

201236002A

厚生労働科学研究費補助金  
化学物質リスク研究事業

ステロイドホルモン受容体に作用する化学物質の  
構造活性相関に基づく毒性評価システムに関する研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者  
**早川 和一**  
(金沢大学)

平成25(2013)年 3月

厚生労働科学研究費補助金  
化学物質リスク研究事業

ステロイドホルモン受容体に作用する化学物質の  
構造活性相関に基づく毒性評価システムに関する研究

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

金沢大学

早川 和一

研分担者

京都薬科大学

細井 信造

金沢大学

鈴木 信雄

国立医薬品食品衛生研究所

杉本 直樹

平成25（2013）年 3月

# 目 次

## I. 総括研究報告

- ステロイドホルモン受容体に作用する化学物質の構造活性相関に基づく  
毒性評価システムに関する研究 ..... 1  
早川和一

## II. 分担研究報告

1. エストロゲン受容体への作用に関する研究 ..... 23  
早川和一
2. 構造活性相関の解析に関する研究 ..... 32  
細井信造
3. 生物材料を用いた試験に関する研究 ..... 53  
鈴木信雄
4. 有機化合物の絶対純度の決定に関する研究 ..... 75  
杉本直樹

## III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ..... 87

## IV. 研究成果の刊行物・別刷 ..... 91

# I . 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金  
化学物質リスク研究事業  
ステロイドホルモン受容体に作用する化学物質の構造活性相関に基づく毒性評価システム  
に関する研究  
平成24年度 総括研究報告書

研究代表者 早川 和一 金沢大学 医薬保健研究域薬学系 教授  
研究分担者 細井 信造 京都薬科大学 薬学教育研究センター 准教授  
研究分担者 鈴木 信雄 金沢大学 環日本海域環境研究センター 臨海実験施設 准教授  
研究分担者 杉本 直樹 国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 室長

研究要旨

本課題研究の主対象化合物である多環芳香族炭化水素 (PAH) とニトロ多環芳香族炭化水素 (NPAH) の環境動態と健康リスクの関係を考察した。第一に、東アジアの都市大気中には多種類のPAH、NPAHが含まれており、特に中国で極めて高濃度であった。そこで、能登半島で大気試料を連続捕集すると、中国の冬季暖房期のみ大気中PAHのみならずNPAHの濃度も上昇し、組成と後方流跡線の解析からも、これらが日本まで長距離輸送されていることが明らかになり、この間の日本海への負荷の可能性も示唆された。第二に、NPAHの強い変異原性に加えて、PAHキノン体 (PAHQ) に活性酸素種 (ROS) 産生作用、PAHQおよびPAH水酸化体 (OHPAH) にエストロゲン受容体結合に関わる内分泌かく乱作用があり、内分泌かく乱作用と化合物の構造との間に相関性があることが明らかになった。第三に、これまでに開発したキンギョ再生ウロコ評価系を用いて骨芽細胞及び破骨細胞に対する作用の本体がOHPAHである可能性が示されたことから、PAHをキンギョの腹腔内に投与して、ウロコ再生 (骨形成) に及ぼす影響を見るとともに、メダカの胚にPAH及びOHPAHを投与して作用を比較した。その結果、*in vivo*においてもOHPAH類が毒性の本体である可能性が高いことが判明した。第四に、酵母two-hybrid アッセイ法でエストロゲン様/抗エストロゲン活性を検討したOHPAHについて、活性と相関するパラメータ抽出を試みた。その結果、可能性のある4つのパラメータ (heat of formation, ionization potential, log P, polarizability) が抽出できたが、活性酸素種 (ROS) 産生およびconsumption of SH group との相関があるパラメータは浮かび上がってこなかった。また、CIMPL を用いて、分子構造と活性値を見ながら、活性を上げるのに必要と思われるフラグメント構造の抽出をフラグメントQSAR解析(QFAR)およびSAL解析により行った結果、相対結合活性 (RBA) については、末端にキノン構造を持つものがより高い活性を示すことが分かった。第五に、PAH 類を対象に、これまでに開発したqNMR法および定量値の新規補正法Multi Internal standards Calibration Objective (MICO)を応用して、迅速、精確な定量分析法 (MDPD-MICO-qGC/MS)) を開発した。得られたスペクトルや検量線等、化合物のデータを基にMDPDを構築し、これを参照することによって科学的および計量学的に信頼性の高い定量値を算出することができた。本法により、環境中のPAH等の精確な自動定量分析が可能と考えられる。

## A. 研究目的

多環芳香族炭化水素（Polycyclic aromatic hydrocarbon : PAH）類は石油や石炭など化石燃料の燃焼に伴って生成して大気中に放出される非意図的生成化学物質の一つであり、難分解性の有機化合物として環境中に広く存在している。PAH 類は有機物質の不完全燃焼によって生成し、ガソリン車、ディーゼル車などの自動車排ガスや工場からの排煙、ゴミの焼却、タバコ煙などの人為的発生源の他、森林火災や火山の噴火などの自然現象に起因するものもある。また、PAHは燃焼中に空気や有機物中の窒素と反応してニトロ化体（NPAH）を生成するほか、大気輸送中に様々な化学反応によってNPAHを含むPAH誘導体を生成する。これ等PAH誘導体の中には、例えばNPAHが強い変異原性を示すように、多様な毒性を発現する可能性が危惧される。そして、PAHやNPAHは偏西風等によって長距離輸送されることから越境汚染を引き起こす可能性も危惧されている。

PAHは原油にも含まれており、1997年1月に日本海で発生したロシア船籍タンカー“ナホトカ号”の重油流出事故では、流出した大量の重油による海洋生態系への影響が危惧されてきた。また2010年4月に起きたメキシコ湾の石油試掘基地の爆発により原油が流出した。その量は1989年に4万キロリットルが流出したアラスカ州のタンカー事故（エクソンバルディーズ号原油流出事故）を超え、過去最悪の環境汚染を引き起こす恐れがあるといわれた。オイルタンカー等の事故は直接、海洋のPAH汚染を引き起こし、長期間その海域の生物に影響を与える恐れがある。そこで今年度は、東アジア大気及び日本海水を対象に、PAH類汚染の概要把握を行った。

最近、非意図的生成化学物質の一つであるPAH類が内分泌かく乱化学作用を持つことが

報告された。さらに、研究代表の早川らは、酵母 two-hybrid 分析法を用いた研究においてPAHはヒトエストロゲン受容体（Human estrogen receptor : hER）に結合しないが、モノヒドロキシ多環芳香族炭化水素（OHPAH）類は結合を示すことを明らかにした。PAH類のいくつかはダイオキシンレセプターと言われるアaryl炭化水素受容体（Aryl hydrocarbon receptor : AhR）に結合し、Cytochrome P450（CYP）を誘導する。PAHは誘導されたCYP1A1によって代謝されOHPAHになることが知られている。したがって、体内でCYP1A1により代謝されたPAH類が内分泌かく乱化学物質の本体である可能性が高い。

酵母 two-hybrid アッセイ法でエストロゲン様または抗エストロゲン活性が見られたいくつかのOHPAHについて、昨年度までに構造的または物理化学的特徴との間に相関が見られることが分かったが、同様に受容体に結合親和性と抗エストロゲン活性が見られたPAHキノン体（PAHQ）についても構造活性相関の有無を明らかにする必要がある。

