

多環芳香族炭化水素類の生体影響に対し輸送及び生体内代謝がどのように関与しているのか

戸次加奈江,<sup>\*,a</sup> 鳥羽 陽,<sup>b</sup> 唐 寧,<sup>b</sup> 亀田貴之,<sup>b</sup>  
滝上英孝,<sup>c</sup> 鈴木 剛,<sup>c</sup> 早川和一<sup>b</sup>

## How Do Transport and Metabolism Affect on the Biological Effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons?

Kanae Bekki,<sup>\*,a</sup> Akira Toriba,<sup>b</sup> Ning Tang,<sup>b</sup> Takayuki Kameda,<sup>b</sup>  
Hidetaka Takigami,<sup>c</sup> Go Suzuki,<sup>c</sup> and Kazuichi Hayakawa<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Division of Environmental Science and Engineering, Graduate School of Natural Science and Technology;

<sup>b</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences, Institute of Medical, Pharmaceutical and Health Sciences,

Kanazawa University; Kakuma-machi, Kanazawa, Ishikawa 920-1192, Japan; and <sup>c</sup>Research

Center for Material Cycles and Waste Management, National Institute for Environmental  
Studies; 16-2 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305-8506, Japan.

(Received August 31, 2011)

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), some of which are carcinogenic/mutagenic, are generated by combustion of fossil fuels and also released through tanker or oilfield accident to cause a large scale environmental pollution. PAHs concentration in China is especially high in East Asia because of many kinds of generation sources such as coal heating systems, vehicles and factories without exhaust gas/particulate treatment systems. So, the atmospheric pollution caused by PAHs in China has been seriously concerned from the view point of health effects. Like yellow sand and sulfur oxide, PAHs exhausted in China are also transported to Japan. Additionally, strongly mutagenic nitrated PAHs (NPAHs), estrogenic/antiestrogenic PAH hydroxides (PAHOHs) and reactive oxygen species-producing PAH quinones (PAHQs) are formed from PAHs by the chemical reaction during the transport. Furthermore these PAHOHs and PAHQs are produced by the metabolism in animal body. In the biological activities caused by the above PAH derivatives, the structure-activity relationship was observed. In this review, our recent results on the generation of PAH derivatives by atmospheric transport and metabolism are reported. Also, the existing condition of PAHs as atmospheric pollutants is considered.

**Key words**—polycyclic aromatic hydrocarbon derivative; atmospheric transport; metabolism

### 1. はじめに

多環芳香族炭化水素 (PAH) 類は、石炭や石油などの化石燃料の燃焼に伴い生成され、タンカーや油田事故でも大規模な環境汚染を引き起こす環境汚染物質の1つである。PAH類はヒトや野生生物への影響が懸念されると同時に、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。さらには、PAHは大気中を輸送される際には、様々な化学反応によって誘導体

へと姿を変え、例えばPAHのニトロ化体 (NPAH) が強い変異原性を示すように、多岐に渡る毒性を発現する可能性も示唆される。

本シンポジウムでは、PAHの大気輸送及び生体内代謝により生成されるPAH誘導体を中心に、これらが示す毒性と生体影響との係わりについて、筆者らの取り組みを紹介するとともに、PAH類の大気汚染物質としての現状について考えてみたい。

### 2. 環日本海域の主要都市におけるPAH/NPAH濃度の実態

筆者らは、環日本海域に位置する各都市の汚染状況を把握すべく、日本 (札幌, 金沢, 東京, 北九州), 韓国 (釜山), 中国 (瀋陽, 撫順, 鉄嶺, 北京), ロシア (ウラジオストク) における、大気粉塵中のPAHとNPAHの濃度測定を実施した。分

<sup>a</sup>金沢大学大学院自然科学研究科環境科学専攻, <sup>b</sup>同医薬保健研究域薬学系 (〒920-1192 石川県金沢市角間町),  
<sup>c</sup>独立行政法人国立環境研究所循環型社会・廃棄物研究センター (〒305-8506 茨城県つくば市小野川 16-2)

