

遺伝毒性物質等による中国の大気汚染の現状及び
汚染物質の西日本沿岸地域への越境輸送に関する研究

【薬科学専攻】 公衆衛生学分野

COULIBALY SOULEYMANE

目次

序 章	1
第1章 遺伝毒性物質等による中国及び日本の大都市の大気汚染	
1-1 緒 言	3
1-2 方 法	5
1-3 結 果	16
1-4 考 察	23
第2章 遺伝毒性物質等による西日本沿岸地域の大気汚染に対する越境輸送の影響	
2-1 緒 言	25
2-2 方 法	26
2-3 結 果	29
2-4 考 察	39
総 括	41
謝 辞	42
引用文献	43

略語表

BaA	: benzo[<i>a</i>]anthracene
BaP	: benzo[<i>a</i>]pyrene
BbF	: benzo[<i>b</i>]fluoranthene
BghiP	: benzo[<i>g,h,i</i>]perylene
BkF	: benzo[<i>k</i>]fluoranthene
CH	: chrysene
DahA	: dibenz[<i>a,h</i>]anthracene
DMSO	: dimethyl sulfoxide
Em	: 蛍光波長 (emission wavelength)
Ex	: 励起波長 (excitation wavelength)
FL	: fluoranthene
G6P	: G-glucose 6-phosphate disodium salt
IARC	: 国際がん研究機関 (International Agency for Research on Cancer)
IcdP	: indeno[1,2,3- <i>cd</i>]pyrene
JMA	: 気象庁 (Japan Meteorological Agency)
LIDAR	: ライダー (light detection and ranging)
NADH	: nicotinamide-adenine dinucleotide
NADPH	: nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate
6-NCH	: 6-nitrochrysene
2-NFR	: 2-nitrofluoranthene
3-NFR	: 3-nitrofluoranthene
NIES	: 国立環境研究所 (National Institute for Environmental Studies)
NOAA	: アメリカ合衆国海洋大気庁 (National Oceanic and Atmospheric Administration)
NPAHs	: ニトロ多環芳香族炭化水素 (nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons)
1-NPY	: 1-nitropyrene
2-NPY	: 2-nitropyrene
4-NPY	: 4-nitropyrene
PAHs	: 多環芳香族炭化水素 (polycyclic aromatic hydrocarbons)
PhIP	: 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5- <i>b</i>]pyridine
PY	: pyrene
TSP	: 大気粉塵 (total suspended particle)
US EPA	: 米国環境保護庁 (United States Environmental Protection Agency)

序 章

大気中に浮遊している粒子状物質には、土壌粒子や花粉など自然起源のものとボイラー、焼却炉などばい煙を発生する施設や自動車、航空機等から排出される人為起源のものがある。また、大気中には、このような発生源から直接排出される1次粒子と、硫黄酸化物、窒素酸化物、揮発性有機化合物等のガス状大気汚染物質が、大気中で反応して生成する2次粒子がある。微小粒子状物質（PM_{2.5}）とは、大気中に浮遊している粒径約2.5 μm以下の粒子であり、呼吸器系及び循環器系における疾患と関連することが報告されている¹⁾。疫学研究の結果、大気汚染が肺がんや呼吸器疾患による死亡と関連があることが報告されており²⁻⁶⁾、国際がん研究機関（IARC）は、2013年に大気汚染が、がんによる死亡の主要な環境要因であると発表し、屋外大気汚染とその主な汚染物質である粒子状物質をヒトに対して発がん性を有するグループ1に分類した⁷⁾。

中国では1990年代に本格化した経済発展に伴い、大気環境が悪化してきた⁸⁾。中国は、2010年以降、世界最大の1次エネルギー消費国であり、2014年の1次エネルギー消費量は29億7200万トン（石油換算）であった⁹⁾。主な1次エネルギーは国により異なり、日本では石油が、中国では石炭が主に用いられ、中国の1次エネルギーの約70%が石炭である⁹⁾。石炭や石油などの化石燃料は不完全燃焼により、多環芳香族炭化水素（PAHs）やニトロ多環芳香族炭化水素（NPAHs）のような遺伝毒性物質を生成する¹⁰⁻¹³⁾。しかし、これまで中国における大気の遺伝毒性物質による汚染状況や変異原性などに関する報告は限られていた¹⁴⁻¹⁶⁾。

黄砂は、中国大陸内陸部のタクラマカン砂漠、ゴビ砂漠、黄土高原などの乾燥・半乾燥地域で風により巻き上げられた土壌・鉱物粒子が偏西風により東方に運ばれ、大気中に浮遊あるいは降下する自然現象である。黄砂は、年間を通じて日本に飛来するが、特に2月から増加し始め、3月～5月に多く飛来する¹⁷⁾。黄砂粒子には、石英などの造岩鉱物や緑泥石などの粘土鉱物が多く含まれているが、硫酸イオンなど土壌起源ではないと考えられる物質も検出され、輸送途中の人為起源の大気汚染物質とともに飛来する可能性が示唆されている¹⁸⁾。東アジア地域では、偏西風に加え、冬季にシベリア高気圧から吹く北西風（季節風）が卓越しており、大気汚染物質が長距離輸送される可能性があり、近年、中国から人為起源汚染物質が台湾、韓国、日本を含めた風下域へ越境輸送されていることが報告されるようになってきた¹⁹⁻²⁵⁾。東アジアにおける黄砂並びに人為起源大気汚染物質の発生及び移動は、韓国において衛星データと地上での測定によりモニタリングされており^{20,21)}、Kimらは、東中国から朝鮮半島へ人為起源大気汚染物質が移流すること並びに黄海上空で煙として人為起源汚染物質が検出されることを示した²⁰⁾。Takamiらは、沖縄県の辺戸岬で人為的エアロゾルと黄砂を調べ、人為的エアロゾルが台湾と南中国で発生し、寒冷前線にともなって輸送されることを明らかにした²³⁾。また、Oharaらは、高濃度光化学オゾンの発生を全国の観測所において得られた1時間ごとの大気汚染データと東アジアにおける化学輸送モデルを用いて解析し、オゾン、二酸化硫黄及び人為的エアロゾルがアジア大陸から輸送される可能性があることと結論付けた²⁴⁾。著者らは、2008年7月から1年間にわたって毎月4日間ずつ関東以西の10か所で同時期に大気粉塵（TSP）を捕集して変異原性を調べ、黄砂が観測された日に捕集された粉塵の変異原性が多くの地点で高かったことを明らかにした²⁶⁾。これらの結果は、中国において発生した遺伝毒性物質が季節風や偏西風などにより日本に輸送される可能性があることを示唆している。しかし、これまで遺伝毒性物質

の日本への長距離輸送に関する詳細な報告はなかった。

本研究は、日本の風上に位置し越境大気汚染の発生源になることが予想される中国の大都市である北京市の大気の大気汚染物質及びその他汚染物質による汚染状況を明らかにするとともに西日本の日本海沿岸に位置し越境大気汚染の影響を受けやすいと予想される鳥取県湯梨浜町で大気の大気汚染物質及びその他汚染物質による汚染状況を調査し、日本国内での越境大気汚染の実態を明らかにすることを目的に実施した。第1章では偏西風や季節風による越境輸送が発生することが予想される春季及び冬季に北京市及び比較のために日本国内の大都市（大阪市及び名古屋市）において行った大気汚染の調査研究の結果について、第2章では鳥取県湯梨浜町において春季及び冬季を重点的に年間を通じて行った大気汚染の調査研究の結果について詳述する。

1-1 緒言

中国北部に位置する北京市—天津市—河北省地域では深刻な煙霧が発生している²⁷⁾。煙霧とは、砂塵や煙のような乾燥した粒子により視界が悪くなる現象である。Zhaoらは、この地域内の4都市において2009年から2010年に四季に分けてPM_{2.5}濃度を調査し、冬季に石家荘市 Shijiazhuang と承德市 Chengde においてPM_{2.5}濃度が最も高く、その原因が石炭燃焼であることを明らかにした²⁸⁾。

今回、著者は、北京市における春季及び冬季の大気汚染の状況を明らかにするため、2011年2月下旬～2011年5月及び2012年11月～2013年2月上旬にTSPを捕集した。また、汚染状況を比較するため、日本の大都市である大阪市及び名古屋市においても同時期にTSPを捕集した。なお、2014年における、北京市の人口は、約21,009,000人（面積3,820 km²、人口密度約5,500人/km²）であり、2015年における大阪市及び名古屋市の人口は、それぞれ約2,694,000人（面積225 km²、人口密度約11,970人/km²）及び約2,280,000人（面積326 km²、人口密度約6,990人/km²）であった。

これら3市において捕集したTSPについて、化学成分分析を行うとともに粉塵抽出物の変異原性を試験した。化学成分として鉄(Fe)、鉛(Pb)、硫酸イオン(SO₄²⁻)、硝酸イオン(NO₃⁻)、PAHs、NPAHsの濃度を測定した。Feは、地殻中の主要成分であり、黄砂など粉塵中の土壌成分の指標になる²⁹⁾。Pbは、地殻中の微量成分であり、石炭や廃棄物の燃焼により大気中に放出される³⁰⁾。SO₄²⁻は、石炭や石油中の硫黄が燃焼により酸化されて生成する。NO₃⁻は、化石燃料中の窒素の燃料による酸化と空気中の窒素の燃焼による酸化により生成する。このように、Pb、SO₄²⁻及びNO₃⁻は燃焼により生成する大気汚染物質である。PAHsとNPAHsは、有機物の不完全燃焼で生成する代表的な環境中の遺伝毒性物質である¹⁰⁻¹³⁾。本研究では、米国環境保護庁(US EPA)により優先汚染物質に指定されている10種のPAHsを分析した。遺伝毒性として変異原性を哺乳類の代謝活性化系(S9 mix)の非存在下及び存在下においてAmes法により試験した。試験には大気中の変異原性物質に対して感受性の高い*Salmonella Typhimurium* YG1024株を用いた²⁶⁾。YG1024株は、フレームシフト型突然変異感受性である*Salmonella Typhimurium* TA98株に*O*-acetyltransferaseの遺伝子を含むプラスミドを導入した*O*-acetyltransferase高産生株である³¹⁾。さらに、大気汚染物質の発生源推定に有効であることが報告されている特異的PAHs比及び特異的PAHs/NPAHs比を算出し、それらの発生源を推定した。

Fig. 1及びFig. 2に、それぞれ分析したPAHs及びNPAHsの化学構造式、分子量及びIARCによるヒトに対する発がん性評価の結果を示す。

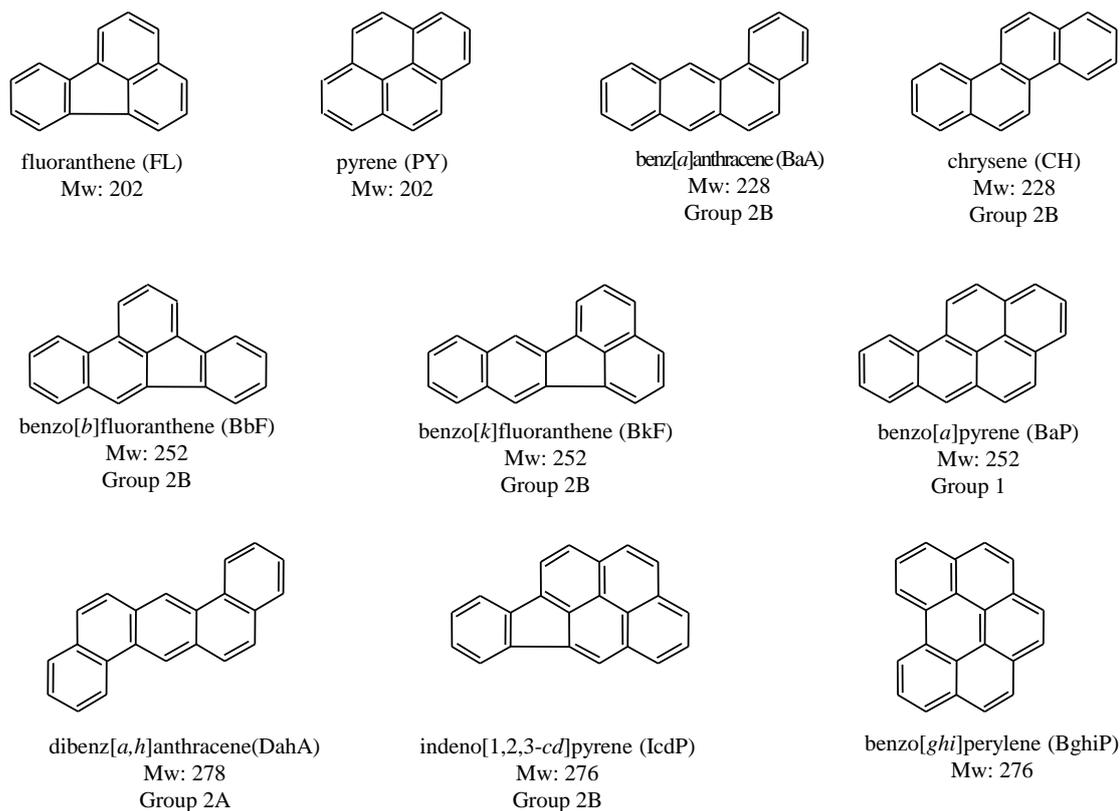


Fig. 1 Chemical structure, molecular weight, and IARC category of PAHs
 Group 1: Carcinogenic to human. Group 2A: Probably carcinogenic to human.
 Group 2B: Possibly carcinogenic to human.

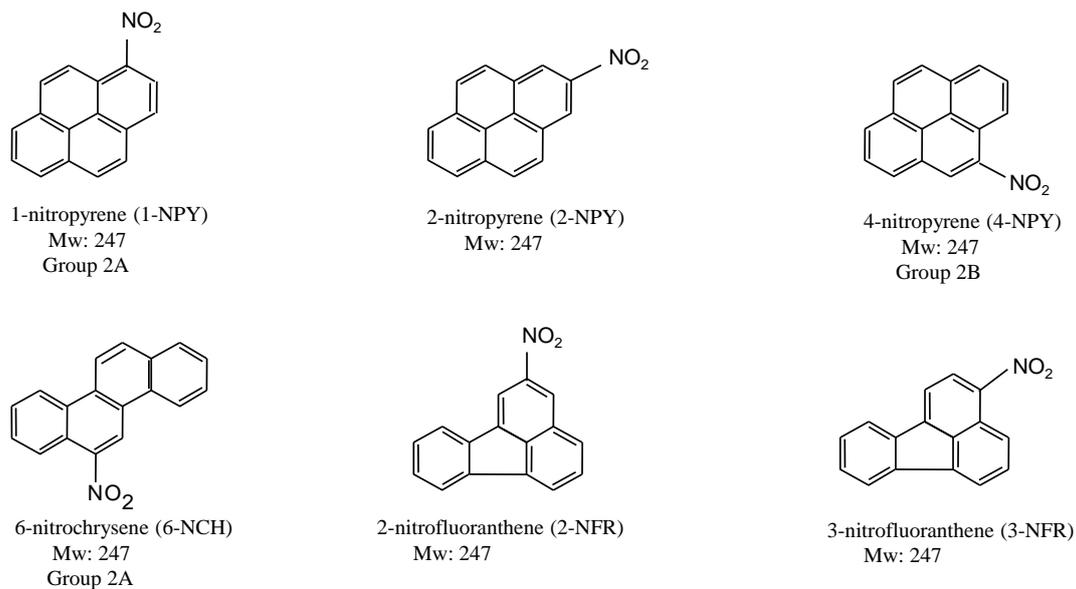


Fig. 2 Chemical structure, molecular, weight, and IARC category of NPAHs
 Group 2A: Probably carcinogenic to human. Group 2B: Possibly carcinogenic to human.