日本海の海水中にも多くのPAH類が検出されており、重油汚染海水で孵化した稚魚に脊柱彎曲が観察されていることから、本研究では環境中での有機汚染物質の毒性化反応の中で、特に魚の骨代謝に焦点を絞り研究を行った。そこで魚の骨代謝の影響を評価する方法として、破骨細胞と骨芽細胞が共存する魚類のウロコに注目した。ウロコは、破骨細胞と骨芽細胞が共存し、ヒトと同様の細胞構造と活性を持つ。さらに再生ウロコは骨芽細胞と破骨細胞のいずれの活性も高い。昨年度は、初年度に開発した再生ウロコの高感度な評価システムを用いて、OHPAH類が毒性の本体である可能性が高いことを示した。そこで今年度は、生体内で代謝生成される主要誘導体（OHPAH、PAHQ）が示す

毒性について、より詳細な解析を行った。

一方、PAH 類は誘導体なども含めると、非常に多種存在し、それらの多くが発癌性や変異原性等の有害性を有する。そのため、曝露量や健康リスクを評価するためには、水、大気などの環境中の微量 PAH 類を網羅的に且つ精確に定量する高度な測定技術力が要求されている。ガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS) 等を用いる PAH 類測定の一連の分析操作過程には、試料採取、試料調製、標準物質の入手、検量線作成、定量分析があり、これらのすべての過程が精確に行われなければ、得られた定量分析値の信頼性は確保できない。標準物質に関しては、純度や含量が精確に値付けられた標準品の入手が可能、あるいは、入手した標準品の純度の確証が重要である。しかし実際は、計量学的に純度が証明された標準物質はほとんど流通していない。昨年度までに、これまでに開発した定量核磁気共鳴法 (定量 NMR: quantitative NMR (qNMR)) を応用し、OHPAH の市販試薬製品の純度値を測定し、純度のズレが少なからず定量値の誤差となっていることを明らかとした。すなわち、標準物質の純度は、結果として、定量分析の精度に大きく影響を与え、得られた定量分析値の信頼性は厳密な意味で確保できていないと言える。そこで、今年度は精確な PAH 類の定量分析が可能な普遍的な検量線を作成し、迅速且つ網羅的な定量的スクリーニングが可能で、国際単位系 (SI) へのトレーサビリティを確保し、分析の一連の不確かさを明示することが可能な自動定量分析法の方法論の開発を試みた。すなわち、PAH の市販試薬製品について、qNMR を用いた計量学的に信頼性の高い純度値を求めた。また、昨年度構築した複数の内標準物質 (Internal Standard: IS) およびチューニングデータを用いた新規補正法 Multi Internal Standards Calibration Objective (MICO)

が GC/MS データベース構築に応用可能と考えられたため、定量分析値の信頼性の更なる向上を目指し、測定誤差を消去し、且つ、迅速、精確、網羅的な多次元データベースを用いた定量分析法 (Multi Dimensional Property Database - MICO - quantitative GC/MS (MDPD-MICO-qGC/MS)) を開発した。

## B. 研究方法

### 1. 大気粉じんの捕集と PAH、NPAH 分析

中国東北地方からの冬季季節風の風下に位置する能登大気観測ステーション (石川県能登半島先端) において、大気浮遊粉塵をハイボリュームエアサンプラーで連続捕集した。フィルターは 1 週間毎に交換した。フィルターを秤量後、PAH、NPAH を有機溶媒で抽出し、さらに精製した。試料中の PAH、NPAH をそれぞれ HPLC 蛍光検出法、HPLC 化学発光検出法を用いて測定し、PAH、NPAH の大気中濃度の季節変動を明らかにした。さらに、中国東北地方の都市 (瀋陽市) 及び金沢市の大気試料塵の PAH、NPAH 測定結果と季節変動パターン及び濃度、組成を比較し、さらに能登大気観測ステーションで捕集された空気塊の後方流跡線を解析することによって、PAH、NPAH の長距離輸送の実態を明らかにした。

### 2. 試薬

主な被検化合物は、2~6 環の USEPA 指定 16 PAH のうち蛍光特性を有する 15 化合物、その水酸化体 (OHPAH) 合計 65 化合物、PAH のキノン体 (PAHQ) 20 化合物、PAH のケトン体 (PAHK) 9 化合物とした。Fig. 1, 2 には、それぞれの化合物名と略称、構造を示した。さらに、ビスフェノール A (BPA) 及びノニルフェノー

ル (NP) も被検化合物とした。

### 3. 酵母 two-hybrid 法を用いたエストロゲン様及び抗エストロゲン活性の測定

エストロゲン様及び抗エストロゲン活性の評価は ER リガンド結合ドメイン GAL4 の DNA 結合領域 (GAL4-DBD) と hER $\alpha$  の融合蛋白を産生するプラスミドと、GAL4 の転写活性化領域 (GAL4-AD) と ER のコアクチベーターである TIF2 の融合蛋白を産生するプラスミドを導入した *Saccharomyces cerevisia* Y190 株 (Y190ER) を用いた。細胞毒性の評価はコントロールベクター (pGBKT7-53 及び pGADT7-T) を導入した *Saccharomyces cerevisia* Y190 株 (以下 Y190p53-SV40LT) を用いた。エストロゲン様活性の評価では試料溶液による単独処理時の吸光度を、陽性対照である 100 nM E<sub>2</sub> 処理時の吸光度と比較した。抗エストロゲン活性及び細胞毒性の評価では試料溶液と共に 1 nM E<sub>2</sub> を添加し、同様の操作を行った。陽性対象としてエストロゲン様活性評価には E<sub>2</sub> 100 nM を、抗エストロゲン活性評価には E<sub>2</sub> 1 nM を用いた。尚、酵母 two-hybrid アッセイ法を用いてエストロゲン様及び抗エストロゲン活性を測定する場合、化学物質の毒性がその評価の妨げとなる。抗エストロゲン活性の測定においては、E<sub>2</sub> による  $\beta$ -galactosidase 誘導の活性の低下が試験物質のアンタゴニスト活性によるものか、酵母への毒性によるものかは区別することができない。そこで恒常的に  $\beta$ -galactosidase を発現する酵母を用いて、 $\beta$ -galactosidase 活性の低下が 10%以内となるときの影響が無いと判断した。

### 4. 構造活性相関解析

計算化学統合プラットフォーム SCIGRESS を

用いて分子力場計算 (MM3) を行い、次いで半経験的分子軌道計算 (PM3) により構造最適化後 14 種のパラメータ (双極子モーメント、電子親和性、生成熱、イオン化ポテンシャル、log P、polarizability、部分電荷、L/B 値など) の計算を行い、活性 (相対エストロゲン様活性: REP<sub>E</sub>、相対抗エストロゲン活性: REP<sub>AE</sub>、相対結合活性: RBA、ROS、consumption of SH group) との相関を検討した。更に分子構造や物理化学的特性、活性値などの化学的データを可視化・解析するソフトウェア CIMPL を用いてフラグメント QSAR 解析 (QFAR) と SAL 解析を行い、活性発現において重要な役割を果たしているフラグメント構造の抽出を行った。

