

氏名	チョウ 周	ベイ 佩	シン 欣
学位(専攻分野)	博士 (地球環境学)		
学位記番号	地環博第30号		
学位授与の日付	平成19年3月23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
研究科・専攻	地球環境学舎地球環境学専攻		
学位論文題目	Xenobiotic AhR Ligands in the Aquatic Environment: Detection, Identification, and the Toxicological Implication (水環境中新規外因性 AhR リガンドの検出と同定)		
論文調査委員	(主査) 教授 松井三郎	教授 杉山雅人	助教授 松田知成

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、水環境中の未知の外因性ダイオキシン受容体 (AhR) リガンドの検出を目的とし、高速液体クロマトグラフ (HPLC)、バイオアッセイと液体クロマトグラフタンデム質量分析器 (LC-MS/MS) を組み合わせた分析手法により淀川水系における新規の AhR リガンド四種類を同定し、更にこれらの物質の環境中の分布実態及び代謝酵素による分解性を調べた結果をまとめたもので、7章からなっている。

第1章は、研究の背景、目的及び論文構成について説明した序論である。

第2章は、環境汚染物質の毒性発現における AhR の役割、環境中における既知の AhR リガンド、AhR リガンドを検出するバイオアッセイ、及び主要な研究対象とした淀川水系の汚染状況を紹介したものである。

第3章は、酵母レポーターゼンアッセイによる様々な環境試料において AhR リガンドの有無を調査した結果である。この章では、京都市の下水処理水、染色工場排水や有明海の底泥試料に AhR リガンド活性が検出されたため、人間活動由来の外因性 AhR リガンドの汚染が示唆された。

第4章は、下水処理水及び染色工場排水から四つの外因性 AhR リガンド候補物質を効率的に単離・同定し、これらの候補物質に関する情報をまとめた結果である。この章では、下水処理水中に AhR リガンド活性を持つローダミン染料とアントラキノン系分散染料が検出され、下水処理施設によりこれらの外因性リガンドを処理しきれなかったことが示された。また、染色工場排水中に検出されたキノリン系分散染料は強い活性のある外因性 AhR リガンドであることを明らかにした。

第5章は、前章で同定された外因性 AhR リガンドの環境中の分布実態を解明するため、処理水が流入する淀川水系における7地点から河川水と底泥を採取し、バイオアッセイによる各試料の AhR リガンド活性を調べ、LC-MS/MS を用いて同定されたりガンドの濃度を測定した結果である。この章では、河川水の AhR リガンド活性物質は下水由来であることと、底泥の AhR リガンド活性物質は多環芳香族類の関連物質であることが判明された。

第6章は、強い AhR リガンド活性を示したキノリン系分散染料は AhR によって誘導される代謝酵素で代謝されるかを明らかにするため、遺伝子を組み換えたマウス肝臓細胞 (CALUX) や CYP1A1 を発現する酵母、ヒト組み換え型 CYP1A1, CYP1A2 を用いたバイオアッセイで実験を行った結果である。この章では、キノリン系分散染料は CYP1A1 や CYP1A2 により代謝され、AhR リガンド活性を失うことが示された。

第7章は、各章で述べた成果をまとめ、本論文の結論及び今後の研究課題を示したものである。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

人間活動により様々な化学物質が水環境へ絶えず流入している。水環境中に残留する既知の難分解性物質に関する調査や毒性評価が行われてきたが、全体の汚染状況を把握するにはいまだに未知汚染物質の探索が必要である。本論文は、種々のバイオアッセイと分析機器を組み合わせた実験手法を開発し、化学組成が非常に複雑な環境試料からダイオキシン類と同様

の毒性発現メカニズムを示す AhR リガンド候補物質を単離させ、構造解析を行ったものである。得られた成果は次のとおりである。

- (1) 酵母レポータージーンアッセイにより、京都市の下水処理水、染色工場排水や有明海の底泥試料に AhR リガンド活性が検出され、人間活動由来の外因性 AhR リガンドの汚染が示唆された。
- (2) 下水処理水及び染色工場排水から四つの外因性 AhR リガンド候補物質を効率的に単離・同定し、下水処理水中にはローダミン染料とアントラキノン系分散染料が検出され、これらの物質が処理しきれないことを示した。また、染色工場排水中に検出されたキノリン系分散染料は強い活性のある外因性 AhR リガンドであることを明らかにした。
- (3) 外因性 AhR リガンドの環境中の分布実態を解明するため、下水処理水が流入する淀川水系の7地点から河川水と底泥を採取し、LC-MS/MS を用いて同定した各種リガンドの濃度を測定した。河川水の AhR リガンド活性物質は下水由来であること、底泥の AhR リガンド活性物質は PAHs の関連物質であることを明らかにした。
- (4) AhR リガンド活性を示したキノリン系分散染料は、AhR によって誘導されるヒト型 CYP1A1, CYP1A2 酵素で代謝されるか否かを明らかにするため、遺伝子を組み換えたマウス肝臓細胞 (CALUX), ヒト遺伝子組み換え型 CYP1A1 酵母を用いてバイオアッセイを行った。キノリン系分散染料は CYP1A1 や CYP1A2 により代謝され、AhR リガンド活性を失うことが示された。市販されているアントラキノン系及びキノリン系分散染料が AhR リガンド活性を示したため、これらの染料の環境有害性に関する懸念が指摘された。

以上要するに、新規バイオアッセイと LC/MS/MS 分析機器の巧妙な組み合わせで、有害な化学物質を効率よく分析、同定する方法を開発した成果により、本論文は地球環境学の発展に大きく貢献した。よって、本論文は博士 (地球環境学) の学位論文として価値あるものと認める。また、平成19年1月18日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。