

[19]

氏名	山本敦史
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	理工博第12号
学位授与の日付	平成26年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	New application to public health and environmental analysis using photoionization and high-resolution mass spectrometry
論文審査委員	主査教授 荒川隆一 副査教授 石川正司 副査教授 川崎英也

論文内容の要旨

保健衛生・環境分野において迅速・簡便な分析手法は不可欠なものとなっている。近年は特に、禁止薬物による事件・事故、残留農薬における大規模食中毒、不法投棄による環境汚染等の様々な社会問題の増加・多様化に伴い、分析対象とする物質の急増がこの分野における大きな課題となっている。光イオン化は、Robbらにより質量分析における大気圧イオン化法として、液体クロマトグラフ質量分析計(LC/MS)に導入された。LC/MSにおける大気圧光イオン化(APPI)は比較的新しい手法の一つであり、これまでその適用範囲は低極性化合物に対して有利であるとされてきた。保健衛生・環境分野における分析対象物質の物性は極めて多様であり、多くの分析対象に用いることができる分析方法の確立は急務である。また、これらの事件・事故においては原因物質が不明であることも多く、物質同定を行う必要があることが多い。未知物質の同定において、高分解能質量分析装置は極めて有用であり、生じるイオンを精密質量により解析することで分子の構造を決定する手法の確立は大いに期待されている。

本論文はLC/APPI-MSおよび高分解能質量分析を保健衛生・環境分野における課題の理解に活用するとともに、そのイオン化や質量分析におけるフラグメンテーションの機構についてまとめている。以下、本論文の内容を各章ごとに要約する。

第一章では、人畜由来の性ホルモン物質の分析について、固相抽出およびLC/MS法を用いた分析法を確立し、都市河川における実態調査の結果について示している。性ホルモン物質は、体内では硫酸抱合、グルクロン酸抱合を受けているが、抱合体と遊離体を都市河川・海域水質試料中から抽出・分離し、LC/MSにより定量する分析法が確立されている。APPI-MSにより遊離体の性ホルモン物質は高感度で定量され、都市河川中での挙動を明らかにしている。

第二章では、低極性物質である塩素系農薬クロロタロニルとその主要な分解物に関する負イオンAPPI-MSを用いた同時分析法について示している。塩素系農薬等はエレクトロスプレーイオン化ではイオン化できないが、クロロタロニルは負イオンAPPIで効率的にイオン化した。よく適用されるウリ科野菜および水試料からの高感度分析法が確立された

ことが示されている。

第三章では、近年特に使用量が増加傾向にある、ネオニコチノイド農薬について、APPI-MS を用いた分析法開発および環境調査について示されている。ネオニコチノイド農薬は高極性物質であるが、APPI はネオニコチノイド農薬についても適用することができている。一部、ニトログアニジン構造を持つネオニコチノイドからはその分子構造から考えにくいイオンが生じていたが、高分解能質量分析を用いることで、どのようなイオン化が行っているかについても明らかにしている。確立した分析方法を用いた、河川調査においても示されており、環境中での濃度の推移が、ネオニコチノイド農薬の使用状況が一致することが明らかにされている。

第四章では、環境中から検出される医薬品に関する問題についても、APPI-MS による機器分析を用いるとともに、その影響についても検討している。フルオロキノロン系医薬品は最も使用量の多い抗菌剤の一つであるが、環境中にこれらの抗菌剤が存在することにより、薬剤耐性菌の発生が誘起される可能性が懸念されている。APPI-MS を用いた高感度な分析法が確立し、水環境中におけるフルオロキノロンの存在状態について明らかにしている。また、フルオロキノロンに耐性を持つ大腸菌の耐性決定領域の塩基配列における変異の状況と耐性についても調べ、環境中フルオロキノロン濃度との関連について検討している。

第五章では、感染症に関して結核菌等の抗酸菌に特有のミコール酸という高分子量の脂質について APPI-MS を用いた分析法を検討している。ミコール酸は炭素原子数が 80 個程度の低極性脂質であるが、APPI によるイオン化機構が高分解能質量分析により明らかにされている。確立した分析法を用いて、脂質の組成が微生物種によって異なることが示されている。

