

II-468

除草剤および溶剤関連物質の遺伝毒性に関する研究

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

1. はじめに 本研究では、地下水汚染や非点源汚染の原因として最近注目されている有機物質（ベンゾ（a）ピレン、除草剤関連物質、クロロフェノ系物質）の遺伝毒性をDNAに誤りがちのエラーを引き起す遺伝子の誘発を検知するバイオアッセイを用いて測定し、さらにこの検知系で判定された陽性物質間の遺伝毒性の強さの比較を行った。

2. 実験方法 試験菌株懸濁液中における被検物質（ベンゾ（a）ピレン、除草剤含有物質、クロロフェノ類）のいくつかの濃度列（ 10^{-2} $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）に対して、遺伝毒性のスクリーニングを行った。ベンゾ（a）ピレンに関しては、最終濃度0.1, 0.3, 1, 3, $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ の5段階の濃度に関して実験を行った。

遺伝毒性の測定には、DNA鎖上の化学物質による損傷で誘発されるSOS反応を検出するumuテスト¹⁾を用いて、代謝活性化状態（S9+）と代謝不活性化状態（S9-）の2つの系において、反応時間4時間で測定した。

3. 実験結果 表1に本研究で扱う化学物質の遺伝毒性測定結果を示す。さらに、陽性物質のうちベンゾ（a）ピレン（S9+）とベンタクロフェノール（PCP）（S9±）の各濃度に対する菌体濃度 0 D_{550} ●、 β -ガラクトシダーゼ活性○および遺伝毒性強度の変化を図1, 2に示す。

ベンゾ（a）ピレンに関しては図1より濃度 $3 \sim 10 \mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲に、陽性の閾値が存在することがうかがえる。また、PCPに関しては、図2よりS9+, 一両系において濃度 $10^{-2} \mu\text{g}/\text{mL}$ で陽性を示しており、濃度 $10^{-1} \sim 10^{-2} \mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲に、陽性閾値が存在すると思われる。これらの図よりPCPでは、 β -ガラクトシダーゼ活性の誘発にともない菌体濃度 0 D_{550} の減少、すなわち増殖阻害が生じているのに対し、ベンゾ（a）ピレンでは菌体濃度に顕著な変化は確認できなかった。この事実より、化学物質の種類によりDNAへの損傷の形態が異なると考えられる。クロロフェノ類4種については、すべて陰性の結果が得られた。しかし、化学物質によっては遺伝毒性を発現するのに比較的長い反応時間を要するものがあり、また、トリクロロエチレン（TCE）とポリクロロエチレン（PCE）に関してはその発癌性が報告されている²⁾ことも考慮して、さらに反応時間を長くして遺伝毒性誘発の測定を行った。その結果、反応時間6時間でTCEが、また反応時間8時間でPCEが陽性を示した。

表1. 被検物質の遺伝毒性測定結果

群	化学物質	遺伝毒性測定結果					
		S9+系			S9-系		
		濃度 $\mu\text{g}/\text{mL}$	(A-B)/B	判定 ^{a)}	濃度	(A-B)/B	判定
1	ベンゾ（a）ピレン	10^{-2}	1.9	+	10^{-2}	0.3	-
2	2,4-ジクロロフェノキシ酢酸	10^{-2}	0	-	10^{-2}	0.1	-
	リニユロン	10^{-2}	0	-	10^{-2}	0	-
	シマジン	10^{-2}	0.2	-	10^{-2}	0	-
	ベンタクロフェノール	10^{-2}	1.8	+	10^{-2}	2.6	+
	MCC	10^{-2}	1.3	+	10^{-2}	0	-
	DCPA	10^{-2}	0.1	-	10^{-2}	0.0	-
	クロロIPC	10^{-2}	0	-	10^{-2}	0	-
3	トランス1,2-ジクロロエチレン	1000	0.4	-			
	シス1,2-ジクロロエチレン	1000	0.6	-			
	トリクロロエチレン	1000	1.1 ^{b)}	+			
	テトラクロロエチレン	1500	1.9 ^{c)}	+			

a) 判定基準

(A-B)/B < 1.0 : 陰性 (-)

(A-B)/B $\geq$ 1.0 : 陽性 (+)

