

1.1 定量下限値、検出下限値及び溶出下限値の設定

11.1 定量下限値の設定

定量下限値は、各調査対象物質について下記の a.、b. 及び c. により算出し設定し、a.、b. 及び c. で得られた計算値のうち、最大値と目標下限値を比較し、最大値が目標下限値より大きい場合はこの値を定量下限値とした。また、最大値が目標下限値より小さい場合は目標下限値を定量下限値とした。表-10 に定量下限値の設定結果を示した。

- a. 目標下限値付近の標準溶液の 5 回繰り返し測定した測定値の標準偏差 (s) の 10 倍値
- b. 測定毎に測定している操作ブランク値の標準偏差 (s) の 10 倍値
- c. 測定毎に測定している操作ブランク値の平均値の 3 倍値

表-10 定量下限値の設定結果

調査対象物質	目標下限値	a.	b.	c.	定量下限値
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	0.05	0.022706	0.111545	0.10825	0.2
フタル酸ジ-n-ブチル	0.05	0.004259	0.131239	0.156499	0.2
フタル酸-n-ブチルベンジル	0.05	0.017887	<0.05	<0.05	0.05
フタル酸ジシクロヘキシル	0.05	0.003483	<0.05	<0.05	0.05
フタル酸ジエチル	0.05	0.00488	0.007191	0.010723	0.05
フタル酸ジペンチル	0.05	0.006932	<0.05	<0.05	0.05
フタル酸ジ-n-プロピル	0.05	0.003088	<0.05	<0.05	0.05
アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル	0.01	0.013487	0.023218	0.014359	0.03
ノニルフェノール	0.1	0.098	<0.05	<0.05	0.1
ビスフェノール A	0.01	0.006646	0.006038	0.00918	0.01
benzo(a)pyrene	0.01	0.0084	<0.01	<0.01	0.01
indeno(1,2,3-cd)pyrene	0.01	0.003	<0.01	<0.01	0.01
benzo(b)fluoranthene	0.01	0.0032	<0.01	<0.01	0.01
benzo(k)fluoranthene	0.01	0.0054	<0.01	<0.01	0.01
benzo(g,h,i)perylene	0.01	0.0018	<0.01	<0.01	0.01
fluoranthene	0.01	0.0006	0.0042	0.01	0.01
dibenz(a,h)anthracene	0.01	0.0058	<0.01	<0.01	0.01
anthanthrene	0.01	0.017	<0.01	<0.01	0.02
benz(a)anthracene	0.01	0.0122	<0.01	<0.01	0.02
pyrene	0.01	0.0024	0.0018	0.01	0.01
benzo(j)fluoranthene	0.01	0.0074	<0.01	<0.01	0.01
chrysene	0.01	0.0024	<0.01	<0.01	0.01
benzo(e)pyrene	0.01	0.004	<0.01	<0.01	0.01

単位：μg/L

## 11.2 検出下限値の設定

検出下限値は、定量下限値の 3 分の 1 とした。ただし、検出下限値が検量線濃度の最低濃度以下となる場合は、検量線の最低濃度を検出下限値とした。検出下限値を表-11 に示した。

表-11 検出下限値

調査対象物質	検出下限値
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	0.07
フタル酸ジ-n-ブチル	0.07
フタル酸-n-ブチルベンジル	0.05
フタル酸ジシロヘキシル	0.05
フタル酸ジエチル	0.05
フタル酸ジペンチル	0.05
フタル酸ジ-n-プロピル	0.05
アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル	0.01
ノニルフェノール	0.05
ビスフェノール A	0.01
benzo(a)pyrene	0.01
indeno(1, 2, 3-cd)pyrene	0.01
benzo(b)fluoranthene	0.01
benzo(k)fluoranthene	0.01
benzo(g, h, i)perylene	0.01
fluoranthene	0.01
dibenz(a, h)anthracene	0.01
anthanthrene	0.01
benz(a)anthracene	0.01
pyrene	0.01
benzo(j)fluoranthene	0.01
chrysene	0.01
benzo(e)pyrene	0.01