### 5. キンギョを用いた実験 (*in vivo*)

昨年度エストロゲン様活性を示した 4-Hydroxybenz[*a*]anthracene (4-OHBaA) とその親化合物 Benz[*a*]anthracene (BaA)、比較対象として、強い抗エストロゲン作用を示した 3-Hydroxybenzo[*c*]phenanthrene (3-OHBcP) とその親化合物 Benzo[*c*]phenanthrene (BcP) を試験物質とし、キンギョに投与した。日本海重油汚染事故に伴う海洋中の BaP 濃度とアイナメの可食組織の BaP 濃度を参考に、キンギョの体内濃度が 0.1 ng/g body weight (BW) となるように BaA および BcP を投与した。採取したウロコを骨芽細胞活性測定及び破骨細胞活性測定に使用した。骨芽細胞活性及び破骨細胞活性は、それぞれアルカリ緩衝液 (pH 9.5) または酸性酒石酸緩衝液 (pH 5.3) を加えて、405 nm の吸光度で測定した。ウロコの面積は JPEG 画像を用いて測定し、統計学的処理を施した。一方、ウロコを抜いたキンギョの腹腔内に BaA 及び BcP をそれぞれ 0.1 ng/g、3 日おきに投与し、25°C でキンギョを飼育して 12 日目と 18 日目に再生ウ

ロコを採取した。対照群としてエタノールを投与した。18日目に再生ウロコを採取した後、胆汁も採取した。キンギョ 2 匹分の胆のうをすりつぶし、それを acetate buffer (0.5 M, pH5) で懸濁し、 $\beta$ -グルクロニダーゼ/サルファターゼ処理した。内部標準物質 (6-Hydroxychrysene- $^{13}\text{C}_6$ : 6-OHCh- $^{13}\text{C}_6$ ) を添加し、N,O-bis(trimethylsilyl) trifluoroacetamide (BSTFA) + 1% trimethylchlorosilane (TMCS) で誘導体化し、GC-MS/MS (Thermo Fisher Scientific) で測定した。

## 6. メダカの受精卵を用いた実験

メダカの卵はメスの腹部から取り外し、受精後 8 時間の正常な受精卵だけを用いた。一方、アルミノシリケートキャピラリーカラム (Sutter Instrument, Novato, CA, USA) をシリコン処理し、先端に  $30^\circ$  の斜角をつけた。このキャピラリーカラムにマイクロローディングフェムトチップ (Eppendorf, Madison, WI, USA) で PAH 類をキャピラリーカラムに付加した。マイクロマニピュレーター (MN-151; Narishige, Tokyo, Japan) を用いて、 $10^{-10}$  M、 $10^{-9}$  M、 $10^{-8}$  M の BaA、4-OHBaA および BcP、3-OHBcP を各々 0.5 nL ずつ受精卵に投与した。対照群には、PAH 無添加のトリオレイン (vehicle control) を投与した。投与後の卵は ERM (人工培地) に入れ、 $27^\circ\text{C}$  で培養し、定期的に実体顕微鏡で卵を観察した。

## 7. 純度測定

NMR は JNM-ECA (600 MHz, 日本電子株式会社(現: 株式会社 JEOL RESONANCE))、qNMR および qNMR 多変量解析のケミカルシフト値は、BTMSB を基準シグナル (0 ppm) とし、 $\delta$  値を ppm 単位で表した。GC/MS は Shimadzu

GCMS-QP2010 Plus (島津製作所株式会社) を用いた。測定試薬の秤量はウルトラマイクロ天秤 XP2U (メトラートレド株式会社) を用い、最小目盛 0.0001 mg まで読み取った。qNMR による純度測定には市販標準品または試薬 9 製品を、MDPD には PAH 18 種混合標準液 (AccuStandard, Cat. No. M-610-QC-FL) を用いた。NMR の基準物質には、認証標準物質である 1,4-Bis(trimethylsilyl)benzene- $d_4$  (BTMSB, 和光純薬工業株式会社) を、BTMSB の校正には CRM である Diethyl phthalate (DEP, NMJ CRM 4022-b, 純度  $99.98 \pm 0.09$  w/w%, 独立行政法人 産業技術総合研究所) を使用した。重アセトン (Acetone- $d_6$ ) は、Isotec 製 (99.9 atom %D) を用いた。GC/MS の IS は BTMSB、DEP および Bisphenol-A (NMJ CRM 4030-a, 純度  $99.92 \pm 0.06$  w/w%, 独立行政法人 産業技術総合研究所) の 3 種を選定した。qNMR 標準液の調製および標準液中の BTMSB の濃度校正は既報に準じた。PAH の純度決定は PAH 標準品を精密に量り取り、qNMR 用標準液に溶解し、NMR 試験管に封入し、qNMR に付し、BTMSB のシグナル強度面積、PAH に由来するそれぞれの特定シグナルの相対面積、分子量、濃度等を式(1) に代入し、PAH の純度を算出した。

$$P_{PAH} = \frac{I_{PAH} / H_{PAH}}{I_{BTMSB} / H_{BTMSB}} \times \frac{M_{PAH} / W_{PAH}}{M_{BTMSB} / W_{BTMSB}} \times 100 \quad \text{--- (1)}$$

$$P_{PAH} = \frac{I_{PAH} / H_{PAH}}{I_{BTMSB} / H_{BTMSB}} \times \frac{M_{PAH} / W_{PAH}}{M_{BTMSB} / W_{BTMSB}} \times 100 \quad \text{--- (2)}$$

ただし、 $W_{BTMSB}$ ,  $W_{PAH}$  = BTMSB および PAH の濃度(mg/mL)、 $M_{BTMSB}$ ,  $M_{PAH}$  = BTMSB および PAH の分子量 (226.49832 および Table 1)、 $I_{BTMSB}$ ,  $I_{PAH}$  = BTMSB および PAH の特定基のシグナル強度面積、 $H_{BTMSB}$ ,  $H_{PAH}$  = BTMSB および PAH の特定基のプロトン数、 $P_{PAH}$  = PAH の純度 (%)。qNMR データ解析は、得られた Free

Induction Decay (FID) 信号データを定量解析ソフトに導入して自動処理し、定量値（純度%）を式(2) から算出した。

#### C. D. 結果・考察

##### 1. 能登半島先端で連続捕集した大気試料を用いた PAH、NPAH 長距離輸送の解析

PAH については Environmental Protection Agency (EPA) に環境汚染物質として測定すべき項目としてリストアップされた 16 種類のうち、毒性の観点からヒトの健康に影響を及ぼしやすいとされる 4 環以上の 6 種 PAH を選択した。能登大気観測ステーションの大気中 PAH の濃度は、いずれも 10 月中旬から上昇し翌年の 4 月中旬まで高濃度を維持し、その後低下した。その濃度レベルの差は 10 倍以上であった。この季節変動は毎年繰り返した。10 月中旬から 4 月中旬は、中国国内で石炭を暖房施設で使用する期間に一致する。次にクラスター分析を用いて PAH 組成の比較を行うと、冬季（10 月中旬～4 月中旬）で PAH 濃度が高かった時の能登大気観測ステーションの大気組成は同季節の瀋陽市の大気組成と近似したが、金沢市の大気組成とは異なっていた。また、能登大気観測ステーションで捕集したこの時期の大気塊の後方流跡線は 2、3 日前に中国東北地方を通過していたが、それ以外の季節の大気塊は日本国内か日本海周辺を通過し、中国東北地方は通過しなかった。さらに、冬季の能登大気観測ステーションの大気中 PAH 濃度は、同時期の瀋陽市の濃度の 1/100～1/300、金沢市の 1/10 以下であった。

NPAH については、特に変異原性が強いことが示されている 11 種を分析対象とした。しかし、能登大気観測ステーションで大気粉塵を 1 週間捕集したフィルターの 1/4 を用いても、従来の HPLC 化学発光検出法では感度が不十分で、

