

# 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 陸 明

有機スズ化合物は、外因性内分泌攪乱物質いわゆる環境ホルモンとして、現在、製造中止、使用禁止措置がとられているが、未だに海洋汚染が続いており、海産巻貝類における有機スズによるインポセックスが広範に見られる状況にある。本論文は、有機スズによるインポセックス、即ち「メスのオス化」が、有機スズ化合物による海産巻貝類のステロイドホルモン代謝の攪乱にあるのではないかと、この考えから、有機スズ汚染による海産巻貝類のインポセックスとステロイドホルモンの変動との相関を求めることを最終目的としたもので、序章に続く7章からなる。

第1章では、有機スズ汚染とインポセックス発症およびその原因についてこれまでの研究経過をまとめている。

第2章では、海産巻貝類としてイボニシ (*Thais clavigera*) とバイ (*Babylonia japonica*) を対象に、海産巻貝類中の有機スズ汚染の経年変化とインポセックスとの相関について検討した。汚染域では未だに高濃度の有機スズが残存し、インポセックス発症の危険性があること、またバイのインポセックス罹患メスの卵巣に有機スズが集積すること、および有機スズ濃度とメスのペニス長とが明瞭な正の相関にあることを示した。

第3章では、巻貝類のホルモンに関する基礎的な知見がほとんどないことから、GC/MSのためのステロイドホルモンの分画法について諸々検討し、効果的な夾雑物質の除去法を確立した。

第4章ではGC/MSによるステロイドホルモンの同定と定量について述べている。内部標準物質として17β-エストラジオール-d<sub>3</sub>を用い、イボニシではテストステロンと17β-エストラジオールを、バイでは一斉分析の結果、テストステロン、アンドロステロン、17β-エストラジオール、エストロンおよびエチニルエストラジオールの存在を初めて確認した。内部標準物質の回収率は83%–96%の範囲にあり、良好な回収率を示した。これによりイボニシおよびバイ中のテストステロンと17β-エストラジオールを定量することに成功した。その結果、イボニシ精巢のテストステロン含量は生重で0.80 ± 0.20ng/g、卵巣の17β-エストラジオール含量は1.10 ± 0.20ng/g、バイ精巢のテストステロン含量は0.95 ± 0.29ng/g、卵巣の17β-エストラジオール含量は0.90 ± 0.22ng/gであった。なお、エチニルエストラジオールは人工ステロイドであることから、人間の放出物が海底に生息する巻貝にまで取り込まれていることを指摘した。

第5章では、第4章のGC/MSでは一回の分析に多数の個体を用いなければならず個体別の測定ができなかったことから、ELISA法による巻貝の個体別定量について検討した。しかし、ELISA法は、測定値がキット毎に異なり、また試料マトリックス成分や交差反応によっても測定値が大きく変動するので、こ

の点を集中的に検討した。先に示したGC/MSの分画法における抽出の初期段階の分画（非精製液）と、最終段階の分画（精製液）について測定したところ、非精製液は精製液より数倍から数十倍高い値を示したことから、試料の精製度が測定値の変動の原因となることを明らかにすることができた。その結果、GC/MSとよい一致を示す測定値が得られ、イボニシ個体別のテストステロン量を初めて測定できた。これによりELISA法により巻貝類中のステロイドの個体別の正確な測定値を得るための試料の前処理法を確定することができた。さらに、汚染域と非汚染域で採取されたイボニシの卵巢および精巣それぞれの個体別テストステロン含量を測定し、汚染域のテストステロン含量が高めにであることを確認した。

第6章では、イボニシおよびバイ中にテストステロンの存在が確認されたことから、海産巻貝類にテストステロン産生細胞が存在するかどうかを病理組織学的染色法および免疫組織化学的染色法により調べた。イボニシとバイに間細胞様の細胞が存在すること、さらに免疫組織化学的染色法によって、その間細胞様の細胞が強く染まることを観察した。このことからテストステロン産生細胞の存在の可能性が示唆された。

第7章では研究のまとめと今後の展望について述べている。

以上、本論文は、海産巻貝類におけるステロイドホルモンの分析法を確立し、有機スズによる内分泌攪乱作用におけるステロイドホルモンの関与を検討するための分析化学的基礎を築いた点で、学術上、応用上寄与するところが少なくない。よって、本審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。