\*e-mail: k.bekki@stu.kanazawa-u.ac.jp

本総説は、日本薬学会第131年会シンポジウムGS03で発表したものを中心に記述したものである。

析の対象としたのは、US 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 PAH のうち、毒性の観点からヒトの健康に影響を及ぼし易いとされる 4 環以上の 6 種 PAH を選択した。また、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。その結果、大気中 6 種 PAH の年平均濃度和は、撫順 (1205 pmolm<sup>-3</sup>) > 瀋陽 (313 pmolm<sup>-3</sup>) > 北京 (270 pmolm<sup>-3</sup>) > 鉄嶺 (258 pmolm<sup>-3</sup>) > ウラジオストク (34 pmolm<sup>-3</sup>) > 北九州 (12 pmolm<sup>-3</sup>) > 札幌 (11 pmolm<sup>-3</sup>) > 東京 (5.9 pmolm<sup>-3</sup>) > 釜山 (5.6 pmolm<sup>-3</sup>) > 金沢 (3.6 pmolm<sup>-3</sup>) の順となった。中国の都市の PAH, NPAH の年平均濃度は他国の都市に比して非常に高い値を計測した。近年、中国では発展する産業や冬季の暖房に多量の石炭を使用しているが、<sup>1)</sup> 排煙脱粒子装置の普及は進んでいない。このため、PAH や NPAH が吸着した粒子状物質が多く排出されている。

### 3. 日本海域及び関連河川における PAH 濃度

日本海域は、地震や火山活動の盛んな地帯であるとともに、タンカーやパイプライン等の事故の危険

性も増している。<sup>2,3)</sup> また中国等からの大気汚染の影響も受け易く、両端が狭い海峡で閉鎖性が高く環境変化に敏感である。したがって日本海の汚染調査は国際的にも要望されているものの、これまでその実態に関する報告はほとんどなかった。そこで筆者らは、日本海における PAH 汚染の実態を把握すべく、海水中の PAH 濃度測定を実施することとした。測定の対象は、人為起源汚染物質である 3 環から 6 環の合計 13 種の PAH とした。

総 PAH 濃度は、日本列島側、大陸側外洋域でそれぞれ、9.63 ng/L (3.44–24.0 ng/L), 7.67 ng/L (4.10–30.6 ng/L) であり、大陸側がやや低かった。さらに、瀬戸内海や東北沿岸太平洋域の総 PAH 濃度と比較すると、日本海は瀬戸内海より低く、東北沿岸太平洋側外と同じレベルであったが、大西洋より数桁高かった。

今後、さらにデータを蓄積させることにより、汚染の現状はより明らかになっていくと考える。

### 4. PAH 誘導体の生成

上で述べたように、発生した PAH 類は発生源周辺に留まるに限らず、様々な要因により長距離を輸送され、輸送中に、PAH は紫外線やニトロラジカ

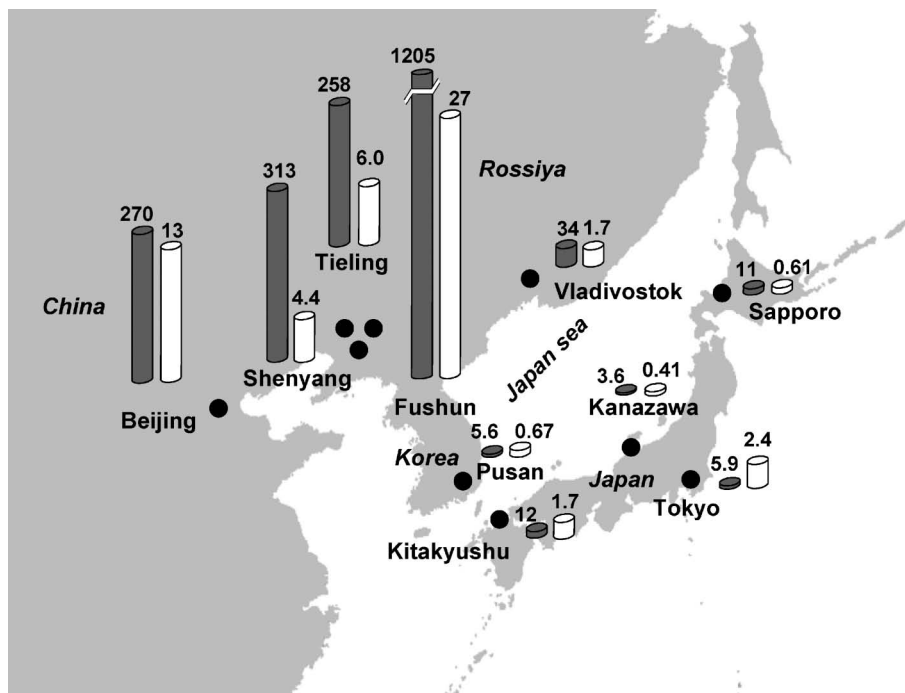


Fig. 1. Annual Average Atmospheric Concentrations of PAHs and NPAHs

Unit: pmol/m<sup>3</sup> ■ [PAHs] = [Pyr] + [BaA] + [Chr] + [BbF] + [BkF] + [BaP], □ [NPAHs] = [1,3-Dnp] + [1,6-Dnp] + [1,8-Dnp] + [9-NA] + [1-NP] + [2-NFR1 + 2-NP] + [6-Nc] + [7-NBaA] + [6-NBaP] + [3-Nper], Year: 2001–2002 (Shenyang), 2002–2003 (Pusan), 2003–2004 (Tieling), 2004–2005 (Beijing, Fushun, Vladivostok, Kanazawa, Sapporo, Tokyo, Kitakyushu).