夏季の試料について 1-Nitropyrene だけでなく 2-Nitrofluoranthene や 2-Nitropyrene なども定量することは困難であった。そこで、フィルターの使用面積を 1/2 に増やし、さらに前処理方法を改良して定量下限の改善を図り、これを可能とした。本法を用いて、能登大気観測ステーションで連続捕集した大気試料の NPAH を定量した結果、いずれの NPAH も PAH と同様に 10 月中旬から上昇し翌年の 4 月中旬まで高濃度を維持し、その後低下する季節変動を繰り返していることが初めて明らかになった (Fig. 3)。また、NPAH の組成分析の結果も、PAH と同様に瀋陽市の大気組成に近似し、金沢市の大気組成とは異なっていた。以上より、冬季に中国東北地方で大量に生成した PAH、NPAH の一部は、日本まで長距離輸送されていることが明らかになった。またこの間に日本海に負荷する可能性も考えられた。

##### 2. キンギョウロコの再生に及ぼす OHPAH 類の影響 (*in vivo*)

BaA 及び BcP を投与後 12 日目の再生ウロコを再生前のウロコと比較すると、両投与群ともウロコの再生が抑制され、特に BcP の作用が強かった。さらに、12 日目の再生ウロコの骨芽細胞活性は両投与群供に変化がみられなかったが、破骨細胞活性は両投与群ともに有意に上昇した。一方、BaA 投与キンギョの胆汁中から 4-OHBaA を同定した (Fig. 4)。また BcP 投与キンギョの胆汁中からも、3-OHBcP、4-Hydroxybenzo[c]phenanthrene (4-OHBcP)、5-Hydroxybenzo[c]phenanthrene (5-OHBcP) を検出し、それぞれの濃度は  $7.4 \times 10^{-10}$  M、 $5.8 \times 10^{-10}$  M、 $8.9 \times 10^{-10}$  M と計算された (Fig. 5)。

以上の結果は、PAH 類若しくはその代謝物が破骨細胞を活性化して、ウロコの再生をかく乱する可能性を示唆する。*in vitro* 評価系において、

骨芽細胞で発現して、破骨細胞を活性化する遺伝子が、4-OHBaA により活性化することが、昨年度分かった。したがって、OHPAH が PAH 類の毒物の本体であり、骨の細胞に作用して魚の骨代謝を攪乱している可能性が高い。また BaA を投与したキンギョの胆汁中から 4-OHBaA、さらに、BcP を投与したキンギョの胆汁中から 3-OHBcP、4-OHBcP、5-OHBcP が検出されたた事実、体内で PAH から CYP によって代謝生成した OHPAH がウロコの再生（骨形成）をかく乱する可能性を示している。

### 3. メダカ受精卵に及ぼす PAH 類の影響

卵の致死率は、PAH 及び OHPAH の両投与群共に対照群より高く、特に 4-OHBaA は  $10^{-10}$  M という低濃度でも影響を及ぼした。卵の孵化率は、両投与群共に対照群より悪く、その傾向は OHPAH 群の方が PAH 投与群より強かった。さらに、両投与群とも孵化を遅延し、眼の発達異常や、卵黄の委縮などの発達障害を引き起こしていた (Fig. 6)。メダカの胚には代謝酵素である CYP とエストロゲン受容体が存在している事実に基づくと、メダカ体内で PAH から生じた OHPAH がエストロゲン受容体を通して、胚発生を攪乱させた可能性がある。

### 4. PAH 類の毒性作用と構造活性相関

PAH 誘導体（水酸化体 (OHPAH) 64 種、ケトン体 (PAHK) 及びキノン体 (PAHQ) 27 種) のエストロゲン様/抗エストロゲン作用について調べた結果、OHPAH の中に特に強いエストロゲン様/抗エストロゲン作用を示す化合物が存在し、これらは 4 環構造から成る化合物であり、さらに、受容体との結合親和性とも相関した結果を示した。また、これら活性作用を示す

化合物について、分子上の構造特異性を示す L/B 比（長軸 L と短軸 B の比；母核構造の違いを表す）及び O-H distance（水酸基及びケトン基の位置の違いを表す）の 2 つのパラメータを測定した結果、各パラメータの値は一定の範囲に存在することが分かった。そして、これら強い活性作用を示す OHPAH が ER アゴニスト化合物として知られる  $17\beta$ -エストラジオール ( $E_2$ ) と類似した構造であることより、エストロゲン様活性物質の受容体との結合作用機序について検討した結果、これらは ER の binding pocket 内で水素結合やファンデルワールス力などによりアミノ酸と共有結合を形成する作用機序が推定された。一方、抗エストロゲン作用を示した PAHQ に関しては、受容体との高い親和性を有しており、エストロゲンと競合してアンタゴニスト作用を示すと考えられた。さらに、この様な構造活性相関が示されたことで、今後、毒性作用が明らかでない未知化合物についての活性化作用の予測も可能と期待される。次に、PAHQ に特有な ROS 産生作用について、各種 PAHQ が示す活性作用について検討した。本研究では、2~4 環のベンゼン環で構成される PAHQ を対象とし、レドックスサイクルにおけるいくつかのエンドポイントについて評価を行った。その結果、特に 1,2-NQ、9,10-PQ、5,6-CQ、B[c]P-5,6-Q 等のオルト (o-) PAHQ が強い ROS 産生作用を示すことが明らかとなった。これらは、実際、環境及び生体中からも検出される化合物であることや、大気粉塵試料が ROS 産生作用を示すこと等を考慮すると、これら o-PAHQ は、ROS 産生作用を通じて生体に悪影響を及ぼす可能性を秘めた重要な物質であることが示唆された。

上述した構造パラメータを含めて 12 種のパラメータについて活性との相関を見たところ、4 つのパラメータ（生成熱、イオン化ポテンシ

ヤル、log P、分極率) に明確な相関が認められた。生成熱では 40~60 kcal/mol に、イオン化ポテンシャルでは -8.5~-9.0 eV に、log P では 3.5~4.0 に、分極率では 25~35 Å に強い活性が認められた。分子構造の類似度に基づいてクラスターリングを行うと 3つのグループ (第一クラスター~第三クラスター) に分かれた。第一クラスターに活性を持つものが集まる傾向が認められた。これらのうち、活性値が示されているものについてフラグメント QSAR (QFAR) を実行した。実測値 (actual) と予測値 (calculated) の相関 ( $R^2 = 0.990$ ) は極めて良かった。さらに第一クラスターに属する分子のうち、活性値を持つもの 37 種について SAL 解析を行ったところ、RBA 活性においては、末端が *p*-キノン構造となっているものに高い活性が認められた、REP<sub>AE</sub> では真ん中よりの環に *o*-キノン構造を持つものにも活性が認められた。

## 5. qNMR による PAH の純度決定

qNMR を用いて、PAH の市販試薬製品の純度値を測定した。qNMR スペクトル上に観察された基準物質 BTMSB および PAH に由来する各シグナル面積、水素数、濃度等を関係式(2) に代入し、それぞれの純度値を算出した。定量に用いた各シグナルおよびそれぞれのシグナルより算出された純度値の平均 (シグナル間 Ave.) を PAH の純度値として表した (Table 1)。その結果、Anthracene 98.3% (シグナル間 RSD 0.2%)、Fluoranthene 99.1% (0.4%)、Benz[*a*]anthracene 95.2% (0.6%)、Benzo[*b*]fluoranthene 99.1% (0.6%)、Benzo[*k*]fluoranthene 98.3% (0.5%)、Benzo[*a*]pyrene 90.2% (0.9%)、Indeno[1,2,3-*cd*]pyrene 90.1% (1.0%)、Dibenz[*a,h*]anthracene 95.7% (0.2%)、Benzo[*g,h,i*]perylene 81.0% (0.2%) の純度値を与