第六章では、有機フッ素化合物の高分解能質量分析を用いた構造決定が示されている。有機フッ素化合物は過去に製造・使用された物質が環境中に流出し汚染要因となっていることが懸念されているが、種類が多いためにその実態を把握するのが困難となっている。高分解能質量分析を過去に用いられていた製品の分析、生分解性試験を行った試料に用いることで、製品中の成分、生分解による分解生成物の構造の決定を行っている。

論文審査結果の要旨

本論文は、保健衛生・環境分野で実施される分析について APPI や高分解能質量分析がどのように活用できるかについて検討し、幅広い分野の分析対象について新しい知見をもたらしている。この成果の波及性は高く、保健衛生・環境の問題解決に役立てられていくことが期待できる。また、イオン化やフラグメンテーション機構についても明らかにしており、研究の意義は大きいと認められる。

第一章で確立している APPI-MS を用いた分析法は、男性ホルモン、女性ホルモンが高感度で同時分析可能な分析法である。これまで男性ホルモンについての環境中での報告例は限られており、17 種類の性ホルモンを同時に分析しているのは意義深いものである。下水処理場放流水の影響の大きい河川については女性ホルモンであるエストロンの濃度が高くなっていることが示されただけでなく、非常に低濃度で存在している性ホルモンにつ

いても明らかにできている。低濃度で検出されている性ホルモンの挙動から人畜由来以外からの発生源の存在も示唆されている。今後の都市河川における下水処理場の影響を考える上で重要な知見が示されており、内容をまとめた報文は多く引用されている。

第二章では、塩素系農薬であるクロロタロニルとその分解物の簡便な同時分析法を開発し、実際の食品試料や環境水質試料に適用している。物性が大きく変化する前駆物質と分解物が、迅速に分析できる分析法は切望されており、この分析法は他の農薬についても同様に適用できることが期待できる。また、分解物を含めたクロロタロニルの環境中での挙動に関する考察はこれまでにはないものである。

第三章で検討されているネオニコチノイド農薬は新しい農薬であり、これまでの報告例はイミダクロプリドに限られたものがほとんどである。6種類のネオニコチノイド農薬についての環境調査の報告例はほとんど知られておらず、ジノテフランが最も多く検出された結果が得られている。また、水道水源での調査では経時的な調査を行っており、その濃度の推移が農薬の使用時期に一致することが示されている。EU等ではネオニコチノイド農薬の規制が始まっており、この分析法は今後の環境調査において重要な意義を持つと考えられる。

第四章では、APPI-MSを用いた分析法に限らず、その影響調査が行われている。耐性菌の発生は公衆衛生上大きな問題であるが、環境中での抗菌剤と耐性菌の関連について調べた報告はまだ数が少ない状況にある。この調査では環境中に抗菌剤が存在することによる耐性菌発生との明確な関連は得られなかったが、プラスミド媒介性の耐性遺伝子を持つ耐性菌の存在が見つかっている。水環境中からプラスミド媒介性の耐性遺伝子を持つ菌が検出されることはこれまで報告がなく、大きな発見であると言える。

第五章では、APPI-MSを結核菌ミコール酸の脂質プロファイリングを行っている。APPIは今後メタボロミクス分野への適用も期待されている技術であり、低極性のミコール酸がAPPIで分析可能であることを示したのは新規性が高いといえる。高分子量脂質のマススペクトルでは、モノアイソトピック質量のイオンに比較してそのIsotopologueの感度が大きく、多くのイオンが生じるマススペクトルの解析は容易ではないが、高分解能質量分析によって得られたマススペクトルを解析し、得られたイオン化の機構を参考にすれば低分解能によるマススペクトルを解析することも可能であることが示されている。

第六章では、これまで環境分野の研究では環境汚染の要因と考えられていなかった分子量の大きな有機フッ素化合物が数多く防汚加工の製品中に含まれていることが示されている。また、生分解性試験によりこれらの物質が比較的容易に分解し、残留性が問題となっている有機フッ素化合物に変化する可能性があることが示されている。環境分野の研究ではこれまで用いられてこなかった二次元液体クロマトグラフィーや高分解能質量分析を活用しており、得られた知見は今後の有機フッ素化合物の環境問題を考える上で重要なものと言える。

本論文は、今後応用が期待される保健衛生・環境分析におけるAPPIや高分解能質量分析の優位性を示し、それらを用い実態調査を行い、新規物質の環境問題や感染症の問題において新たな知見を得ることができている。よって、本論文は保健衛生・環境分野の分析において多大な貢献をするものであり、博士論文として価値のあるものと認める。