

## <研究発表>

# 移動型大気粉塵採取測定自動車“Sniffer”により収集された道路粉塵の簡便迅速な遺伝子毒性測定装置による有害性評価

庄司 良<sup>1</sup>, 滝上祐介<sup>1</sup>, 田口和之<sup>2</sup>, 田中良春<sup>2</sup>, L. Pirjola<sup>3</sup>

東京工業高等専門学校 物質工学科 (〒193-0997 八王子市柗田町 1220-2 E-mail:shoji@tokyo-ct.ac.jp)<sup>1</sup>

富士電機アドバンスドテクノロジー(株) 計測制御学部 (〒191-8502 東京都日野市富士町 1 番地

E-mail:taguchi-kazuyuki@fujielectric.co.jp)<sup>2</sup>

Department of Technology, Helsinki Polytechnic, P. O. Box 4020, Helsinki FIN-00099, Finland

E-mail:liisa.pirjola@stadi.fi )<sup>3</sup>

### 概要

本研究ではフィンランドにて開発された移動型大気粉塵採取測定自動車“Sniffer”を使用し直接的に自動車大気粉塵を採取し毒性評価試験を行った。毒性評価試験は発光微生物を用いる発光 umu 試験より行った。その結果、粒子径ごとに顕著な細胞毒性は確認されなかったが、遺伝毒性は一定の値で発現を確認した。これより粒子への吸着物が毒性を発現することが確認された。

キーワード: 大気環境, ナノ粒子, 道路粉塵, 遺伝子毒性, umu 試験

## 1. 序論

### 1.1 本研究の背景

近年、技術革新による新たな技術としていわゆる“ナノテクノロジー”が注目されている。ナノテクノロジーとはナノスケールでの材料(ナノマテリアル)を扱い、その性質、物性などより医療関係などの分野での応用が期待されている。<sup>2)</sup>

しかし一方で、近年では非意図的な人為的燃焼副産物としてのナノ粒子が大きな問題となっている。代表例としては車両エンジンから排出される SPM(粒子状浮遊物質)である。車両エンジンからは複数種の化学物質が排出されることが確認されており、それらが SPM へ吸着した際の毒性が懸念されている。さらに、これら粒子は容易に組織内部に到達するため、超微量での暴露でも有害性を示すと考えられている。<sup>2)</sup>

一方、ナノ粒子吸着物に対する遺伝毒性評価方法は確立されていない。本研究では、フィンランドで開発され、欧州各地で道路粉塵の測定実績がある移動型大気粉塵採取測定自動車である“Sniffer”により回収された粒子を発光 umu 試験により毒性評価し、道路粉塵への吸着物の有害性の評価をすることが目的である。

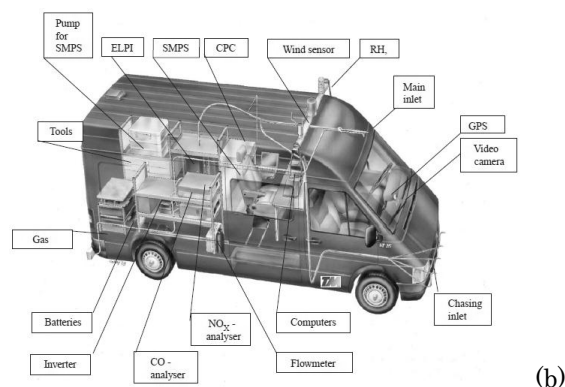
## 2. 実験方法と操作

### 2.1 既存実験方法の概要と説明

#### 2.1.1 移動型大気粉塵採取測定自動車“Sniffer”

大気粉塵の収集には“Sniffer”<sup>4) 5)</sup>と呼ばれる移動型大気粉塵採取測定自動車によりおこなった。“Sniffer”は既存の大気観測方法の手法である定点的な観測ではなく、道路

を走行して直接的に自動車による粉塵を採取できる。(Fig. 1) そのような手法によりフィンランド・ヘルシンキ市内での道路粉塵をサンプルとして粒子径別に収集し、それらを 2.1.2 での方法にて毒性評価を行った。



**Fig. 1** Tests for the exhaust plume to reach the main inlet or the chasing inlet. A passenger car with an exhaust tube in the left side.(a) Phantom figure of the equipment of the mobile laboratory “Sniffer”.(b)

#### 2.1.2 発光 umu 試験による毒性評価

発光 umu 試験とは 2 種類の発光微生物を用いた遺伝毒性評価法である。<sup>1) 2)</sup>それぞれ TL210 株は SOS 応答による

遺伝毒性、TL210oct1株は発光の減少による細胞毒性の評価が可能である。最近ではあらゆるところで活用されておりこの評価法を用いた報告例も多い。<sup>1)</sup>

## 2.2 発光 umu 試験を用いた大気粉塵毒性評価

### 2.2.1 サンプルの溶出

粉塵サンプルはフィルターに凝集していた粒子を培養用の棒にて引っかき、エペンドルフチューブへと移動し、20  $\mu$  l の純水を加えた。その後、超音波により溶出した。

