

氏 名	もうりしの 毛 利 紫 乃
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	工 博 第 2082 号
学位授与の日付	平 成 13 年 7 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	工 学 研 究 科 環 境 工 学 専 攻
学位論文題目	<i>umu</i> 試験による有害化学物質と排水の遺伝子毒性影響評価に関する研究

論文調査委員 (主 査)
教授 宗 宮 功 教授 津 野 洋 教授 森 澤 眞 輔

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、遺伝子毒性試験 *umu* 試験により、水環境中に溶存する化学物質の毒性評価を行い、さらに環境監視手法として汎用化するため、試験手法並びに得られたデータの評価法の開発を行い、環境監視の場での適用実施例を示して有効性を確かめたものである。構成は3部、8章である。

第Ⅰ部は概説であり、第1章 序論では、化学物質の濃度規制による水環境の安全性管理を補完する包括的評価法としての観点から生物試験について述べ、汎用化に向けての検討課題をまとめている。第2章 水環境の遺伝子毒性と *umu* 試験では遺伝子毒性試験による水環境評価の問題点を明らかにしている。*umu* 試験は国内外で環境研究、管理手法として標準化され、迅速かつ経済的であり、供試生物の保有、試験操作が簡便であるなど汎用法としての利点を備えているが、試料水の高倍率の濃縮を必要とすること、懸濁物質による偽結果など前処理法、試験法の適正化が必要であることを述べている。

第Ⅱ部は既知の発がん性物質を対象とした評価を行っている。第3章 浄水工程での酸化処理に伴う副生成物の評価では、オゾン酸化処理副生成物である発がん性臭素酸イオンの遺伝子毒性について実験的に検討し、①12～21時間の長時間反応において陽性を示すこと、②ラット肝酵素群を含む S9mix により低濃度において毒性が抑制されること、③臭素酸イオンは S9mix により20時間に0.43 (mg BrO₃⁻/mgS9 protein) 分解されること、④SH 化合物 L-cysteine, glutathione が臭素酸イオンの毒性を抑制することを明らかにし、微量物質の評価では陽性、陰性による判定のみならず、生体内物質による遺伝子毒性の消長の評価も重要であることを指摘した。第4章 水環境中の毒性物質の同定・定量とリスク評価では、ヒト食生活由来の発がん性ヘテロサイクリックアミンを対象とし、環境試料の遺伝子毒性評価に加えて高速液体クロマトグラフィーによる分画、マスマスペクトル分析により以下の成果を得ている。①し尿、都市下水原水中の発がん性物質である Trp-P-2 は2次処理により減少するものの、し尿処理水中で230～750 (ng/L)、下水処理水中で9.6 (ng/L) 残存している。②汚泥処理工程が下水処理水中の毒性の負荷源の一つである。③都市河川水中に1～10 (ng/L) の Trp-P-2を検出し、その由来として下水処理を推定している。④浄水原水に検出された毒性は、処理によって消滅する。⑤ Trp-P-2に関する発がんリスクの試算で、し尿処理場試料、下水原水のリスクが10⁻⁶を越え、管理の必要性が示された。

しかし食品のリスクはこれらより高く、処理水、河川水ではリスクは10^{-6.5}～10^{-7.5}へと低下する。これらより環境試料のヒト食生活由来の発がん物質の相対評価が有用であるとしている。

第Ⅲ部では研究目的を物質の評価から場の評価へと転換し、第5章 水環境監視のための *umu* 試験法の適正化に関し環境試料の前処理の問題や、阻害について考察し、それらを解消する *umu* 試験菌体濃縮法の検討を行い、①濃縮菌体を試料に投入する手法により10倍程度感度が上昇すること、②初期菌体濃度のずれによる誤差、操作上の負担が軽減すること、さらに③測定が簡便なマイクロプレートにおいても可能であり、同等の感度を持つことを確認している。第6章 水環境試料の毒性検出と監視の実施例では、実際の環境試料測定の際の問題を菌体濃縮法によって解決し、監視手法としての有用性を確認した。すなわち①濃縮物の懸濁による吸光度測定への阻害に対し、濁度補正が必要かつ有効であること、②固相抽出に

対し、減圧濃縮がより包括的に遺伝子毒性物質を濃縮、評価可能であること、③菌体濃縮法を用いた生活系排水合併処理プロセスの監視により、生物処理によって毒性が低減していること、④週1回、6ヶ月にわたる廃棄物最終処分場の監視により、浸出水が比較的高い遺伝子毒性を示すものの、処理によって周辺環境水と同程度まで低減されることを示し、減圧濃縮を前処理とした、*umu* 試験菌体濃縮法（マイクロプレート）が包括的な環境監視の汎用法として有用であることを確認した。第7章 環境監視のための *umu* 試験法と結果の評価法では、本研究で適正化した *umu* 試験についてプロトコルをまとめ、結果の評価法として *umu* 試験による環境監視における希釈係数 D-factor を導入し、水環境管理手法における相対評価に基づく環境影響評価を可能にした。処分場監視結果より実質無作用希釈倍率の試算を行った結果、処理後放流水は1.27倍希釈することによって放流先河川に遺伝子毒性負荷を与えない、また処理前の浸出水は4.83倍希釈が必要であることを示した。

第8章は結論であり、本論文で得られた成果について要約している。

論文審査の結果の要旨

本論文は、水環境中に溶存する化学物質の毒性評価に当たり、遺伝子毒性試験 *umu* 試験をとりあげ、その測定手法並びにデータの評価法の開発を進め、実水環境の場での監視手法として *umu* 試験法の適用を試みたものである。得られた主な成果は次の通りである。

1. 既知の発がん物質として、オゾン酸化副生成物である臭素酸とヒト食生活由来の芳香族アミンとを取り上げ、*umu* 試験と機器分析により、肝酵素群、SH 化合物による毒性の抑制、分解を明らかにし、共存物質による毒性消長の評価の重要性を示した。また、廃水中の Trp-P-2 の生物処理による減少、下水汚泥処理工程での発生、処理水による河川水系への負荷を明らかにした。し尿、下水中の Trp-P-2 の発がんリスクは 10^{-6} を越えるが、食品のリスクよりは遙かに低く、環境試料の相対評価の有用性を示した。
2. 環境監視手法として *umu* 試験菌体濃縮法（マイクロプレート）を開発し、高感度化、簡易化を図り、毒性検出において濁度補正が必要かつ有効であること、固相抽出に対し減圧濃縮が包括的評価に適していることを示した。
3. 生活系排水合併処理プロセス、廃棄物最終処分場の監視結果から、*umu* 試験菌体濃縮法が汎用法として有用であることを確認し、試験法のプロトコルをまとめた。
4. 評価法として希釈係数 D-factor を導入し、実質無作用希釈倍率の試算により、浸出水の処理後放流水は1.27倍希釈することにより放流先河川に遺伝子毒性負荷を与えないという結果を示した。

以上、本論文は一般環境水中の化学物質に関わる毒性を評価するために、遺伝子毒性試験である *umu* 試験をとりあげ、その機序を効果的に利用し、安定した試験成果を得るためのプロトコルを確立し、定量結果を評価する新規指標を開発して実用性を確かめたもので、学術上、實際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成13年5月21日、論文内容とそれに関連した試問を行った結果、合格と認めた。