1-2 方法

1-2-1 試薬等

Pyrene (PY)、fluoranthene (FR)、 β -naphthoflavone、ampicillin、tetracycline、メタノール、エタノール、硝酸、塩酸、ふっ化水素酸及び塩化カリウムは、ナカライテスク社製を用いた。Benzo[*b*]fluoranthene (BbF)、benzo[*a*]pyrene (BaP)、benzo[*k*]fluoranthene (BkF)、indeno[1,2,3-*cd*]pyrene (IcdP)、過塩素酸、オリーブ油、テトラヒドロフラン、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム及び塩化マグネシウム六水和物は、和光純薬工業社製を用いた。Dibenz[*a,h*]anthracene (DahA)、benz[*a*]anthracene (BaA)、1-nitropyrene (1-NPY)、2-nitropyrene (2-NPY)、4-nitropyrene (4-NPY)、2-acetylaminofluorene 及び phenobarbital は、東京化学社製を用いた。Benzo[*ghi*]perylene (BghiP)、chrysene (CH)、3-nitrofluoranthene (3-NFT)、6-nitrochrysene (6-NCH) 及びアセトニトリルは、Sigma Aldrich 社製を用いた。2-Nitrofluoranthene (2-NFT) は、Chiron 社製を用いた。Dimethyl sulfoxide (DMSO) は Dojin 社製を用いた。Nutrient broth No.2 は OXOID 社製を用いた。D-Glucose 6-phosphate disodium salt (G6P)、nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate (NADPH) 及び nicotinamide-adenine dinucleotide (NADH) はオリエンタル酵母社製を用いた。石英繊維製フィルター (8×10 inch) は Pall Life Science 社製を用いた。

1-2-2 TSP の捕集及び試料の保存

TSP は、北京市 (中国科学院生態環境研究中心 : 116.34°E、40.01°N)、大阪市 (大阪市立環境科学研究所 : 135.53°E、34.66°N) 及び名古屋市 (名古屋市環境科学調査センター : 136.92°E、35.10°N) においてハイボリウムエアサンプラー (HV1000R、柴田科学社製) を用いて約 24 時間ずつ石英繊維製フィルター上に捕集した (Fig. 3)。捕集は、午前9時頃に開始し、大気を北京市では約 400 L/min、大阪市と名古屋市では約 1000 L/min で吸引した (積算流量 : 403.8~1491.3 m³)。捕集は、Table 1 に示す 2011 年 2 月下旬~2011 年 5 月 (春季) 及び 2012 年 11 月~2013 年 2 月上旬 (冬季) に実施した。

フィルターは、TSP の捕集前後に気温約 20°C、湿度約 50% の室内において、恒湿槽 (湿度約 50%) 内で恒湿恒量化した後、秤量した。粉塵を捕集したフィルターは、使用するまで -80°C 以下で保存した。

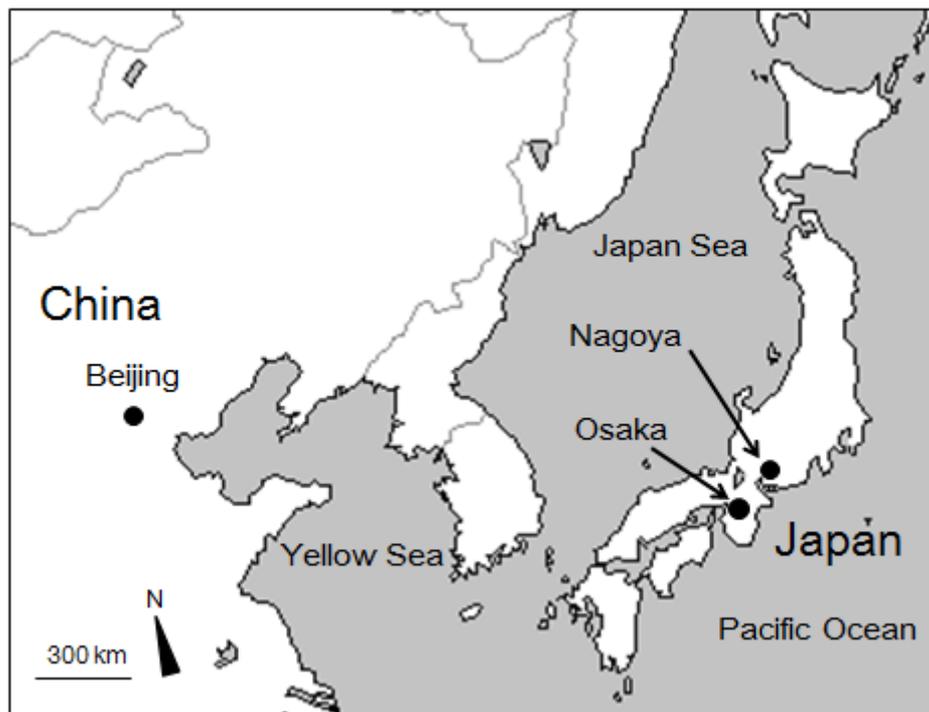


Fig. 3 Locations of Beijing, Osaka, and Nagoya.
(*Biol. Pharm. Bull.* in press (2015) Fig. 1)

Table 1 Sampling days of TSP at Beijing, Osaka and Nagoya

Sampling site	Spring				Winter			
	2011		2012		2012		2013	
	February	March	April	May	November	December	January	February
Beijing	11-16	7-11	11-15	24-28	5-9	10-14	7-11	4-8
Osaka	16, 21, 22	10, 14, 22-24	11-14	23-26	5-8	10-13	7-10	4-7
Nagoya	14, 15, 17	7-10	11-15	23-26	5-8	10-13	7-10	4-8

Sampling periods were as follows: spring (late February 2011–May 2011) and winter (November 2012–early February 2013).

Sampling periods were each 20 days at Beijing and 16 days at Osaka and Nagoya.

(*Biol. Pharm. Bull.* in press (2015) Table 1)

1-2-3 金属元素の定量分析

TSP を捕集したフィルター（面積で 10%）を 1 cm×2 cm 程度に細かく切り、四ふっ化エチレン製ビーカーに入れ、硝酸 20 ml、塩酸 5 ml を加え、四ふっ化エチレン製時計皿で覆い、ホットプレート上（130℃）で加熱した。冷却後、硝酸 10 ml、過塩素酸 3 ml、ふっ化水素酸 3 ml を加え、時計皿をずらしてかぶせホットプレート上（約 200℃）で加熱した³²⁾。その後、蒸留水 50 ml で内容物を溶解し、ろ紙を用いてろ過し、蒸発乾固した後、0.2 M 硝酸 10 ml で溶解し、試験溶液とした。Fe は誘導結合プラズマ発光分光分析装置（IRIS 1000、Thermo Fisher Scientific 社製）を用い Table 2 に示す条件で、Pb は原子吸光光度計（AAnalyst 600、Perkin Elmer 社製）を用い Table 3 に示す条件でそれぞれ分析した³³⁾。

Table 2 Conditions for quantification of iron

Wavelength	: 238.2 nm
RF power	: 1150 W
Plasma gas	: Ar 14 L/min
Auxiliary gas	: Ar 0.5 L/min
Nebulizer Pressure	: 26 psi
Instrument	: IRIS1000

Table 3 Conditions for quantification of lead

Wavelength	: 283.3 nm
Pyrolysis Temp	: 900℃
Atomization Temp	: 1800℃
Matrix modifier	: Pd-Mg
Carrier gas	: Ar
Instrument	: AAnalyst 600

1-2-4 水溶性イオンの定量分析

TSP を捕集したフィルター（面積で 5%）を 1 cm×2 cm 程度に細かく切り、超音波発生装置（BRANSON 3510、日本エマソン社製）を用い、蒸留水 50 ml で 45 分間抽出した。抽出液をメンブレンフィルター（DISMIC-25CS、アドバンテック社製）でろ過し、試験溶液とした。SO₄²⁻及び NO₃⁻は、アニオンサプレッサー（ASRS300、DIONEX 社製）、アニオン分離カラム（AS4A-SC、DIONEX 社製）及び電気伝導度検出器（ICA-3030、TOA 社製）を用い、Table 4 に示す条件で分析した³⁴⁾。

Table 4 Conditions for quantification of water-soluble ionic species

Column	: AS4A-SC (i.d. 4.0 mm × 250 mm)
Mobile Phase	: sodium carbonate 8.0 mmol/L sodium hydrogen carbonate 1.0 mmol/L
Flow rate	: 1.0 ml/min
Column temperature	: 30°C
Instrument	: ICA-3030

1-2-5 PAHs 及び NPAHs の定量分析

PAHs 及び NPAHs は、それぞれ 10 種類 (BghiP、DahA、BaP、PY、FR、IcdP、BbF、BaA、BkF、CH) 及び 6 種類 (1-NPY、2-NPY、4-NPY、6-NCH、2-NFR、3-NFR) を分析した。TSP を捕集したフィルター (面積で 40%) を 1 cm × 2 cm 程度に細かく切り、超音波発生装置を用い、メタノール 100 ml で 20 分間抽出した³⁵⁾。抽出液 75 ml をろ過後、溶媒を留去した。残渣をエタノール 10 ml に溶解して試験溶液とし、PAHs を Wakosil-PAHs カラム (和光純薬工業社製) 及び蛍光検出器 (島津製作所製) を用い、Table 5 に示す条件で分析した。なお、各 PAHs の分析は以下の励起波長 (Ex) 及び蛍光波長 (Em) で行った: Ex 250 nm/Em 420 nm (FR 及び PY)、Ex 270 nm/Em 400 nm (BaA、CHR、BbF 及び BkF)、Ex 296 nm/Em 410 nm (BaP、DahA 及び BghiP)、Ex 300 nm/Em 500 nm (IcdP)³⁵⁾。

Table 5 Conditions for quantification of PAHs

Column	: Wakosil-PAHs (5 µm, i.d. 4.6 mm × 250 mm)	
Mobile phase	: A) methanol/H ₂ O = 80/20(v/v) B) acetonitrile 0–20 min B conc. 10–75% linear gradient 20–30 min B conc. 75%	
Flow rate	: 1.0 ml/min	
Column temperature	: 40°C	
Wavelength	0–11.5 min	Ex 250 nm/Em 420 nm
	11.5–18.75 min	Ex 270 nm/Em 400 nm
	18.75–23.3 min	Ex 296 nm/Em 410 nm
	23.3–30 min	Ex 300 nm/Em 500 nm
Instrument	: RF-20AXs	

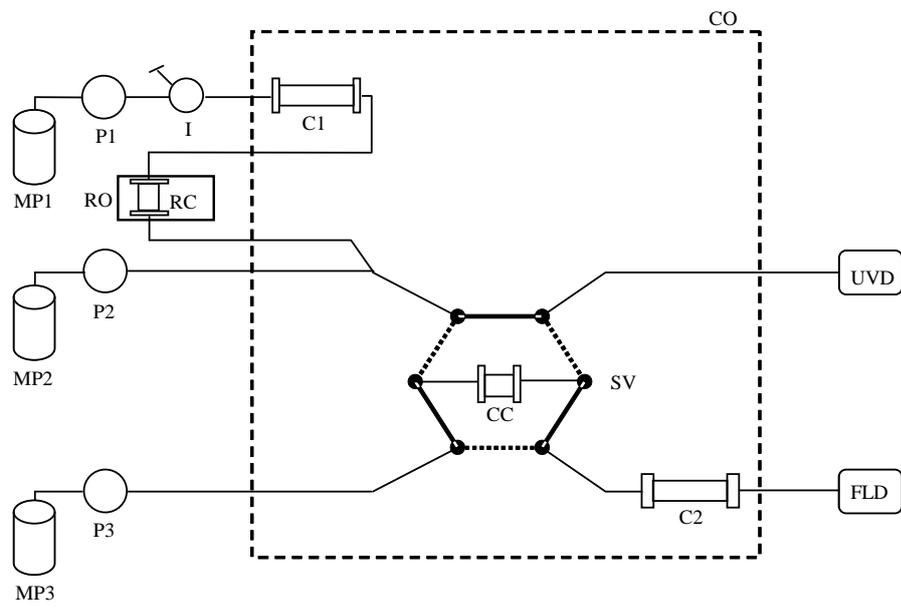
試料溶液 9.9 ml を溶媒留固後、残渣を 50% テトラヒドロフラン 1 ml に溶解し、その溶液 0.6 ml を centrifuge 5415D (Eppendorf 社製) に入れ、10000 rpm で 10 min 遠心分離した。上清 0.45 ml を π NAP カラム(ナカライテスク社製)に注入し、Table 6 に示した条件で NPAHs を精製した。1-NPY、4-NPY、3-NFR、2-NFR、2-NPY 及び 6-NCH は、それぞれ保持時間 45、46、46、47、47 及び 51 min に溶出したため、溶出時間 43–54 min の溶出液を分取し、溶媒留去後の残渣を NPAHs 画分とした。

Table 6 Conditions for clean-up of NPAHs

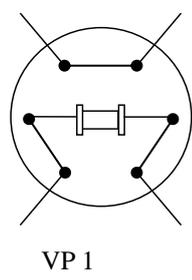
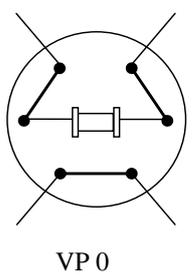
Column	: π NAP (5 μ m, i.d. 4.6 mm \times 250 mm)
Mobile phase	: 0–20 min 70% methanol 20–50 min 70–100% methanol linear gradient 50–70 min 100% methanol
Flow rate	: 0.7 ml/min
Column temperature	: 40°C

NPAHs 画分を 80% メタノール 0.5 ml に溶解後、その溶液 0.1 ml を Table 7 に示す条件に設定した二次元 HPLC (Fig. 4) に注入し、Table 8 に示すタイムプログラムでカラムスイッチを行い、2-NFR 及び 3-NFR を分析した。また、NPAHs 溶液 0.1 ml を Table 9 に示す条件に設定した二次元 HPLC に注入し、Table 10 に示すタイムプログラムでカラムスイッチを行い、1-NPY、2-NPY、4-NPY 及び 6-NCH を分析した。1-NPY と 3-NFR は同時に分析するとピークが重なるため、上記 2 種類の条件で分析を行った²⁶⁾。

各 NPAHs は NP pak RL カラムを用いてアミノ体に還元し³⁶⁾、以下の Ex 及び Em で分析を行った: Ex 244 nm/Em 438 nm (1-, 2-及び 4-aminopyrene)、Ex 244 nm/Em 528 nm (2-及び 3-aminofluoranthene)、Ex 270 nm/Em 430 nm (6-aminochrysene)³⁷⁾。



- | | | | |
|-----|------------------|-----|-------------------------|
| MP1 | : Mobile phase 1 | C1 | : Column 1 |
| MP2 | : Mobile phase 2 | CC | : Concentration column |
| MP3 | : Mobile phase 3 | C2 | : Column 2 |
| P1 | : Pump 1 | RC | : Reducer column |
| P2 | : Pump 2 | RO | : Reaction oven |
| P3 | : Pump 3 | SV | : Switch valve |
| I | : Injector | UVD | : UV detector |
| | | FLD | : Fluorescence detector |
| | | CO | : Column oven |



