

氏名(本籍)	とみ やま なる と 富 山 成 人 (茨 城 県)
学位の種類	博 士 (農 学)
学位記番号	博 乙 第 2079 号
学位授与年月日	平成 16 年 12 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	DDT に起因する肝毒性を予測するためのトキシコキネティクスパラメータの信頼性に関する研究
主 査	筑波大学教授 農学博士 白 井 健 二
副 査	筑波大学教授 農学博士 河 野 義 明
副 査	筑波大学助教授 農学博士 小 林 勝 一 郎
副 査	筑波大学教授 農学博士 松 本 宏

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

農薬の毒性試験の精度を高め、暴露レベルの評価から生体内の毒性発現を予測できる試験法を構築するため、毒性発現と毒物動態のパラメータ、トキシコキネティクス (TK) パラメータとの関係を追究した。被験物質として内分泌かく乱物質の 1 つとされる脂溶性農薬で肝毒性および変異原性肝発癌物質としての報告が多くあり容易に肝毒性の再現が予想される DDT [1,1,1-trichloro-2,2-bis (*p*-chlorophenyl) ethane] を用いた。DDT に起因する肝毒性の指標として肝重量増加、ミクロソーム薬物代謝酵素 (CYP2B1) 誘導および細胞間コミュニケーション (GJIC) 障害 (Cx32) を取り上げ、これら肝毒性指標と TK パラメータ (濃度あるいは濃度-時間曲線下面積, AUC) との相関性を調べ、肝毒性予測における最も信頼性のある指標の解明を目的とした。

初めに、TK 試験において信頼できる TK パラメータを得るために必要なバリデート (信頼性の確保) された分析法を検討し、従来の ECD-GC 分析法に替わる、固相抽出を用いた迅速かつ信頼性の高い高速液体クロマトグラフ法を確立した。

次に本分析法を用いて、代表的モデル実験動物のラットにおいて DDT 単回強制経口 (106mg / kg) と 7 日間反復混餌 (1000ppm) 投与試験を実施し、DDT に起因する肝毒性を予測するための TK パラメータの信頼性について、投与方法の違いによる比較検討を行った。主な器官臓器中の DDT および代謝物 (DDD, DDE) の濃度は、肝臓および脂肪中で高かったが、単回投与では速やかにピークとなり以後漸減し、反復投与では速やかに増加し以後プラトーに達した。絶対肝重量および体重に対する相対肝重量の増加が、DDT 単回および反復投与後の典型的な毒性作用として認められた。そこで、[濃度-相対肝重量] 間および [AUC - 相対肝重量] 間の相関係数を算出し比較した結果、単回強制経口投与試験では [濃度-相対肝重量] 間の相関性と [AUC - 相対肝重量] 間の相関性とで有意差がなかった。一方、反復混餌投与試験においては、[AUC - 相対肝重量] 間の相関性が [濃度-相対肝重量] 間の相関性より高く、良好であった。これらの結果より、反復混餌投与試験において血漿および肝臓中の DDT または DDD, DDE も含めた総 DDT (T-DDT) の AUC が、DDT に起因する肝毒性を予測する上で濃度よりも信頼性が高いことが示唆された。

更に、投与期間を延長した場合の、異なる投与量間における関係を、種々の投与量（50, 160, 500ppm）の28日間反復混餌投与試験を実施して調べた。本試験においては、肝毒性の指標として相対肝重量増加の他に、CYP2B1誘導およびGJIC阻害も追加した。その結果、全用量群において有意な相対肝重量の増加、CYP2B1量の増加、ならびにコネクシン蛋白（Cx32）スポット数の減少が見いだされた。これらの肝毒性指標とTKパラメータの相関性を調べ総合的に評価した結果、[AUC - 肝毒性作用]間の相関性が[濃度 - 肝毒性作用]間の相関性より常に高かった。また、T-DDTの[AUC - 肝毒性作用]間の相関性はDDTの場合より高い傾向があった。さらに、相対肝重量増加に関して、血漿中の[AUC - 肝毒性作用]間の相関性は肝臓中の場合よりも高かった。以上のことから、長期暴露の異なる用量での反復混餌投与試験においても、血漿中および肝臓中のDDTまたはT-DDTのAUCは、DDTに起因する肝毒性を評価する上で、それらの濃度よりも適切なTKパラメータであることが明確とされた。特に、血漿中におけるT-DDTのAUCはDDTに起因する肝毒性を予測するための最善の指標であると判断された。

農薬の毒性試験ではADI算出のため投与量による毒性評価が行われているが、AUCによる毒性評価の方が、反復混餌投与試験における毒性作用をより正確に評価できるものと推察された。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

農薬を安全に使用する上で毒性評価は必須となっている。本研究は、農薬の毒性試験の精度を高め、暴露レベル評価から毒性発現を予測するための最適なトキシコキネティクス（TK）パラメータとの関係を追究したもので有意義である。肝毒性を引き起こすDDTを幾つかの異なる方法、期間、用量でラットに投与し、経時的に体内各臓器のDDTおよびDDT代謝物濃度を測定し、肝重量の増加、薬物代謝酵素誘導および細胞間コミュニケーション阻害などの毒性に関連する指標との関連を分析し、特に、反復混餌投与試験においてDDT濃度よりAUCの方が相関性が高いことを明らかとした。さらに、血漿および肝臓中のDDTおよびT-DDTのAUCが肝毒性を予測する上で信頼性が高いパラメータであることが明確とされた。これらの新知見から、毒性試験において血漿中のAUCによる評価がより正確で実際的な評価を可能とすることを示唆している。DDTと異なる性質の農薬についての評価は今後の課題であるが、本研究は、将来の農薬の毒性試験、薬物動態および毒性評価にとって有益な情報を与えるものと高く評価される。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。