えた。製品によりその純度値は大きく異なり、 $81.0 \pm 0.2 \sim 99.1 \pm 0.6 \%$  (Ave.  $\pm$  RSD) の幅があることがわかった。また、試薬製品に記載されていたクロマトグラフィーを用いた面積百分率による純度値と比較した (Table 2)。qNMR により得られた純度値 ( $n = 3$  Ave.) が 95.3% の Benz[*a*]anthracene、76.1% の Benzo[*g,h,i*]perylene については、製品に純度値の記載がなかったが、仮にこれらの純度を 100% として定量用標準品の代用とし、検量線を作成し定量分析を行ったとすると、得られる定量値は 4.7 および 23.9% の誤差を生じることになることが示唆された。

クロマトグラフィーは、相対ピーク面積比から定量する相対分析法であることから、分析値の信頼性確保や精度管理には、分析対象の標準物質の純度が精確に値付けられていることが不可欠である。そのため、濃度が値付けされた標準物質の使用が必須となりつつあるが、すべての化合物に対して、値付けされた標準物質を供給・入手することは現状では困難である。標準物質として代用に用いられる市販試薬や市販標準品を定量用標準品は、科学的な根拠に基づく純度の証明がほとんどの場合なされていないという問題がある。そのため、これらを用いて定量値を求めたとしても、現状では、SI へのトレーサビリティの確保は不可能である。

我々はこれまでに、定量値の信頼性を飛躍的に向上させるため、標準物質に対しては、NMR を用いた SI にトレーサブルな定量分析法 qNMR を開発した。この qNMR および qGC/MS の情報を組み合わせ、測定対象化合物に関する多次元情報 (純度、NMR スペクトル、保持時間、検量線情報、MS スペクトル等) による総合的なデジタルデータベース MDPD を構築することで、これを参照することによって、測定対象の SI トレーサビリティが確保された精度の高い迅速定量分析法の確立が可能と考えられた。

そこで、本測定で得られた PAH の純度および NMR スペクトル等の化合物情報についても、MDPD に追加し、データの拡充を進めた。

昨年度は、複数の IS やチューニング結果を用いて機器のドリフトなどの感度変化をキャンセルアウトする定量値の新規補正方法 MICO を考案した。今年度は、PAH 18 種について、多次元データベースに MICO を適用した定量分析法 MDPD-MICO-qGC/MS を構築した。検量線を作成するための標準試料は、PAH を 18 種混合した標準液と内標準物質を 3 種混合した標準液を作製し、それぞれマイクロシリンジで精密にはかり、アセトンで定容した。PAH の検量線は、各内標準物質との相対比により作成した。すなわち、1 被検物質あたり、3 本の検量線を作成してデータベースに登録した。これを用いて定量値を算出したところ、想定濃度と定量値（日の異なる 5 回の試行の平均）がよく一致した。また、日の異なる 5 回の試行の相対標準偏差（RSD）も小さく、定量値が想定濃度の 20% 以内と精確に定量できた測定は 18 種を 5 回試行した計 90 測定のうち 93.3% であった。この結果は、一度標準物質を用いて検量線を作成し、これをデジタルデータ化することにより、MDPD-MICO-qGC/MS が高い分析精度を実現できることを示している。化合物の多次元情報をデジタル登録する際には時間がかかるものの、一旦登録した測定対象化合物については、再度検量線作成を必要とせず、すなわち、測定対象と同一の標準物質を用いることなく、迅速且つ網羅的な定量分析を可能とする方法となった。

## E. 結論

PAH や NPAH は東アジアにおける主要な大気汚染物質であり、今年度は、中国で冬季に大量に生成したこれらの一部が長距離輸送されて、

我が国に到達していることが明らかになった。しかも PAH は NPAH だけでなく、内分泌かく乱作用や活性酸素種の過剰産生作用を有する OHPAH や PAHQ などの PAH 誘導体へと姿を変えて人類の健康を脅かす危険性がある。

PAH はキンギョのウロコ再生を抑制したこと、キンギョの体内で OHPAH に代謝されたこと、及びメダカの胚で OHPAH に毒性がみられた事実は、OHPAH が毒物の本体である可能性が高いことを示している。

活性（ROS, consumption of SH group、REP<sub>E</sub>、REP<sub>AE</sub>、RBA）と構造パラメータとの相関について調べた結果、REP<sub>E</sub>、REP<sub>AE</sub>、RBA については 1 次スクリーニングのために利用可能な 4 つのパラメータ（生成熱、イオン化ポテンシャル、log P、分極率）を抽出できた。

PAH については、純度、NMR スペクトル、保持時間、検量線情報、MS スペクトル等一連の分析操作で重要な多次元情報を得て、デジタルデータベース化することにより、標準物質を用いることなく、より精確な定量分析が可能な新規分析法を構築することができた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Tnag, N., Yoda, Y., Otani, N., Kameda, T., Toriba, A., Hayakawa, K., Shima, M: Personal and atmospheric concentrations of ozone in southeastern Hyogo prefecture, Japan. *Chem. Pharm. Bull.*, **60** (8), 962-966 (2012).
- 2) Bekki, K., Takigami, H., Suzuki, G., Toriba, A., Tang, N., Kameda, T., Hayakawa, K.: Gene expression changes of phase I and II metabolizing enzymes induced by PAH derivatives. *Polycycl. Aromat. Comp.*, **32**(2), 141-153 (2012).

