

また、本研究では、枯草菌の YycG/YycF TCS における DNA 結合蛋白質である YycF に対する特異的阻害剤を探索するため、新たに HD-YycF system を構築した。本システムを用いて解析を行った結果、YycF もホモ二量体を形成することが明らかとなった。さらに、YycF-YycF ホモ二量体形成阻害剤の探索を行った結果、新規阻害剤 D897 (4-methoxy-1-naphthol) を同定した。D897 は YycF に特異的に作用し、YycF 標的遺伝子である細胞壁合成関連遺伝子群 (*tagA*、*yocH*、*yycF*) の発現を抑制することで、枯草菌の細胞分裂を阻害し、その増殖を阻害していることが示された。

以上より、増殖必須二成分制御系 YycG/YycF を標的とした薬剤を開発するために、スクリーニングシステムの構築が行われ、本システムは標的蛋白質特異的且つ、ホモ二量体形成を阻害する薬剤探索に有効な手法であることが示された。さらに、同定された化合物 1-8-15、D897 は耐性菌に対し抗菌活性を有することが示された。このことは、YycG/YycF 系が薬剤開発において有力な標的であること示すものであり、また、蛋白質間相互作用を阻害することで新たな作用機作を有する薬剤の有効性を示唆するものである。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、審査にあたっては、論文に関する専攻内審査および公聴会など所定の手続きを経たうえ、平成 17 年 7 月 26 日、農学研究科委員会において、論文の価値ならびに博士の学位を授与される学力が十分にあると認められた。

氏名	竹田竜嗣
学位の種類	博士（農学）
学位記番号	農第91号
学位授与の日付	平成17年9月15日
学位授与の要件	学位規程第4条第1項該当
学位論文題目	草本植物による環境修復システム ー土壤圏循環型ファイトレメディエーションの基礎的研究ー
論文審査委員（主査）	教授 米 虫 節 夫
（副主査）	教授 藤 田 藤 樹 夫
（副主査）	教授 榎 章 郎

## 論文内容の要旨

近年、生産され排出される化学物質の数は飛躍的に増大している。その中でも、重金属、多環芳香族炭化水素類 (PAHs)、アルキルフェノール類およびダイオキシン類などといった環境ホルモンといわれる物質は残存性や難分解性が高く、大気-土壌-水域底質間、いわゆる土壌圏を循環していると考えられる。

これらの土壌圏における環境汚染物質の修復法の一つとして植物を用いて、汚染物質の蓄積、吸収や分解などを行うファイトレメディエーションがある。

本研究では、日本の土壌圏の特徴を考慮したファイトレメディエーションの基礎的研究として、重金属、PAHsの土壌圏における循環や、特に草本植物を利用した環境修復システムについて研究している。

### (1) 土壌中の多環芳香族炭化水素類の挙動

PAHsは、芳香族炭化水素類の総称でベンゼン環を2個以上もつ化合物群である。これらは、主に石炭や原油などの化石燃料の燃焼により発生すると考えられ、大気、土壌、水域を循環していると考えられている。本研究では知見の少ない土壌中での挙動に注目した。対象としたPAHsは、EPA(米国環境省)が、"List of priority pollutants"に掲げているベンゼン環を2環から6環までの16種であり、これらの奈良市近郊における挙動を置かれている環境条件の違い(植生、交通量)と、季節変動の観点から調査し、解析した。その結果、環境条件の違いからは、交通量が多くなればなるほど、16種のPAH類の合計含有量(以下 $\Sigma$ PAHs)が多くなることが明らかとなった。また、交通量が同程度の地点でも植生の発達しているほうが、ベンゼン環を4個以上もつPAH類(以下4,5,6環類)が少なくなる傾向が認められた。また季節変動の調査の統計解析によって、それぞれの暴露源は、2環類は大気由来、4,5,6環類は、自動車由来であることが示唆された。3環類に関しては複合経路(大気、自動車)からの暴露が示唆された。

### (2) 植物の根圏におけるpyreneへの応答

土壌中の挙動調査によって、植物の有無が含有量に大きく関係していることから根圏における分解が考えられる。そこで、PAH類の中でも4環類のpyrene

を用いて植物の根圏での応答を検討した。用いた植物は、都市幹線道路などのPAH類が多いと考えられる地点の野草、雑草を根ごと採取しpyreneを溶解させた蒸留水中で、3日間栽培し、蒸留水中で栽培した対照区と比較して根から水耕液中に放出される物質のSOD様活性を測定した。その結果、ほとんどの植物で対照区より活性が認められた。特にヨモギ(*Artemisia princeps*)で68.34%、セイタカアワダチソウ(*Solidago altissima*)で36.77%と高活性を示した。PAH類は植物と微生物の相互作用により分解・代謝されることが示唆されており、その過程で植物が微生物や根を保護する物質を出していることが確かめられた。さらに植物種によりそれらの物質を渗出の度合いが異なり、それらがファイトレメディエーションに用いる上で重要な要素になると示唆された。