単位：μg/L

### 11.3 溶出下限値の設定

溶出下限値を表-12 に示した。

表-12 溶出下限値

調査対象物質	溶出下限値
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	0.4
フタル酸ジ-n-ブチル	0.4
フタル酸-n-ブチルベンジル	0.1
フタル酸ジシクロヘキシル	0.1
フタル酸ジエチル	0.1
フタル酸ジベンチル	0.1
フタル酸ジ-n-プロピル	0.1
アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル	0.1
ノニルフェノール	0.08
ビスフェノール A	0.01
benzo(a)pyrene	0.01
indeno(1, 2, 3-cd)pyrene	0.01
benzo(b)fluoranthene	0.01
benzo(k)fluoranthene	0.01
benzo(g, h, i)perylene	0.01
fluoranthene	0.01
dibenz(a, h)anthracene	0.01
anthanthrene	0.01
benz(a)anthracene	0.01
pyrene	0.01
benzo(j)fluoranthene	0.01
chrysene	0.01
benzo(e)pyrene	0.01

単位：μg/L

### 11.4 溶出濃度(μg/L)の算出

試験区と対照区の測定値の差を溶出濃度(μg/L)とした。ただし、対照区の測定値が検出下限値未満の場合は、検出下限値×0.5の値を対照区の測定値とした。

### 11.5 数値の取扱い

各測定値は、JIS Z 8401「数字の丸め方」に従い丸め有効数字 2 桁とした。なお、溶出試験における溶出量の算出は、試験区と対照区の差を溶出下限値の位に丸めた。

以上

- 別添-1    フタル酸類分析法のフローシート  
          ノニルフェノール分析法のフローシート  
          ビスフェノールA分析法のフローシート  
          多環芳香族炭化水素分析法のフローシート

## フタル酸エステル類分析法のフローシート

### <項目>

フタル酸ジ-n-ブチル、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル、フタル酸-n-ブチルベンジル、フタル酸ジシクロヘキシル、フタル酸ジエチル、フタル酸ジペンチル、フタル酸ジ-n-プロピル、アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル

### <サロゲート>

フタル酸ジ-n-ブチル-d<sub>4</sub>、フタル酸ジ-2-エチルヘキシル-d<sub>4</sub>、フタル酸-n-ブチルベンジル-d<sub>4</sub>、フタル酸ジシクロヘキシル-d<sub>4</sub>、フタル酸ジエチル-d<sub>4</sub>、フタル酸ジペンチル-d<sub>4</sub>、フタル酸ジ-n-プロピル-d<sub>4</sub>、アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル-d<sub>8</sub>

### <操作>

1000 ml 透明摺りメスフラスコ

—— 検水約 1000 ml

—— サロゲート物質各 0.0625 μg (0.125 mg/L の混合溶液を 0.5 ml)

—— 塩化ナトリウム 40 g

—— ヘキサン 10 ml

攪拌 20 分間

ヘキサン層 8 ml を分取

5 %含水フロリジルカラムクロマトグラフィー (2 g)

ヘキサン 50 ml 洗浄

ヘキサン及びアセトニトリルの混液(995:5v/v) 100 ml 溶出

濃縮 ロータリーエバポレーター

窒素ガスで乾固

—— 内標準物質混合溶液 (各 0.25 mg/L ヘキサン溶液) 1 ml に溶解

GC/MS 測定

ブランクとしてヘキサン洗浄ミネラル水 1000 ml を透明摺りメスフラスコにとり同様に試験。

備考： 使用するガラス器具、無水硫酸ナトリウム及び塩化ナトリウムは 200℃で 2 時間以上焼いてから使用した。

### <測定機器操作条件>

機 種：HP6890/5972 [Hewlett-Packard Company]

カ ラ ム：DB-5MS [J&W SCIENTIFIC]

φ 0.25 mm×30 m、膜厚 0.25 μm

導 入 系：スプリットレス

温 度：試料注入口 250℃ インターフェイス温度：280℃

カラム 50 °C (2分保持) → 10 °C/min 昇温 → 270 °C (5分保持)  
 ガス流量：ヘリウム(キャリアーガス) 1.0 ml/min  
 イオン化法：EI  
 注入量：1 μl