- 3) Kameda, T., Akiyama, A., Toriba, A., Tang, N., Hayakawa, K.: Atmospheric formation of hydroxynitrofluoranthene from photochemical reactions of 2-nitrofluoranthene. *Polycycl. Aromat. Comp.*, **32**, 177-187 (2012).
- 4) Pham, C. T., Kameda, T., Toriba A., Tang, N., Hayakawa, K.: Characteristics of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons and nitropolycyclic aromatic hydrocarbons in Hanoi-Vietnam, as a typical motorbike city. *Polycycl. Aromat. Comp.*, **32** (2), 296-312 (2012).
- 5) Kakikawa, M., Yamamoto, T., Chowdhury, V. S., Satoh, Y., Kitamura, K., Sekiguchi, T., Funahashi, H., Omori, K., Endo, M., Yano, S., Yamada, S., Hayakawa, K., Chiba, A., Srivastav, A. K., Ejiri, K., Seki, A., Hattori, A., Suzuki, N.: Determination of calcium sensing receptor in the scales of goldfish and induction of its mRNA expression by acceleration loading. *Biol. Sci. Space*, **26**, 26-31 (2012).
- 6) Omori, K., Wada, S., Maruyama, Y., Hattori, A., Kitamura, K., Sato, Y., Nara, M., Funahashi, H., Yachiguchi, K., Hayakawa, K., Endo, M., Kusakari, R., Yano, S., Srivastav, A.K., Kusui, T., Ejiri, S., Chen, W., Tabuchi, Y., Furusawa, Y., Kondo, T., Sasayama, Y., Nishiuchi, T., Nakano, M., Sakamoto, T., Suzuki, N.: Prostaglandin E2 increases both osteoblastic and osteoclastic activities in the scales of goldfish and participates in the calcium metabolism in goldfish. *Zool. Sci.*, **29**, 499-504 (2012).
- 7) 鈴木信雄, 舟橋久幸, 耿啓達, 柿川真紀子, 山田外史, 廣田憲之, 北村敬一郎, 清水宣明, 早川和一, 三島弘幸, 岩坂正和, 上野照剛, 大森克徳, 矢野幸子, 池亀美華, 田淵圭章, 和田重人, 近藤隆, 服部淳彦: 魚類のウロコを用いた評価系の開発と骨代謝研究への応用. *まぐね/Magnetics Jpn*, **7**, 174-178 (2012).
- 8) Chizhova, T. Hayakawa, K., Tischenko, P., Nakase, H., Koudryashova, Yu., Distribution of PAHs in the northwestern part of the Japan Sea. *Deep-Sea Research II*, **86-87**, 19-24 (2013).
- 9) Bekki, K., Toriba, A., Tang, N., Kameda, T., Hayakawa, K.: Biological Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Derivatives. *J. UOEH*, **35** (1), 17-24 (2013).
- 10) Yano, S., Kitamura, K., Satoh, Y., Nakano, M., Hattori, A., Sekiguchi, T., Ikegame, M., Nakashima, H., Omori, K., Hayakawa, K., Chiba, A., Sasayama, Y., Ejiri, S., Mikuni-Takagaki, Y., Mishima, H., Funahashi, H., Sakamoto, T., Suzuki, N.: Static and dynamic hypergravity responses of osteoblasts and osteoclasts in medaka scales. *Zool Sci.*, **30**, 217-223 (2013).
- 11) Pham, C. T., Kameda, T., Toriba A., Hayakawa, K.: Polycyclic atmospheric polycyclic hydrocarbons and nitropolycyclic aromatic hydrocarbons in particulates emitted by motorcycles. *Environ. Pollut.*, **171** (1), (2013): in press.
- 12) Yachiguchi, K., Matsumoto, N., Haga, Y., Suzuki, M., Matsumura, C., Tsurukawa, M., Okuno, T., Nakano, T., Kawabe, K., Kitamura, K., Toriba, A., Hayakawa, K., Chowdhury, V.S., Endo, M., Chiba, A., Sekiguchi, T., Nakano, M., Tabuchi, Y., Kondo, T., Wada, S., Mishima, H., Hattori, A. and Suzuki, N.: Polychlorinated biphenyl (118) activates osteoclasts and induces bone resorption in goldfish. *Env. Sci. Poll. Res.*, in press.

## 2. 学会発表

- 1) Yachiguchi, K., Matsumoto, N., Haga, Y., Suzuki, M., Matsumura, C., Tsurukawa, M., Okuno, T., Nakano, T., Kawabe, K., Kitamura, K., Toriba, A., Hayakawa, K., Hattori, A., Suzuki, N.: Polychlorinated biphenyl disrupts bone metabolism in goldfish. 7th International PCB Workshop (Palais des Congrès of Arcachon, France), 2012. 5. 27-31.
- 2) Chondo, Y., Nassar, H. F., Yoshida, S., Ying, L., Kameda, T., Toriba, A., Hayakawa, K.: Determination of Nitropolyyclic aromatic hydrocarbons in rivers. 第21回環境化学討論会, 2012.7.11-13, 愛媛.
- 3) 亀田貴之, 安積愛理, 福島杏希, 唐 寧, 松木 篤, 小林茉緒, 鳥羽 陽, 早川和一: 黄砂粒子表面における多環芳香族炭化水素誘導体の二次生成. 第21回環境化学討論会, 2012.7.11-13, 愛媛.
- 4) 池盛文教, 亀田貴之, 早川和一, 中村俊夫: 輪島における PM1.1 の化学組成と炭素安定同位体. 第53回大気環境学会年会, 2012. 9. 12-14, 神奈川.
- 5) 猪股弥生, 梶野瑞王, 佐藤啓市, 大原利眞, 黒川純一, 唐 寧, 早川和一, 植田洋匡, 大泉 毅, 秋元 肇: 北東アジアにおける粒子態 PAHs のソース・レセプター解析. 第53回大気環境学会年会, 2012. 9. 12-14, 神奈川.
- 6) 酒井茂克, 芥川智子, 濱 寛貴, 早川和一: 札幌市内の住宅地における大気浮遊粉じんの長期変動. 第53回大気環境学会年会, 2012. 9. 12-14, 神奈川.
- 7) 唐 寧, 余田佳子, 黄 誠金, 亀田貴之, 鳥羽 陽, 早川和一, 島 正之: 間接吸光検出イオンクロマトグラフィーによる個人オゾン曝露の評価. 第53回大気環境学会年会, 2012. 9. 12-14, 神奈川.
- 8) 中村志歩, 早川和一, 亀田貴之, 嵐谷奎一, 鳥羽 陽: 多環芳香族炭化水素の光分解速度に基づく越境汚染指標の検討. 第53回大気環境学会年会, 2012. 9. 12-14, 神奈川.
- 9) 福島杏希, 亀田貴之, 唐 寧, 鳥羽 陽, 早川和一: 黄砂粒子表面における多環芳香族炭化水素の特異的ニトロ化. 第53回大気環境学会年会, 2012. 9. 12-14, 神奈川.
- 10) 亀田貴之, 片山裕規, 唐 寧, 鳥羽 陽, 早川和一: 黄砂表面における多環芳香族炭化水素酸化誘導体の二次生成. 第53回大気環境学会年会, 2012. 9. 12-14, 神奈川.
- 11) 功刀正行, 鶴川正寛, 松村千里, 鈴木元治, 中野 武, 中瀬久淑, 吉田翔太, 洪 天祥, 唐 寧, 早川和一: アジア東岸海域における POPs 観測とその解析. 日本分析化学会第61年会 特別シンポジウム: アジアの環境汚染を測る-分析化学が果たすべき役割は?-, 2012. 9. 19. 石川.
- 12) 唐 寧, 島 正之, 亀田貴之, 鳥羽 陽, 早川和一: 東アジアの都市における大気中多環芳香族炭化水素類の汚染とその推移. 日本分析化学会第61年会 特別シンポジウム: アジアの環境汚染を測る-分析化学が果たすべき役割は?-, 2012. 9. 19. 石川.
- 13) 末松 千賀子, 唐 寧, 亀田 貴之, 鳥羽 陽, 早川和一: 土壌中の多環芳香族炭化水素類及びニトロ多環芳香族炭化水素類の分析法の開発と実試料への応用. 日本分析化学会第61年会, 2012. 9. 19, 石川.
- 14) 北 将大, 鳥羽 陽, 亀田貴之, 早川和一: GC-MS/MS を用いた多環芳香族炭化水素キノン類の一斉分析法の開発と大気粉塵試料への適用. 日本分析化学会第61年会, 2012. 9. 19, 石川.
- 15) 鳥羽 陽, 旭 美樹, 唐 寧, 亀田貴之,

