



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Structure and stability studies on the lipid monolayers exposed to low-level ozone [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	喬, 琳
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第11796号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/59338
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Lin_QIA0_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士 (環境科学)

氏 名 喬 琳

審査委員	主査	准教授	叶	深
	副査	教 授	大澤	雅俊
	副査	教 授	中村	貴義
	副査	教 授	田中	俊逸
	副査	准教授	廣川	淳

学 位 論 文 題 名

Structure and stability studies on the lipid monolayers exposed to low-level ozone
(低濃度オゾンに曝露した脂質単分子膜の構造と安定性に関する研究)

オゾンは成層圏において太陽光に含まれる短波長の紫外線の殆どを吸収・遮断し、地球上にある生命体を保護する重要な役割を果たしている。地球の表面においてもオゾンは数十ppb程度で低く存在する。近年、産業活動や自動車から排出された窒素酸化物(NO_x)や揮発性有機化合物(VOC)が、光化学反応でオゾンやパーオキシアシルナイトレート等を生成してしまうことがある。オゾンは強力な酸化作用をもち、ppmオーダーの高濃度のオゾンに曝露される場合、喉や気管、気管支、肺胞への刺激などの様々な健康被害が生じる可能性が知られているが、ppbオーダーのような極低濃度のオゾンは生体への影響について殆ど知られていない。この問題を解決する第一歩として、オゾンとの相互作用に伴う細胞膜の構造変化を分子レベルで調べる必要がある。細胞膜は外部と接する細胞の第一関門として、細胞の機能性発現に極めて重要である。通常、リン脂質分子膜の二分子膜からなる細胞膜はその柔軟性と流動性などの機能性を維持するために、膜内に飽和脂質分子の他に、不飽和脂質分子も一定な割合に存在する。外部の酸化物質に対して飽和と不飽和脂質分子の安定性が全く異なるため、注意深く検討する必要がある。そこで、申請者は疑似的に極低濃度のオゾン環境($20 \pm 10 \text{ ppb}$)を構築し、種々のリン脂質分子からなる脂質単分子膜と接した状態で、 π -A等温線、原子間力顕微鏡(AFM)および和周波発生(SFG)非線形振動分光法などの表面科学的なアプローチを活用し、脂質単分子膜の構造や安定性について詳細に評価した。極低濃度のオゾン環境下における脂質分子酸化反応の反応機構と反応速度論、反応選択性などについて新しい知見を得ていた。

申請者は、まず飽和リン脂質のジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)と不飽和リン脂質のジオレオイルホスファチジルコリン(DOPC)について研究した。実験の結果、DPPC単分子膜はよくパッキングされる秩序的膜構造をもち、極低濃度のオゾン存在の影響を全く受けな

いことが分かった。一方、DOPC単分子膜は、窒素雰囲気において、DPPC単分子膜と比べてパッキング密度の減少と膜欠陥構造の存在が観測されたので、*cis*-C=C部位の存在はDOPC分子の配向に大きな影響を及ぼすことが分かった。DOPCの単分子膜を極低濃度のオゾンに曝露すると、水面上にあるDOPC分子の占有面積が急激に減少すると同時に、ビニル基のC-H伸縮振動のピークも消失した。このことから、DOPCの*cis*-C=C部位はオゾンにより選択的酸化され、その酸化生成物の溶解度が高く、水相に溶出したことが示唆された。一方、混合膜において、DPPCとDOPCは相分離し、その中にDOPC分子の配向は改善された。オゾン雰囲気に曝露すると、混合膜も分子占有面積の減少が観測された。詳細に調べた結果、DOPC単分子膜と比べると、オゾン曝露した後でも、混合膜において一部のDOPC分子は膜内に残存していることが判明された。膜内に飽和脂質分子の存在により、DOPCの酸化の抑制が示唆された。

さらに、申請者は肺胞膜などに多く存在する1-パルミトイル-2-オレオイル-グリセロール-3-ホスファチジルコリン(POPC)の不飽和脂質分子についても調べた。飽和と不飽和のアルキル鎖を一本ずつもつPOPC分子は、二本の不飽和アルキル鎖をもつDOPC分子と比べると、オゾン曝露に対して異なる挙動を示した。オゾン曝露の初期において占有面積が一旦増加し、その後ゆっくり減少に転じた。その場SFG測定の結果から、POPC分子のビニル基のC-H伸縮振動及び不飽和アルキル鎖末端のメチル基によるピークは曝露とともに消失した。反応生成物の同定から、POPC分子の*cis*-C=C部位が選択的に酸化され、その側鎖の末端が一部親水的なカルボキシル基に変わり、水表面に配向するため、分子占有面積の増大と関係することが判明された。このようにできたPOPCの酸化生成物は占有面積が大きく、安定性も悪くなり、非常に長い時間のオゾン曝露に伴い、徐々に水相に溶ける傾向も観測された。さらに、飽和脂質分子DPPCと作製した二元系単分子膜について調べた結果、分子構造が互いに影響し相分離状態も形成した。その中、オゾンによるPOPC分子の選択的酸化反応が進行したものの、その酸化過程はDPPCの存在により一部抑制されたことが得られた。

こうした申請者の一連の研究は、環境に近い極低濃度のオゾンによる脂質分子との相互作用について調べた結果、不飽和脂質分子のみ選択的に酸化されたことを初めて見出した。この酸化過程は不飽和脂質分子の構造及び飽和脂質分子との混合状態により強く影響されたことを示した。この一連の研究はオゾン酸化反応機構の解明や健康被害の理解と抑制の可能性に重要なインパクトを与えると考える。審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、長期にわたり研究と勉強に地道に努力し続け、大学院博士課程における研鑽や修得単位などもあわせ、申請者が博士（環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。