VP0: Valve position 0
VP1: Valve position 1

Fig. 4 Schematic diagram of the column switching HPLC system

Table 7 Conditions of column switching HPLC system to analyze
2-NFR and 3-NFR

C1	:	Inertsil ODS-EP (5 μ m, i.d. 4.6 mm \times 150 mm)
C2	:	COSMOSIL 5C ₁₈ -AR- II (5 μ m, i.d. 4.6 mm \times 250 mm)
CC	:	COSMOSIL 5C ₁₈ -AR- II (5 μ m, i.d. 4.6 mm \times 10 mm)
RC	:	NP pak RL (i.d. 4.6 mm \times 30 mm)
RO	:	80°C
CO	:	40°C
MP1	:	80% methanol
MP2	:	Water
MP3	:	60% methanol in 1% formic acid
P1	:	0.7 ml/min
P2	:	0 or 2.5 ml/min
P3	:	1.0 ml/min
Wavelength	:	254 nm (UVD), Ex 244/Em 528 nm (FLD)
Instrument	:	SPD-20A (UVD), RF-20Axs (FLD)

Table 8 Time program of valve position and flow rates on the column switching
HPLC system for 2-NFR and 3-NFR

Time (min)	Valve position	Flow rate (ml/min)		
		P1	P2	P3
0 – 21.5	0	0.7	0	1
21.5 – 26.8	0	0.7	2.5	1
26.8 – 28.8	1	0.7	0	1
28.8 – 120	0	0.7	0	1

Table 9 Conditions of column switching HPLC system to analyze 1-NPY, 2-NPY, 4-NPY and 6-NCH system for 2-NFR and 3-NFR

C1	: Inertsil ODS-EP (5 μ m, i.d. 4.6 mm \times 150 mm)
C2	: COSMOSIL 5C ₁₈ -AR- II (5 μ m, i.d. 4.6 mm \times 250 mm)
CC	: COSMOSIL 5C ₁₈ -AR- II (5 μ m, i.d. 4.6 mm \times 10 mm)
RC	: NP pak RL (i.d. 4.6 mm \times 30 mm)
RO	: 80°C
CO	: 40°C
MP1	: 80% methanol
MP2	: Water
MP3	: 60% methanol in 1% formic acid
P1	: 0.7 ml/min
P2	: 0 or 2.5 ml/min
P3	: 1.0 ml/min
Wavelength	: 254 nm (UVD) 0–65.0 min Ex 244 nm/Em 438 nm 65.0–120.0 min Ex 270 nm/Em 430 nm (FLD)
Instrument	: SPD-20A (UVD), RF-20Axs (FLD)

Table 10 Time program of valve position and flow rates on the column switching HPLC system for 1-NPY, 2-NPY, 4-NPY and 6-NCH

Time (min)	Valve position	Flow rate (ml/min)		
		P1	P2	P3
0 – 21.2	0	0.7	0	1
21.2 – 36	0	0.7	2.5	1
36 – 38	1	0.7	0	1
38 – 120	0	0.7	0	1

1-2-6 変異原性試験

TSP を捕集したフィルター（面積で 40 %）を 1 cm×2 cm 程度に細かく切り、超音波発生装置を用い、メタノール 100 ml で 20 分間抽出した。抽出液 75 ml をろ過後、溶媒を留去した²⁶⁾。残渣を DMSO に溶解し、試験溶液とした³⁸⁾。

変異原性は、*Salmonella Typhimurium* YG1024 株を用い、Ames 法（プレインキュベーション法）により試験した³⁸⁾。YG1024 株は、国立衛生研究所の能美博士より供与された。Ampicillin 溶液（20 mg/ml）10 μ l 及び tetracycline 溶液（10 mg/ml）10 μ l を添加した nutrient broth 液体培地 10 ml に菌懸濁液 20 μ l を接種して 37°C で 12 時間振とう培養した菌懸濁液（生菌数 1 ~ 2 × 10⁹ 個/ml）を調製した。

TSP 中には、NPAHs のように S9 mix による代謝なしで変異原性を示し、S9 mix により代謝されて変異原性が減弱する物質と PAHs のように変異原性の発現に S9 mix による代謝活性化を必要とする物質が存在していると考えられるため、本研究では S9 mix 非存在下及び存在下で変異原性を試験した。S9 mix は、Sparague-Dawley 系ラット（オス、7 週齢、体重約 200 g、日本エスエルシー社）に phenobarbital 及び β -naphthoflavone を投与して薬物代謝酵素を誘導した肝臓をホモジネート後、9000 × g で遠心分離して得た S9 を用い、Table 11 に示す組成となるよう補酵素等を加えて調製した³⁸⁾。S9 mix は、メンブレンフィルター（マイレクス - GS 0.22 μ m、メルクミリポア社製）でろ過滅菌後、使用した。S9 の作製は、京都薬科大学動物実験研究委員会により承認を受けたのち、京都薬科大学の動物実験のためのガイドラインに従って実施した。

Table 11 Composition of S9 mix

0.2M Phosphate buffer	: 5.0 ml
MgCl ₂ -KCl solution	: 0.2 ml
G6P solution	: 17 mg/0.1 ml
NADPH solution	: 36.2 mg/0.4 ml
NADH solution	: 30.52 mg/0.4 ml
Water	: 2.9 ml
S9	: 1.0 ml

試料溶液 0.1 ml、菌懸濁液 0.1 ml 及び 0.1 M リン酸緩衝液（もしくは S9 mix）0.5 ml を混合し、37°C で 20 分間プレインキュベーション後、軟寒天 2 ml と混合し、最少グルコース寒天培地に注ぎ、一様に広げて 37°C で 72 時間培養した。培養後、復帰変異により生じたコロニー数をカウントした。

試料用量と復帰変異コロニー数との間に良好な相関性が認められ、かつ自然復帰コロニー数の 2 倍のコロニー数を生じた場合に変異原性が陽性と判定した。また、試料用量と復帰変異コロニー数から最小二乗法を用いて回帰直線の式を求め、その直線の傾きから大気 1 m³ あたりの変異原性活性

を算出した。なお、陽性対照として、S9 mix 非存在下では1-NPY 溶液 (0.1 µg/ml) を、S9 mix 存在下では2-acetylaminofluorene 溶液 (0.2 µg/ml) を用いた。また、陰性対照として DMSO を用いた。

1-2-7 統計学的解析

統計学的解析（相関係数の算出、Dunnnett's 検定等）は、Microsoft Office Excel 2013 を用いて行った。TSP 中の特異的 PAHs 比及び特異的 PAHs/NPAHs 比の有意差検定は、non-repeated one-way ANOVA 及び Dunnnett's 検定により行った。

1-3 結果

1-3-1 北京市、大阪市及び名古屋市における大気汚染物質の濃度

春季（2011年2月下旬～2011年5月）及び冬季（2012年11月～2013年2月上旬）に北京市、大阪市及び名古屋市で捕集したTSP及びTSP中の SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、PAHs及びNPAHsの分析結果と対応する積算空気量から算出した各物質の大気中濃度の中央値、最低値及び最大値をTable 12に示す。TSP中のPAHs及びNPAHsを評価するため、PAHs 10種類及びNPAHs 6種類を分析し、それぞれの濃度の和をTotal PAHs及びTotal NPAHsとして算出した。

春季には、大阪市のTSP及びほとんどの化学成分の濃度の中央値は、名古屋市のそれらと同程度であった。また、両市におけるTSPと各化学成分の濃度の最大値もほぼ同程度であった。北京市のTSP及び各成分の濃度の中央値は、日本の2都市におけるそれぞれの値より3～12倍高かった。また、北京市におけるTSP及び各化学成分の濃度の最大値は、日本の2都市におけるそれぞれの最大値より5～57倍高かった。Total PAHsについて大きな差が認められ、北京市における最大値（405.0 ng/m^3 ）は、大阪市及び名古屋市における最大値（すなわち、それぞれ9.8 ng/m^3 及び7.1 ng/m^3 ）より、それぞれ41倍及び57倍高かった。

冬季においても、大阪市のTSPとほとんどの化学成分の濃度の中央値は、名古屋市におけるそれらの各値と同程度であった。北京市のTSP及び各成分の濃度の中央値は、日本の2都市におけるそれぞれの値より5～63倍高く、特にTotal PAHsとTotal NPAHsにおいて大きな差が認められた。北京市におけるTotal PAHs濃度の中央値（146.9 ng/m^3 ）は、大阪市及び名古屋市における中央値より、それぞれ63倍及び62倍高かった。北京市のTotal NPAHs濃度の中央値（719.6 pg/m^3 ）は、大阪市及び名古屋市におけるTotal NPAHs濃度の中央値より、それぞれ22倍及び26倍高かった。北京市におけるTSPと各成分の濃度の最大値は、日本の2都市におけるそれぞれの最大値より6～278倍高かった。Total PAHsについて大きな差がみられ、北京市の最大値（1407.3 ng/m^3 ）は、大阪市及び名古屋市における最大値より、それぞれ88倍及び278倍高かった。北京市のTotal NPAHs濃度の最大値（1657.3 ng/m^3 ）は、日本の2都市における最大値より約20倍高かった。

大阪市及び名古屋市では、春季及び冬季の間で、TSP並びに全ての化学成分の濃度の中央値に大きな差はなかった。一方、北京市では、TSPとほとんどの化学成分の中央値が、2つの捕集期間で同程度であったが、冬季のTotal PAHs濃度とTotal NPAHs濃度の中央値は、春季の各中央値より、それぞれ8倍及び6倍高かった。

Table 12 Medians, minimums and maximums of the concentrations of TSP and their chemical constituents

	Spring						Winter						
	(a) Beijing	(b) Osaka	(c) Nagoya	Ratio		(d) Beijing	(e) Osaka	(f) Nagoya	Ratio				
				a/b	b/c				d/e	e/f			
TSP ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)													
median	308.7	53.9	41.6	6	7	1.3	286.9	37.7	32.7	8	9	1.2	
minimum	82.8	17.0	19.6	5	4	0.9	48.6	21.6	16.8	2	3	1.3	
maximum	1372.9	121.2	102.6	11	13	1.2	829.9	66.0	54.4	13	15	1.2	
Fe (ng/m^3)													
median	4713	1329	896	4	5	1.5	4855	1069	746	5	7	1.4	
minimum	810	431	238	2	3	1.8	1792	410	223	4	8	1.8	
maximum	15065	2511	2235	6	7	1.1	10618	1871	1397	6	8	1.3	
Pb (ng/m^3)													
median	142.4	23.7	12.4	6	12	1.9	150.9	14.3	11.0	11	14	1.3	
minimum	16.6	4.5	5.6	4	3	0.8	8.5	3.9	3.9	2	2	1.0	
maximum	680.5	53.6	64.1	13	11	0.8	683.3	88.1	21.0	8	33	4.2	
SO_4^{2-} ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)													
median	11.9	4.5	3.0	3	4	1.5	17.5	3.7	3.5	5	5	1.1	
minimum	2.6	0.9	1.4	3	2	0.6	2.4	1.5	1.4	2	2	1.0	
maximum	78.9	10.8	8.3	7	10	1.3	96.3	6.7	6.0	14	16	1.1	
NO_3^- ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)													
median	13.6	5.1	3.1	3	4	1.6	18.9	3.1	2.4	6	8	1.3	
minimum	1.0	0.7	1.1	1	1	0.7	1.0	1.2	1.0	1	1	1.2	
maximum	51.2	10.8	7.5	5	7	1.4	66.2	6.1	5.2	11	13	1.2	
Total PAHs (ng/m^3)													
median	18.9	2.1	1.8	9	10	1.1	146.9	2.3	2.4	63	62	1.0	
minimum	5.2	0.3	0.7	19	7	0.4	25.0	0.9	1.3	29	19	0.7	
maximum	405.0	9.8	7.1	41	57	1.4	1407.3	16.0	5.1	88	278	3.2	
Total NPAHs (pg/m^3)													
median	117.6	27.9	45.0	4	3	0.6	719.6	33.3	28.1	22	26	1.2	
minimum	32.0	4.4	14.5	7	2	0.3	44.0	5.5	8.1	8	5	0.7	
maximum	1025.6	188.9	141.6	5	7	1.3	1657.3	90.3	73.2	18	23	1.2	

Sampling periods were as follows: spring (late February 2011–May 2011) and winter (November 2012–early February 2013). Sampling periods were each 20 days at Beijing and 16 days at Osaka and Nagoya. Total PAHs means the sum of the concentrations of 10 PAHs (BghiP, DahA, BaP, PY, FR, IcdP, BbF, BaA, BkF, and CH). Total NPAHs means the sum of the concentrations of 6 NPAHs (1-NPY, 2-NPY, 4-NPY, 6-NCH, 2-NFR, and 3-NFR). (*Biol. Pharm. Bull.* in press (2015) Table 2)

1-3-2 北京市、大阪市及び名古屋市における TSP の変異原性

春季及び冬季に北京市、大阪市及び名古屋市において捕集した TSP の抽出物の *S. Typhimurium* YG1024 株に対する変異原性の中央値、最小値及び最大値を Table 13 に示す。

春季には、大阪市及び名古屋市において捕集した TSP の S9 mix 非存在下及び存在下での変異原性の中央値は、それぞれ同程度であった。北京市で捕集した TSP の S9 mix 非存在下及び存在下での変異原性の中央値（それぞれ 198.5 rev./m³ 及び 423.5 rev./m³）は、大阪市及び名古屋市の TSP 抽出物に関する中央値より 6~9 倍高かった。北京市の TSP 抽出物の S9 mix 非存在下及び存在下での変異原性の最大値（それぞれ 2176.8 rev./m³ 及び 5214.9 rev./m³）は、日本の 2 都市における最大値より 15~30 倍高かった。

冬季においても、大阪市及び名古屋市で捕集した TSP の S9 mix 非存在下及び存在下での変異原性に大きな差はなかった。北京市の TSP の S9 mix 非存在下及び存在下での変異原性の中央値（それぞれ 789.4 rev./m³ 及び 987.3 rev./m³）は、日本の 2 都市における各中央値より 13~25 倍高かった。北京市で捕集した TSP の S9 mix 非存在下及び存在下での変異原性の最大値（それぞれ 2158.4 rev./m³ 及び 3057.9 rev./m³）は、日本の 2 都市における最大値より 17~29 倍高かった。また、北京市において冬季に捕集した TSP の S9 mix 非存在下及び存在下で変異原性の中央値は、同地点において春季に捕集した TSP のそれぞれの中央値より 2~4 倍高かった。同様に、冬季に大阪市及び名古屋市において捕集した TSP の S9 mix 非存在下及び存在下で変異原性の中央値は、各市で春季に捕集した TSP に関する各変異原性の中央値よりわずかに高かった。

Table 13 Medians, minimums and maximums of the mutagenicities of organic extracts from TSP

	Spring						Winter				
	(a) Beijing	(b) Osaka	(c) Nagoya	Ratio		(d) Beijing	(e) Osaka	(f) Nagoya	Ratio		
				a/b	a/c				b/c	d/e	d/f
Mutagenicity (revertant/m ³) without S9 mix											
median	198.5	33.9	28.8	6	7	789.4	41.6	31.6	19	25	1.3
minimum	43.4	10.8	10.6	4	4	56.8	24.6	21.3	2	3	1.2
maximum	2176.8	140.6	76.6	15	28	2158.4	125.1	73.5	17	29	1.7
with S9 mix											
median	423.5	48.2	47.0	9	9	987.3	64.3	76.7	15	13	0.8
minimum	130.7	9.4	27.0	14	5	58.5	15.0	33.8	4	2	0.4
maximum	5214.9	171.1	191.3	30	27	3057.9	141.0	160.3	22	19	0.9

Sampling periods were as follows: spring (late February 2011–May 2011) and winter (November 2012–early February 2013). Sampling periods were each 20 days at Beijing and 16 days at Osaka and Nagoya.