ル ( $\cdot\text{NO}_3$ ), ヒドロキシラジカル ( $\cdot\text{OH}$ ) などと化学反応すると, PAHニトロ体 (NPAH), PAH水酸化体 (PAHOH), PAHキノン体 (PAHQ) 等の誘導体となる.<sup>4-6)</sup>

一方, これら PAH 誘導体は, 生体内に取り込まれた後, 代謝によっても生成する. 例えば, PAH 類は, 主に肝臓において, アリール炭化水素受容体 (AhR) を活性化することにより薬物代謝酵素, CYP1A1 等のシトクロム P450 酵素などを誘導し, ついで P450 の存在下で PAH 類は PAHOH や PAHQ といった PAH 誘導体へと代謝される (Fig. 2).<sup>7)</sup>

### 5. PAH 誘導体による毒性影響

上で述べたように環境中に放出された PAH は PAH 誘導体となって存在しているため, PAH 誘導体が生体に対してどのような作用を示すかが重要となってくる. PAH 誘導体の毒性としては, NPAH による変異原性が古くからよく知られている. NPAH は, PAH がニトロ還元酵素 (Nitroreductase: NTR) により代謝を受けることにより生成し, それらは最終的に DNA へ損傷を及ぼす付加体となることで, 強い変異原性を示すことが知られている.<sup>8)</sup> また, PAHQ についても活性酸素種 (ROS) 産生能を有することから,<sup>9)</sup> ラジカルの生成を経て物

理的に DNA を損傷させ, 細胞機能障害や細胞死を引き起こすことも知られている.<sup>10-13)</sup> このような酸化ストレスは, 多くの経路で, がんを始めとし, 循環器系疾患, 感染症, 老化など様々な疾患に関与するとされる.<sup>14)</sup>

一方で, 近年, 着目されているのが, PAH 誘導体による内分泌攪乱作用である. 酵母 two-hybrid assay を用いた PAH 代謝産物によるエストロゲン受容体への作用を調べたわれわれの実験結果から, PAH 代謝産物である PAHOH 及び PAHQ がエストロゲン様/抗エストロゲン様作用を示すことが明らかとなっている.<sup>15,16)</sup>

このように, 大気中での様々な化学反応によって PAH 誘導体が生成すると同時に, 体内に取り込まれた PAH は, 生体内の様々な代謝を介して無数の PAH 誘導体を生成することから, われわれは様々な生理活性作用を示す PAH 誘導体に高濃度曝露されている可能性が高い.

### 6. PAH 誘導体が生ずる構造活性相関

PAH 等の環境化学物質が生ずるエストロゲン受容体 (ER) を中心としたホルモン受容体への結合及び活性化といった作用は, その立体構造によって, 作用の有無や強弱が異なるものと推測される. そこで, PAHOH 及び PAHQ が示すエストロゲン/抗