<設定質量数>

測定対象物質	分子量	定量イオン (m/z)	保持時間(分)
フタル酸ジエチル	222.2	149	15.3
フタル酸ジ-n-プロピル	250.3	149	17.3
フタル酸ジ-n-ブチル	278.4	149	19.3
フタル酸ジベンチル	306.4	149	21.1
フタル酸-n-ブチルベンジル	312.4	149	22.8
フタル酸ジシクロヘキシル	330.4	149	24.2
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル	390.6	149	24.3
アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル	370.6	129	23.1
フタル酸ジエチル-d4	226.2	153	15.3
フタル酸ジ-n-プロピル-d4	254.3	153	17.3
フタル酸ジ-n-ブチル-d4	282.4	153	19.3
フタル酸ジベンチル-d4	310.4	153	21.1
フタル酸-n-ブチルベンジル-d4	316.4	153	22.8
フタル酸ジシクロヘキシル-d4	334.4	153	24.2
フタル酸ジ-2-エチルヘキシル-d4	394.6	153	24.3
アジピン酸ジ-2-エチルヘキシル-d8	378.6	137	23.1
フェナントレン-d10	188.2	188	17.6
フルオランテン-d10	212.3	212	20.5
クリセン-d12	240.4	240	24.0

# ノニルフェノールの分析法 フローシート

## <項目>

ノニルフェノール

## <操作>

1000 ml 分液ロート

- 検水 500 ml
- 塩化ナトリウム 25 g
- 塩酸で pH 3 以下に調整
- ジクロロメタン 100 ml

振とう 10 分間

ジクロロメタン層    水層

— ジクロロメタン 50 ml

振とう 10 分間

ジクロロメタン層    水層

あわせる

すてる

脱水 無水硫酸ナトリウム

300 ml ナス形フラスコ

濃縮 ロータリーエバポレーター

5%シリカゲルカラムクロマトグラフィー(5 g)

ジクロロメタン：ヘキサン(30:70 V/V) 50 ml 洗浄

ジクロロメタン：ヘキサン(60:40 V/V) 100 ml 溶出

濃縮 ロータリーエバポレーター

内標準液 (ナフレン-d<sub>8</sub> 及びフェナントレン-d<sub>10</sub> の 0.5 µg/ml ヘキサン溶液) 0.5 ml

測定 GC/MS-SCAN

ブランクとして市販のミネラルウォーター500 ml を分液ロートにとり同様に試験。

備考： 使用する器具はアセトンで洗浄した。  
無水硫酸ナトリウム及び塩化ナトリウムはアセトンで洗浄し、風乾後 210 °C で 2 時間加熱した。

## <測定機器操作条件>

機種：SATURN 2000 [Varian]

カラム：DB-5MS [GL Science Co.] φ0.25 mm×30 m、膜厚0.25 µm

導入系：スプリットレス

温度：注入口 280 °C

カラム 60 °C (2分保持) → 10 °C/min 昇温 → 250 °C (10分保持)

トランスファーライン 170 °C

トラップ温度 150 °C

キャリアーガス：ヘリウム、1.5 ml/min

イオン化法：EI

<設定質量数>

測定対象物質	分子量	定量イオン (m/z)	保持時間 (分)
ノニルフェノール	220.35	207	15.2~15.7
フェナントレン-d <sub>10</sub> (内標準)	188.23	188	16.43



# ビスフェノール A 分析法のフローシート

## <項目>

ビスフェノール A

## <サロゲート>

ビスフェノール A-d<sub>16</sub>

## <操作>

### 500 ml 透明摺り分液ロート

— 検水 250 ml

— サロゲート物質 0.025 µg (0.05 mg/L を 0.5 ml)

### 密栓混合

— 塩化ナトリウム 15 g

— 6 mol/l 塩酸で pH 3 以下に調整

— ジクロロメタン 25 ml

### 振とう 5 分間

### ジクロロメタン層 水層

— ジクロロメタン 25 ml

### 振とう 5 分間

### ジクロロメタン層 水層

あわせる

すてる

### 脱水 無水硫酸ナトリウム

### 200 ml ナス形フラスコ

### 濃縮 ロータリーエバポレーター

### 窒素気流下乾固

— 水及びアセトニトリルの混液(6:4v/v) 0.5 ml に溶解

### 測定 LC-MS

ブランクとして市販のミネラルウォーター250 ml をジクロロメタンで洗浄後同様に試験。  
妨害の認められた試料についてはシリカゲルカートリッジカラムによる追加精製を行った。

