

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：27401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26550083

研究課題名(和文) 東日本大震災による環境汚染がもたらした海洋生物の汚染物質耐性メカニズムの解明

研究課題名(英文) Resistant Mechanism of Pollutants in Marine Organisms Suffered from Environmental Pollution by the Great East Japan Earthquake

研究代表者

阿草 哲郎 (Agusa, Tetsuro)

熊本県立大学・環境共生学部・准教授

研究者番号：50403853

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本申請課題では、東日本大震災によって重油汚染が生じた宮城県気仙沼湾の海洋生態系を対象に、重油由来でかつ毒性の高い多環芳香族炭化水素(PAHs)が海洋生態系にどのような集団遺伝学的影響をもたらしたかについて調査した。気仙沼湾の海底堆積物の菌叢を解析した結果、石油耐性・分解菌と考えられるRhodococcus(R)属は、PAHs濃度が高い地点に多く分布していた。一方、2011年からR属の数は経年的に減少傾向にあった。このことから、震災による重油汚染が著しい時期に重油を分解できるR属が集合、あるいは他の菌が淘汰された後、時間と共に重油が分解・減少した結果、R属自身も減少していったことが示唆された。

研究成果の概要(英文)：The present study investigated population genetic effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on marine ecosystem in Kesennuma Bay affected by the Great East Japan Earthquake followed by heavy oil pollution. A bacterial flora analysis in marine sediments from Kesennuma Bay revealed that Rhodococcus, which has characters of oil resistant and decomposing, was highly distributed in the high PAHs contaminated areas. Since 2011, the abundance of Rhodococcus decreased year by year. These results suggest that Rhodococcus preferentially existed in heavy oil polluted areas and abundant of Rhodococcus decrease with decomposing and decreasing heavy oil.

研究分野：環境化学・毒性学

キーワード：集団遺伝学的影響 生体毒性 東日本大震災 重油汚染 PAH メタゲノム 気仙沼湾

1. 研究開始当初の背景

2011年3月11日に発生した東北地方太平洋沖地震・東日本大震災は、地震そのものに加え、巨大津波や地盤沈下、火災などによって、東北・関東地方の太平洋沿岸域に大規模な被害をもたらした。結果として、福島原発からの放射性核種をはじめ、津波によって流されたトランス・コンデンサによるポリ塩化ビフェニル (PCBs)、バッテリー由来の鉛、車両・船舶からの油などによる海洋汚染が懸念されている。

震災地域の中でも、宮城県気仙沼市では、津波によって22基の石油タンクが倒壊し、約11.5kLの燃油が海洋へ流出するとともに、大規模な火災も発生した。燃油には発がん性のある芳香族炭化水素 (PAHs) が含まれていることから、気仙沼湾へのPAHsの環境負荷が大きいことが予想される。これまでの気仙沼の海洋モニタリング調査によると、海水からは問題となるレベルのPAHsは検出されていないが、底質からは高濃度のPAHsが検出されている。これらのことから、環境中に放出された燃油由来のPAHsが食物連鎖を介して生物濃縮される可能性がある。実際に、カキを用いたPAHsモニタリングデータでは、気仙沼湾周辺で高い値が検出されている。気仙沼は日本でも有数の水産都市であることから、食品安全性の観点からも、カキ以外にも様々な魚介類のPAHs汚染実態を把握することが必要不可欠である。同時に、PAHsによる海洋生物への毒性影響の調査も緊要な課題である。またその一方で、長期的な視点で、化学汚染物質によって「生物群集」・「生態系」にどのような影響をもたらされているのかという点についても強い関心がもたれる。

2. 研究の目的

以上の背景から、本申請課題では震災由来の環境汚染物質が、海洋生物に集団遺伝学的な影響をもたらしているのかどうかを明らかにする。具体的には、まず重油汚染地域から採取した生物から、PAHs毒性に関連する標的遺伝子の変異の有無を確認し、その変異体の頻度の地理的分布を明らかにする。また、堆積物中の菌叢を網羅分析し、重油・PAHs耐性菌・分解菌の分布を明らかにする。

3. 研究の方法

3.1. 試料採取

本研究課題では、気仙沼湾を中心に、震災被災地域およびその対照地域から海洋生物と堆積物を集めた。ターゲットとなる種は、アイナメやカキである。これらは、現地で採集した後、速やかに肝臓・肝膵臓・中腸腺・生殖腺等を取り、液体窒素 (-170℃) に浸け

