

氏名	Hao Liting		
学位の種類	博 士 (環境学)		
学位記番号	博 甲 第 8 8 3 7 号		
学位授与年月日	平成 3 0 年 9 月 2 5 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Phase Change of Bacterial Community by Residual Antibiotic Contamination for Nitrogen Removal in Wastewater Treatment (残留抗菌剤含有廃水の窒素除去のための廃水処理微生物群集構造変化)		
主査	筑波大学准教授	博士 (農学)	清水 和哉
副査	筑波大学教授	博士 (農学)	張 振亜
副査	筑波大学准教授	工学博士	雷 中方
副査	産業技術総合研究所上級主任研究員	博士 (農学)	間世田 英明

## 論 文 の 要 旨

本論文は、抗菌剤レボフロキサシンを廃水中の窒素除去プロセスに曝露させ、抗菌剤の影響による微生物群集変化とこの変化に対応した窒素除去プロセスへの影響を明確にした。加えて、多剤耐性菌が増加したプロセスでも流入抗菌剤濃度が減少することで、この耐性菌の個体群数を減少できることを示したものである。

抗生物質の発見と利用が拡大して以降、薬剤耐性菌の問題が顕在化となった。近年では、微生物が駆動させている様々なプロセスに対する影響や排出された抗菌薬による環境中での薬剤耐性菌の出現とその薬剤耐性菌のヒトへの感染が危惧されている。しかしながら、抗菌薬の曝露による微生物群集構造の変化の詳細と変化に応じたプロセスの変動、抗菌剤の曝露濃度の変化に対する耐性菌の個体群数の変動については、明らかにされていない。この知見は、生活廃水や農業廃水等に含まれる残留抗菌剤により、環境細菌の薬剤耐性化リスクを詳細に理解するために重要である。

この研究課題に対し、著者は窒素除去プロセスにおける抗菌剤の影響をモデルとし、抗菌剤レボフロキサシンによる微生物群集変化と窒素除去プロセスの変動を検証した。本論文は、6章により構成されている。

第1章では、抗菌剤の種類や微生物が駆動させている様々な環境生物学プロセスに対する抗菌剤曝露による影響の既往報告や生活系廃水、畜産廃水からの汚染物質として、抗菌剤が水環境中に到達している現状を紹介し、本論文の課題を明確化している。

第2章では、シーケンスバッチリアクター方式 (SBR) の生物学的廃水処理方式と実際に稼働している下水処理場から採取した活性汚泥を用いて実験系を構築していることから、レボフロキサシンに対する微生物群集全体への最小生育阻止濃度および最小殺菌濃度を求め、著者は本研究を展開するにあたり、初期値として微生物群集全体が、すでにどの程度の耐性/非感受性を保持していたのかを示している。

第3章では、第2章で明らかにしたレボフロキサシン濃度を基準として、急性的に3種類(4 mg/L、16 mg/L、128 mg/L)の濃度のレボフロキサシンをそれぞれSBRに曝露した際に、曝露濃度4 mg/Lでは、窒素酸化処理能への影響がみられないものの、濃度依存的にその処理能が低下することを示している。特に、曝露期間後半において、アンモニア酸化能が回復するが、亜硝酸酸化能は低下した状態であるという新たな現象を明らかにしている。

第4章では、慢性的な影響と曝露濃度変動の影響を解析している。SBRへの曝露を停止すると、全ての曝露系において廃水処理能が回復した。その後、第3章での曝露濃度とは異なる濃度(4 mg/Lと128 mg/L)を各SBRに曝露すると、曝露濃度128 mg/Lでは、曝露経験の違いによらず、第3章と同様に窒素処理能が低下した後、アンモニア酸化能のみが回復することを著者は確認した。一方、第3章の結果とは異なり、曝露停止後も亜硝酸酸化能が回復しない現象を示した。加えて、廃水処理プロセスでは流入レボフロキサシンの少なくとも50%以上が除去できずに水環境に放流されると推測される重要な結果を得ていた。

第5章では、第3章および第4章に示された現象の理解のために、レボフロキサシン曝露により変動する微生物群集の解析を行っている。この結果、窒素処理能においては、亜硝酸酸化細菌がアンモニア酸化細菌よりも感受性が高く、アンモニア酸化細菌の*Nitrosomonas* sp.と亜硝酸酸化細菌の*Nitrospira* sp.の細胞密度が、各機能の指標となることを示す結果を得ていた。またレボフロキサシンが選択圧となり、レボフロキサシン曝露系では、注目すべき薬剤耐性菌が存在する*Acinetobacter* sp.の細胞密度が増加した。しかしながら、レボフロキサシン曝露が無くなると速やかに他の細菌群に圧倒され、この細胞密度が急速に減少する現象を著者は掴んでいた。つまり、廃水処理過程に流入する抗菌剤濃度を除去・制御することが、廃水処理過程における薬剤耐性菌の出現の抑制に重要であることを示したといえる。

第6章において、著者は、主な結果に基づいて本論文を総括するとともに、本研究の今後の課題についても言及している。

## 審 査 の 要 旨

本研究は、完全人工合成なニューキノロン系抗菌剤レボフロキサシンを模擬曝露抗菌剤として用い、シーケンスバッチリアクター方式(SBR)の生物学的廃水処理能における抗菌剤曝露により低下する廃水処理能と微生物群集構造変化との関係の理解および重要な耐性菌の挙動を解明したと評価された。加えて、流入抗菌剤濃度が低い廃水処理施設は、薬剤耐性菌の環境中への供給源ではないことが推測される重要な結果を示したと評価された。また高濃度の抗菌剤が流入した廃水処理施設においても、その流入濃度を減少させることにより水環境中での耐性菌の出現リスクを抑制できることを示したと評価された。

以上の知見は、人為由来の有害廃棄物汚染に対する微生物群集を用いた環境浄化技術の応用に資する有益な情報を提供すると高く評価された。

平成30年7月20日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査および最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判断された。

よって、著者は博士(環境学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。