備考：使用する器具はアセトンで洗浄した。  
無水硫酸ナトリウムはジクロロメタンで洗浄した  
塩化ナトリウムは 300 °C で 3 時間加熱した。

<測定機器操作条件>

機種：1100Series MSD [Agilent technologies]

カラム：Zorbax Eclipse XDB-C18 5  $\mu\text{m}$ 、 $\phi$  2.1 mm $\times$ 15 cm [Agilent technologies]

カラム温度：40  $^{\circ}\text{C}$

移動相：A液 0.01 %酢酸 B液 アセトニトリル

B(%) 35 %(10分保持) $\rightarrow$ (5分) $\rightarrow$ 95 %(2分保持)

流量：0.2 ml/min

イオン化法：ESI、負イオンモード

フラグメンター電圧：140 V

ネブライザーガス：窒素 35 psi

乾燥ガス：窒素 10 l/min、350  $^{\circ}\text{C}$

キャピラリー電圧：3500 V

設定質量数：m/z 227(ビスフェノールA)、241(ビスフェノールA- $\text{d}_{16}$ )

注入量：10  $\mu\text{l}$

# 多環芳香族炭化水素類の分析法フローシート

## <項目>

ベンゾ[a]ピレン、インデノ[1,2,3,cd]ピレン、ベンゾ[b]フルオランテン、ベンゾ[k]フルオランテン、ベンゾ[g,h,i]ペリレン、フルオランテン

ジベンズ[a,h]アントラセン、アントラセン、ベンズ[a]アントラセン、ピレン、ベンゾ[j]フルオランテン、クリセン、ベンゾ[e]ピレン

## <サロゲート>

ベンゾ[a]ピレン-d<sub>12</sub>、インデノ[1,2,3,cd]ピレン-d<sub>12</sub>、ベンゾ[b]フルオランテン-d<sub>12</sub>、ベンゾ[g,h,i]ペリレン-d<sub>12</sub>、フルオランテン-d<sub>10</sub>

ジベンズ[a,h]アントラセン-d<sub>14</sub>、ベンズ[a]アントラセン-d<sub>12</sub>、ピレン、クリセン-d<sub>12</sub>

## <操作>

### 1000 ml 分液ロート

- 検水約 500 ml
- サロゲート 2 物質各 0.04 μg (2 mg/L の混合溶液を 20 μl)

### 密栓混合

- 塩化ナトリウム 15 g
- ヘキサン 100 ml

### 振とう 5 分間

#### ヘキサン層

#### 水層

— ヘキサン 50 ml

### 振とう 5 分間

#### ヘキサン層

#### 水層

### 脱水 硫酸ナトリウム

### すてる

### 200 ml ナス形フラスコ

### 濃縮 ロータリーエバポレーター

### 窒素パージ 乾固

### 定容

- 内標準物質添加 p-タ-フェニル-d<sub>14</sub> 0.04 μg (0.04 mg/L 溶液を 1 ml)

### 測定 GC-MS

ブランクとして精製水 500 ml を分液ロートにとり同様に試験。

<測定機器操作条件>

機 種：6890/5793 [Agilent Technologies]

カ ラ ム：DB-5ms [Agilent Technologies]

φ0.25 mm×30 m、膜厚0.25 μm

導 入 系：スプリットレス

温 度：試料注入口 270℃

カラム 60℃(2分保持)→20℃/min 昇温→120℃

→7℃/min 昇温→310℃(10分)

ガス流量：ヘリウム(キャリアーガス) 1.0 ml/min

イオン源温度：230℃

イオン化法：EI

<設定質量数>

測定対象物質	分子量	定量イオン (m/z)	保持時間(分)
ベンゾ [a]ピレン	252	252	28.92
ベンゾ [a]ピレン-d <sub>12</sub>	264	264	28.85
ベンゾ [b]フルオランテン	252	252	28.01
ベンゾ [b]フルオランテン-d <sub>12</sub>	264	264	28.03
ベンゾ [k]フルオランテン	252	252	28.09
ベンゾ [g, h, I]ペリレン	276	276	31.87
ベンゾ [g, h, I]ペリレン-d <sub>12</sub>	288	288	31.81
インデノ[1, 2, cd]ピレン	276	276	32.48
インデノ[1, 2, cd]ピレン-d <sub>12</sub>	288	288	32.41
フルオランテン	202	202	19.83
フルオランテン-d <sub>10</sub>	212	212	19.77
ベンゾ [j]フルオランテン	252	252	28.03
ベンゾ [e]ピレン	252	252	28.77
クリセン	228	228	24.62
クリセン-d <sub>12</sub>	240	240	24.55
ベンズ [a]アントラセン	228	228	24.73
ベンズ [a]アントラセン-d <sub>12</sub>	240	240	24.65
ジベンズ [a, h]アントラセン	278	278	31.98
ジベンズ [a, h]アントラセン-d <sub>14</sub>	292	292	31.91
アントントレン	276	276	32.82
p-ターフェニル-d <sub>14</sub> (内標)	244	244	21.36

