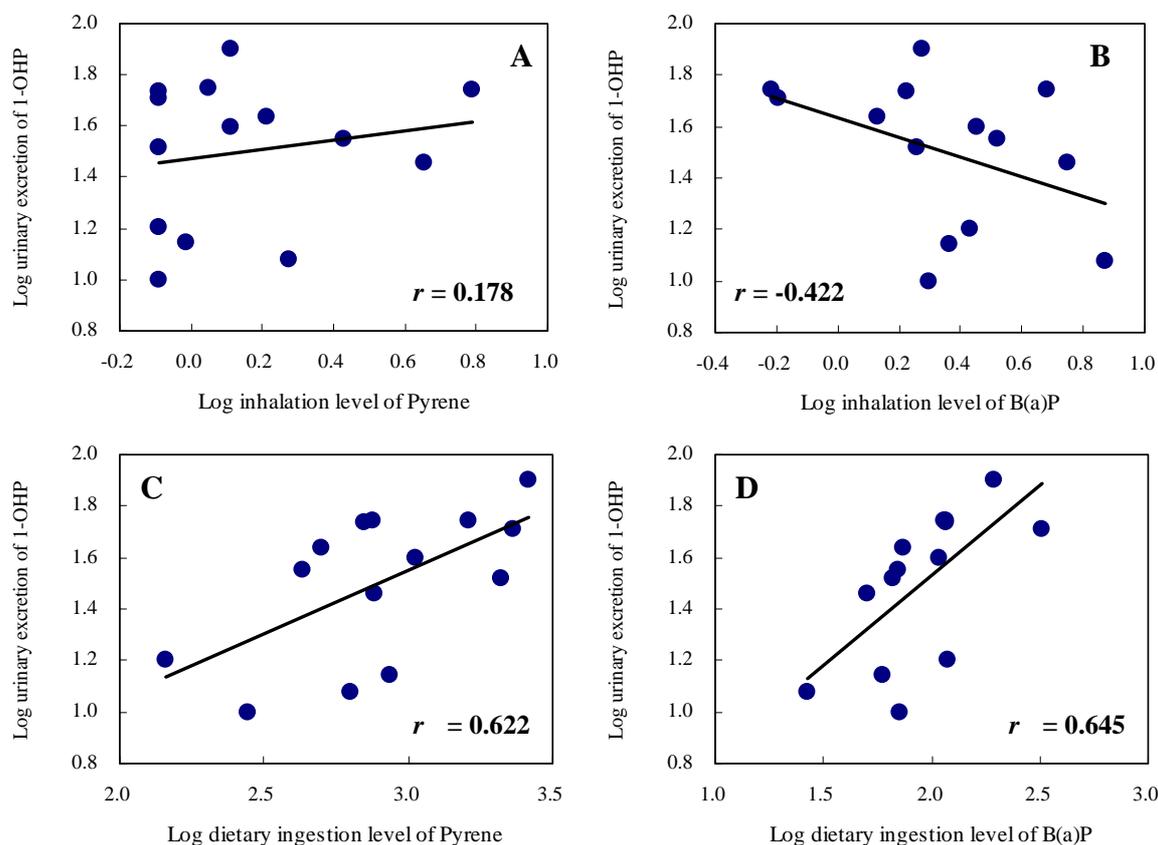
**Table 3** Exposure levels of PAHs via each media.

	Pyrene		B(k)F		B(a)P	
	Air	Food	Air	Food	Air	Food
GM (GSD) (ng/day)	1.43 (1.90)	796 (2)	1.57 (2.32)	28 (2)	2.22 (2.01)	91(2)
Median (ng/day)	1.20	757	1.65	25	2.14	90
Min. (ng/day)	0.81	145	0.26	9	0.61	27
Max. (ng/day)	6.15	2616	6.91	97	7.43	324
Contribution (%)	0.2	99.8	6.0	94.0	2.5	97.5

### 4-5. 統計学的解析

PAHsの内、発ガン性が強いB(a)Pの体内への取り込み量を反映する尿中1-OHPに、より支配的に影響を与える因子を検討するため、Pearsonの積率相関係数を用いて、尿中1-OHP排泄量と各曝露経路からのPyrene及びB(a)P曝露量との相関関係を検討した。統計解析にはSPSS Version 12.0 Jを用い、各変数は対数変換して取り扱った。尿中1-OHP排泄量と各曝露量との相関関係及び統計解析結果をFig. 5に示した。

