

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
廣瀬 潤	主査 教授 佐野 浩一 副査 教授 河野 公一 副査 教授 林 秀行 副査 教授 古谷 榮助 副査 教授 島原 政司
主論文題名 Inactivation of antineoplastics in clinical wastewater by electrolysis (電気分解による医療廃液中抗悪性腫瘍剤の不活化処理)	
学位論文内容の要旨	
<p>【研究の目的】</p> <p>医療廃液中には抗悪性腫瘍剤、抗生物質、消毒剤等の多様な医薬品が含まれている。特に抗悪性腫瘍剤は生理的活性が高いため、環境中に放出され長期間暴露された場合にヒトおよび生態系に影響を及ぼす恐れがあり、それが顕在化すると発癌性や催奇形性などの深刻な問題を生じる可能性があると考えられている。そこで、抗悪性腫瘍剤を含む廃液は、希釈放流や埋設、あるいは、化学処理、焼却などの処理が行われている。それぞれの方法には、環境中での蓄積、表層水中への遊離、操作の煩雑さ、新たな環境負荷の発生など問題点が多い。</p> <p>申請者は、抗悪性腫瘍剤の細胞毒性、変異原性、抗菌活性などの生物学的活性が電気分解によってどのように不活化されるかについてアンスラサイクリン系の抗腫瘍性抗生物質である塩酸エピルビシンを用いて詳細に検討した。また、医療現場で想定される種々の抗悪性腫瘍剤が混合された廃液についても、電解によって細胞毒性を不活化できるか否か検討し、医療廃液処理装置設計に必要な電解条件を決定することを目的とした。</p> <p>【材料と方法】</p> <p>実験材料:市販の抗悪性腫瘍剤から、epirubicin hydrochloride, irinotecan hydrochloride, methotrexate, cisplatin, vincristine sulfate, mitomycin C, paclitaxel を選び、被検液を調整した。</p> <p>電気分解:各抗悪性腫瘍剤溶液及びこれらの混合液を試験管にそれぞれ 10 mL 入れ、Pt-Ir 電極(大きさ:35 mm×7 mm)を用いて 4 A/dm² の定電流条件で電解した。電解後、残留塩素を中和するためチオ硫酸ナトリウム溶液を添加した。</p> <p>細胞毒性試験:ヒトリンパ球樹立細胞である Molt-4 細胞を用いて、各薬剤の 50%細胞障害薬剤濃度(CC₅₀)を測定し細胞毒性不活化の指標にした。4倍系列希釈した被検液を Molt-4 細胞浮遊液と混合し、WST-8 法にて生細胞数をカウントし CC₅₀ 値を算定した。</p> <p>抗菌活性試験:日本化学療法学会標準法である微量液体希釈法に準じて大腸菌 (<i>Escherichia coli</i> NIHJ JC-2) 又は黄色ブドウ球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i> FDA209P) に対する Minimum inhibitory concentration (MIC: 最小発育阻止濃度)を測定し抗菌活性不活化の指標にした。</p> <p>変異原性試験:ウムテストにて各薬剤の変異原性を試験した。</p> <p>原薬確認試験:HPLC を用いて、試料溶液中の原薬の測定及び分解生成物の分析を行った。塩酸</p>	

エピルビシンの分析では、カラムは Shim-pack VP-ODS, 移動相はアセトニトリルと水の混合溶液, 検出には PDA 検出器を用いた。

【結果】

はじめに, Pt-Ir 電極を用いた 4 A/dm^2 の定電流電解によって, 塩酸エピルビシンの抗菌活性, 細胞毒性, 変異原性を不活化できるか否かを, 原核生物に対する細胞毒性 (抗菌活性) について検討した。その結果, 黄色ブドウ球菌に対する MIC は電解時間に従い指数的に増加し ($y=1.56e^{1.39x}$), 抗菌活性を電解 4 時間以内に $1/100$ 以下に不活化できることを明らかにした。また, ヒト由来細胞に対する細胞毒性についても, CC_{50} は電解時間に従い増加し ($y=2.38x^2-0.62x$), 電解 6 時間以内に細胞毒性を $1/1000$ 以下にできることがわかった。変異原性の測定では, $8.2\sim 666 \mu\text{g/mL}$ の範囲で塩酸エピルビシンに認められた変異原性は 2 時間の電解によって消失した。

以上の結果から, 電解によって塩酸エピルビシンが分解されたものと考え, 電解後の塩酸エピルビシン溶液を HPLC にて分析した。塩酸エピルビシンは電解によって時間依存的に減少し, 電解 2 時間後には 95% 以上分解され, 電解 4 時間後には検出下限以下になることを明らかにした。また, 電解によって少なくとも 5 種類の電解産物が生成し, そのうち 2 種類は電解に従い増加することが明らかとなったが, 細胞毒性, 変異原性, 抗菌活性などの生物学的活性はないことを示した。