### (3) 草本植物による重金属の集積

日本は火山国であり、他の大陸諸国に比べて地質に占める重金属の割合はやや高い。自然界において極く一部の植物は長い進化の過程において重金属を多量に集積、そして無毒化する戦略を獲得してきた。現在知られている植物はアブラナ科を中心に400種ほどである。しかし、現在知られている植物は、生育や効果を発揮するのに制約がある種が多い。

そこで、本研究では40種を超える野草、雑草を河川敷、高速道路沿い、幹線道路沿い、山腹など様々な環境下から採取し、根、茎、葉に分類し、それぞれの重金属含有量を測定した。また、植物を採取した地点の土壌の含有量も測定し、都市環境中での重金属の存在量を知るとともに植物への集積比を検討した。

河川敷において、Crなどの含有量が日本の非汚染地の平均含有量よりやや高い実態が明らかになった。これは、都市化によって雨水が土壌の緩衝作用を受けることなくアスファルト道路から河川に流入し、河川敷の土壌へ集約されていることを示唆している。

植物の含有量では、キク科、タデ科が他の科に比べ重金属を多く集積していた。その中でも、タデ科のヤナギタデ(*Persicaria hydropiper*)が、地上部にCrを316mg kg<sup>-1</sup>集積していることを発見した。これは、Crの蓄積量として他の

## 論文審査結果の要旨

植物の100倍程度であり、Accumulator（集積植物）として利用可能である。また、この他にも、同じタデ科のミゾソバ（*Persicaria thunbergii*）がMn、Cuの含有量が他の植物の10倍程度であった。このヤナギタデ、ミゾソバともに生育場所が比較的水辺周辺に多く群集となって育っている事が多いことから都市近辺の汚染実態に沿ったファイトレメディエーションが期待できる。

### (4) 能登半島産珪藻土中の珪藻殻の立体構造と色素の吸着に関する研究

珪藻土（Diatomite）は、カリフォルニア、ドイツ、アルジェリア、オーストラリア、日本をはじめとして、至る所から産出されている。珪藻土の用途は、近年は強い吸着性からホルムアルデヒドといったシックハウス症候群を防ぐ土壁や、排水のろ過剤などの環境改良素材としての利用も高まっている。そこで、その吸着性を明らかにする上で珪藻殻に注目し、光学顕微鏡と非蒸着で簡便操作であるリアルサーフェスビュー顕微鏡（SEM）を用いて能登半島七尾産の珪藻殻の立体構造を観察した。

その結果、珪藻殻は、丸形の *Thalassiosira* 属が存在したことから、海成のものだと判明した。また、珪藻のペトリ皿様の構造は、上皿、下皿とも、さらに側面の帯と細孔の部分に分かれ、内部は空洞であることが発見できた。

以上、ファイトレメディエーションは、20世紀の自然破壊を自然の力を用いて修復するといった理想の技術であり、また、天然材料である珪藻土のように吸着性の高い土壌の吸着構造を確かめることは土壌中の環境汚染物質の挙動を推測する上で必要不可欠である。本研究における成果はファイトレメディエーションの効率化および実用化などといった点からも大きな効果があると期待できる。

近年、生産され排出される化学物質の数は飛躍的に増大している。その中でも、重金属、多環芳香族炭化水素類（PAHs）、アルキルフェノール類およびダイオキシン類などといった環境ホルモンといわれる物質は残存性や難分解性が高く、大気-土壌-水域底質間、いわゆる土壌圏を循環していると考えられる。

これらの土壌圏における環境汚染物質の修復法の一つとして植物を用いて、汚染物質の蓄積、吸収や分解などを行うファイトレメディエーションがある。この技術は、対抗技術である物理的、化学的除去、封じ込め技術に比べ、コストが安い、大型機器が必要ないなどの利点があり、欧米を中心に研究されている技術である。

本研究では、日本の土壌圏の特徴を考慮したファイトレメディエーションの基礎的研究として、重金属、PAHsの土壌圏における循環や、特に草本植物を利用した環境修復システムについて研究し、有益な知見を得ている。