## 別添 2 実験装置図面



PAHsのAhレセプター（AhR）誘導活性に関する研究

分担研究者 国包章一  
研究協力者 相澤貴子、胡 建英、王 偉





# PAHs の Ah レセプター (AhR) 誘導活性に関する研究

国立保健医療科学院 国包章一

横浜市水道局 相澤貴子

北京大学環境学院 胡建英 王偉

## 1. 前言

PAHs は環境中に広く存在する発ガン性、変異原性物質である。近年特に内分泌かく乱物質としても注目されている。今までの論文報告を整理すると、PAHs の内分泌かく乱作用メカニズムは三種類に分けられる。(1) エストロゲンレセプター (ER) との直接結合によりエストラジールの作用を妨害する抗エストロゲン作用を示す内分泌かく乱作用<sup>1)</sup>; (2) Ah レセプター (AhR) との結合により CYP 系酵素を誘導して、E2 を代謝させることにより内分泌かく乱作用を示すこと<sup>2)</sup>; (3) PAHs はエストロゲンレセプターと結合することによってエストロゲン活性を示すこと<sup>3)</sup>。また、水道水源中の PAHs の汚染源は燃焼由来、石油汚染および自然由来とされている。飲み水の場合には水道水源に残留するものに加えて、水道用資機材からの溶出も考える必要がある。

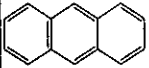
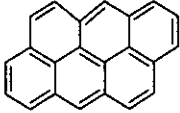
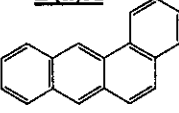
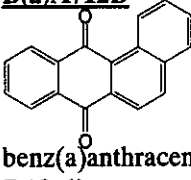
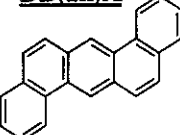
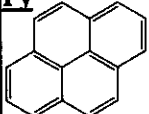
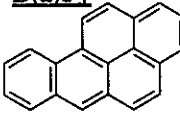
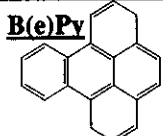
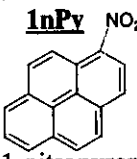
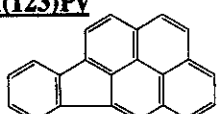
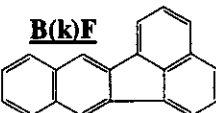

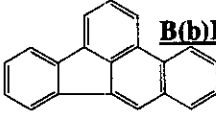
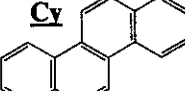
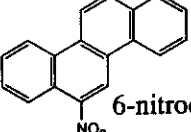
本研究では、EPA 優先物質 (15 種類) やニトロ PAHs (2 種類)、Oxygenated-PAH (1 種類)、azaarene (2 種類) と自然発生で環境中に検出頻度の高い perylene との計 21 種類の PAHs を対象物質として選択し、Ah レセプターとの結合活性評価を行った。

## 2. 実験方法

### 2.1 対象 PAHs

本研究の対象 PAHs 類の構造式は表-1 に纏めた。

表-1 対象 PAHs の構造式

Anthracene 類	<b>Anr</b>  anthracene	<b>Ant</b>  anthanthrene	<b>B(a)A</b>  benz(a)anthracene	<b>B(a)A712D</b>  benz(a)anthracene-7,12-dione	<b>DB(ah)A</b>  dibenz(a,h)anthracene
Pyrene 類	<b>Py</b>  pyrene	<b>B(a)Py</b>  benzo(a)pyrene	<b>B(e)Py</b>  benzo(e)pyrene	<b>1nPv</b>  1-nitropyrene	<b>I(123)Pv</b>  indeno[1,2,3-cd]pyrene
Fluoranthene 類	<b>B(k)F</b>  benzo(k)fluoranthene	<b>B(j)F</b>  benzo(j)fluoranthene	<b>B(b)F</b>  benzo(b)fluoranthene		
Chrysene 類	<b>Cy</b>  chrysene	<b>6nChr</b>  6-nitrochrysene			