- 早川和一：活性酸素種を生成する多環芳香族炭化水素キノン誘導体のヒト尿中代謝物の測定。日本分析化学会第 61 年会，2012. 9. 21, 石川。
- 16) 鈴木信雄：油流出事故が海洋動物に及ぼす影響。東アジアの大気・海洋汚染と健康影響に関するワークショップ，2012. 10.13, 石川。
- 17) Pham, C. T., Kameda, T., Toriba A., Hayakawa, K.: Polycyclic aromatic hydrocarbons and nitropolycyclic aromatic hydrocarbons in motorcycle exhaust particulates and atmosphere in Hanoi, Vietnam. フォーラム 2012: 衛生薬学・環境トキシコロジー, 2012. 10. 25-26, 名古屋。
- 18) 末松千賀子, 唐 寧, 亀田貴之, 鳥羽 陽, 早川和一：東アジア 4ヶ国（日本, 中国, 韓国, ロシア）における大気中多環芳香族炭化水素及びニトロ多環芳香族炭化水素の最近 14 年間の変動とその要因。フォーラム 2012: 衛生薬学・環境トキシコロジー, 2012. 10. 25-26, 名古屋。
- 19) 吉田翔太, Yvonne Chondo, 唐 寧, 洪 天祥, 鳥羽 陽, 亀田貴之, 早川和一：日本海域における多環芳香族炭化水素類の動態。フォーラム 2012: 衛生薬学・環境トキシコロジー, 2012. 10. 25-26, 名古屋。
- 20) 旭 美樹, 細住智恵美, 鳥羽 陽, Thaneeya Chetiyankornkul, 唐 寧, 亀田貴之, 早川和一：タイ住民を対象とした多環芳香族炭化水素キノン誘導体の尿中代謝物測定。フォーラム 2012: 衛生薬学・環境トキシコロジー, 2012. 10. 25-26, 名古屋。
- 21) Chuesaard, T., Toriba, A., Chetiyankornkul, T., Kameda, T., Hayakawa, K.: Influence of biomass burning on the levels of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons and their nitrated derivatives in Chiang Mai, Thailand. 2nd Annual meeting of the international society of exposure science (ISES2012), 2012. 10. 28-11. 2, Seattle, USA.
- 22) Toriba, A., Asahi, M., Tang, N., Kameda, T., Hayakawa, K.: Identification and Quantification of the Urinary Metabolites of 9, 10-phenanthrenequinone Associated with Producing Reactive Oxygen Species. 2nd Annual meeting of the international society of exposure science (ISES2012), 2012. 10. 28-11. 2, Seattle, USA.
- 23) 鈴木信雄, 川部季美, 中野 淳, 赤塚涼佑, 北村敬一郎, 服部淳彦, 田渕圭章, 高崎一朗, 近藤隆, 鳥羽 陽, 早川和一：魚類の骨代謝に対する多環芳香族炭化水素類の影響評価：再生ウロコを用いた解析。平成 24 年度日本動物学会中部支部例会, 2012. 11. 17-18, 長野。
- 24) 上西篤志, 丸山雄介, 中野真樹, 松本謙一郎, 大森克徳, 田渕圭章, 和田重人, 近藤 隆, 遠藤雅人, 北村敬一郎, 早川和一, 清水宣明, 関口俊男, 服部淳彦, 鈴木信雄：骨モデル（魚のウロコ）に対する宇宙放射線（重粒子線）の影響。平成 24 年度日本動物学会中部支部例会, 2012. 11. 17-18, 長野。
- 25) 山本 樹, 池亀美華, 田渕圭章, 矢野幸子, 遠藤雅人, 近藤 隆, 中野真樹, 北村敬一郎, 関口俊男, 関 あずさ, 清水宣明, 服部淳彦, 鈴木信雄：過重力及び擬似微小重力に対する破骨細胞及び骨芽細胞の応答解析。平成 24 年度日本動物学会中部支部例会, 2012. 11. 17-18, 長野。
- 26) 多田隼也, 早川和一, 鳥羽 陽, 亀田貴之, 井上嘉則, 加藤敏文：親水性臭気化合物を用いた新規繊維状吸着剤の吸着特性評価。日本薬学会北陸支部第 124 回例会, 2012. 11.

- 18, 富山.
- 27) 中村香耶, 山田 丸, 吉田翔太, 亀田貴之, 小林史尚, 松木 篤, 築城寿長, 檜垣誠吾, 岩坂泰信, 早川和一: フタロシアニン担持繊維の多環芳香族炭化水素吸着能及び微生物増殖抑制能評価. 日本薬学会北陸支部第124回例会, 2012. 11. 18, 富山.
- 28) 袴田真理子, 亀田貴之, 鳥羽 陽, 早川和一: 能登における多環芳香族炭化水素及びニトロ多環芳香族炭化水素の大気中濃度の季節変動とその要因解析. 日本薬学会北陸支部第124回例会, 2012. 11. 18, 富山.
- 29) 北 将大, 鳥羽 陽, 亀田貴之, 早川和一: GC-MS/MS による多環芳香族炭化水素キノロン類の一斉分析法の開発と大気粉塵試料の分析. 日本薬学会北陸支部第124回例会, 2012. 11. 18, 富山.
- 30) 田原麻衣子, 杉本直樹, 小林憲弘, 久保田領志, 穂山浩, 五十嵐良明: GC/MS データベースを用いた定量分析への新規キャリブレーションシステムの適用. 第49回全国衛生化学技術協議会年会, 2012. 11. 21-22, 香川.
- 31) 藤田浩祐, クゥリバリ スレイマン, 高橋亮平, 貴志茜衣, 坂本みずほ, 松井元希, 長谷井友尋, 池盛文数, 盛山哲郎, 木戸瑞佳, 世良暢之, 船坂邦弘, 浅川大地, 鳥羽陽, 早川和一, 唐 寧, 趙 利霞, 鄭 海泳, 若林敬二, 渡部仁成, 渡辺徹志: 東アジア地域5地点における大気粉塵の化学成分及び変異原性の比較. 日本環境変異原学会第41回大会, 2012. 11. 29-30, 静岡.
- 32) 谷内口孝治, 松本典子, 関口俊男, 羽賀雄紀, 鈴木元治, 松村千里, 鶴川正寛, 奥野俊博, 中野武, 北村敬一郎, 川部季美, 鳥羽陽, 早川和一, 服部淳彦, 鈴木信雄: ポリ塩化ビフェニル (PCB-118) は魚の破骨細胞を活性化させ骨吸収を誘起する. 第37回日本比較内分泌学会大会, 2012. 11. 29-12. 1, 福井.
- 33) 黒田美翔, 舟橋久幸, 鬼木弘明, 宇都理佳, 筒井和義, 鈴木信雄, 服部淳彦: キンギョの再生ウロコにおける隆起線形成リズム. 第37回日本比較内分泌学会大会, 2012. 11. 29-12. 1, 福井.
- 34) 早川和一: 環日本海域の PAH 類の汚染, 2013 年度日本海洋学会春季大会シンポジウム; 日本海および周辺海域でいま進みつつある環境の変化: その驚くべき実態に迫る!. 2013. 3. 25. 東京.
- 35) 宇崎崎和香, 北 将大, 鳥羽 陽, 亀田貴之, 早川和一: GC-MS/MS によるたばこ煙中の多環芳香族炭化水素キノロン類 (PAHQs) の測定. 日本薬学会第133年会, 2013. 3. 27-30, 神奈川.
- 36) Chuesaard, T., 鳥羽 陽, Chetiyakornkul, T., 亀田貴之, 早川和一: Influence of biomass burning on the levels of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons and their nitrated derivatives in Chiang Mai, Thailand. 日本薬学会第133年会, 2013. 3. 27-30, 神奈川.
- 37) 小林茉緒, 亀田貴之, 福島杏希, 唐 寧, 鳥羽 陽, 早川和一: 黄砂発生時に中国北京で観測されたニトロ多環芳香族炭化水素の大気内二次生成. 日本薬学会第133年会, 2013. 3. 27-30, 神奈川.
- 38) 袴田真理子, 亀田貴之, 鳥羽 陽, 早川和一: 能登における多環芳香族炭化水素及びニトロ多環芳香族炭化水素の長距離輸送解析. 日本薬学会第133年会, 2013. 3. 27-30, 神奈川.
- 39) Pham, C. T., 亀田貴之, 鳥羽 陽, 早川和一: Comparison of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitropolycyclic aromatic

hydrocarbons in particulates between motorcycle and automobile exhausts. 日本薬学会第 133 年会, 2013. 3. 27-30, 神奈川.