て凍結保存した。その後、実験室に戻ってから超低温冷凍庫 (-80℃) あるいは液体窒素タンク (-170℃) に凍結保存した。また、菌叢解析用に海底からエクマンバージで堆積物を採取し、滅菌チューブに封入した後、-20℃で凍結保存した。

3.2. 菌叢解析

堆積物サンプルから細菌DNAを抽出し、16SrRNA遺伝子の超可変領域アンプリコンをマルチプレックスPCRで増幅した。その後、アンプリコンを精製し、Ion Plus Fragment Library KitでDNAシーケンス用サンプルを作製した。メタゲノムDNA配列解析は、Ion PGM Sequencing 400 Kit、Ion 316 Chip v2、Ion PGM シーケンサーを利用して実施した。得られた配列データをRibosomal Database Projectによる細菌情報検索にかけ、Metagenome@KIN ver.2.0を利用して菌叢解析を実施した。

4. 研究成果

本研究では、菌叢解析の結果について述べる。今回の研究プロジェクトの中で2015年・2016年に気仙沼湾で採取した海底堆積物とともに、2011年・2012年と過去に採取したものについても併せて分析・解析をおこない、海底堆積物中菌叢の違いを経年の・空間的に解析した。

その結果、全ての堆積物サンプルからDNAを抽出することができた。石油耐性・分解菌と考えられるRhodococcus属は、相対的に堆積物中PAHs濃度が高い地点で多く分布していた。一方、2011年から経年的にみっていくと、Rhodococcus属は減少傾向にあった。このことから、震災によって流出した重油による汚染が著しい時期に重油に耐性があり、分解できるRhodococcus属が他の菌に比べて相対的に集まり、あるいは他の菌が淘汰された後、徐々に重油が分解・減少していったことで、結果Rhodococcus属自身も減少していったことが示唆された。

次に、主成分分析を用いて菌叢全体の違いを解析したところ、2つのグループに分けることができた。すなわち、過去に重油汚染が酷かった場所とそれ以外の場所で菌叢は大きく異なることがわかった。

今後は、重度の重油汚染地点で有意にみつかった細菌が実際に重油あるいはPAHsに対して分解・耐性を持つかどうか機能解析を実施する。また、気仙沼で採取したアイナメ・カキ中のPAHsあるいは重油耐性に関連する遺伝子の変異の有無を同定し、それらの経年的・空間的な差について明らかにする。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

あ

〔雑誌論文〕(計9件)

Noguchi, T., Itai, T., Tue, N.M., Agusa, T., Ha, N.N., Horai, S., Trang, P.T.K., Viet, P.H., Takahashi, S., Tanabe, S. 2014. Exposure assessment of lead to workers and children in the battery recycling craft village, Dong Mai, Vietnam. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 16, 46-51.

Agusa, T., Trang, P.T.K., Lan, V.M., Anh, D.H., Tanabe, S., Viet, P.H., Berg, M. (2014) Human exposure to arsenic from drinking water in Vietnam. *Science of the Total Environment*, 488-489, 562-569.

阿草哲郎 (2014) 慢性ヒ素曝露は寄生虫の薬剤耐性をもたらす。 *ファルマシア*, 50, 696.

Soejima, M., Agusa, T., Iwata, H., Fujihara, J., Kunito, T., Takeshita, H., Lan, V.T.M., Minh, T.B., Takahashi, S., Trang, P.T.K., Viet, P.H., Tanabe, S., Koda, Y. (2015) HP genotyping of Vietnamese: global distribution of HPdel, complete deletion allele of the haptoglobin gene. *Legal Medicine*, 17, 14-16.

阿草哲郎, 國頭 恭, Nguyen Minh Tue, Vi Thi Mai Lan, Tu Binh Minh, Pham Thi Kim Trang, 藤原純子, 竹下治男, 高橋 真, Pham Hung Viet, 田辺信介, 岩田久人 (2015) AS3MT 遺伝子多型と無機ヒ素のメチル化能力との関係. *日本衛生学雑誌*, 70, 186-196.

Yoo, J., Hirano, M., Mizukawa, H., Nomiyama, K., Agusa, T., Kim, E.-Y., Tanabe, S., Iwata, H. (2015) In vitro and in silico analyses for predicting hepatic cytochrome p450-dependent metabolic potencies of polychlorinated biphenyls in the Baikal seal. *Environmental Science and Technology*, 49, 14588-14596.

Fujimori, T., Eguchi, A., Agusa, T., Tue, N.M., Suzuki, G., Takahashi, S., Viet, P.H., Tanabe, S., Takigami, H. (2016) Lead contamination in surface soil on roads from used lead-acid battery recycling in Northern Vietnam. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, 18, 599-607.