Perylene 類	 B(ghi)Pe benzo(g,h,i)perylene	 Pe perylene		
その他	 Ace acenaphthene	 Car carbazole	 56Bq 5,6-benzoquinoline	 Fl fluorene

## 2.2 AhR 活性の測定

### 2.2.1 試験酵母株

本研究では Miller ら<sup>4)</sup> が開発した酵母法により対象 PAHs の AhR 結合活性を測定した。酵母 YCM3 株に人 AhR と ARNT 遺伝子を染色体 III に融合し、AhR と ARNT が galactose 調節 GAL1, 10 プロモータで表し、AhR/ARNT 仲介の転写活性が β-galactosidase 活性で評価される方法である。

測定過程は基本的に文献と同じである<sup>4,5)</sup>。YCM3 酵母が 30 度で tryptophan 除外した合成グルコース培地で一晚培養した。200 μl の 2% galactose 培地に 50 μl の前培地液を加えた後に、2.5 μl の PAHs の DMSO 溶液を添加して、30 度で 8 時間培養した。150 μl の培養液を 96 穴のマイクロプレートに移し、プレートリーダーで 595nm で菌液の濁度を測定する。残りの培養液 100 μl を 15000rpm で 5 分間遠心分離を行った後、上清を捨て、1mg/ml Zymolyase を含む Z-バッファ 200 μl を加え、ボルテックスした後、30°C で 20 分静置する。40 μl の 4mg/ml ONPG 溶液を加え、ボルテックスした後、30°C で反応を開始する。30 分後、100 μl の 1MN<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> を加え、反応を停止させる。15000rpm、5 分間遠心した後、上清 150 μl をプレートリーダーで 415nm と 570nm の吸光度を測定する。

Galactosidase 活性は下記の式に基づいて得られた。

$$\text{Unit} = 1000(A_{415} - 1.75A_{570}) / (t * v * A_{595})$$

## 3. 実験結果および考察

### 3.1 Dose-response

測定結果は GraphPad Prism で纏めた。図-1 は Anthracene 類の dose-response である。図に示したように同じ anthracene 類でもその活性が大きく異なった。benz(a)anthracene-7,12-dione (BA(712)D) と benz(a)anthracene (B(a)A) の活性値は TCDD の活性値ともっとも近く、約 TCDD の 1/10 であった。その他の三種類の活性値が近く、TCDD の約