1-3-3 北京市、大阪市及び名古屋市における TSP の変異原性と大気汚染物質濃度の相関性

変異原性と各大気汚染物質の濃度との関連性を明らかにするため、北京市、大阪市及び名古屋市において捕集した TSP の変異原性と TSP 及び各化学成分の濃度との相関係数 (r) を算出した。Table 14 にその結果を示す。北京市では、強い正の相関性 ($r \geq 0.7$) または中程度の正の相関性 ($0.7 > r \geq 0.4$) が、春季の Fe を除き S9 mix 非存在下及び存在下での変異原性と TSP 及び化学成分の濃度の間でみられた。S9 mix 非存在下及び存在下での変異原性と Pb、 SO_4^{2-} 及び Total PAHs の各濃度との相関性は、春季に非常に強かった ($r \geq 0.9$)。大阪市及び名古屋市では、春季及び冬季の S9 mix 非存在下及び存在下における変異原性と Total PAHs 及び Total NPAHs の濃度との間で強い正の相関性または中程度の正の相関がみられた。

Table 14 Correlation coefficients between the mutagenicity and the atmospheric concentrations of TSP and the constituents

	Spring			Winter		
	Beijing	Osaka	Nagoya	Beijing	Osaka	Nagoya
Without S9 mix						
TSP	0.694	0.002	0.499	0.895	0.276	0.222
Fe	0.079	0.312	0.625	0.589	0.498	0.214
Pb	0.930	0.507	0.213	0.601	0.231	0.095
SO_4^{2-}	0.914	0.127	0.080	0.836	0.137	0.375
NO_3^-	0.762	0.220	0.520	0.878	0.417	0.378
Total PAHs	0.981	0.545	0.408	0.736	0.845	0.551
Total NPAHs	0.789	0.882	0.843	0.450	0.480	0.478
With S9 mix						
TSP	0.585	0.185	0.556	0.898	0.241	0.508
Fe	0.088	0.610	0.716	0.636	0.315	0.372
Pb	0.906	0.618	0.498	0.627	0.164	0.316
SO_4^{2-}	0.879	0.370	0.368	0.816	-0.035	0.383
NO_3^-	0.692	0.538	0.580	0.857	0.316	0.735
Total PAHs	0.923	0.656	0.848	0.745	0.839	0.510
Total NPAHs	0.723	0.802	0.599	0.481	0.550	0.501

Sampling periods were as follows: spring (late February 2011–May 2011) and winter (November 2012–early February 2013). Sampling periods were each 20 days at Beijing and 16 days at Osaka and Nagoya. Total PAHs means the sum of the concentrations of 10 PAHs (BghiP, DahA, BaP, PY, FR, IcdP, BbF, BaA, BkF, and CH). Total NPAHs means the sum of the concentrations of 6 NPAHs (1-NPY, 2-NPY, 4-NPY, 6-NCH, 2-NFR, and 3-NFR). (*Biol. Pharm. Bull.* in press (2015) Table 4)

1-3-4 北京市、大阪市及び名古屋市における TSP 中の PAHs 及び NPAHs の発生源の推定

PAHs の発生源を推定するため、春季及び冬季に北京市、大阪市及び名古屋市で捕集した TSP 中の特異的 PAHs 濃度比、すなわち $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ を算出した。その結果を Fig. 5 に示す。春季には、北京市において捕集した TSP 中の $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ と大阪市及び名古屋市で捕集した TSP における $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ の間に有意な差はなく、これら 3 都市の TSP 中の $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ の中央値は、0.373~0.407 であった。

一方、冬季には、北京市で捕集した TSP 中の $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ は、大阪市及び名古屋市の TSP 中の $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ より有意 ($p < 0.01$) に大きな値であり、北京市、大阪市及び名古屋市の TSP 中の $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ の中央値は、それぞれ 0.810、0.370 及び 0.388 であった。大阪市と名古屋市で捕集した TSP 中の $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ の中央値は、いずれの季節においても大きな差はみられなかった。

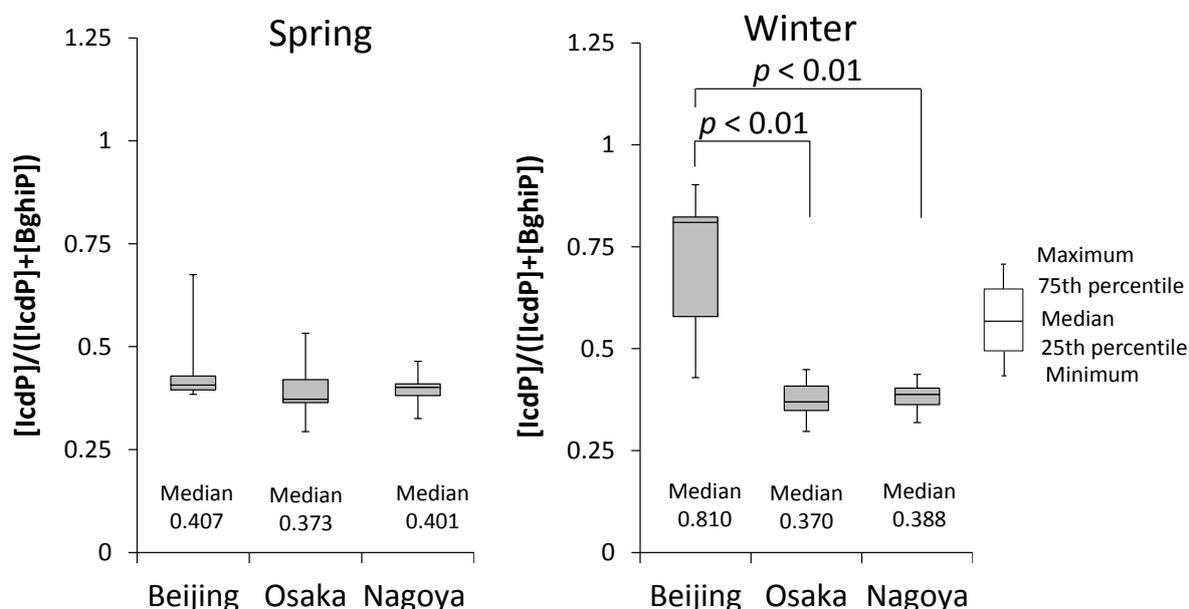


Fig. 5 Ratio of the atmospheric concentration of IcdP to that of IcdP and BghiP ($[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}] + [\text{BghiP}])$). The ratios were analyzed by Dunnett's test.

The intervals for collecting TSP were as follows: spring (late February 2011–May 2011) and winter (November 2012–early February 2013).

(*Biol. Pharm. Bull.* in press (2015) Fig. 2)

冬季及び春季に北京市、大阪市及び名古屋市で捕集した TSP 中の 1-NPY と PY の各濃度の比 ($[\text{1-NPY}]/[\text{PY}]$) を算出した。その結果を Fig. 6 に示す。春季に、北京市と日本の 2 都市で捕集した TSP 中の $[\text{1-NPY}]/[\text{PY}]$ の間には有意な差はみられず、北京市、大阪市及び名古屋市で捕集した TSP 中の $[\text{1-NPY}]/[\text{PY}]$ の中央値は、それぞれ 0.007、0.011、及び 0.015 であった。

冬季に、北京市で捕集した TSP 中の[1-NPY]/[PY]は、大阪市及び名古屋市で捕集した TSP 中の [1-NPY]/[PY]より有意 ($p < 0.01$) に小さな値であり、北京市、大阪市及び名古屋市の TSP 中の [1-NPY]/[PY]の中央値は、それぞれ 0.004 及び 0.014 であった。

これら TSP 中の[IcdP]/([IcdP]+[BghiP])と[1-NPY]/[PY]から、冬季に北京市で捕集した TSP 中の PAHs 及び NPAHs の主要な発生源が、大阪市及び名古屋市で捕集した TSP 中の PAHs 及び NPAHs の主要な発生源とは異なることが示唆された。

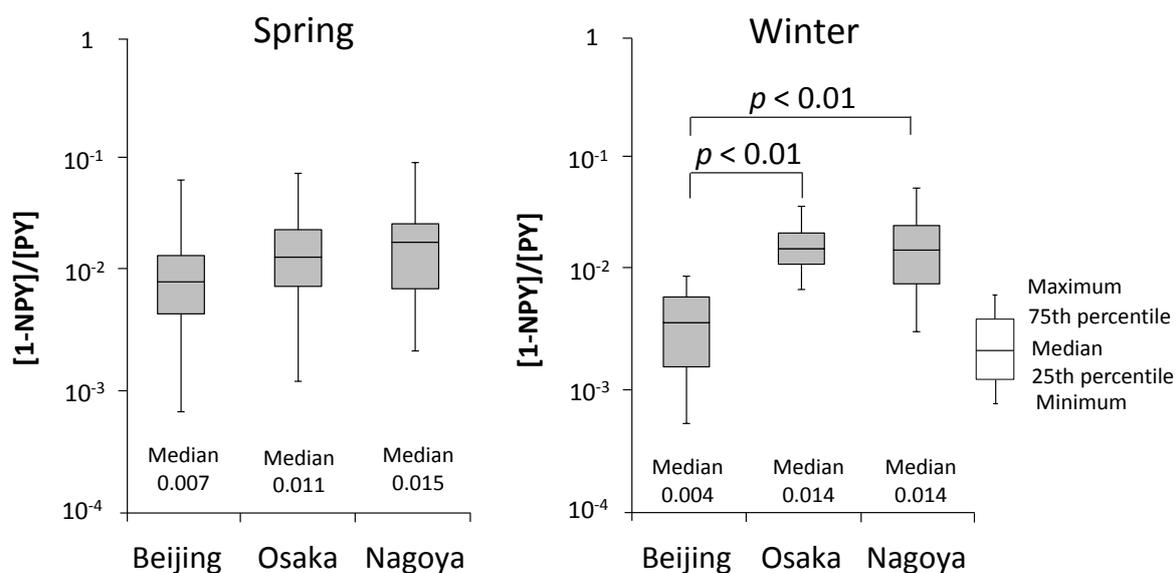


Fig. 6 Ratio of the atmospheric concentration of 1-NPY to that of PY ([1-NPY]/[PY]). The ratios were analyzed by Dunnett's test. The intervals for collecting TSP were as follows: spring (late February 2011–May 2011) and winter (November 2012–early February 2013). (*Biol. Pharm. Bull.* in press (2015) Fig. 3)

1-4 考 察

日本への越境大気汚染の発生が予想される春季及び冬季の中国の大都市における大気汚染の状況を明らかにするとともに、汚染状況を日本の大都市における状況と比較するため、中国の北京市と日本の大阪市及び名古屋市において、春季（2011年2月下旬～2011年5月）及び冬季（2012年11月～2013年2月上旬）にTSPを捕集して化学成分を定量分析するとともに変異原性を試験した。

大阪市及び名古屋市では、それぞれの地点において両季節におけるTSPと各化学成分の濃度の中央値は、同程度であった（Table 12）。また、両地点の各濃度の中央値にも大きな差はみられず、大阪市と名古屋市における大気汚染の状況は同程度であると考えられた。北京市においても、両季節におけるTSP、Fe、Pb、 SO_4^{2-} 及び NO_3^- の各濃度の中央値は類似しており、それらの値は、日本の2地点における値より3～14倍高かった。一方、北京市では、冬季のTotal PAHs及びTotal NPAHsの中央値は、春季におけるそれらの値より6～8倍高かった。また、冬季には、北京市におけるTotal PAHs及びTotal NPAHsの中央値は、日本の2地点における値と比べ、それぞれ62～63及び22～26倍高かった。これらの結果は、北京市において、特に冬季にPAHs及びNPAHsによる重度の大気汚染が発生することを示唆すると考えられた。

TSP抽出物のS9 mix非存在下及び存在下における変異原性の中央値は、いずれの地点においても、春季より冬季に高かった（Table 13）。北京市におけるTSP抽出物のS9 mix非存在下及び存在下での変異原性の中央値は、大阪市及び名古屋市におけるそれらより春季には、6～9倍高く、冬季には、13～25倍高かった。北京市では、春季と冬季のいずれにおいても、強いまたは中程度正の相関が、S9 mix非存在下及び存在下での変異原性とTSPとほとんどの化学成分（Feを除く）の濃度の間でみられた（Table 14）。大阪市及び名古屋市では、両季節において、強いまたは中程度の正の相関が、S9 mix非存在下及び存在下での変異原性とTotal PAHs並びにTotal NPAHsの各濃度の間でみられた。今回分析したPb、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、PAHs及びNPAHsは、いずれも化石燃料等の燃焼によって生成する大気汚染物質である。これらの結果は、北京市では日本の2地点と比べて、大気の変異原性物質による汚染が重度で、特に冬季に著しく、これらの3地点における主な変異原性物質が燃焼生成物であることを示唆すると考えられた。多くのNPAHs及びPAHsが、それぞれS9 mix非存在下及び存在下で*S. Typhimurium* YG1024株に対して変異原性を示すことから、NPAHs及びPAHsが、本研究でみられたTSP抽出物の変異原性に寄与している可能性がある。一方、Dongらは、2005年3月から2006年1月に北京市の都市部で捕集した大気粉塵中から2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-*b*]pyridine (PhIP)など6種類の変異・発がん性ヘテロサイクリックアミンを検出し、それらの発生源が調理や燃料の燃焼である可能性があると報告した³⁹⁾。これらのヘテロサイクリックアミンは、有機物の燃焼によって生成し、S9 mix存在下でYG1024株に対して強い変異原性を示すことから、本研究において捕集したTSP中にこれらの物質が含まれており、TSP抽出物の変異原性に関与している可能性があると考えられる。

これまでの研究により、発生源に特異的なPAHs及びNPAHsの濃度比が複数報告されており、 $\frac{[\text{IcdP}]}{([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])}$ はPAHsの発生源を推定するために一般的に使用されている^{40,42)}。 $\frac{[\text{IcdP}]}{([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])}$ は、石炭やバイオマス燃焼から排出された粒子では0.50より大きく、石油燃焼から排出された粒子では0.50より小さいことが報告されている^{40,41)}。Fig. 5示すように、北京市

で捕集した TSP の $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ の中央値は、冬季には 0.810 と大きく、春季には 0.407 と小さな値であった。このことから、PAHs の発生源として、冬季には暖房用の石炭燃焼の影響が大きく、春季には自動車排ガスなど石油系燃料の燃焼の影響が大きいと考えられた。Zhou らは、2003 年に北京市の都市部及び郊外において捕集した大気粉塵中の 17 種類の PAHs を分析し、 $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ から、暖房用の石炭燃焼が冬季の高い PAHs 高濃度の原因であると考察している⁴³⁾。 $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ は、PAHs の発生源を推定するために一般的に使用されるが、発生源による $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ の違いが比較的小さく、発生源の推定に不十分である場合があると指摘されており、Tang らは、PAHs 及び NPAHs の発生源を推測するのに、 $[1\text{-NP}]/[\text{PY}]$ が有効であることを報告した⁴²⁾。すなわち、石炭燃焼により生成する煙粒子における $[1\text{-NP}]/[\text{PY}]$ は 0.001 であり、ディーゼルエンジンの排出粒子における $[1\text{-NP}]/[\text{PY}]$ の 0.36 よりもはるかに小さいことを示した⁴²⁾。本研究では、Fig. 6 に示すように、北京市で捕集した TSP の $[1\text{-NP}]/[\text{PY}]$ の中央値は、冬季には 0.004 と小さく、春季には 0.007 と冬季より大きな値であった。このように、 $[1\text{-NP}]/[\text{PY}]$ も北京市において冬季に石炭燃焼の影響が大きいことを示唆した。一方、大阪市及び名古屋市において捕集した TSP では、捕集時期に関わらず、 $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ 、 $[1\text{-NP}]/[\text{PY}]$ とも、自動車排ガスなど石油系燃料の燃焼の影響が大きいことを示唆した。大阪市及び名古屋市において冬季に捕集した TSP の $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ 及び $[1\text{-NP}]/[\text{PY}]$ は、北京市におけるそれらと有意 (< 0.01) に異なっていた。これらの結果は、本研究で冬季に大阪市及び名古屋市で TSP を捕集した日には、中国からの大気汚染物質の越境輸送の影響が小さいことを示唆するものと考えられる。