Iida, M., Fujii, S., Uchida, M., Nakamura, H., Kagami, Y., Agusa, T., Hirano, M., Bak, S.-M., Kim, E.-Y., Iwata, H. (2016) Identification of aryl hydrocarbon receptor signaling pathways altered in TCDD-treated red seabream embryos by transcriptome analysis. *Aquatic Toxicology* 177, 156-170.

Nguyen, H.T., Lauan Tsuchiya, M.C., Yoo, J., Iida, M., Agusa, T., Hirano, M., Kim, E.-Y., Miyazaki, T., Nose, M., Iwata, H. 2017. Strain differences in the proteome of dioxin-sensitive and -resistant mice treated

with 2,3,7,8-tetrabromodibenzo-p-dioxin. *Archives of Toxicology*, 4, 1763-1782.

〔学会発表〕(計20件)

Agusa, T., Kunito, T., Kubota, R., Tanabe, S., Iwata, H. (2015) Arsenic exposure in residents from arsenic-contaminated groundwater areas of Southeast Asia. ASIATOX2015 (The 7th International Congress of Asian Society of Toxicology), Jeju Island, Korea, ABSTRACT BOOK, p.143.

Agusa, T., Yasugi, S., Ikemoto, T., Kunito, T., Tanabe, S., Iwata, H. (2015) Metallomics of wildlife: the mechanism of mercury detoxification in higher trophic marine animals. The 3rd Sapporo Summer Seminar for One Health (SaSSOH), Sapporo, Japan, Abstract, p.20.

Agusa, T., Iwata, H., Kunito, K., Inoue, S., Kubota, K., Ramu, K., Minh, T.B., Tue, N.M., Ha, N.N., Tu, N.P.C., Charaborty, P., Chamnan, C., Trang, P.T.K., Reungsang, A., Srisuk, K., Nakamura, S., Takizawa, S., Subramanian, A., Tuyen, B.C., Viet, P.H., Tana, T.S., Tanabe, S. (2015) Contamination by arsenic and other trace elements in groundwater from the Red and Mekong River Deltas. The Second Myanmar-Japan Symposium, Patheingyi, Myanmar, Abstracts, 118.

Agusa, T. (2016) Brief Introduction of Studies on Contamination by Metals in Asian Countries. First Workshop on Indoor Air Pollution and Advanced Air Pollution Control Technologies, Kumamoto, Japan.

Agusa, T., Iwata, H., Tanabe, S. (2016) Arsenic exposure and arsenic methylation capacity in residents of Asian countries. International Symposium on Environment and Resource Recycling Technology 2016, Miyazaki, Japan, Abstracts, p.18.

Agusa, T., Takigami, H., Fujimori, T., Eguchi, A., Bekki, K., Yoshida, A., Terazono, A., Ha, N.N., Asante, K.A., Biney, C.A., Agyekum, W.A., Bello, M., Ramu, K., Ballesteros Jr., F.C., Bulbule, K.A., Parthasarathy, P., Takahashi, S., Subramanian, A., Iwata, H., Tanabe, S. (2016) Contamination by trace elements associated with e-waste recycling processes in developing countries. 2016 1st Eastern Asia Conference for Sustainable Economy (EACSE), Taoyuan, Taiwan, Program, p.106.

Agusa, T., Nakata, H., Iwata, H., Tanabe, S. (2017) Arsenic Pollution in Southeast Asia. Japan - Taiwan International Symposium on Environmental Science, Technology and Management, Kitakyushu, Japan, Abstract, p.11.

阿草哲郎, 國頭 恭, Nguyen Minh Tue, Vi

Thi Mai Lan, Tu Binh Minh, Pham Thi Kim Trang, 藤原純子, 竹下治男, 高橋 真, Pham Hung Viet, 田辺信介, 岩田久人 (2014) AS3MT 遺伝子多型と無機ヒ素のメチル化能力との関係. 第 84 回日本衛生学会学術総会, 岡山, 日本衛生学雑誌, 69, S167.

阿草哲郎, 安木進也, 池本徳孝, 國頭 恭, 馬場徳寿, 田辺信介, 岩田久人 (2014) : キタオットセイ (Callorhinus ursinus) の肝臓における水銀結合タンパク質の探索. 第 23 回環境化学討論会, 京都, 講演要旨集, 3B-04.

阿草哲郎, 安木進也, 池本徳孝, 國頭 恭, 馬場徳寿, 田辺信介, 岩田久人 (2014) 海棲哺乳類の肝臓における Hg 結合タンパク質. 第 25 回日本微量元素学会, 岡山, プログラム・抄録集, 66.