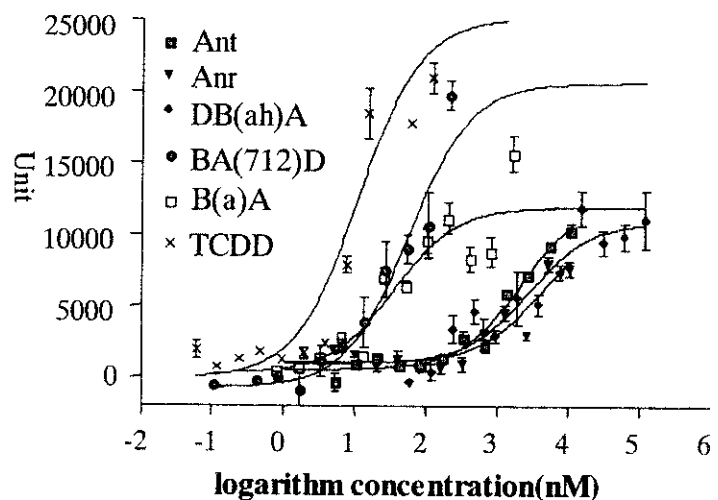


図-1 Anthracene 類の dose-response 曲線

1/1000 であった。

図-2は Pyrene 類の dose-response を示す。Anthracene 類と同じように pyrene 類 PAHs の AhR 活性も大きく異なり、もっとも大きいのは benzo(e)pyrene (B(e)Py) で、TCDD の約 1/100 である。B(e)Py はベンゼン環の数が多い I(123)P よりも高い活性値を示した。一方、B(e)Py と同じ分子量である benzo(a)pyrene (B(a)Py) の活性値がもっとも低く、約 TCDD の 1/100000 で、Py の活性値に近いことが明らかになった。一方、ニトロ Py (1-nPy) の場合に、活性は Py より 10 倍以上も高くなった。一方、Chrysene 類の場合に、Chr と 6-nChr の AhR 活性が類似して、TCDD の約 1/100 であった。Chrysene 類の AhR 活性強度はニトロ官能基の有無に関係はなかった (図-3 に示す)。今までの文献報告ではニトロ系の PAHs は強い発ガン性を示すと報告されているが、AhR との結合活性に関する報告がほとんどなかった。本研究の結果から、今後ニトロ系 PAHs の AhR 誘導活性について詳細研究を行う必要がある。

また、図-3には fluorene と acenaphthene の dose-response 曲線を示した。両者の AhR 活性も類似し、TCDD の活性値の約 1/10000 であった。

図-4は Fluoranthene 類の dose-response を示す。分子量は同じである三種類の Fluoranthene が構造が違っても、その活性はとっても類似していることが図から明らかである。三種類とも AhR 活性は TCDD の約 1/100 であった。

最後に、carbazole、5,6-benzoquinoline の結果を図-5に示した。carbazole の活性は後者より一桁高く、TCDD の約 1/10000 であった。