2-1 緒言

気象庁 (JMA) は、全国 60 か所の気象台において目視により黄砂を観測しており、黄砂が主に春季 (3月~5月) に観測されることを報告している⁴⁴⁾。また、国立環境研究所 (NIES) は、日本の 12 か所においてライダー (LIDAR) を用いて黄砂の観測を行っている⁴⁵⁾。ライダーとは上空に向けて照射したレーザー光が空中の微粒子により散乱される状況を受信望遠鏡で測定する装置であり、観測データに基づく粒子消散係数により、黄砂のような非球形粒子の大气中における分布状況を測定することができる。Ueda らは、ライダーによる観測データを用い、消散係数が 0.066/km より大きく 0.105/km 以下の時は中程度に黄砂が飛散し、消散係数が 0.105/km より大きいときは重度に黄砂が飛散したことを示唆すると報告した⁴⁶⁾。

今回、著者は越境大气汚染の実態を明らかにするため、西日本の日本海沿岸に位置し大規模な大气汚染物質の発生源が存在しない鳥取県湯梨浜町 (人口約 17,000 人、面積 77.94 km²、人口密度 218 人/km²) において 2012 年 6 月から 2013 年 5 月の 1 年間にわたり TSP を捕集し、TSP 中の化学成分を分析するとともに TSP 抽出物の変異原性を試験した。化学成分として Fe、Pb、SO₄²⁻、NO₃⁻、PAHs の濃度を測定した。変異原性は、*S. Typhimurium* YG1024 株を用い、S9 mix 非存在下及び存在下で試験した。日本では大气中の Pb 及び SO₄²⁻ の主な発生源である石炭の使用量が少なく、通常、大气中のそれらの濃度が低いいため、Pb と SO₄²⁻ の濃度の上昇は、中国大陸からの越境大气汚染の指標になると報告されている⁴⁷⁾。また、大气中に放出された粒子中の PAHs の発生源推定に有効であることが報告されている特異的 PAHs 比を算出し⁴¹⁾、湯梨浜町における TSP 中の PAHs の発生源を推定した。さらに、空気塊の移動経路を後方流跡線解析により検討した。また、鳥取市における気象庁による目視及び松江市での国立環境研究所によるライダーでの黄砂観測の結果と本調査結果を比較した。

2-2 方法

2-2-1 試薬等

1-2-1 に記載したものをを用いた。

2-2-2 TSP の捕集及び試料の保存

TSP は、湯梨浜町（鳥取県衛生科学研究所：133.89°E、35.49°N）においてハイボリウムエアサンプラー（HV1000R、柴田科学社製）を用いて約 24 時間ずつ石英繊維製フィルター上に捕集した（Fig. 7）。捕集は、午前 9 時頃に開始し、大気を約 1000 L/min で吸引した（積算流量：1491.3 m³）。捕集は、2012 年 6 月 11 日～14 日、7 月 9 日～12 日、8 月 6 日～9 日、9 月 3 日～6 日、10 月 15 日～18 日、11 月 5 日～8 日、12 月 3 日～6 日、12 月 10 日～13 日、12 月 17 日～20 日、12 月 25 日～27 日、2013 年 1 月 8 日～10 日、1 月 15 日～17 日、1 月 21 日～24 日、1 月 28 日～31 日、2 月 5 日、2 月 7 日、2 月 12 日～14 日、2 月 18 日～21 日、2 月 25 日～28 日、3 月 4 日～14 日、3 月 18 日～21 日、3 月 25 日～28 日、4 月 1 日～4 日、4 月 8 日～11 日、4 月 15 日～18 日、4 月 22 日～25 日、4 月 30 日～5 月 1 日、5 月 7 日～9 日、5 月 13 日～16 日、5 月 20 日～23 日、5 月 27 日～30 日に実施した。

フィルターは、TSP の捕集前後に気温約 20°C、湿度約 50%の室内において、恒湿槽（湿度約 50%）内で恒湿恒量化した後、秤量した。粉塵を捕集したフィルターは、使用するまで-80°C以下で保存した。

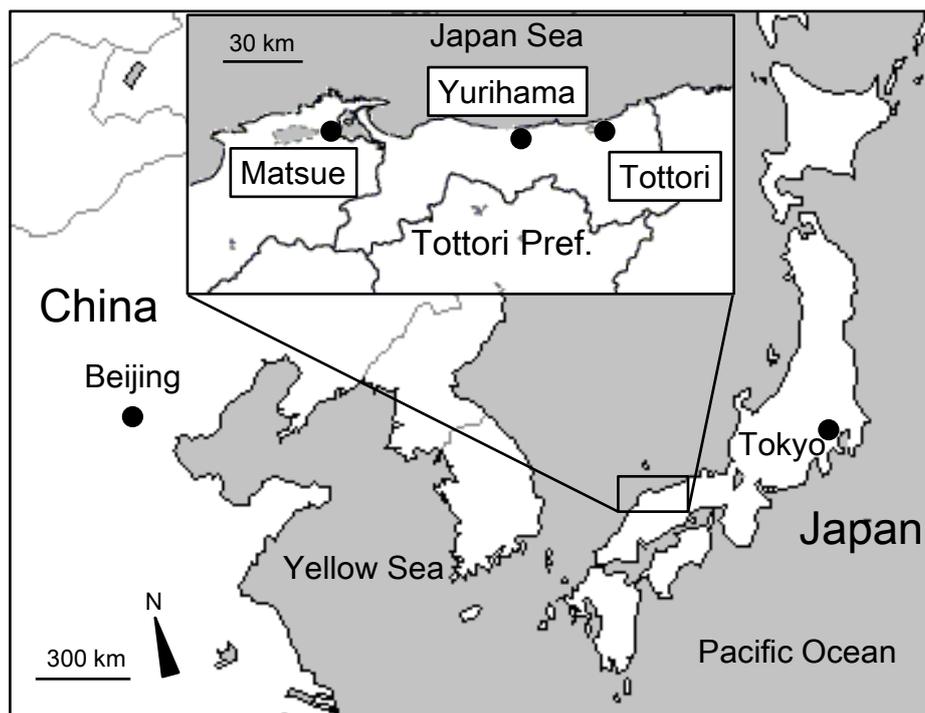


Fig. 7 Map of the sampling site and the observation sites of Asian dust event. Yurihama is a sampling site of TSP. Tottori is an observatory site of Asian dust event by JMA⁴⁴⁾. Observation of Asian dust event using LIDAR was performed at Matsue by NIES⁴⁵⁾. (*Genes and Environment* (2015) 37:25 Fig. 1)

2-2-3 金属元素の定量分析

1-2-3 に記載した方法と同様に行った。

2-2-4 水溶性イオンの定量分析

1-2-4 に記載した方法と同様に行った。

2-2-5 PAHs の定量分析

1-2-5 に記載した方法と同様に行った。

2-2-6 変異原性試験

1-2-6 に記載した方法と同様に行った。

2-2-7 統計学的解析

1-2-7 に記載した方法と同様に行った。

2-2-8 後方流跡線解析

後方流跡線は、アメリカ合衆国海洋大気庁 (NOAA) の HYSPLIT (2015) を用いて計算した⁴⁸⁾。計算開始時間は午後 10 時 (日本標準時) とし、高度は 1500 m に設定し、三次元法により 72 時間計算した。

2-3 結果

2-3-1 湯梨浜町における大気汚染物質の濃度

2012年6月から2013年5月までの湯梨浜町における大気中のTSP及び化学成分の濃度をFig. 8に示す。気象庁は、湯梨浜町の東方約34 kmに位置する鳥取市 (Fig. 7) において目視による黄砂観測を行っており、2013年3月8日、9日、19日及び20日に黄砂飛散を観測した⁴⁴⁾。また、国立環境研究所は湯梨浜町の西方約73 kmに位置する松江市 (Fig. 7) において、ライダーによる観測を実施している⁴⁵⁾。消散係数が0.066/kmより大きい場合に黄砂飛散が観測されたと考えられ⁴⁶⁾、TSP捕集日の内、2013年3月7日、8日、9日、19日、4月30日及び5月30日に消散係数が0.066/km以上であった。Fig. 8に示すようにTSP及びFeの濃度は2013年3月8日及び9日に著しく高く、75パーセントイル以上の高濃度のTSP及びFeは3月4日、7日、8日、9日、19日、4月9日、16日、30日など共通の捕集日にみられた。また、高濃度のPb及びSO₄²⁻は、7月12日、1月30日、3月4日、8日、9日、19日、4月16日、5月13日など共通の捕集日にみられた。NO₃⁻濃度は、1月29日、3月4日、8日、9日、19日、4月16日などで高かった。このように、大気中のTSP、Fe、Pb、SO₄²⁻及びNO₃⁻の濃度は、3月8日、9日、19日、16日など共通の捕集日に高かった。Total PAHsは、1月16日、24日、30日、2月21日、3月4日、8日、9日、19日など主に1月から3月にかけて高い日が多くみられた。TSP及び化学成分は目視あるいはライダーにより黄砂が観測された日に高濃度であったが、それら黄砂観測日以外にも4月16日、5月13日などTSP及び化学成分の濃度の高い日が多く存在した。

季節ごとのTSP及び化学成分の濃度の中央値、平均及び標準偏差をTable 15に示す。Total PAHsを除き、TSP及び各化学成分の濃度は、春季に平均値が最も高い値であった。Total PAHs濃度の平均値は冬季(1.05 ng/m³)に最も高く、春季の平均値(0.92 ng/m³)はそれと同程度であった。

Table 15 Atmospheric concentrations of TSP and their chemical constituents

	Summer	Autumn	Winter	Spring
TSP ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)				
median	20.7	27.1	19.5	36.18
mean	22.1	29.3	22.6	48.4
standard deviation	12.0	8.0	14.3	37.4
Fe (ng/m^3)				
median	67.8	150.0	109.1	384.5
mean	76.7	145.7	126.8	709.4
standard deviation	66.4	130.8	130.5	844.0
Pb (ng/m^3)				
median	5.2	6.7	7.0	9.7
mean	8.2	7.3	9.7	15.9
standard deviation	13.9	4.8	8.5	15.2
SO ₄ ²⁻ ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)				
median	3.81	4.65	3.14	6.00
mean	5.03	4.78	4.36	7.38
standard deviation	5.50	2.28	3.47	4.88
NO ₃ ⁻ ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)				
median	0.41	0.75	1.15	1.77
mean	0.45	1.05	1.39	2.49
standard deviation	0.22	0.91	1.07	2.70
Total PAHs (ng/m^3)				
median	0.19	0.45	0.78	0.69
mean	0.21	0.57	1.05	0.92
standard deviation	0.16	0.38	0.66	0.73

The intervals for collecting TSP were as follows: summer (Jun.–Aug. 2012, $n = 12$), autumn (Sep.–Nov. 2012, $n = 12$), winter (Dec. 2012–Feb. 2013, $n = 42$), and spring (Mar.–May 2013, $n = 52$).

Total PAHs means the sum of the concentrations of 10 PAHs (FR, PY, CHR, BaA, BaP, BbF, BkF, DahA, IcdP, and BghiP).

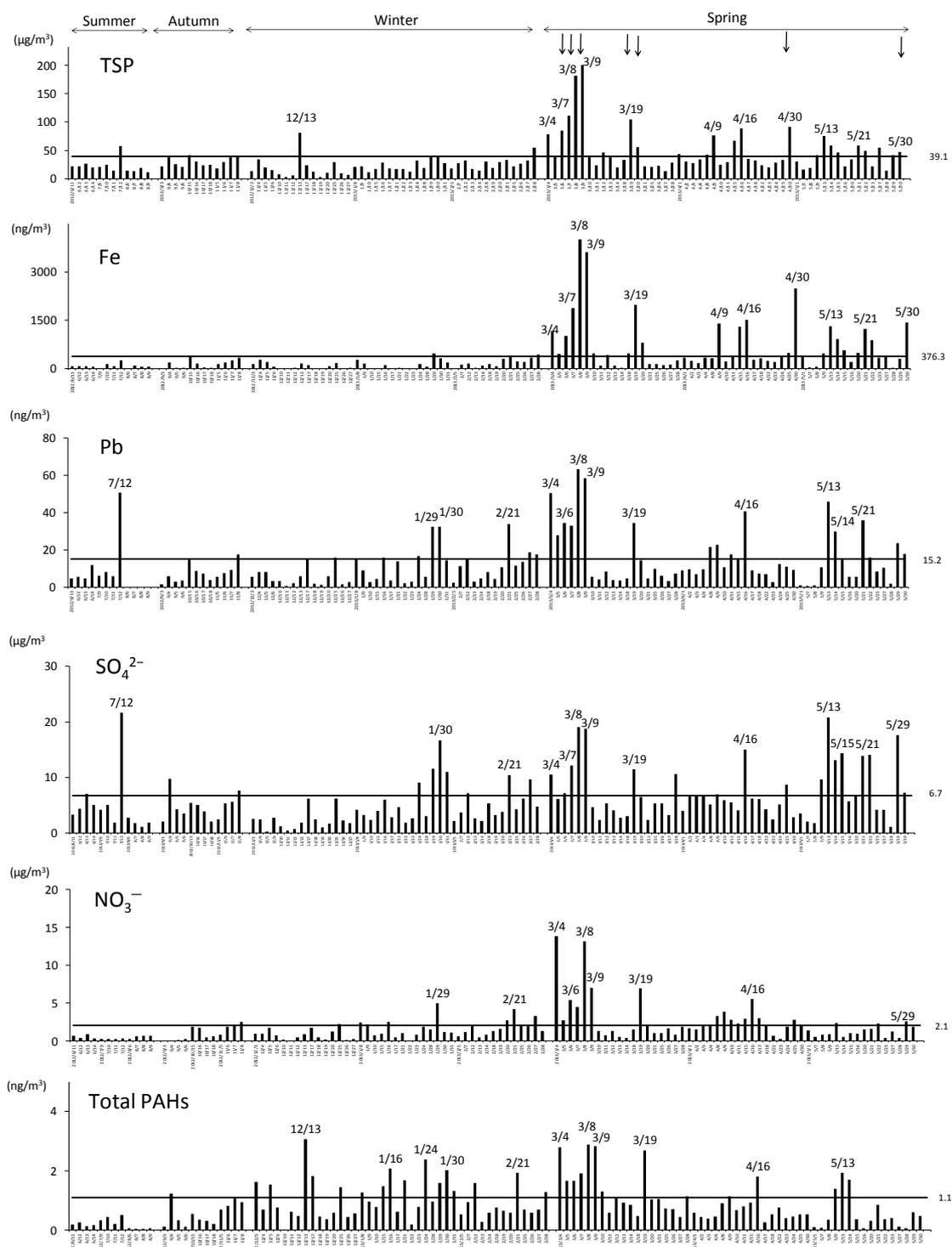


Fig.8 Concentrations of TSP and chemical constituents in TSP collected at Yurihama. Arrows show dates of Asian dust events registered by the JMA (March 8, 9, 19, and 20) or indicated by LIDAR (March 7, 8, 9, and 19, April 30, and May 30). Horizontal lines show the 75th percentile of TSP, Fe, Pb, SO_4^{2-} , NO_3^- , and total PAHs.

