



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Toxicogenomic Approach to Impact Assessment of Whole Wastewater Effluents and Development of Effluent-Responsive Biomarker [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	山村, 宏江
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(工学)
Dissertation Number	甲第11137号
Issue Date	2013-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/53896
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Hiroe_Yamamura_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (工学) 氏名 山村 宏江

審査担当者 主 査 教 授 岡部 聡
 副 査 教 授 高橋 正宏
 副 査 教 授 船水 尚行

学位論文題名

Toxicogenomic Approach to Impact Assessment of Whole Wastewater Effluents and Development of Effluent-Responsive Biomarker

(トキシコゲノミクス的アプローチを用いた下水処理水の包括的影響評価及び 下水応答性バイオマーカーの開発)

地球温暖化、都市化、人口増加などにより、世界各地で水不足や水質汚染が進行し、安全・安心な水の安定的供給が困難となっている地域が増加している。これらの地域では、多様な水源を有効活用すると同時に、我々の身近に存在し天候にも左右されない都市下水を水量および水質的に安定した水資源として有効利用することが期待されている。今日、すでにナミビアでは都市下水を高度な膜処理技術によって浄化し飲用水として直接利用している。また、シンガポールや米国カリフォルニア州では、下水再生水を貯水池や地下水に涵養した後、水道水源として用いている。しかし、下水再生水には下水由来の未知微量汚染物質や医薬品、さらには近年ナノマテリアル等が残留することが報告されており、長期間飲用によるヒトの健康への影響が懸念されている。従って、下水を都市の貴重な水源と位置付け、飲用利用を含め再利用するためにはヒトの健康に及ぼす影響を迅速かつ厳密に評価し安全性を担保することが重要である。従来、水試料の総合的な毒性を簡便・迅速に評価する手法として、動物細胞、細菌、酵母などを使った *in vitro* バイオアッセイが用いられてきた。しかし、個々のバイオアッセイ法が検出する毒性作用は限定的であるため、様々な作用を評価するためには複数のバイオアッセイ法を併用する必要がある、多くの時間と労力を要する。

そこで本研究では、処理水全体がヒト培養細胞に与える影響について遺伝子発現レベルで明らかにするとともに、それら影響を検知する下水応答性遺伝子マーカーを開発することを目的としている。具体的には、DNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析により、下水処理水の曝露群と未曝露群においてヒト培養細胞の遺伝子発現パターンを解析し、各種下水処理水の曝露がヒト培養細胞の生物学的機能に及ぼす影響を特定している。さらに、処理水曝露に対応する特定の遺伝子群をバイオマーカーとして選抜し、様々な物理化学的操作の前後でこれら遺伝子の発現変動の増減を調べたものである。

本論文の各章の内容は以下のようにになっている。

第1章では、持続可能な都市の水代謝システムを構築する上で、下水再生水の利用促進の重要性和その課題について述べている。特に、下水及び処理水試料が生体に及ぼす影響に対する迅速かつ包括的評価手法の開発が重要であることから、既往のバイオアッセイ法の特徴についてまとめるとともに、DNA マイクロアレイを用いた網羅的な遺伝子発現解析の有用性について述べている。

第2章では、複雑な化学物質を含有する水試料の毒性評価にバイオアッセイを活用した研究例をまとめた上で、特定の下水処理技術による生体影響の消長について既往知見を整理している。

第3章では、DNA マイクロアレイを用いて、膜分離活性汚泥処理水 (MBRs) 及び活性汚泥処理水 (AS) を曝露したヒト肝がん由来 HepG2 細胞の遺伝子発現パターンを解析し、遺伝子発現レベルで下水処理水が培養細胞に与える影響を検討している。実験の結果、水試料の暴露により有意に変

動する 2~926 個の遺伝子を検出している。これら遺伝子は、脂質代謝、内因性刺激への応答、無機物への応答、細胞成長等の細胞の機能に關与するものである。網羅的遺伝子発現解析の結果は、従来型の細胞毒性試験の結果と一致するとともに、処理水が培養細胞に与える影響の分子メカニズムに関して新たな知見を与えている。

第 4 章では、遺伝子発現レベルで下水処理水の影響を検知するバイオマーカーを開発するため、特定の遺伝子の処理水曝露に対する容量—反応關係を調べている。濃縮試料の取得には、回収率の高い浸透膜ろ過を用いた。処理水間で共通している変動遺伝子のうち、關連する生物学的機能、過去の検出頻度及びモデル毒性物質での検出状況の観点から優先度の高い 9 つのマーカー候補遺伝子を抽出した。これら遺伝子の段階希釈試料中における発現レベルの変化を定量 RT-PCR により測定し、濃度依存的な発現量増加を示した、AKR1B10、CYP1A1、GPX2 及び GCLM の 4 遺伝子を下水処理水応答性の遺伝子マーカーとして選抜している。

第 5 章では、遺伝子応答の原因成分について情報を得るため、様々な物理化学的操作の前後でマーカー遺伝子の定量を行っている。実験の結果、いずれの処理水においても、C18、キレート剤、及びイオン交換樹脂への通水の 3 操作が一部のマーカー遺伝子の応答を顯著に低減することを明らかにしている。活性炭吸着が有効な後段の処理として示唆されるとともに、原因成分の特性として、金属とのコンプレックス形成、陰イオン性の官能基の存在が推察された。さらに詳細な化学分析の結果、原因成分はフミンもしくはその構成物質と挙動を共にするものであることを示している。

第 6 章では、遺伝子発現レベルで水源汚染が問題となっている既知の毒性物質としてヒ素を対象とし、遺伝子発現パターンの比較により対象処理水がヒト細胞に与える影響に対する理解を深めている。

第 7 章では、本論文全体の結論と今後の展開、課題について述べている。

これを要するに、著者は、下水処理水全体がヒト培養細胞に与える影響を遺伝子発現レベルで明らかにするとともに、それら影響を検知する下水応答遺伝子マーカーを開発したものであり、環境リスク工学および水環境工学の発展に貢献するところ大なるものがある。よって著者は、北海道大学博士(工学)の学位を授与される資格あるものと認める。