阿草哲郎, 安木進也, 池本徳孝, 國頭 恭, 馬場徳寿, 田辺信介, 岩田久人 (2014) 海棲高等動物はどのように水銀を解毒しているのか?. 第 33 回生体と金属・化学物質に関する研究会 (チョークトーク 2014), 藤沢.

阿草哲郎, 高木 梢, Todd W. Miller, 久保田領志, 阿南弥寿美, 岩田久人, 田辺信介 (2014) ウミガメ類におけるヒ素化合物の蓄積特性. 第 20 回ヒ素シンポジウム, 銚子, 講演要旨集, 47-48.

阿草哲郎, 國頭 恭, 井上 英, Minh Tu Binh, Tue Nguyen Minh, Ha Nguyen Ngoc, Tu Nguyen Phuc Cam, Trang Pham Thi Kim, 高橋真, Tuyen Bui Cach, Viet Pham Hung, 岩田久人, 田辺信介 (2015) ベトナムにおける地下水のヒ素、マンガ、バリウム汚染とヒトの健康リスク. 日本地球惑星科学連合 2015 年大会, 千葉, 要旨集 (CD), MIS26-13.

阿草哲郎, 江口哲史, 國頭 恭, Tue, N.M., Lan, V.T.M., Minh, T.B., Trang, P.T.K., 高橋 真, Viet, P.H., 田辺信介, 岩田久人 (2015) メタボローム解析を用いたベトナムの地下水ヒ素汚染地域住民の影響評価. 第 21 回ヒ素シンポジウム, 徳島, 講演要旨集, 42-43.

阿草哲郎 (2016) アジア途上国の微量元素汚染とその影響. 福岡県保健環境研究所集談会, 大宰府.

阿草哲郎, 岩田久人, 井上 英, Karri Ramu, Nguyen Minh Tue, 田辺信介, 國頭 恭, 久保田領志, Tu Binh Minh, Pham Thi Kim Trang, Pham Hung Viet, Nguyen Ngoc Ha, Nguyen Phuc Cam Tu, Bui Cach Tuyen, Paromita Charaborty, Chhoun Chamnan, Alissara Reungsang, Kriengsak Srisuk, 中村 哲, 滝沢 智, 高橋 真, Annamalai

Subramanian, Touch Seang Tana (2016) メコン川および紅河流域における地下水のヒ素汚染. 第 50 回日本水環境学会, 徳島, 3 月 16 日-18 日, 講演要旨集, 258.

阿草哲郎, 國頭 恭, Nguyen Minh Tue, Vi Thi Mai Lan, Tu Binh Minh, Pham Thi Kim Trang, 藤原純子, 竹下治男, 高橋 真, Pham Hung Viet, 田辺信介, 岩田久人 (2016) 無機ヒ素の代謝に関する遺伝子多型. 日本薬学会第 136 年会, 横浜, 要旨集, S42-2.

阿草哲郎, 江口哲史, Tue, N.M., Lan, V.T.M., Minh, T.B., Trang, P.T.K., 高橋 真, Viet, P.H., 田辺信介, 岩田久人 (2016) : メタボローム解析を用いたヒ素汚染地域住民の影響評価. 第 25 回環境化学討論会, 新潟・朱鷺メッセ, 講演要旨集, 2C-01.

阿草哲郎 (2016) ベトナムの地下水ヒ素汚染とヒトへの曝露. 環境毒性化学とメダカに関する研究会 around 九州, 熊本, 案内, p.9.

阿草哲郎, 江口哲史, 國頭 恭, Tue, N.M., Lan, V.T.M., Minh, T.B., Trang, P.T.K., 高橋 真, Viet, P.H., 田辺信介, 岩田久人 (2016) メタボローム解析を用いたベトナムの地下水ヒ素汚染地域住民の影響評価: 第 2 報. 第 22 回ヒ素シンポジウム, 東京都江東区, 講演要旨集, 52-53.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

<http://researchmap.jp/read0097650/?lang=japane>

se

<http://puk-environment.jp/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

阿草 哲郎 (AGUSA, Tetsuro)

熊本県立大学・環境共生学部・准教授

研究者番号：50403853

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

平野 将司 (Hirano, Masashi)

宮崎 康平 (Miyazaki, Kohei)

伴 正寛 (Ban, Masahiro)

古池 幸 (Koike, Miyuki)

伊藤 匠平 (Itoh, Shohei)