2-3-2 湯梨浜町における TSP の変異原性

2012 年 6 月から 2013 年 5 月に捕集した TSP の抽出物について S9 mix 非存在下及び存在下で *S.Typhimurium* YG1024 株を用いて行った変異原性試験の結果を Fig. 9 に示す。1 月 16 日、29 日、30 日、2 月 12 日、21 日、3 月 4 日、8 日、19 日など、強い変異原性を示した TSP の多くは 1 月から 3 月に捕集された。また、これらの日の TSP は、大部分が S9 mix 非存在下及び存在下の両方で、強い変異原性を示し、TSP の S9 mix 非存在下及び存在下での変異原性は強い正の相関性 ($r=0.840$) を示した。最も強い変異原性は 3 月 4 日に捕集した TSP でみられ、S9 mix 非存在下及び存在下での活性は、それぞれ 70 rev./m³ 及び 96 rev./m³ であった。

各季節に湯梨浜町で捕集した TSP の有機抽出物の変異原性の中央値、平均値及び標準偏差を Table 16 に示す。平均値は、冬季に S9 mix 非存在下及び存在下で、それぞれ 19.6 rev./m³ 及び 17.5 rev./m³ ともっとも高く、夏季に S9 mix 非存在下及び存在下とも最も低かった。

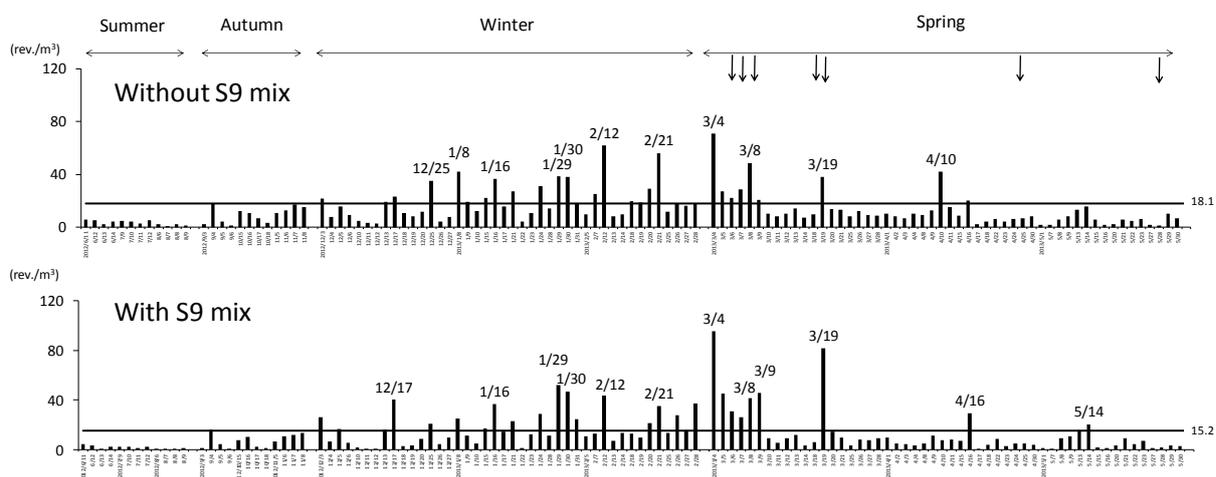


Fig. 9 Mutagenicities of TSP collected at Yurihama.

Mutagenicity was examined using *Salmonella typhimurium* YG1024 with and without S9 mix. Arrows show dates of Asian dust events registered by the JMA (March 8, 9, 19, and 20) or indicated by LIDAR (March 7, 8, 9, and 19, April 30, and May 30). Horizontal lines show the 75th percentile of mutagenicity of organic extracts of TSP in YG1024 without S9 mix and with S9 mix.

Table 16 Mutagenicity of TSP collected at Yurihama

	Summer	Autumn	Winter	Spring
Mutagenicity (revertant/m ³)				
without S9 mix				
median	3.4	10.8	17.2	8.8
mean	3.5	9.7	19.6	12.7
standard deviation	1.6	5.8	13.7	12.9
with S9 mix				
median	1.8	7.2	13.4	7.2
mean	1.8	7.2	17.5	13.1
standard deviation	1.3	5.2	13.4	18.7

The intervals for collecting TSP were as follows: summer (Jun.–Aug. 2012, $n = 12$), autumn (Sep.–Nov. 2012, $n = 12$), winter (Dec. 2012–Feb. 2013, $n = 42$), and spring (Mar.–May 2013, $n = 52$).

2-3-3 湯梨浜町における TSP の変異原性と大気汚染物質濃度の相関性

Fig. 9 に示すように、強い変異原性を示す TSP の多くは、冬季及び春季に捕集された。それらの変異原性と各大気汚染物質濃度の関連性を明らかにするため、冬季と春季に捕集した TSP の変異原性と TSP 及び化学成分の濃度との間の相関係数を算出した。その結果を Table 17 に示す。春季の S9 mix 非存在下での変異原性と SO₄²⁻濃度の間以外の組合せで中程度以上の正の相関性 ($r \geq 0.4$) がみられた。強い正の相関性 ($r \geq 0.7$) は、S9 mix 非存在下及び存在下における変異原性と冬季の Pb、春季の NO₃⁻及び Total PAHs などの間でみられた。

Table 17 Coefficients of correlation between mutagenicity and concentrations of TSP and their constituents

	Without S9 mix		With S9 mix	
	Winter	Spring	Winter	Spring
TSP	0.458	0.537	0.547	0.600
Fe	0.554	0.490	0.686	0.529
Pb	0.777	0.680	0.853	0.719
SO ₄ ²⁻	0.663	0.378	0.777	0.407
NO ₃ ⁻	0.705	0.847	0.670	0.810
Total PAHs	0.657	0.783	0.697	0.853

The intervals for collecting TSP were as follows: winter (Dec. 2012–Feb. 2013, $n = 42$), spring (Mar.–May 2013, $n = 52$). Total PAHs means the sum of the concentrations of 10 PAHs (FR, PY, CHR, BaA, BaP, BbF, BkF, DahA, IcdP, and BghiP).

(*Genes and Environment* (2015) 37:25 Table 2)

また、Fig. 8 及び Fig. 9 に示すように、3月に TSP 及び化学成分の濃度が高く、変異原性が強い日が多くみられた。3月に捕集した TSP について、各物質の濃度と変異原性のそれぞれの間の関連性を明らかにするため、それらの相関係数を算出した。その結果を Table 18 に示す。TSP と Fe の濃度は、Pb 及び SO_4^{2-} の濃度と非常に強い正の相関関係 ($r \geq 0.9$) であった。Pb の濃度は、他の燃焼生成物 (SO_4^{2-} 、 NO_3^- 及び PAHs) の濃度と強い正の相関性を示した。さらに、TSP の S9 mix 非存在下及び存在下での変異原性は、Pb、 NO_3^- 及び Total PAHs の濃度と強い正の相関性を示した。

Table 18 Correlation coefficients of TSP with those of chemical constituents and mutagenicity in March

	TSP	Fe	Pb	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	Total PAHs	without S9 mix	with S9 mix
TSP	1.000							
Fe	0.984	1.000						
Pb	0.914	0.901	1.000					
SO ₄ ²⁻	0.928	0.933	0.891	1.000				
NO ₃ ⁻	0.755	0.770	0.914	0.780	1.000			
Total PAHs	0.864	0.849	0.941	0.866	0.890	1.000		
without S9 mix	0.567	0.577	0.804	0.602	0.936	0.830	1.000	
with S9 mix	0.572	0.555	0.780	0.589	0.833	0.864	0.904	1.000

Total PAHs means the sum of 10 PAHs, namely, FR, PY, CHR, BaA, BaP, BbF, BkF, DahA, IcdP, and BghiP. (*Genes and Environment* (2015) 37:25 Table 3)

2-3-4 湯梨浜町における TSP 中の PAHs の発生源の推定

PAHs の発生源を推定するため、各 TSP 中の [IcdP]/([IcdP]+[BghiP]) 並びに各 TSP 中の FR と PY の濃度の和に対する FR の濃度の比 ($[FR]/([FR]+[PY])$) を算出した。各季節の TSP 中の [IcdP]/([IcdP]+[BghiP]) 及び $[FR]/([FR]+[PY])$ を Fig. 10 及び 11 に示す。冬季及び春季に捕集した TSP の [IcdP]/([IcdP]+[BghiP]) は、夏季における値よりも有意に大きく ($p < 0.01$)、冬季及び春季の [IcdP]/([IcdP]+[BghiP]) の中央値は、それぞれ 0.700 及び 0.655 であった。一方、秋季に捕集した TSP 中の [IcdP]/([IcdP]+[BghiP]) と夏季のそれとの間に有意な差はみられず、秋季及び夏季の [IcdP]/([IcdP]+[BghiP]) の中央値は、それぞれ 0.430 及び 0.421 であった。

また、Fig. 11 に示すように、冬季及び春季に捕集した TSP 中の $[FR]/([FR]+[PY])$ は、夏季のそれよりも有意に大きく ($p < 0.01$)、冬季及び春季の $[FR]/([FR]+[PY])$ の中央値は、それぞれ 0.539 及び 0.508 であった。秋季に捕集した TSP 中の $[FR]/([FR]+[PY])$ と夏季のそれとの間に有意な差はみられなかった。

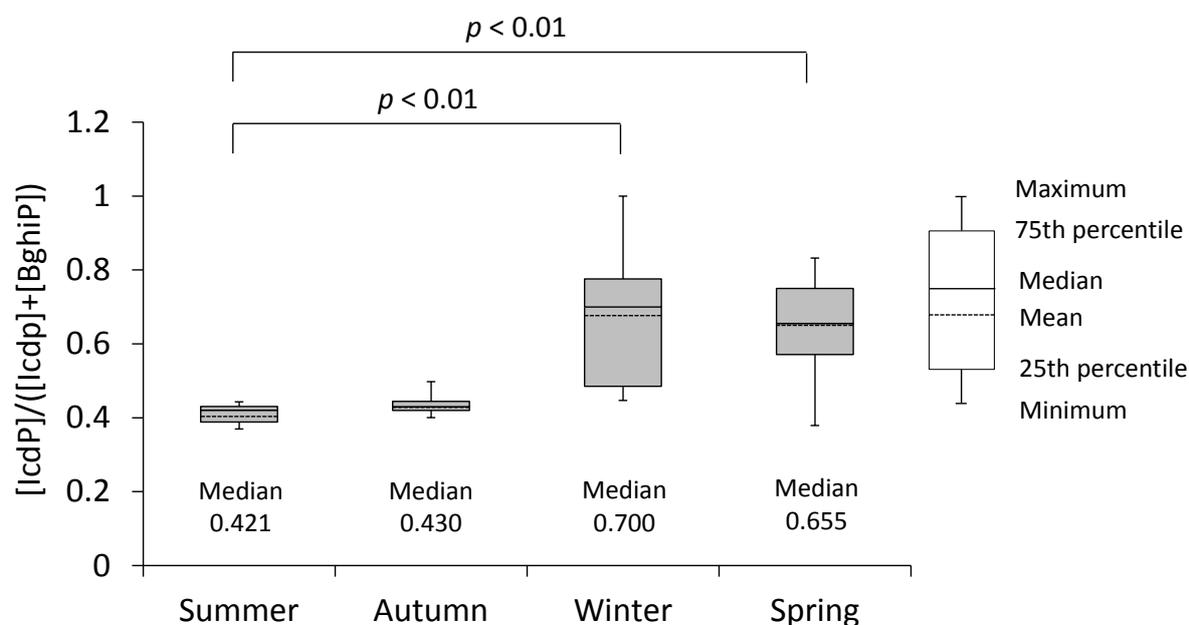


Fig. 10 Ratio of concentration of [IcdP]/([IcdP] + [BghiP])-measured at Yurihama. The intervals for collecting TSP were as follows: summer (June–August), autumn (September–November), winter (December–February), and spring (March–May). Statistical analysis was performed on the ratios of [IcdP]/([IcdP] + [BghiP]) by Dunnett’s test.

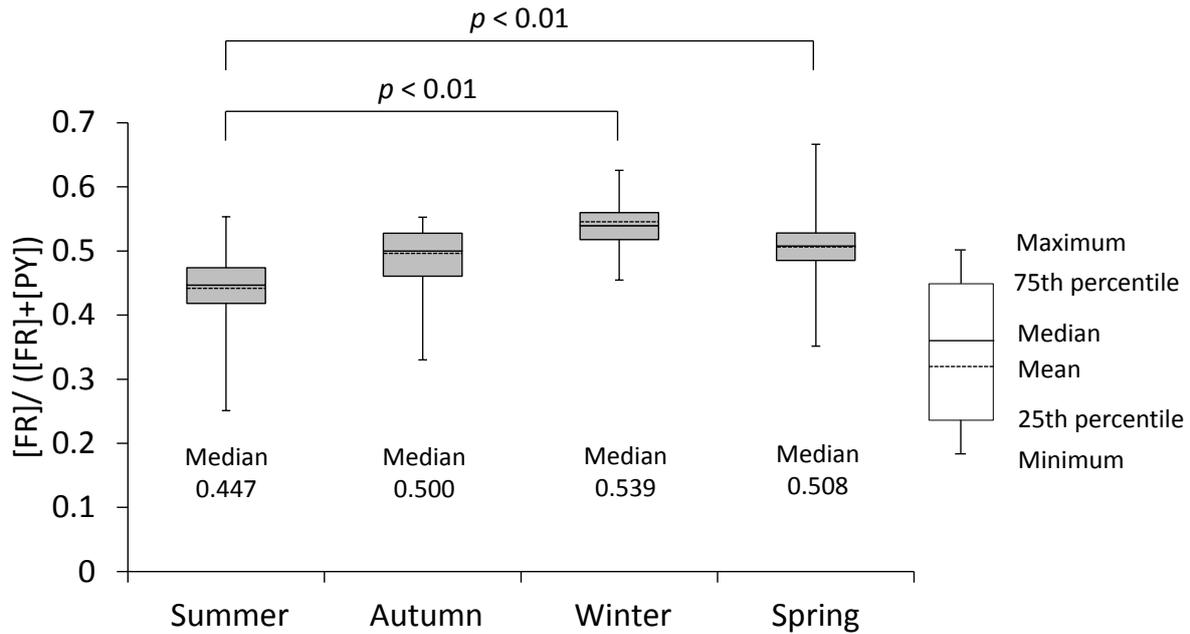


Fig. 11 Ratio of concentration of [FR]/([FR] + [PY]) measured at Yurihama. The intervals for collecting TSP were as follows: summer (June–August), autumn (September–November), winter (December–February), and spring (March–May). Statistical analysis was performed on the ratios of [FR]/([FR] + [PY]) by Dunnett’s test. (*Genes and Environment* (2015) 37:25 Fig. 4)

2-3-5 高変異原性 TSP 捕集日の空気塊の後方流跡線

特に強い変異原性を示した TSP が捕集された日の空気塊の移動経路を推定するため、後方流跡線解析を行った。後方流跡線の開始時間は、TSP の捕集時間の中間付近である午後 9 時とし、72 時間遡って解析した。Fig. 12 にその結果を示す。1 月 16 日、2 月 21 日及び 28 日の空気塊はモンゴルのゴビ砂漠から中国北部を経由し、1 月 30 日と 3 月 5 日の空気塊はモンゴル付近から中国東北部を経由して湯梨浜町に移流したことが示唆された。また、2 月 12 日、3 月 8 日、9 日及び 19 日の空気塊は、中国北部のゴビ砂漠及び黄土高原付近から中国東部を経て湯梨浜町に達したと推測された。一方、1 月 29 日、3 月 4 日及び 7 日の空気塊は、捕集 72 時間前に中国東部に存在し、他の捕集日と比較して比較的緯度の低い地域から湯梨浜町に移流したと推測された。1 月 16 日、2 月 12 日、21 日、28 日及び 3 月 19 日の空気塊は北京市付近を、3 月 4 日、8 日及び 9 日の空気塊は上海市付近を経由して湯梨浜町に移動したことが示唆された。