塩酸エピルビシンの検討結果から, Pt-Ir 電極を用いた 4A/dm^2 の定電流電解によって, 2~6 時間の電解時間で塩酸エピルビシンを不活化できることが明らかとなったので, 他の抗悪性腫瘍剤についても同様の条件で電解し CC_{50} を測定した。その結果, 薬剤によって不活化率に差はみられたが 2~6 時間の電解時間で細胞毒性は $1/3\sim 1/100000$ に不活化されることを明らかにした。

以上, 単剤の抗悪性腫瘍剤について検討してきたが, 現実的には医療廃液には種々の抗悪性腫瘍剤が含まれる。そこで, 临床上よく使用される 13 種の抗悪性腫瘍剤の混合液を電解して CC_{50} を測定し, 電解 4 時間で細胞毒性は $1/100$ 以下に不活化されることを明らかにした。

【考察】

本研究では, 電解によって塩酸エピルビシンを分解し, その抗菌活性, 細胞毒性, 変異原性を減弱できることを明らかにした。また, 塩酸エピルビシン以外の種々の抗悪性腫瘍剤や多種の抗悪性腫瘍剤の混合液についても電解によって細胞毒性を減弱できることを確認した。

一般的に抗悪性腫瘍剤の生分解性は非常に低いため, NIH では, ヒトへの暴露や環境負荷予防の見地から, 焼却によって抗悪性腫瘍剤を廃棄することを推奨している。しかし, 焼却には莫大なエネルギーが必要であり, ダイオキシンの発生や炭酸ガスを排出することが新たな環境負荷となる。そこで, IARC は抗悪性腫瘍剤の廃棄に化学処理を推奨し, 各国の事情に合わせて改良されてきたが, 医療現場で化学処理を行う場合には, ケミカルセーフティーの確保やクオリティーコントロールが簡単ではないという問題があり, 安全で安定した処理を行うためには, より使い易いシステムを構築する必要がある。

電解による抗悪性腫瘍剤の不活化は, 主に電解によって生成する次亜塩素酸の酸化力によって抗悪性腫瘍剤を構成する分子の一部が分解され, その分子構造が変化するためと考えられる。

電解法の利点は, 少ないエネルギーで医療廃液中に元から含まれる塩化物イオンから連続的に次亜塩素酸を生成し抗悪性腫瘍剤を不活化するところにある。電解法は, 抗悪性腫瘍剤のヒトへの暴露や環境負荷低減の観点から, 医療現場で使用できる抗悪性腫瘍剤含有廃液の一次処理法として有用であると考えられる。

本研究は, 抗悪性腫瘍剤含有廃液の不活化処理に必要な不可欠な条件を決定し, 電解医療廃液処理装置の実用化に重要な知見を与えるものである。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	廣瀬 潤
論文審査担当者		主 査 教授 佐 野 浩 一 副 査 教授 河 野 公 一 副 査 教授 林 秀 行 副 査 教授 古 谷 榮 助 副 査 教授 島 原 政 司	
主論文題名 Inactivation of antineoplastics in clinical wastewater by electrolysis (電気分解による医療廃液中抗悪性腫瘍剤の不活化処理)			
論文審査結果の要旨			
<p>医療廃液には抗悪性腫瘍剤などの医薬品が含まれており、自然界に放出され長期間の環境負荷がかかった場合に、ヒトおよび生態系に影響を及ぼす可能性があるとされている。現在、医療廃液の処理には、希釈放流や焼却処理が用いられているが、活性汚泥への影響、環境常在菌の耐性誘導、莫大なエネルギー消費とダイオキシン発生や炭酸ガス排出量の増加など新たな環境負荷を発生する。</p> <p>本研究は、医療廃液処理において低エネルギーで環境負荷を軽減するために、電気分解法を応用することを目標に抗悪性腫瘍剤の抗菌活性、細胞毒性、変異原性がどのような電解条件で不活化されるか検討し、医療廃液処理装置の設計に必要な電解条件を決定することを目的としたものである。</p> <p>申請者は、塩酸エピルピシンを不活化するための電解条件を検討し、Pt-Ir 電極を用いて 4 A/dm² の定電流電解を行なうことによって、2～6 時間の電解時間でその抗菌活性、細胞毒性、変異原性を減弱できることを明らかにし、HPLC 分析の結果から、塩酸エピルピシンは電解時間に従い分解消失していると考えた。また、電解中に生成する分解産物は、微生物やヒト由来細胞に対する毒性を有していないことを示した。加えて、他の個々の抗悪性腫瘍剤及び 13 種の抗悪性腫瘍剤を混合した模擬廃液について、それらの細胞毒性を不活化できることを確認した。</p> <p>申請者は、電解法は医療廃液中に元から含まれる塩化物イオンから循環的に次亜塩素酸を生成し、その酸化力によって抗悪性腫瘍剤を分解し不活化するものであると考えている。</p> <p>本研究は、電気分解が抗悪性腫瘍剤の環境負荷の少ない不活化処理法として利用できることを示したもので、抗悪性腫瘍剤含有廃液処理装置の開発に緒を開くものである。</p> <p>以上により、本論文は本学大学院学則第 9 条に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>(主論文公表誌) Chemosphere 60: 1018-1024, 2005</p>			