### 1. 土壌中の多環芳香族炭化水素類の挙動

PAHsは、芳香族炭化水素類の総称でベンゼン環を2個以上もつ化合物群である。本研究では知見の少ない土壌中での挙動に注目した。対象としたPAHsは、EPAが、“List of priority pollutants”に掲げているベンゼン環の2環から6環までの16種であり、これらの奈良市近郊における挙動を置かれている環境条件の違い（植生、交通量）と、季節変動の観点から調査し、解析し、以下のような知見を得ている。その結果、交通量が多くなればなるほど、16種のPAH類の合計含有量（以下 $\Sigma$ PAHs）が多くなる、また、交通量が同程度の地点でも植生の発達しているほうが、ベンゼン環を4個以上もつPAH類（以下4,5,6環類）が少なくなる傾向を認めている。また季節変動の調査の統計解析によって、それぞれの暴露源は、2環類は大気由来、4,5,6環類は、自動車由来であることを示唆している。3環類に関しては複合経路（大気、自動車）からの暴露を示唆している。これらの解析は、従来無かったモノで、貴重な知見である。

### 2. 植物の根圏におけるpyreneへの応答

土壌中の挙動調査によって、植物の有無が含有量に大きく関係していることから根圏における分解が考えられる。そこで、PAH類の中でも4環類のpyreneを用いて植物の根圏での応答を検討している。用いた植物は、都市幹線道路などのPAH類が多いと考えられる地点の野草、雑草を根ごと採取しpyreneを溶解させた蒸留水中で、3日間栽培し、蒸留水中で栽培した対照区と比較して根から水耕液中に放出される物質のSOD様活性を測定した。その結果、ほとんどの植物で対照区より活性が認められた。特にヨモギで68.34%、セイタカアワダチソウで36.77%と高活性を示した。この知見は、ファイ

トレメディエーションを用いる上で重要な知見といえる。

### 3. 草本植物による重金属の集積

本研究では 40 種を超える野草、雑草を採取し、根、茎、葉に分類し、それぞれの重金属含有量を測定した。また、植物を採取した地点の土壤の含有量も測定し、都市環境中での重金属の存在量を知るとともに植物への集積比を検討している。

植物の含有量では、キク科、タデ科が他の科に比べ重金属を多く集積していた。その中でも、タデ科のヤナギタデが、地上部に Cr を  $316\text{mg kg}^{-1}$  集積していることを発見した。これは、Cr の蓄積量として他の植物の 100 倍程度であり、Accumulator (集積植物) として利用可能である。

また、この他にも、同じタデ科のミゾソバが Mn、Cu の含有量が他の植物の 10 倍程度であった。このヤナギタデ、ミゾソバともに生育場所が比較的水辺周辺に多く群集となっていて育っている事が多いことから都市近辺の汚染実態に沿ったファイトレメディエーションが期待できる。

### 4. 能登半島産珪藻土中の珪藻殻の立体構造と色素の吸着に関する研究

珪藻土 (Diatomite) の吸着性を明らかにする上で珪藻殻に注目し、光学顕微鏡と非蒸着で簡便操作であるリアルサーフェスビュー顕微鏡 (SEM) を用いて能登半島七尾産の珪藻殻の立体構造を観察した。

その結果、珪藻殻は、丸形の *Thalassiosira* 属が存在したことから、海成のものと同判明した。また、珪藻のベトリ血様の構造は、上皿、下皿とも、さらに側面の帯と細孔の部分に分かれ、内部は空洞であることが発見できた。

この種の写真が撮影されたのは初めてのことで、珪藻土の吸着性にかんする大きな知見となる。

以上、ファイトレメディエーションは、20 世紀の自然破壊を自然の力を用いて修復する理想の技術であり、また、天然材料である珪藻土のように吸着性の高い土壤の吸着構造を確かめることは土壤中の環境汚染物質の挙動を推測する上で必要不可欠である。本研究における成果はファイトレメディエーションの効率化および実用化などといった点からも大きな効果があると期待され、意義ある研究と認められる。

よって、本論文は博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、審査に当たっては、論文に関する専攻内審査および公聴会など所定の手続きを経たうえ、平成 17 年 7 月 26 日、農学研究科委員会において、論文の価値ならびに博士の学位を授与される学力が十分であると認められた。

氏 名	大谷 りら
学位の種類	博士 (農学)
学位記番号	農 第 9 2 号
学位授与の日付	平成 17 年 9 月 15 日
学位授与の要件	学位規程第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Effects of prenatal and postnatal nutritional environment on the onset of cerebrovascular disorders in stroke-prone spontaneously hypertensive rats (和文題目) 脳卒中易発症性高血圧自然発症ラット (SHRSP) における脳血管障害の発症に対する胎児期および授乳期の栄養の影響
論文審査委員 (主査)	教授 村上 哲 男
(副主査)	教授 上 嶋 繁
(副主査)	教授 松 田 一 彦