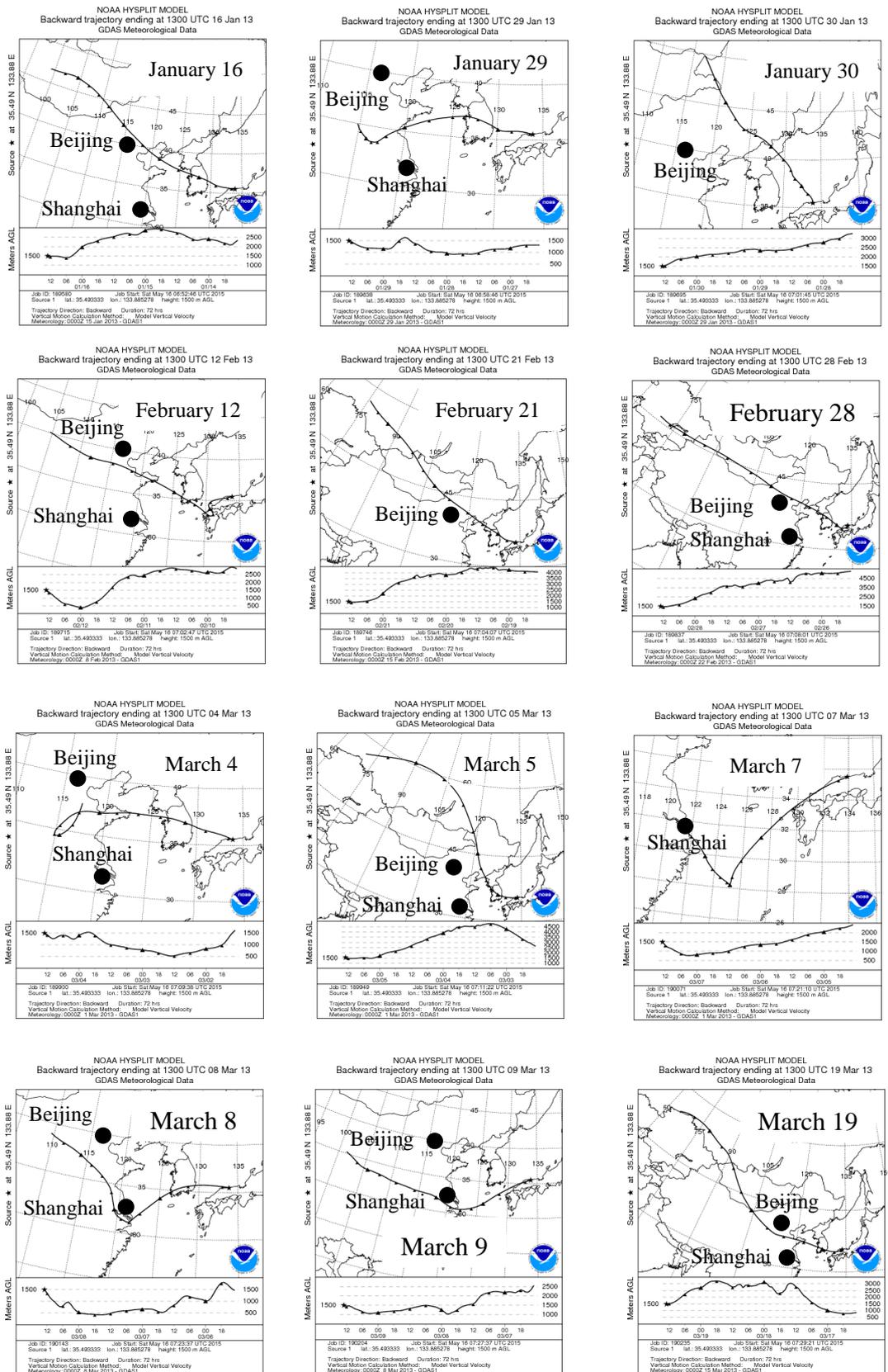


Fig. 12 Backward trajectories of air masses from Yurihama. Backward trajectories of air masses for 72 h were calculated using the HYSPLIT model provided by the NOAA of the USA⁴⁸⁾.

2-4 考 察

西日本の大気に対する東アジア大陸からの大気汚染物質の長距離輸送の影響を明らかにするために、2012年6月から2013年5月の1年間、湯梨浜町でTSPを捕集し、その化学成分及び変異原性を調査した。1月から3月にかけて、湯梨浜で捕集した多くのTSPがS9 mix非存在及び存在下で強い変異原性を示し (Fig. 9)、その強さは、著者らが国内10地点において調査した際に佐世保市など日本の中規模都市のTSPにおいてみられた変異原活性と同程度であった²⁶⁾。TSPのS9 mix非存在下及び存在下における変異原性は、Total PAHsなど多くの燃焼生成物の濃度と中程度以上の正の相関関係にあることがわかった (Table 17)。PAHsは、有機物の燃焼により生成し⁴⁹⁾、多くのPAHsがYG1024株に対してS9 mix存在下で変異原性を示すことが知られている⁵⁰⁾。これらの結果から、TSP中の主な変異原性物質は燃焼生成物であり、S9 mix存在下でのTSP抽出物の変異原性の一部はPAHsによるものである可能性が考えられた。

Wangらは、重度な煙霧が北京市-天津市-河北省地域で2013年1月9日~15日と25日~31日の間に発生し、PM_{2.5}濃度の日平均値が非常に高値であったことを報告した⁵¹⁾。これまでに、著者らは変異原性及びPAHsなどの変異原性物質が、主に微小粒子において検出されることを報告した²⁶⁾。本研究では、特に強い変異原性を示したTSPの多くは、1月29日、30日、2月21日など1月と2月に捕集され、それらの日ではTotal PAHs濃度の高い日が多くみられた (Fig. 9)。これらの日は、中国大陸からの越境輸送の指標となるPb及びSO₄²⁻の濃度も高かったが、TSP及びFeの濃度は中程度であった (Fig. 9)。これらの結果から、1月と2月に変異原性物質が、黄砂のような大量の土壌を伴わずに中国大陸から輸送されたと考えられた。

一方、3月には4日、7日、8日、9日、19日のようにTSPと各化学成分の濃度が高い日がみられ (Fig. 8)、これらの日に捕集したTSPはS9 mix非存在下及び存在下で強い変異原性を示した。後方流跡線解析の結果、これらの日の空気塊は中国の北部あるいは東部を経由して湯梨浜町に移動したと推測された (Fig. 12)。また、3月に捕集したTSPでは、TSP及び各化学成分の濃度とS9 mix非存在下及び存在下での変異原性との間で強い正の相関性がみられた (Table 17)。気象庁は、鳥取市において3月8日、9日及び19日に黄砂を観測した⁴⁴⁾。一方、松江市でのライダーによる測定において黄砂の発生を示す0.066/km以上の平均消散係数が、3月7日、8日、9日及び19日に観測された⁴⁵⁾。これらの結果から、3月に中国大陸から西日本の沿岸地域に黄砂と変異原性物質を含む人為的な汚染物質が同時期に輸送されたと考えられた。

PAHsの発生源を推定するための特異的PAHs比として、[IcdP]/([IcdP]+[BghiP])と同様に[FR]/([FR]+[PY])が有用であることが報告されている^{40, 41, 52)}。[FR]/([FR]+[PY])は、石炭やバイオマスの燃焼により生じる粒子では0.50より大きくなり、石油系燃料の燃焼による粒子では0.50より小さくなる⁴¹⁾。Liuらは、冬季に中国北部の46地点で捕集した粒子について[FR]/([FR]+[PY])を算出し、ほとんどの試料において0.50より大きく、これらの地域ではPAHsの発生源として石炭・バイオマス燃料の燃焼の影響が大きいことを報告している⁴⁰⁾。同様に、Wangらは、秋季、冬季及び春季に上海で捕集した粒子について調査し、秋季には[FR]/([FR]+[PY])が0.50より小さく、冬季及び春季には0.50以上であり、冬季及び春季に木材やバイオマス燃料の燃焼がPAHs汚染の最大の発生源であることを示唆すると報告している⁵²⁾。湯梨浜町において冬季及び春季に捕集したTSPにお

ける $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ と $[\text{FR}]/([\text{FR}]+[\text{PY}])$ は、いずれも夏季に捕集した TSP のそれらより有意に大きく、それぞれの中央値は 0.5 以上であった (Fig. 10 及び Fig. 11)。これらの結果、湯梨浜町で冬季及び春季に捕集した TSP 中の PAHs の発生源として石炭・バイオマス燃焼の影響が大きかったと考えられた。特に強い変異原性を示した TSP が捕集された日の空気塊の後方流跡線解析の結果 (Fig. 12)、これらの日の空気塊の大部分が中国北部から東部の地域、すなわち河北省、北京市、天津市、山東省、河南省、安徽省、江蘇省、上海市付近を経由して湯梨浜町に移流したことが示唆された。これらの地域は中国でも人口が特に多く、合計で中国の総人口の約 3 分の 1 (約 4 億 6 千万人、2012 年) に相当する⁵³⁾。中国では 11 月から 3 月まで「暖気 (ヌアンチー)」と呼ばれる公共暖房が河南省、安徽省、山東省の北部から北の地域で行われ、担当地域ごとに設けられた公共ボイラーで大量の石炭が使用される⁵³⁾。これらの地域集中暖房用の石炭燃焼により発生した大気汚染物質が湯梨浜町でみられた越境大気汚染に寄与していると考えられた。

総括

春季の偏西風や冬季の季節風による越境大気汚染の発生源となることが懸念される中国の大都市における春季及び冬季の大気汚染の状況を明らかにするため、北京市において TSP を 2011 年 2 月下旬～5 月（春季）と 2012 年 11 月～2013 年 2 月上旬（冬季）に捕集し、Fe、Pb、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、PAHs 及び NPAHs を定量分析するとともに *S. Typhimurium* YG1024 株に対する変異原性を試験した。また、汚染状況を比較するため同時期に日本の大都市である大阪市と名古屋市において TSP を捕集し、同様の検討を行った。北京市における TSP 及び化学成分の濃度は、日本の 2 地点におけるそれらと比べて非常に高かった。特に、冬季の北京市における PAHs の濃度は顕著に高く、冬季の北京市における PAHs 濃度の中央値は、同時期の日本の 2 地点における約 62 倍であり、最高値では 88 倍及び 278 倍であった。また、冬季に北京市で捕集した TSP の抽出物は、同時期に日本の 2 地点で捕集した TSP の抽出物より、S9 mix 非存在下及び存在下で 13～25 倍強い変異原性を示した。これらの結果から、北京市の大気は春季、冬季のいずれにおいても日本の 2 地点の大気と比べて非常に汚染されており、特に冬季に PAHs など変異原性物質による汚染が重度であることが明らかになった。これらのことは、春季及び冬季に中国大陸から大気汚染物質が越境輸送される可能性があることを示唆する。また、TSP 中の $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ 及び $[1\text{-NP}]/[\text{PY}]$ から、北京市における TSP 中の PAHs 及び NPAHs の主な発生源は、冬季は石炭・バイオマス燃料の燃焼であり、春季は石油系燃料の燃焼であることが示唆され、冬季の暖房用燃料燃焼の影響が大きいと考えられた。

西日本沿岸地域における遺伝毒性物質及び他の汚染物質による越境大気汚染の状況について明らかにするため、越境大気汚染が発生しやすいと予想される冬季と春季を重点的に鳥取県湯梨浜町において 2012 年 6 月から 2013 年 5 月の 1 年間にわたって TSP を捕集し、化学成分と変異原性を調べた。1 月から 3 月に捕集した TSP に S9 mix 非存在下及び存在下で強い変異原性を示すものが多くみられ、これら強い変異原性を示した TSP の捕集日に、中国大陸からの越境大気汚染の指標である Pb 及び SO_4^{2-} が高濃度で検出され、PAHs 濃度が高かった。強い変異原性を示した 3 月の TSP の捕集日は、TSP と土壌の指標となる Fe の大気中の濃度が高く、1 月及び 2 月には、高濃度の TSP と Fe は検出されなかった。また、TSP 中の $[\text{IcdP}]/([\text{IcdP}]+[\text{BghiP}])$ 及び $[\text{FR}]/([\text{FR}]+[\text{PY}])$ から冬季及び春季の TSP 中の PAHs の主な発生源が、北京市と同様に石炭・バイオマス燃料の燃焼であることが示唆された。後方流跡線解析の結果、強い意変異原性を示した TSP が捕集された空気塊は、中国の北部あるいは東部を經由して湯梨浜町に移動したと推測された。これらの結果は、高濃度の変異原性物質が 3 月には黄砂とともに、1 月と 2 月には黄砂を伴わずに中国大陸から西日本沿岸地域に輸送されたことを示唆するものと考えられた。

以上の結果は、中国の大都市における大気中の遺伝毒性物質等による汚染状況及び日本への越境汚染の現状を理解し、それらのヒト健康への影響を防ぐための対策を考えるうえで重要な知見であると考えられる。

謝 辞

本研究に際し、終始御懇切な御指導と御鞭撻を賜りました京都薬科大学公衆衛生学分野の渡辺徹志教授、長谷井友尋講師に謹んで深甚なる謝意を表します。

また、本研究を行うにあたり、TSPの捕集にご協力いただくとともに金属元素分析及び水溶性イオン分析について御指導を賜りました大阪市立環境科学研究所の船坂邦弘先生、浅川大地先生に深謝いたします。また、TSPの捕集にご協力いただきました中国科学院生態環境研究中心の趙利霞先生、金沢大学の鳥羽陽先生、唐寧先生及び早川和一先生、名古屋市環境科学調査センターの池盛文数先生、鳥取県衛生環境研究所の大呂忠司先生に深謝いたします。

本論文の作成にあたり、ご指導を賜りました京都薬科大学細胞生物学分野の藤室雅弘教授ならびに代謝分析学分野の安井裕之教授に深謝いたします。

本研究にご協力いただいた京都薬科大学公衆衛生学分野員の方々に心より深謝致します。

最後に温かく見守り続けてくれた家族に心から感謝いたします。

論文目録

学位論文の基礎となる報文及び該当する章・節

1. Souleymane Coulibaly, Hiroki Minami, Maho Abe, Nami Furukawa, Ryo Ono, Tomohiro Hasei, Akira Toriba, Ning Tang, Kazuichi Hayakawa, Kunihiro Funasaka, Daichi Asakawa, Fumikazu Ikemori, Masanari Watanabe Naoko Honda, Keiji Wakabayashi, and Tetsushi Watanabe, Comparison of air pollution in metropolises in China (Beijing) and Japan (Osaka and Nagoya) on the basis of the levels of contaminants and mutagenicity, *Biol. Pharm. Bull.*, **39**, 415–422 (2016). [第 1 章]
2. Souleymane Coulibaly, Hiroki Minami, Maho Abe, Tomohiro Hasei, Tadashi Oro, Kunihiro Funasaka, Daichi Asakawa, Masanari Watanabe, Naoko Honda, Keiji Wakabayashi, Tetsushi Watanabe, Long-range transport of mutagens and other air pollutants from mainland East Asia to western Japan, *Genes Environ.*, **37**, 25 (2015). [第 2 章]

その他の参考論文

1. Kunihiro Funasaka, Daichi Asakawa, Yuichiro Oku, Naoya Kishikawa, Yuya Deguchi, Nobuyuki Sera, Tetsuro Seiyama, Kazunori Horasaki, Keiichi Arashidani, Akira Toriba, Kazuichi Hayakawa, Masanari Watanabe, Hiroyuki Kataoka, Takako Yamaguchi, Fumikazu Ikemori, Yohei Inaba, Kenichi Tonokura, Masayuki Akiyama, Osamu Kokunai, Souleymane Coulibaly, Tomohiro Hasei, Tetsushi Watanabe, Spatial correlativity of atmospheric particulate components simultaneously collected in Japan, *Environ. Monit. Assess.*, in press.

