

最終試験結果の要旨

学位申請者 氏名	河野 真知		
審査委員	主査	鹿児島大学	教授 宇野 誠一
	副査	鹿児島大学	教授 吉川 育
	副査	鹿児島大学	教授 小谷 知也
	副査	鹿児島大学	教授 石川 学
	副査	佐賀大学	准教授 上野 大介
審査協力者			
実施年月日	平成31年 1月29日		

試験方法（該当のものを○で囲むこと。）

口答・筆答

主査及び副査は、平成31年1月29日の公開審査会において学位申請者に対し、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる解答を得ることができた。

以上の結果から、審査委員会は申請者が博士（農学）の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。

学位申請者 氏 名	河野 真知
--------------	-------

【質問 1】暴露物質は4物質に着目していたが、どのような理由で選定したのか。対象物質は環境中からの検出例や生物濃縮性があるのか。今回の試験では水中濃度や魚胚中の体内濃度も測定しているのか。

【回答 1】ナフトキノン (NAQ) やベンズアントラセンキノン (BAQ) は環境中からも検出される。アセナフテンキノン (ANQ) とフェナントレンキノン (PHQ) を選んだ理由はヒメダカ胚への影響が報告されていたので選定した。水中濃度は実測濃度を測定しているが、魚胚中濃度は測定していない。環境中は鹿児島湾で採水して測定したデータがあり、今回の設定濃度よりは低い値であるが、環境中からも検出されている。

【質問 2】暴露したことによる酸化作用が魚胚に対する影響の重要なポイントであると感じたが、酸化作用の中でCYP1Aによるものと、それ以外と考察されていたが、CYP1A以外の酸化作用とは具体的にどういったものが考えられるのか。

【回答 2】先行研究で調べたところ、oxyPAHsの構造上、酸素が結合していて、体内に取り込んだ後、代謝するときに酸素原子自身が活性酸素として酸化ストレスを引き起こすことがある。また、oxyPAHs自体が酸化還元反応に作用して酸化ストレスを及ぼすことは知られている。ただ、哺乳類のデータのため、魚類胚で同様のことが起こるかどうかは分からぬため検討していく必要がある。

【質問 3】アンモニアの濃度が上がってきているという結果であったが、由来はどこからなのか。

【回答 3】アンモニアの代謝のメインはアミノ酸類が脱アミノ化するときに一番生成されるといわれている。また、魚胚は特殊だが、一部浸透圧の調節にも使われているといわれていて、そのメカニズムも分かっていないため、詳細な由来は不明である。

【質問 4】今回、3つの代謝（コラーゲン生成、アンモニア代謝、エネルギー代謝）に注目して解析されているが、暴露による影響を考えると、もっと広い範囲で代謝への影響があるのでないかと考えられるが、その点はどのように考えているか。

【回答 4】今回、この3つに着目したのは主成分分析で暴露による影響として共通して有意に変動していた代謝物質が関係している代謝経路である。代謝は複雑に関連しあっているので、一部があがったからと言って、必ず下がるというものではないので、今後は（全体的な視点ももって）代謝への影響を考察するのが課題だと感じる。

【質問 5】成分解析をするときに、元データは色々な代謝物質の変動の平均値を用いているが、生物に何かしらの刺激を与えたときに、正と負の両極端のレスポンスがとられると思うので、それらの平均値をとっても差がつぶれてしまうのではないか。

【回答 5】主成分分析は2次元ではなく、多次元でみていて影響が一番でたところで見ている。平均する前のプロットズも作成し、比較しているが、平均値をとることで差が潰れてしまうことはない。

【質問 6】ヒメダカ胚に卵黄のへこみや黒化がみられていたが、異常がみられた卵は孵化するのか。

【回答 6】ANQは孵化しないまま死亡。BAQは油球の黒化が見られた胚はすべて死亡した。NAQやPHQでは発生の遅延がみられて、管状心臓や浮腫がみられた個体は、孵化後死亡する。

【質問 7】死亡は発生の遅延による死亡なのか、暴露物質の毒性によるものなのか。

【回答 7】ANQに関しては、親PAHsの暴露では観察されなかったものなので、物質特有の影響であると考えられる。ただPHQなどの発生遅延は化学物質暴露でよく観察されるので、物質特有によるものかどうかは検証しないと言い難い。

【質問 8】頭蓋の萎縮が見られているが、単純に発生不全なのか、つまり頭蓋の大きくなる過程の阻害なのか、骨化が阻害されているのか、それとも脳など臓器が発育していないのか、どちらへの影響が考えられるのか。

【回答 8】今回は骨に着目して染色しているので、中の臓器に関して詳細な検証はしていないが、原因を特定するには脳の大きさの測定や脳の発生に関わる遺伝子をみるなどの検証が必要だと考える。

【質問 9】眼球突出は何が原因だと考えられるのか。

【回答 9】既報にANQの眼球形成への影響を述べたものがある。浸透圧への影響で水晶体が押し出されているのか、物質による影響で発生への影響で正常な発生ができなかつたのかと考えられる。

【質問 10】低濃度で暴露し孵化した個体は正常に発達したのか。

【回答 10】見た目は正常。本来であればさらに低濃度で暴露して影響を比較する必要があるがそこまでできていない。しかし、低濃度でもメタボロミクスでは影響が見られ、実環境中でも起こり得ると思われる。

【質問 11】コラーゲン生成に関わる代謝物質の変動としてヒドロキシプロリンを測定しているが、リジンとヒドロキシリジンの結果はどうであったか。

【回答 11】リジンは暴露区での減少が観察された。ヒドロキシリジンはメタボロミ

クス解析では測定できなかった。ヒドロキシプロリンに関しても、メタボロミクス解析で減少が確認されたが、それがコラーゲンに含有されていたものかどうかを調べるために、単体で測定を行った。

【質問 12】アスコルビン酸濃度は単体で測定したか、酸化型アスコルビン酸は含まれていないのか。海産魚の場合はアスコルビン酸オキシダーゼの阻害剤が骨曲がりなど骨形成に影響を及ぼすといわれている。

【回答 12】メタボロミクスでのみアスコルビン酸を測定していて、単体では測定していない。