

モデルケースとしての多環芳香族炭化水素の 複合毒性影響評価

愛媛大学沿岸環境科学研究センター 仲山 慶

1. 緒言

環境中には様々な化学物質が存在しており、生物はそれらに複合的に暴露されている。複数の化学物質による毒性影響、いわゆる複合毒性 (Mixture Toxicity) はその重要性は認識されているものの、作用機序の複雑さ故、研究が遅れているのが現状である。我々は本研究を含む一連の研究によって、環境中に存在する化学物質の混合物が生物に与える影響を評価する手法の開発を最終目標に掲げており、本研究によって有用なひとつのモデルケースを構築することを目的とした。

本研究では、多環芳香族炭化水素 (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: PAHs) の複合毒性影響を評価した。我々は PAHs の混合物としての重油の毒性影響評価を行った一連の研究の中で、重油あるいは重油の水溶性画分は魚類の胚に対して重篤な発生毒性を示す一方で、ピレン (Pyr) などの単独の PAHs では影響が発現しないことを明らかにしている。また、Pyr とフェナントレン (Phe) がそれぞれ単独では無作用濃度であっても、複合的な暴露によって主要な細胞外マトリクスであるコラーゲンファミリーの mRNA 発現量を著しく減少させることを明らかにしている。このように、PAHs の複合暴露が原因であると推定される現象はいくつか観察されているが、定量的な影響評価や作用機序の解明には至っていない。本研究では PAHs の複合毒背の解明を通じて、化学物質の複合毒性への関心を高めるとともに、その評価法の確立を推進させることを主要な目的とした。また、細胞外マトリクスが受ける影響を詳細に解析し、PAHs の新たな毒性作用機序を考察した。

2. 材料と方法

ふ化直後、ふ化後 2 週齢または 1 ヶ月齢の異なるライフステージのメダカに対して Phe と Pyr を単独または複合で暴露し、軟骨に主に含まれている II 型コラーゲン (Co12A1) の mRNA 発現量を測定するとともに、1 ヶ月齢のメダカにおいては魚体内の PAHs 濃度を測定した。また、受精直後からふ化後 4 日目まで同様の暴露を受けたメダカ仔魚における軟骨組織の観察を行った。さらに、メダカ全魚体由来の不溶性タンパク質に含まれるヒドロキシプロリンの濃度を測定し、コラーゲン総量の測定を試みた。

3. 結果と考察

ふ化後 1 ヶ月齢の稚魚においては、PAHs 暴露開始から 24 時間後に、複合区においてのみ Co12A1

の発現量が減少し始め、96 時間後には Phe 単独区と複合区で有意な減少が検出され、その影響は複合区でより顕著であった (図)。いずれの暴露期間においても Phe および Pyr の体内濃度は単独区と複合区で同レベルであり、この影響の差異は単純に暴露終了時の体内濃度のみでは説明できず、Col2A1 発現抑制の閾値を超えて暴露を受けた時間が複合区で長かったことに起因するのではないかと推察された。一方で、ふ化直後の仔魚においては Phe 単独区および複合区で Col2A1 の発現量が増加しており、PAHs 暴露による Col2A1 の発現に対する影響はライフステージによって大きく異なることが示唆された。このように PAHs 暴露はコラーゲンの発現量を大きく変化させたが、受精からふ化後 4 日目まで PAHs に連続暴露された個体において、尾部軟骨の明らかな発生異常は観察されなかった。また、不溶性タンパク質画分に含まれるヒドロキシプロリンの定量法を構築し、今後は遺伝子レベルおよびタンパク質レベルでのコラーゲンの量的変化を検出することが可能となった。

本研究の結果、PAHs の暴露によってコラーゲンの発現量が変化することが明らかとなった。今後、コラーゲンの発現量が変化する Phe および Pyr の体内濃度の閾値を求め、影響の発現と閾値を超過した時間との関係を精査し、複合暴露区において影響が早く現れた原因を解明したい。

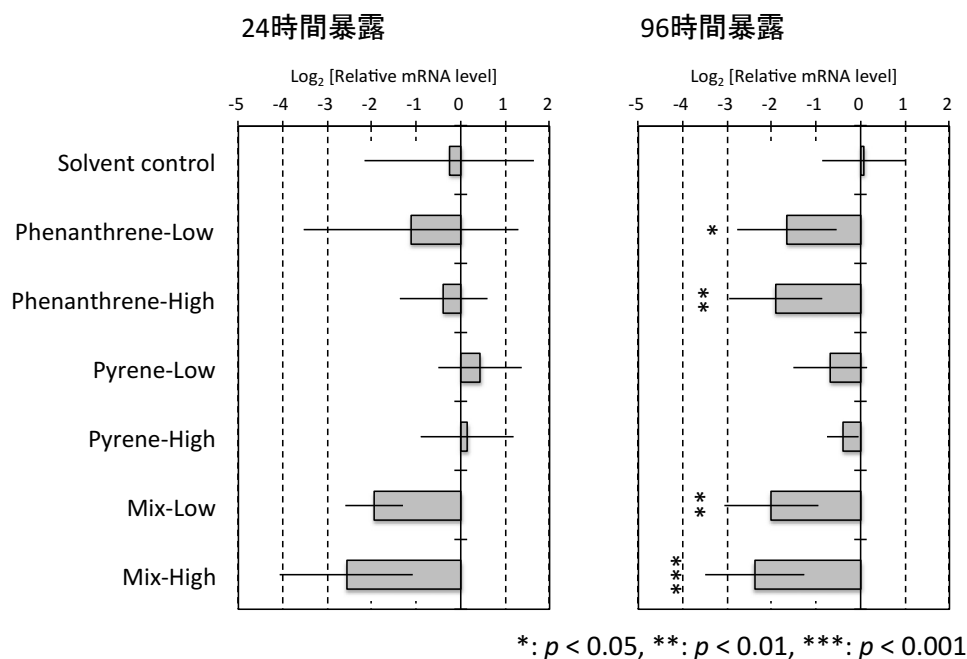


図. フェナントレン (5, 50 ppb) およびピレン (3, 30 ppb) を単独または複合暴露した1ヶ月齢メダカ稚魚におけるCol2A1のmRNA発現量