

II-529

クロロフェノール類の毒性に関する研究

京都大学 学生員 川口達也
京都大学 正会員 宗宮 功
京都大学 正会員 小野芳朗

1. はじめに 本研究では、染料や農薬として現在幅広く用いられているクロロフェノール類の1および2置換体のいくつかの濃度列が、試験菌株に長時間させたときの菌体の増殖阻害性、基質分解活性の阻害性、及び遺伝毒性の発現の誘発を検討した。

2. 実験方法 菌体の増殖と基質分解活性は、菌体濃度OD₆₀₀及び脱水素酵素活性を測定し、また、遺伝毒性測定には、DNA鎖上の化学物質による損傷で誘導されるSOS反応を検出するumuテスト¹⁾を適用して、経時的な挙動を調べた。化学物質は、いずれも、1.0%エタノールに溶解させ、S9一系について試験した。また、2時間の菌体培養後に、化学物質を投与した。遺伝毒性強度は、ある化学物質の検体量における既定の反応時間後の酵素活性量をA、溶媒対照(1%エタノール)における同時時間後の酵素活性量をBとして、 $(A-B)/B$ を遺伝毒性強度と定義した。

3. 実験結果 o-,m-クロロフェノール,2,3-ジクロロフェノールの100mg/lの結果を例示する。増殖阻害性には、図1,2,3のように3つのパターンが確認された。S型は誘導期に著しい殺菌経過(増殖遅滞現象)を伴わない型、C型はその間に殺菌経過のみられる型であり、また、L型は誘導期間に溶菌がみられ、菌体の増殖がみられない型である²⁾。また、菌体の培養期間中、脱水素酵素活性が基質の分解のために即時に誘発され、化学物質の投入と同時に一時減少した。図2のm-クロロフェノール(100mg/l)の場合、DNAの損傷のSOS修復が化学物質の投入後開始され、30時間umuDC遺伝子の誘発が続き、修復が完了次第再び脱水素酵素活性が回復し、引き続き菌体の再増殖が始まった。

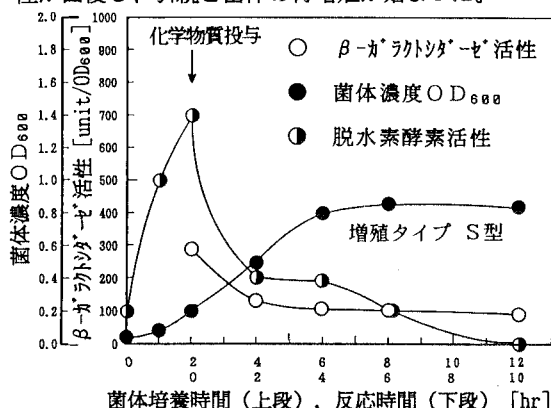


図1 o-クロロフェノール(100mg/l)の経時的毒性誘発結果

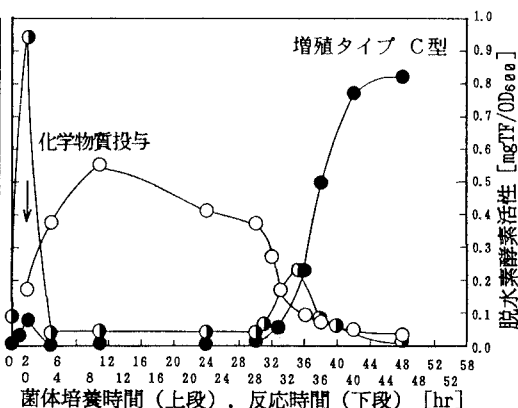


図2 m-クロロフェノール(100mg/l)の経時的毒性誘発結果

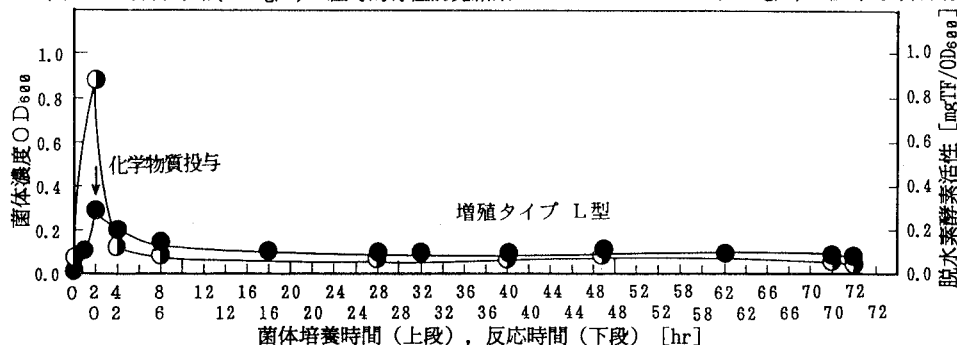


図3 2,3-ジクロロフェノール(100mg/l)の経時的毒性誘発結果

図4に、3,4-ジクロロフェノールの各濃度における、経時的な遺伝毒性強度(A-B)/Bの変化を示した。検体濃度30mg/lに関して、反応時間16時間で陽性を示しており、遺伝毒性が発現するのに比較的長い時間を要するものと考えられる。同様の結果が、2,3-, 2,5-ジクロロフェノールに関しても得られた。