3. 招待・基調講演

- 1) 早川和一：東アジアの大気・海洋中の多環芳香族炭化水素類の挙動と毒性. 日本分析化学会第 61 年会 環境分析研究懇談会, 2012. 9. 19. 石川.
- 2) Hayakawa, K.: Change of environmental

pollution in east Asia over the last 14 years from view point of polycyclic aromatic hydrocarbons and nitropolycyclic aromatic hydrocarbons. The 6th Shanghai International Symposium on Analytical Chemistry, 2012. 10. 16-18, Shanghai, China.

- 3) 早川和一：環日本海域の PAH 類の汚染. 2013 年度日本海洋学会春季大会シンポジウム；日本海および周辺海域でいま進みつつある環境の変化：その驚くべき実態に迫る！, 2013. 3. 25. 東京.

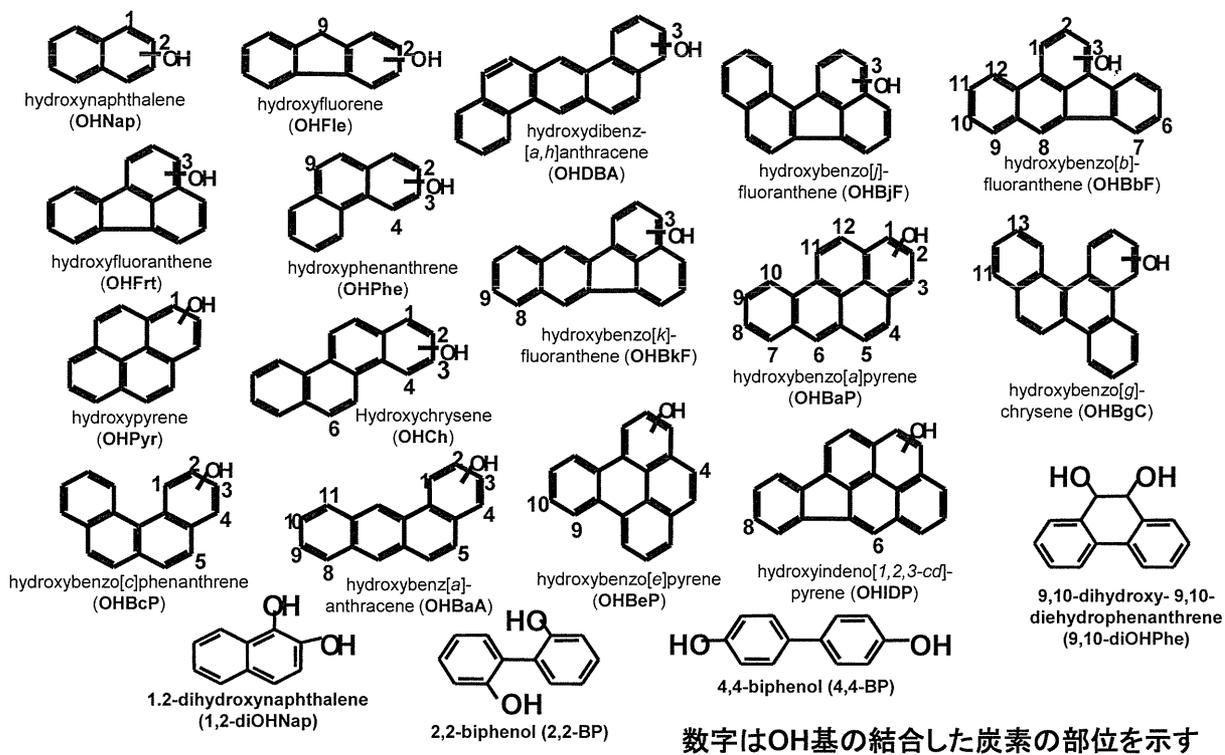


Fig. 1 OHPAHs

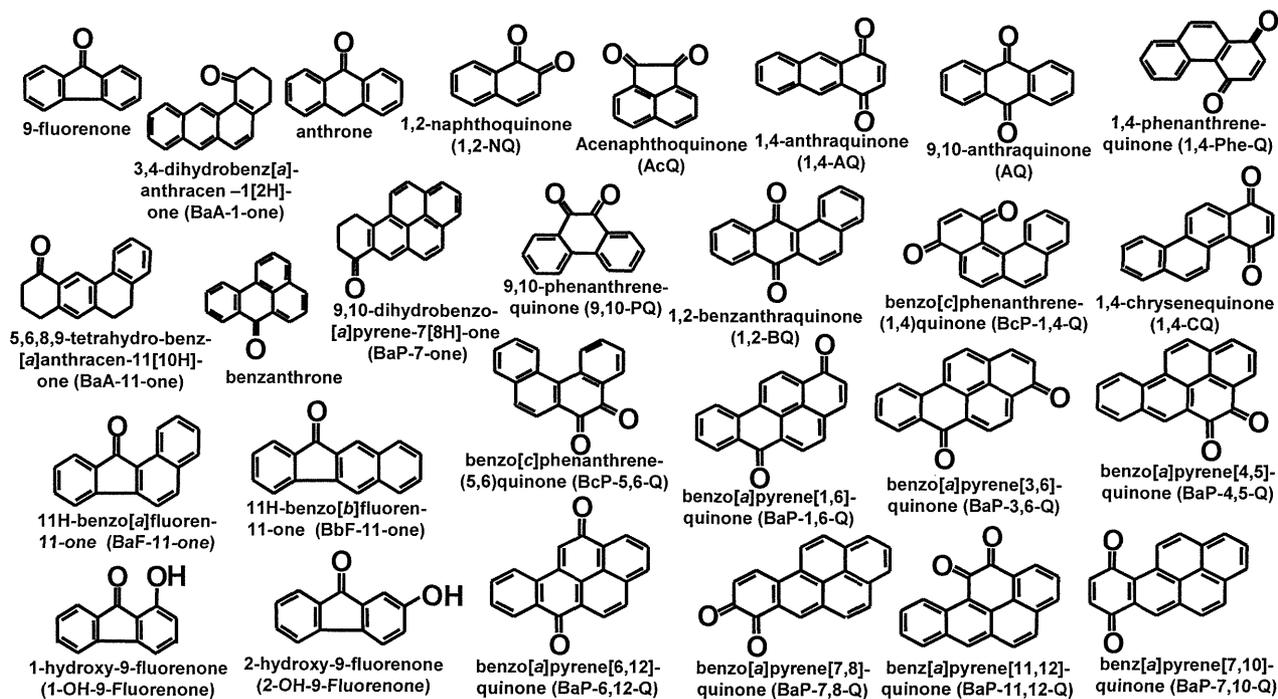


Fig. 2 PAHQs and PAHKs