### 2.2.2 発光 umu 試験操作とデータ整理方法

TL210, TL210oct1株をそれぞれ糖濃度2倍TGA培地(バクトリプトン 20g/L、塩化ナトリウム 5g/L、グルコース 4g/L)を用いて培養を行い、その菌液を96穴マイクロプレートに50  $\mu$  l 加え、粒子径別に試料を10  $\mu$  l 加え発光を測定した。ただし、TL210株は遺伝毒性が発現したときのみに対応し発光するため、遺伝毒性指標物質である4NQO(4-nitroquinoline-n-Oxide)を加え発光させた。このとき得られた結果は以下の式(1)にて整理した。

$$y = (Ls - Cp) / (Cn - Cp) \quad (1)$$

y: 発光率[-]

Ls: 試料暴露後の発光強度 [ev]

Cp: ポジティブコントロールの発光強度 [ev]

Cn: ネガティブコントロールの発光強度 [ev]

また、上記の式(1)で得られた発光率を縦軸とし横軸を粒子径別のサンプルとしグラフを作成した。

## 3. 結果と考察

各サンプルの試料暴露150分後の発光 umu 試験結果を Fig.2 に示す。2.1.2 で前述したとおり細胞毒性は発光率が減少するほどに強くなり、遺伝毒性は発光率が增大するともに大きくなる。また、細胞毒性の基準は0.01ppm4NQOである。発光率の計算、またグラフの作成は2.2.2の式(1)に従った。また横軸はELPI(Electronic Low Pressure Impostor)<sup>4)</sup>により分粒された粒度分布である。

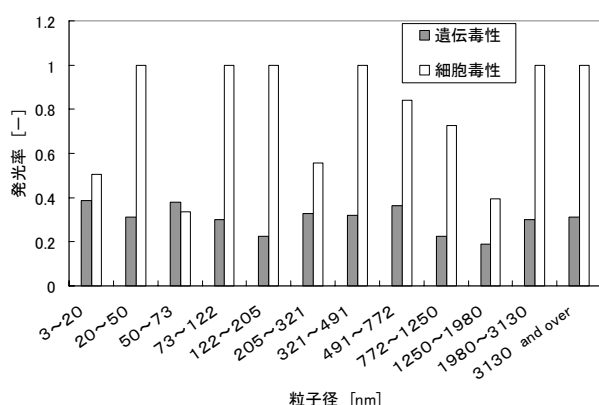


Fig. 2 Particle size distribution v. s. luminescence rate.

These particle size distribution data was provided by ELPI that analyses a particles data.

Fig.1から道路粉塵由来のナノ粒子の粒子径と細胞毒性には明確な関係が見出せない。また粒子径が4検体の粒子径においては発光率0.5以下の高い細胞毒性が発現しており、その他の検体に関しては発光率0.8またはそれ以上と顕著な細胞毒性が発現していない。本研究でのサンプルは道路より採取した粉塵を分離しているため、実環境ではこれらの粒子がすべて混合している。ゆえにすべてが混合した場合の重量あたりの細胞毒性を考慮すると非常に小さくなると推察され、その毒性は遺伝毒性よりはるかに小さい値となるため、本研究では細胞毒性を検討の対象から除外した。一方、遺伝毒性はすべての粒子で発光率0.3程度の一定の値をとった。採取したナノ粒子サンプルは微量であったため、曝露したナノ粒子の質量の把握は非常に困難であった。そのため本実験では曝露質量の検討を一切おこなっていない。質量に比例した遺伝毒性が発現することで、データに誤差がでることが懸念された。だが、結果では各試料でばらついた曝露質量であったにもかかわらず、ナノ粒子の粒径に依存せず、遺伝毒性は一定の値を示した。このことから遺伝毒性を発現する化学種は溶媒とある一定の比率で飽和溶解していると考えられ、吸着物は溶媒との平衡に達しており、そのために一定の発光を発現したと推察される。本実験で実施した umu 試験における培地は水溶液であることから、吸着物は水への溶解性があり、かつ遺伝毒性を発現する化学物質が吸着していたことが推察される。また、メタノールなどの有機溶媒を用いて抽出することでさらに強い遺伝毒性を検出できる可能性がある。また水に溶解された付着物の同定はおこなっていないので化学種は不明である。

## 4. 結論

道路粉塵由来のナノ粒子そのものまたはそれに対する吸着物が遺伝毒性を発現することが確認された。

今回は水を溶媒として抽出したためナノ粒子状の吸着物を全溶出はできていないと推察され、全体としての毒性、つまり潜在的な毒性は本実験の結果よりもさらに大きいものになると推察される。

発光 umu 試験における道路粉塵由来のナノ粒子の細胞毒性は小さいと結論されたが、道路粉塵由来のナノ粒子自体や吸着物の遺伝毒性に関して今後も研究の余地がある。

## [参考文献]

- 1) ナノ粒子のリスクアセスメント, 13章, 260-271 (2006)
- 2) K. Taguchi et al., *Environmental Science*, 571, 293-302 (2004)
- 3) L. Pirjola et al., *Atmospheric Environment*, 38, 3625-3635 (2004)
- 4) F. Arnold et al., *Atmospheric Environment*, 40, 7097-7105 (2006)
- 5) 河上聖人ら, *EICA*, 10, 3, 63-69 (2005)