ただし A : ある化学物質の検体量における反応時間後の酵素活性量

B : 溶媒対照 (1%エタノール) における反応時間後の酵素活性量

b) 反応時間6時間、c) 反応時間8時間

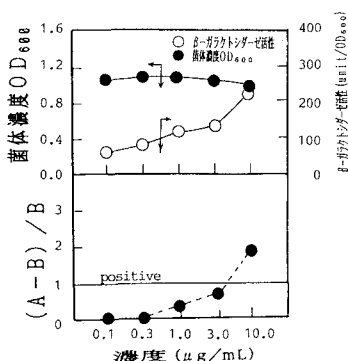


図 1 . ベンゾ (a) ビレンの各濃度に対する菌体濃度 OD_{600} , β -ガラクトシダーゼ活性と遺伝毒性強度の測定結果

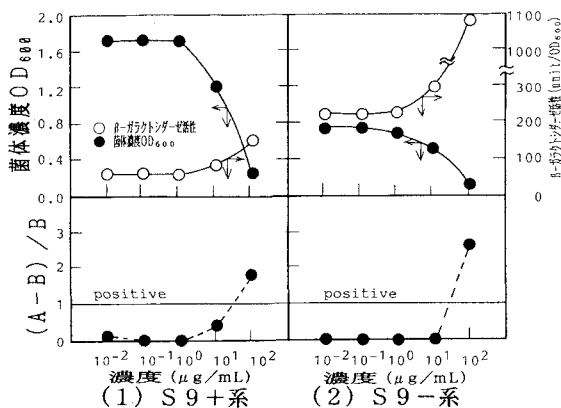


図 2 . ペンタクロロフェノールの各濃度に対する菌体濃度 OD_{600} , β -ガラクトシダーゼ活性と遺伝毒性強度の測定結果
(1) S9+系、(2) S9-系

4. 考察 本研究で得られた遺伝毒性陽性物質に対して、その分子数を投与時の菌体数で除した値（分子数）／（初期生菌数）を求めた。その結果を図3に示す。ここで、この（分子数）／（初期生菌数）という値は、菌体細胞1個当りに作用する化学物質の分子数の負荷量を表す指標であり、この値を比較することにより同じ遺伝毒性陽性物質の中でも、さらにその遺伝毒性の「強さ」が比較できるものと考えられる。すなわち、図の縦軸の上の方に位置する物質ほど遺伝毒性が弱く、下に行くほど強い物質であるといえる。

本研究で扱った物質では、ベンゾ (a) ビレン (S9+) が比較的強い遺伝毒性を有しているといえる。PCE (S9+) とTCE (S9+) に関しては、PCEの方がTCEより遺伝毒性が強いことがわかる。

遺伝毒性の強さの順位は以下に示すとおりである。

ベンゾ (a) ビレン (S9+) > PCP (S9-) > PCP (S9+)
> MCC (S9+) > PCE (S9+) > TCE (S9+)

5. おわりに 本研究では、除草剤および溶剤関連物質に関してその遺伝毒性をumuテストを用いて調べ、ベンゾ (a) ビレン、PCP、MCC、TCE、およびPCEが陽性を示した。これら遺伝毒性陽性物質に対して、投与時の菌体当りに作用する化学物質の分子数

（分子数）／（初期菌体数）を求め、物質間の遺伝毒性強度の大小関係が得られた。

参考文献

- 1) Oda et al., Mutation Res., pp147, 1985
- 2) 矢木ら、第22回水質汚濁学会講演集、pp159-160、1988

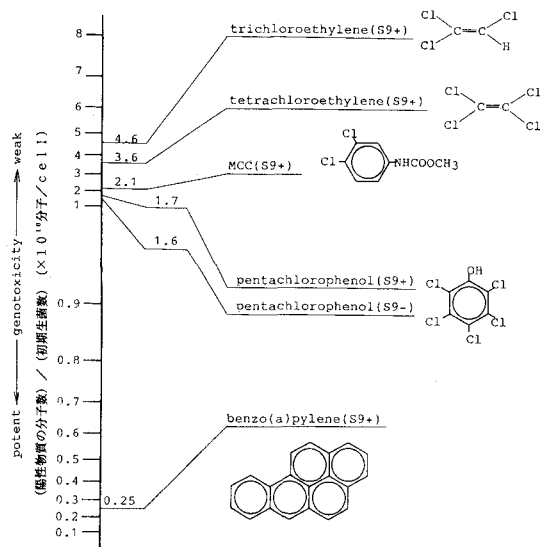


図 3 . 初期菌体あたりの陽性物質の分子数負荷