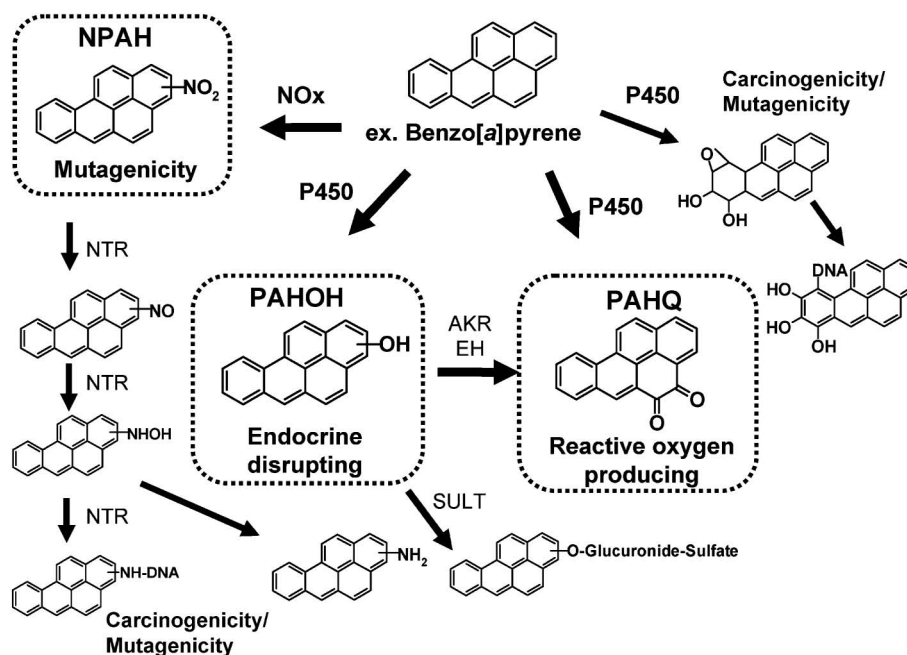


Fig. 2. Metabolic Activation of PAH/NPAH

NTR: Nitroreductase, AKR: Aldo-keto reductase, EH: Epoxide hydrolase, SULT: Sulfotransferase.

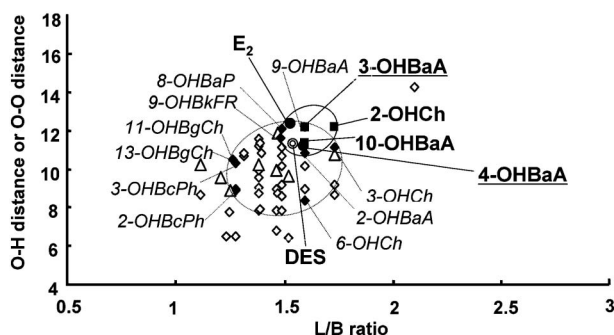


Fig. 3. Relationship between L/B Ratios and O-H Distances of Strongly Estrogenic and Antiestrogenic PAHOHs

Estrogenic activity of each test compound was assayed in the concentration range from  $1 \times 10^{-6}$  M to  $1 \times 10^{-9}$  M. Reactive effective potency of estrogenic activity ( $REP_E$ ) was calculated from the value of  $E_2$  as a positive control. Antiestrogenic activity of each test compound was assayed in the concentration range from  $1 \times 10^{-6}$  M to  $1 \times 10^{-9}$  M. Reactive effective potency of antiestrogenic activity ( $REP_{AE}$ ) was calculated from the value of 4-hydroxytamoxifen (4-OHT) as a positive control. Symbols: ■; Strong estrogenic activity ( $REP_E \geq 0.001$ ), ◆; Strong antiestrogenic activity ( $REP_{AE} > 0.1$ ), ⊙; DES, ●;  $E_2$ . In the case of  $E_2$  and DES, O-O distance was used instead of O-H distance.<sup>15)</sup>

エストロゲン様作用について、分子構造又は物理化学的特性パラメーターによる予測が可能かどうか考察を行った。

われわれは、PAHの分子構造を考える上で2つの因子、すなわち、母核構造と水酸基の位置が活性に関与していることを予測し、母核構造の違いを表すパラメーターであるLength-to-breadth ratio (L/B比)<sup>17,18)</sup>及び水酸基の位置を表すパラメーターとしてO-H distance<sup>19)</sup>を使用した構造活性相関を調べた。

まず、PAHOHにおける活性とL/B比及びO-H-distanceとの関係をFig. 3に示した。図に示したように、ERのアゴニスト活性を示した化合物は、L/B比が1.5–1.7、O-H distanceが10.8–11.7 Åの範囲に、また抗エストロゲン活性を持つPAHOHはL/B比が1.2–1.7、O-H distanceが8.4–11.6 Åの範囲に集中することが明らかとなった。また、PAHQについても同様に調べた結果をFig. 4に示した。エストロゲン様活性を示したPAHQは、L/B比が1.2–1.4及び1.7–1.8、O-H distanceが8.2–11.5 Åの狭い範囲に集中して存在していた。これらは、ERの既知アゴニスト化合物である $17\beta$ -Estradiol ( $E_2$ )及びdiethylstilbestrol (DES)と類似しており、これらは活性を強く示す要因の1つであると考えられた。

以上の結果により、バイオアッセイにより示され

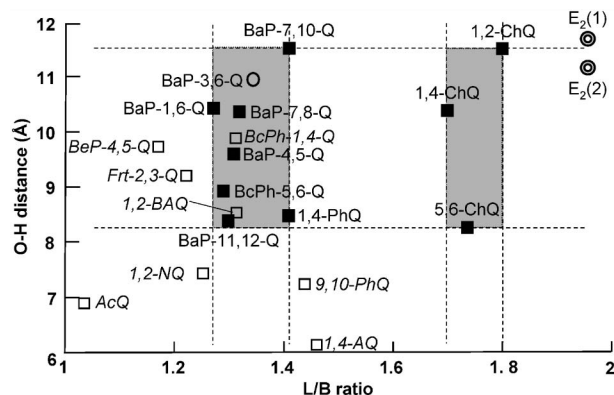


Fig. 4. Relationship between L/B Ratios and O-H Distances of Strongly Estrogenic and Antiestrogenic PAHQs

