

## 論文の内容の要旨

## 論文題目

**DEVELOPMENT OF PLANT COMET ASSAY AS  
A BIOMONITORING METHOD FOR URBAN AIR QUALITY ASSESSMENT**  
(植物を用いたコメットアッセイによる都市大気質評価のためのバイオモニタリング  
手法の開発)

氏 名           スリウサダポーン チュッチャリダ

異なる都市大気質と環境に対する生物の総合的な反応を遺伝子損傷性という観点から評価するために、バイオモニタリング(生物学的環境評価)手法を適用した。生物指標として研究対象地域に土着の植物を選択し、観測地点より採取した指標植物の葉を「コメットアッセイ」と呼ばれる単一細胞ゲル電気泳動試験により遺伝子損傷性を評価した。既存の植物コメットアッセイ手法を、実用に適した簡単で効果的な分析手法となるように改良した。

個々の細胞核の損傷度は画像解析より泳動 DNA 比として表した。泳動 DNA 比は電気泳動後のコメット頭部と尾部の全面積に対するコメット尾部の面積の比として求めた。個々の試料に対して、DNA 損傷度を「n 個のコメット画像の起こりうる最大泳動 DNA 比(完全に DNA が損傷されたと仮定した場合の泳動 DNA 比)の総計に対する n 個のコメット画像の泳動 DNA 比の総計の比」として定義し、DNA 損傷度を対象グループ間で比較した。

植物に対する道路交通起因汚染物質の影響を評価するために、ディーゼルエンジン排ガスに対する直接曝露試験を実施した。まず、ポトスをディーゼルのライトバンの排気ガスに連続的に直接曝露する試験を、熱帯都市であるバンコクの夏季に実施した。ディーゼルエンジンの一般車を 8 時間アイドリング運転し、その排気管の近くにポトスが入った実験容器を設置、葉を 2 時間毎に採取した。曝露開始後 2 時間で、葉に小さな茶色の斑点が発生した。斑点の面積は曝露時間経過に伴って少しずつ増大した。さらに曝露の最終段階においては、枯れた葉が観察された。DNA 損傷度は曝露時間に伴って増加し、その損傷度は一次の回帰式で表すことができた。以上のことから、道路交通に起因する汚染物質によって引き起こされたポトスの遺伝子損傷のコメットアッセイによる検出が可能であることが示された。

また、同様の試験を、曝露条件を変えて、東京において冬季に実施した。その結果、曝露条件や周囲の環境条件の違いにより、DNA 損傷度に顕著な違いあることが確認された。特に、暗条件かつ低温度及び湿度の高い条件の場合、気孔を介するガス交換速度が低下するため、DNA 損傷度は低下した。また、DNA 損傷度が低い場合、高濃度排気ガ

スへの曝露時にDNAが損傷しても、曝露停止時に回復し、周期的曝露試験を1ヶ月に延長した場合でもDNA損傷度は低かった。

植物コメットアッセイを長時間曝露バイオモニタリングに適用した。試験は東京大学本郷キャンパスにおいて2002年4月より10月まで行った。試験の主な目的は、都市大気汚染と他の環境要因に対する長期間曝露によって誘引されるDNA損傷度の変化を観察することにある。道路沿いと道路より離れたところにある植物の反応のちがいを比較した。銀杏(*Ginkgo biloba*)、ポトス(*Epipremnum aureum*)、日日草(*Vinca rosea*)の3種類の植物を入手しやすさと特性により生物指標として選択した。指標植物2セットを本郷通り沿いと本郷キャンパス内の道路から離れた場所に設置し、葉の試料を定期的に分析した。その結果、道路沿いの試料では道路より離れた所での試料に比べて顕著に高いDNA損傷度が観察された。DNA損傷度は時間とともに増大し、その変化曲線は非線形回帰式により説明された。また、異なる植物種では異なるDNA損傷度増加パターンが観察された。これは、個別の種の再安定化レベル(*Re-stabilized level*)、反応因子(*Response factor*)、及び耐性(*Tolerant ability*)のちがいによるものと考えられる。

DNA損傷のうち、都市大気汚染に起因する部分の影響を抽出する指標として、道路沿いの試料のDNA損傷度を非道路沿いの試料のDNA損傷度で除した値、R/N比を導入した。R/N比は、大気汚染以外の環境要素により引き起こされるバックグラウンドの損傷に付加された、道路沿いの大気汚染による部分の影響を示すものと解釈される。

バイオモニタリングを2003年4月にタイの首都バンコクで実施した。調査エリアにおける入手の容易さから、ポトスを生物指標として選択した。バンコク中心部の6本の主要道路において道路の特性の違いに基づき、調査地点を選択した。試験プラントを道路沿い、屋内、屋外高所、および非道路沿いに、それぞれ7~10日間設置した。曝露の前後に葉の試料を採取してそのDNA損傷度を比較した。その結果、曝露後のDNA損傷度の増加が観察され、道路沿い地点の試料がもっとも高い損傷度及び損傷度増加率を示したのに対し、非道路沿いと屋外高所では低レベルの損傷度及び損傷度増加率が観察された。

交通量、道路形状やスカイトレイン(高架鉄道)の有無等を説明変数とした重回帰分析を行い、DNA損傷度増加率に対する影響を定量化した。特に、道路を閉空間化するスカイトレインの有無については、もしスカイトレインが存在しなかった場合、現状のDNA損傷度増加率に比較して20%程度の損傷度増加率の低下が期待できることが示された。

イチョウを用いた道路環境のバイオモニタリングを東京大学キャンパス内と周辺沿道において、2003年7月に行った。沿道沿いのイチョウの葉のDNA損傷度は、キャンパス内のそれに比べて有意に高い値を示し、沿道環境の影響を確認した。交通量や道路からの距離等を説明因子とした重回帰モデルにより、それらの影響を定量化した。

結論として、異なった環境条件における都市大気汚染に対する植物への総合的な反応を遺伝子損傷性という観点から定性的かつ定量的に評価する方法として、コメントアッセイによるバイオモニタリング手法が適用可能であり、この手法が都市における予備的な大気性状評価法として適用可能であることが示された。生物への総合的な反応が、単純な実験手法により、短い曝露期間と低いコストで観察することができた。しかしながら、他の生物指標、道路特性、局所的大気環境、および他の環境要因による相乗作用或いは相殺作用についてのさらなる研究が望まれる。また、これらの要素間の関係を決定するために大気の同時オンサイトモニタリングも行う必要がある。