2. Souleymane Coulibaly, Hiroki Minami, Maho Abe, Tomohiro Hasei, Nobuyuki Sera, Shigekazu Yamamoto, Kunihiro Funasaka, Daichi Asakawa, Masanari Watanabe, Naoko Honda, Keiji Wakabayashi, and Tetsushi Watanabe, Seasonal fluctuations in Air pollution in Dazaifu, Japan, and effect of long-range transport from mainland East Asia, *Biol. Pharm. Bull.*, **38**, 1395–1403 (2015).
3. Tetsushi Watanabe, Tomohiro Hasei, Osamu Kokunai, Souleymane Coulibaly, Sachi Nishimura, Moe Fukasawa, Ryohei Takahashi, Yasuko Mori, Kosuke Fujita, Yuri Yoshihara, Yumi Miyake, Akane Kishi, Motoki Matsui, Fumikazu Ikemori, Kunihiro Funasaka, Akira Toriba, Kazuichi Hayakawa, Kei-ichi Arashidani, Yohei Inaba, Nobuyuki Sera, Yuya Deguchi, Tetsuro Seiyama, Takako Yamaguchi, Masanari Watanabe, Naoko Honda, Keiji Wakabayashi, and Yukari Totsuka, Air pollution with particulate matter and mutagens: Relevance of Asian dust to mutagenicity of airborne particles in Japan, *Genes Environ.*, **36**, 120–136 (2014).
4. Yukari Totsuka, Tetsushi Watanabe, Souleymane Coulibaly, Sae Kobayashi, Marina Nishizaki, Miho Okazaki, Tomohiro Hasei, Keiji Wakabayashi, Hitoshi Nakagama, In vivo genotoxicity of a novel heterocyclic amine, aminobenzoazepinoquinolinone-derivative (ABAQ), produced by the Maillard reaction between glucose and L-tryptophan, *Mutat. Res.*, **760**, 48–55 (2014).

引用文献

- 1) U.S. EPA (2009) Integrated science assessment for particulate matter (Final Report). EPA/600/R-08/139F.
- 2) Archer VE. Air pollution and fatal lung disease in three Utah counties. *Arch. Environ. Health.*, **45**, 325–334 (1990).
- 3) Dockery DW, Pope CA 3rd, Xu X, Spengler JD, Ware JH, Fay ME, Ferris Jr BG, Speizer FE. An association between air pollution and mortality in six U.S. cities. *N. Engl. J. Med.*, **329**, 1753–1759 (1993).
- 4) Pope CA 3rd, Burnett RT, Thun MJ, Calle EE, Krewski D, Ito K, Thurston GD. Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. *JAMA*, **287**, 1132–1141 (2002).
- 5) Katanoda K, Sobue T, Satoh H, Tajima K, Suzuki T, Nakatsuka H, Takezaki T, Nakayama T, Nitta H, Tanabe K, Tominaga S. For the three-prefecture cohort study group, an association between long-term exposure to ambient air pollution and mortality from lung cancer and respiratory diseases in Japan. *J. Epidemiol.*, **21**, 132–143 (2011).
- 6) Watanabe M, Kurai J, Shimizu E. Influence of Asian dust storm on asthma in western Japan. *Genes Environ.*, **36**, 120–136 (2014).
- 7) International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs No.109. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Publications/GeneralPrinciples.pdf>
- 8) Ohara T, Akimoto H, Kurukawa J, Horii N, Yamaji K, Yan X, Hayasaka T. An Asian emission inventory of anthropogenic emission sources for the period 1980–2020. *Atmos. Chem. Phys.*, **7**, 4419–4444 (2007).
- 9) Department of energy statistics, national bureau of statistics of China 2011. China energy statistical yearbook 2011. Beijing: China statistics press.
- 10) Ravindra K, Sokhi R, Grieken RV. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: Source attribution, emission factors and regulation. *Atmos. Environ.*, **42**, 2895–2921 (2008).
- 11) Rogge WF, Hildemann LM, Mazurek MA, Cass GR, Simoneit BRT. Sources of fine organic aerosol. 2. Non-catalyst and catalyst-equipped automobiles and heavy-duty diesel trucks. *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 636–651 (1993).
- 12) Hayakawa K, Murahashi T, Butoh M, Miyazaki M. Determination of 1,3-, 1,6-, and 1,8-dinitropyrenes and 1-nitropyrene in urban air by high-performance liquid chromatography using chemiluminescence detection. *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 928–932 (1995).
- 13) Hayakawa K, Noji K, Tang N, Toriba A, Kizu R, Sakai S, Matsumoto Y. A high-performance liquid chromatographic system equipped with on-line reducer,

- clean-up and concentrator columns for determination of trace levels of nitropolycyclic aromatic hydrocarbons in airborne particulates. *Analytica. Chimica. Acta.*, **445**, 205–212 (2001).
- 14) Xu H, Wang X, Pöschl U, Feng S, Wu D, Yang L, Li S, Song W, Sheng G, Fu J. Genotoxicity of total and fractionated extractable organic matter in fine air particulate matter from urban Guangzhou: comparison between haze and nonhaze episodes. *Environ. Toxicol. Chem.*, **27**, 206–212 (2008).
 - 15) Wang W, Jariyasopit N, Schrlau J, Jita Y, Tao S, Yu TW, Dashwood RH, Zhang W, Wang X, Simonich SLM. Concentration and photochemistry of PAHs, NPAHs, and OPAHs and toxicity of PM_{2.5} during the Beijing Olympic games. *Environ. Sci. Technol.*, **45**, 6887–6895 (2011).
 - 16) Zhao X, Wan Z, Chen G, Zhu H, Jiang S, Yao J. Genotoxicity activity of extractable organic matter from urban airborne particles in Shanghai, China. *Mut. Res.*, **514**, 177–192 (2002).
 - 17) 環境省 : <https://www.env.go.jp/air/dss/pamph/> (2008).
 - 18) 西川 雅高, 森 育子, 谷村 俊史, 小柳 秀明, 狄 一安, 李 燕, 全 浩 : 東アジアにおける黄砂現象とその化学的特徴. *地球環境*, **7**, 181–186 (2002).
 - 19) Lin CY, Wang Z, Chen WN, Chang SY, Chou CCK, Sugimoto N, Zhao X. Long-range transport of Asian dust and air pollutants to Taiwan: Observed evidence and model simulation. *Atmos. Chem. Phys.*, **7**, 423–434 (2007).
 - 20) Kim HS, Chung YS, Lee SG. Characteristics of aerosol types during large-scale transport of air pollution over the Yellow Sea region and at Cheongwon, Korea, in 2008. *Environ. Monit. Assess.*, **184**, 1973–1984 (2012).
 - 21) Kim HS, Chung YS, Choi HJ. On air pollutant variations in the cases of long-range transport of dust particles observed in central Korea in the lee side of China in 2010. *Air Qual. Atmos. Health.*, **7**, 309–323 (2014).
 - 22) Yang XY, Okada Y, Tang N, Matsunaga S, Tamura K, Lin JM, Kameda T, Toriba A, Hayakawa K. Long-range transport of polycyclic aromatic hydrocarbons from China to Japan. *Atmos. Environ.*, **41**, 2710–2718 (2007).
 - 23) Takami A, Imai T, Shimizu A, Matsui I, Sugimoto N, Hatakeyama S. Transport of anthropogenic and dust aerosol observed at Cape Hedo, Okinawa. *J. Aerosol Res.*, **21**, 341–347 (2006).
 - 24) Ohara T, Uno I, Kurokawa J, Hayashi M, Shimizu A. Episodic pollution of photochemical ozone during 8–9 May 2007 over Japan—Overview—. *J. Jpn. Soc. Atmos. Environ.*, **43**, 198–208 (2008).
 - 25) Sato K, Takami A, Irei S, Miyoshi T, Ogawa Y, Yoshino A, Nakayama H, Maeda M, Hayakawa S, Hara K, Hayashi M, Kaneyasu N. Transported and local organic aerosol over Fukuoka, Japan. *Aerosol Air Qual. Res.*, **13**, 1263–1272 (2013).

- 26) Watanabe T, Hasei T, Kokunai O, Coulibaly S, Nishimura S, Fukasawa M, Takahashi R, Mori Y, Fujita K, Yoshihara Y, Miyake Y, Kishi A, Matsui M, Ikemori F, Funasaka K, Toriba A, Hayakawa K, Arashidani K, Inaba Y, Sera N, Deguchi Y, Seiyama T, Yamaguchi T, Watanabe M, Honda N, Wakabayashi K, Totsuka Y. Air pollution with particulate matter and mutagens: Relevance of Asian dust to mutagenicity of airborne particles in Japan. *Genes Environ.*, **36**, 120–136 (2014).
- 27) Zhao P, Zhang X, Xu X, Zhao X. Long-term visibility trends and characteristic in the region of Beijing, Tianjin, and Hebei, China. *Atmos. Res.*, **101**, 711–718 (2011).
- 28) Zhao PS, Dong F, He D, Zhao XJ, Zhang XL, Zhang WZ, Yao Q, Liu HY. Characteristics of concentrations and chemical compositions for PM_{2.5} in the region of Beijing, Tianjin, and Hebei, China. *Atmos. Chem. Phys.*, **13**, 4631–4644 (2013).
- 29) Hioki T, Nakanishi S, Mukai H, Murano K. Analysis of long-range transport of aerosols, with water-soluble ionic species and trace metal components, collected continuously with particle size segregation in the coastal area of the Sea of Japan-focusing on the Kosa event in spring 2002. *J Aerosol Res.*, **21**, 160–175 (2006).
- 30) Mukai H, Tanaka A, Fujii T, Zeng Y, Hong Y, Tang J, Guo S, Xue H, Sun Z, Zhou J, Xue D, Zhao J, Zhai G, Gu J, Zhai P. Regional characteristics of sulfur and lead isotope ratios in the atmosphere at several Chinese urban sites. *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 1064–1071 (2001).
- 31) Watanabe M, Ishidate M, Nohmi T. Sensitive method for detection of mutagenic nitroarenes and aromatic amines: new derivatives of *Salmonella typhimurium* tester strains possessing elevated *O*-acetyltransferase levels. *Mutat. Res.* **234**, 337–48 (1990).
- 32) Lynch AJ, McQuaker NR, Brown DF. ICP/AES Analysis and the composition of airborne and soil materials in the vicinity of a lead/zinc smelter complex. *J. Air Pollut. Control Assoc.*, **30**, 257–260 (1980).
- 33) Funasaka K, Sakai M, Shinya M, Miyazaki T, Kamiura T, Kaneco S, Ohta K, Fujita T. Size distributions and characteristics of atmospheric inorganic particles by regional comparative study in urban Osaka, Japan. *Atmos. Environ.*, **37**, 4597–4605 (2003).
- 34) Yonemochi S, Umezawa N, Matsumoto R. Evaluation of mass concentrations and chemical compositions of PM_{2.5} for five years in the north Saitama region. *J. Jpn. Soc. Atmos. Environ.*, **42**, 129–142 (2007).
- 35) Coulibaly S, Minami H, Abe M, Hasei T, Sera N, Yamamoto S, Funasaka K, Asakawa D, Watanabe M, Honda N, Wakabayashi K, Watanabe T. Seasonal fluctuations of air pollution in Dazaifu, Japan, and the effect of long-range transport from mainland East Asia. *Biol. Pharm. Bull.*, **38**, 1395–1403 (2015).
- 36) Hasei T, Nakanishi H, Toda Y, Watanabe T. Development of two-dimensional high-performance liquid chromatography system coupled with on-line reduction as a

- new efficient analytical method of 3-nitrobenzanthrone, a potential human carcinogen. *J. Chromatogr. A*, **1253**, 52–57 (2012).
- 37) García-Alonso S, Barrado-Olmedo AI, Perez-Pastor RM. An analytical method to determine selected nitro-PAHs in soil samples by HPLC with fluorescence detection. *Polycyclic Aromatic Compounds*, **32**, 669–682 (2012).
- 38) Maron DM, Ames BN. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat. Res.*, **113**, 173–215 (1983).
- 39) Dong X, Liu D, Gao S. Seasonal variations of atmospheric heterocyclic aromatic amines in Beijing, China. *Atmos. Res.*, **120–121**, 287–297 (2013).
- 40) Liu S, Tao S, Liu W, Liu Y, Dou H, Zhao J, Wang L, Wang J, Tian Z, Gao Y. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons in north China: a winter-time study. *Environ. Sci. Technol.*, **41**, 8256–8261 (2007).
- 41) Yunker MB, Macdonald RW, Vingarzan R, Mitchell RH, Goyette D, Sylvestre S. PAHs in the Fraser River Basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Org. Geochem.*, **33**, 489–515 (2002).
- 42) Tang N, Hattori T, Taga R, Igarashi K, Yang XY, Tamura K, Kakimoto H, Mishukov VF, Toriba A, Kizu R, Hayakawa K. Polycyclic aromatic hydrocarbons and nitropolycyclic aromatic hydrocarbons in urban air particulates and their relationship to emission sources in the Pan-Japan Sea countries. *Atmos. Environ.*, **39**, 5817–5826 (2005).
- 43) Zhou J, Wang T, Huang Y, Mao T, Zhong N. Size distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in urban and suburban sites of Beijing, China. *Chemosphere*, **61**, 792–799 (2005).
- 44) Japan Meteorological Agency. “Data bank of global environment-Kosa.”: http://www.data.jma.go.jp/gmd/env/kosahp/kosa_data_index.html (2015). Accessed in March 2015.
- 45) DSS – Dust and sand storms – MOEJ real-time DSS information (LIDAR DSS observation data page). <http://soramame.taiki.go.jp/dss/kosa/en/index.html> (2015). Accessed in March 2015.
- 46) Ueda K, Shimizu A, Nitta H, Inoue K. Long-range transported Asian dust and emergency ambulance dispatches. *Inhalation Toxicol.*, **24**, 858–867 (2012).
- 47) Tsuji A, Hioki T. Detailed analysis of transboundary transport of Kosa and anthropogenic substances by size-segregated and highly time-resolved observation of ionic components and inorganic elements in ambient aerosols. *J. Jpn. Soc. Atmos. Environ.*, **48**, 82–91 (2013).
- 48) Air Resources Laboratory. “HYSPLIT-Hybrid Single Particle Lagrangian Integrated Trajectory Model. <http://www.ready.noaa.gov/HYSPLIT.php> (2015). Accessed in March 2015.

- 49) Zhang Y, Tao S. Global atmospheric emission inventory of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) for 2004. *Atmos. Environ.*, **43**, 812–819 (2009).
- 50) Einistö P, Watanabe M, Ishidate Jr., Nohmi T. Mutagenicity of 30 chemicals in *Salmonella typhimurium* strains possessing different nitroreductase or *O*-acetyltransferase activities. *Mutat. Res.*, **259**, 95–102 (1991).
- 51) Wang Y, Yao L, Wang L, Liu Z, Ji D, Tang G, et al. Mechanism for the formation of the January 2013 heavy haze pollution episode over central and eastern China. *Sci China Earth Sci.*, **57**, 14–25 (2014).
- 52) Wang XY, Li QB, Luo YM, Ding Q, Xi LM, Ma JM, et al. Characteristics and sources of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Shanghai, China. *Environ Monit. Assess.*, **165**, 295–305 (2010).
- 53) 中国統計年鑑 2013 年版
<http://www.sp.cjst.go.jp/statistics/stats2013/index.html>