以上の結果、クロロフェノールの異性体には、比較的長時間菌体と反応させることによって、その増殖特性やDNA修復遺伝子の誘発特性に差異を示すことが分かった。

4. 考察(1) 濃度—増殖遅滞時間の関係; 図1より最高濃度100mg/lにおいてもo-クロロフェノールに関しては、増殖の遅滞現象がみられなかった。また、菌体濃度OD₆₀₀の増殖に伴いβ-ガラクトシダーゼ活性は減少していった。この事実より、濃度100mg/l以下においては菌体の遺伝毒性に結び付く様なDNAの損傷は誘発していないと考えられる。それに対し、m-クロロフェノール(100mg/l)(図2)は、約26時間の増殖遅滞が認められ、その間にβ-ガラクトシダーゼ活性も著しく誘発された。また、2,3-ジクロロフェノール(100mg/l)(図3)は反応時間72時間以内に菌体濃度OD₆₀₀の増殖は認められなかった。これは、既に溶菌や殺菌作用のような生物毒性が誘発されていると考えられる。従って、増殖の遅滞時間の長さが、遺伝毒性及び生物毒性の指標となり得ると考えられる。

(2) 濃度—最大遺伝毒性強度の関係; 図5に示すように、全体的に検体濃度が増加するに従い、最大遺伝毒性強度も増える傾向がみられる。これより、最大濃度100mg/lでも増殖阻害をおこさず、しかも陽性を示さなかったo-およびp-クロロフェノールにおいても、更に投入濃度を増やしていくと陽性が発現することが予想される。(3) 濃度—β-ガラクトシダーゼ活性最大誘発速度の関係; 図6より、特に、m-クロロフェノールにおいて検体投与濃度の増加に伴いβ-ガラクトシダーゼ活性最大誘発速度も増加しており、30~100mg/lの範囲で急激に増加していることが分かる。2,5-ジクロロフェノールと3,5-ジクロロフェノールに関しても同様の現象が起ることが予想される。

以上の考察より、長時間の経時的なサンプリング測定における3つの指標①増殖遅滞時間、②最大遺伝毒性強度、及び③β-ガラクトシダーゼ活性最大誘発速度にdose-responseがあり、遺伝毒性を評価することができることが分かった。

5. おわりに クロロフェノール類において、投与する物質の種類及び濃度により①菌体の増殖に遅滞現象を誘発する場合(C型)、菌体の増殖を阻害する場合(L型)、及び③菌体の増殖に顕著な影響を与えない場合(S型)の3種類の影響がみられた。また、短時間では遺伝毒性を示さないような低い濃度においても、長時間の曝露によりDNAに損傷を与える可能性が高いことが分かった。更に、umuテストにおいて、既定の反応時間による遺伝毒性強度の評価と同時に、経時的な測定による長時間反応の遺伝毒性強度の評価が、変異原物質のスクリーニングに有効であることが示された。

参考文献

- 1) Oda et al., Mutation Res., pp147, 1985 2) 柳田, 微生物科学 2, pp412-413, 1985

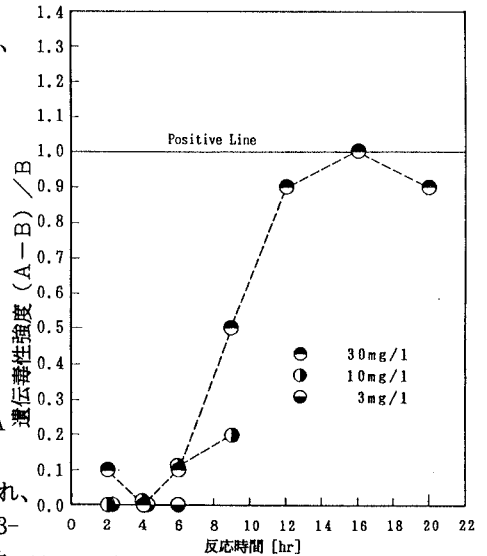


図4 3,4-ジクロロフェノールの各濃度における遺伝毒性強度の経時変化

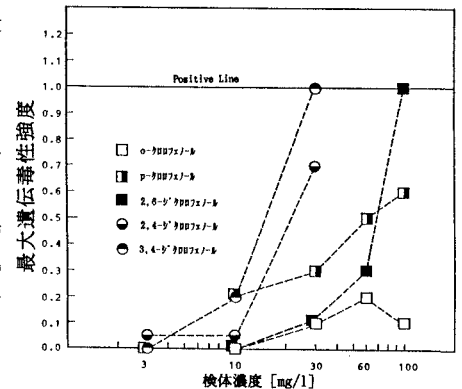


図5 化学物質の最大遺伝毒性強度に関するdose-response

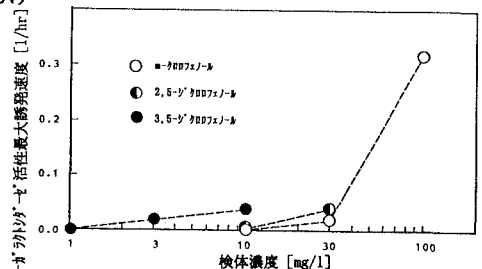


図6 β-ガラクトシダーゼ活性最大誘発速度に関するdose-response