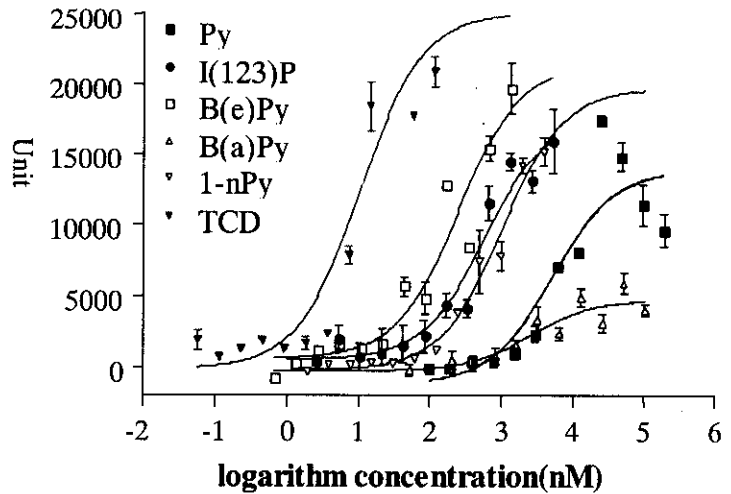


図-2 Pyrene 類の dose-response

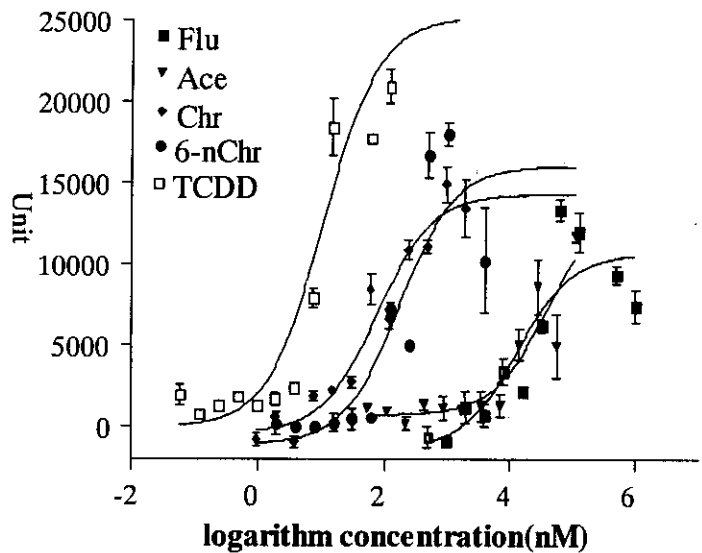


図-3 Chrysene 類、fluorene、acenaphthene の dose-response の曲線

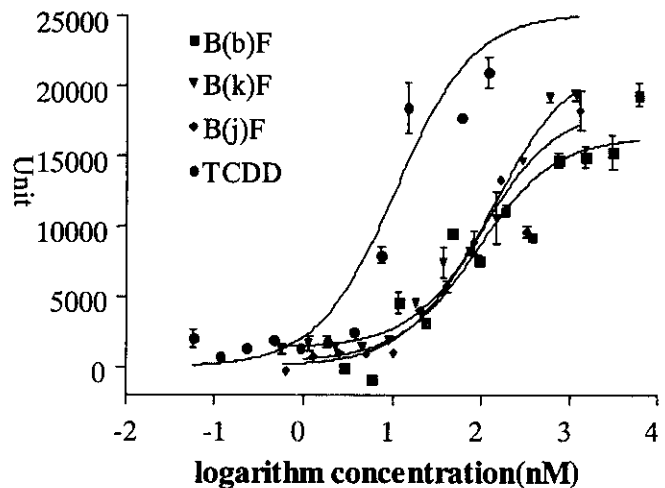


図-4 Fluoranthene 類の dose-response 曲線

### 3.2 PAHs の IEF 値

上記の dose-response 曲線に基づいて、TCDD または B(a)P に対する AhR 誘導等量ファクター (IEF) を計算し、その結果を表-2 に纏めた。

$IEF_{TCDD10} = TCDD$  誘導活性の最大値の 10% に相当する PAHs の濃度 / TCDD 誘導活性の最大値の 10% を示す TCDD 濃度

$IEF_{B(a)P10} = B(a)P$  の誘導活性の最大値の 10% に相当する PAHs の濃度 / B(a)P の誘導活性の最大値の 10% を示す B(a)P 濃度

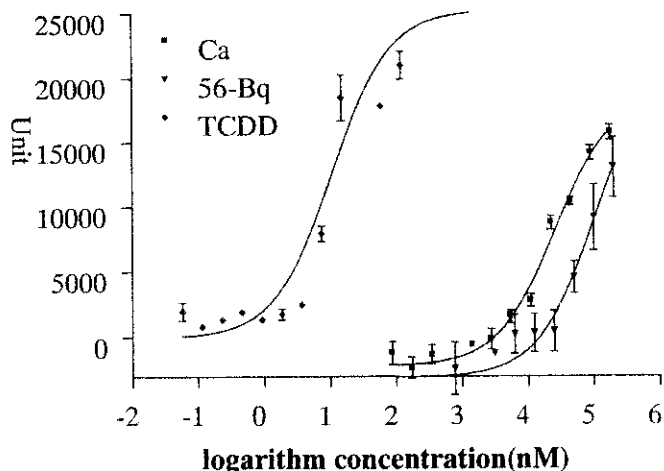


図-5 carbazole と 5,6-benzoquinoline の dose-response 曲線

対象物質の中で、AHR 活性の強さによって、下記のようにグループ化される。(1) BA(712)D、B(a)A、B(j)F、B(k)F の AhR 活性はもっとも高く、 $IEF_{TCDD10}$  は  $10^1$  オーダーである。(2) 続いてのグループは B(b)F、B(e)Py、6-nChr、Chr で、 $IEF_{TCDD10}$  は  $10^2$  オーダーである。(3) 第三のグループは Anr、Ant、DB(ah)A、1-nPy、I(123)Py、Py で  $10^3 \sim 10^4$  オーダーである。(4) 第四のグループは Car、Ace、Flu、B(a)P で、 $10^4$  オーダーであった。(5) 第五グループは 56-Bq、B(ghi)Pe、Pe で、 $10^5 \sim ND$  である。

表に CALUX アッセイ (細胞) による測定結果も示した。両者の結果差が見られた。この原因を考えると、細胞実験で PAHs の代謝が発生したと考えられる。

### 4. 結論

上記の結果から PAHs の AhR 活性強度は構造に大きく依存していることが分かった。今までの研究では 16 優先物質以外の PAHs 類の AhR 活性を調べる報告が少なかったが、本研究ではニトロ系 PAHs を始めとする他の PAHs 類の AhR 活性も調べた。PAHs の汚染源が広いことから、水道水源中 PAHs の種類もきわめて多いと考えられるため、飲み水中の PAHs の汚染実態を全面的に把握した上での安全性評価が必要である。

また、PAHs は代謝しやすい物質とされている。従って、PAHs のリスクをより正確に評価するために、代謝を考慮した実験系で PAHs の AhR 活性やエストロゲン活性をさらに調べる必要がある。