Estrogenic activity of each test compound was assayed in the concentration range from  $1 \times 10^{-6}$  M to  $1 \times 10^{-9}$  M. Reactive effective potency of estrogenic activity ( $REP_E$ ) was calculated from the value of  $E_2$  as a positive control. Antiestrogenic activity of each test compound was assayed in the concentration range from  $1 \times 10^{-6}$  M to  $1 \times 10^{-9}$  M. Reactive effective potency of antiestrogenic activity ( $REP_{AE}$ ) was calculated from the value of 4-hydroxytamoxifen (4-OHT) as a positive control. Symbols: ○; Estrogenic activity ( $REP_E = 2.3$ ), ■; Antiestrogenic activity ( $REP_{AE} > 0.42$ ), □; Inactive, ⊙;  $E_2$ .<sup>16)</sup>

たPAHOH及びPAHQが有するエストロゲン/抗エストロゲン作用を*in silico*での構造活性相関により予測できたことは、環境中や生体内に無数に存在するPAH誘導体のリスクを知る上での有効な手法となることが期待できる。

## 7. おわりに

以上、PAH誘導体を中心にわれわれ東アジアを取り巻く環境について述べたが、主要な大気汚染物質の1つであるPAH類は、PAH誘導体へと姿を変えてわれわれ人類の健康を脅かしている危険性があり、今後もPAH誘導体の毒性や環境中濃度等、動態を突きとめていかななくてはならない大きな環境問題であると思われる。

## REFERENCES

- 1) BP Statistical Review of World Energy, 2004.
- 2) Lorre A., Point V., *Mar. Pollut. Bull.*, **52**, 560–571 (2006).
- 3) Lipiatou E., Tolosa I., Simó R., Bouloubassi I., Dachs J., Marti S., Sicre M. A., Bayona J. M., Salot A., Albagés J., *Deepsea Res. II*, **44**, 881–905 (1997).
- 4) Vione D., Barra S., De Gennaro G., De Rienzo M., Gilardoni S., Perrone M. G., Pozzoli L., *Ann. Chim.*, **94**, 17–32 (2004).
- 5) Kameda T., Akiyama A., Toriba A., Tang N.,

- Hayakawa K., *Sci. Technol.*, **45**, 3325–3332 (2011).
- 6) Atkinson R., Arey J., *Environ. Health Perspect.*, **102**, 117–126 (1994).
- 7) Shimada T., *Drug Metab. Pharmacokinet.*, **21**, 257–276 (2006).
- 8) Nagy E., Zeisig M., Kawamura K., Hisamatsu Y., Sugeta A., Adachi S., Moller L., *Carcinogenesis*, **26**, 1821–1828 (2005).
- 9) Motoyama Y., Bekki K., Chung S. W., Tang N., Kameda T., Toriba A., Taguchi K., Hayakawa K., *J. Health Sci.*, **55**, 845–850 (2009).
- 10) Biswas S., Seema A., Rahman I., *Biochem. Pharmacol.*, **71**, 551–564 (2006).
- 11) Stadtman E. R., Berlett B. S., *Chem. Res. Toxicol.*, **10**, 485–494 (1997).
- 12) Valavanidis A., Vlahogianni T., Dassenaki M., Scoullou M., *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, **64**, 178–189 (2006).
- 13) Stadtman E. R., Levine R. L., *Amino Acids*, **25**, 207–218 (2003).
- 14) Xia T., Kovochich M., Nel A., *Clin. Occup. Environ. Med.*, **5**, 817–836 (2006).
- 15) Hayakawa K., Onoda Y., Tachikawa C., Hosoi S., Yoshita M., Chung S. W., Kizu R., Toriba A., Kameda T., Tang N., *J. Health Sci.*, **53**, 562–570 (2007).
- 16) Hayakawa K., Bekki K., Yoshita M., Tachikawa C., Kameda T., Tang N., Toriba A., Hosoi S., *J. Health Sci.*, **57**, 274–280 (2011).
- 17) Sander L. C., Wise S. A., *NIST Special Publication*, **922** (1997).
- 18) Collantes E. R., Tong W., Welsh W. J., *Anal. Chem.*, **68**, 2038–2043 (1996).
- 19) Kihara H., Uchida N., Ikuta S., “Bunshikido-ho,” Kodansha Scientific, Tokyo, 1994.