Pyrene及びB(a)Pの経気道及び経口曝露量と尿中1-OHP排泄量に関して相関分析を行なったところ、尿中1-OHP排泄量と食事からのPyrene及びB(a)P曝露量との間に有意な相関関係があった ( $p < 0.05$ )。一方、大気からのPyrene及びB(a)P曝露量と尿中1-OHP排泄量との間には、有意な相関関係はなかった ( $p > 0.05$ )。このことから、尿中1-OHP排泄量により支配的に影響を与える因子は、食事からのPyrene及びB(a)P曝露量であることが明確となった。さらに、尿中1-OHP排泄量のおよそ30-40%を食事からの曝露が説明することが示唆された。一方、大気からのB(a)P及びPyrene曝露量で尿中1-OHP排泄量を説明することは難しいことが明らかとなり、一般公衆かつ非喫煙者を対象に、尿中1-OHPを経気道曝露のバイオマーカーとして用いることは適当でない可能性が示された。



**Fig. 5** Correlations of urinary excretion of 1-OHP with each exposure level of Pyrene and B(a)P (n=14); (A) with inhalation level of Pyrene; (B) with dietary ingestion level of Pyrene; (C) with inhalation level of B(a)P; (D) with dietary ingestion level of B(a)P

Statistically significant coefficient. (Pearson's product moment correlation coefficient,  $p < 0.05$ )

また、各食品群中 PAHs 濃度に関する文献値<sup>[10]</sup>より PAHs 組成を解析したところ、各 PAHs 間に概ね有意な相関関係が見られることから、今回陰膳試料で定量することのできなかつた PAHs についても、尿中 1-OHP との間に Pyrene や B(a)P と同様、相関関係があることが予想される。そのため、尿中 1-OHP 排泄量は、Pyrene や B(a)P だけでなく、総 PAHs の経口曝露のバイオマーカーとしても有用である可能性も考えられる。

## 5. 結論

日本人の一般公衆かつ非喫煙者において、総 PAHs 曝露量の内、食事からの曝露が 90% 以上を占めることが示唆されると共に、人体に対して健康影響を与えうる用量を反映する尿中 1-OHP 排泄量の個人間変動のおよそ 30-40% を食事からの B(a)P 及び Pyrene 曝露量が説明しうることが示唆された。また、食事からの B(a)P 摂取量と尿中 1-OHP との間に、有意な相関関係が見られたことから、特殊な曝露がない一般公衆においては、尿中 1-OHP が、発ガン性の高い B(a)P の経気道曝露ではなく、経口曝露の指標として有用であることが示されると共に、総 PAHs の経口曝露のバイオマーカーとしても用いることができる可能性が示唆された。これは、B(a)P のみなど個々の PAHs で評価を行なうのではなく、総 PAHs として評価することが重要であるとの最近の PAHs 曝露研究における動向に対しても意義のある知見である。また、今回得られた食事の寄与に関する知見は、今後 PAHs 曝露評価研究の方向性を定める際の有用な情報となり得るであろう。

## 6. 参考文献

- [1] 浮遊粒子状物質等測定データ集, 東京都環境科学研究所, 2001 [2] 尾花裕孝ら, 食品衛生学雑誌, 25 (1), 35-40, 1984 [3] T. Ohura et al., *J. AOAC Int.*, 85(1), 188-202, 2002 [4] T. Chetiyankornkul et al., *J. Chromatog. A*, 961, 107-112, 2002 [5] M. J. Nieva-Cano et al., *Analyst*, 126, 1326-1311, 2001 [6] G. Wang et al., *J. Agric. Food Chem.*, 47, 1062-1066, 1999 [7] E. Menichini et al., *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, 2003 [8] 天野冴子ら, 東京都環境科学研究所年報, 94-98, 2004 [9] C. Viau et al., *Sci. Total Environ.*, 163, 179-186, 1995 [10] G. Falco et al., *J. Food Protection*, 66 (12), 2325-2331, 2003