

氏 名	藤 川 眞 章
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学位記番号	農 博 第 1674 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	農 学 研 究 科 地 域 環 境 科 学 専 攻
学位論文題目	Permeability of chemicals in the environment with artificial membranes – Application to estimation of human oral exposure and bioconcentration – (環境中に存在する化学物質の人工脂質膜透過性－ヒト経口吸収性および生物濃縮性予測への応用)
論文調査委員	(主 査) 准教授 赤 松 美 紀 教 授 東 順 一 教 授 宮 川 恒

論 文 内 容 の 要 旨

環境中には多数の化学物質が存在し、ヒトおよび生態系の生物は、直接的および化学物質を蓄積した生態系の生物を食することにより、これらの化学物質に曝露されている。ヒトにおける化学物質の曝露量（経口吸収性）および生物濃縮性を評価することは、化学物質のリスクを明らかにする上できわめて重要であるが、これまでの方法では、さまざまな問題が存在した。すなわち、ヒト経口吸収性の評価のために、ヒトに化学物質を摂取させることは倫理面で十分な配慮が必要になり、さらに評価に時間と費用を要する。代替法として小腸上皮細胞のモデル細胞であるCaco-2細胞に対する透過係数を求め、ヒト経口吸収性を予測する方法が確立されているが、細胞の培養など実験操作に手間と時間がかかる。一方、生態系に対する蓄積性の指標としては生物濃縮係数（bioconcentration factor : BCF）が一般に用いられる。BCFを評価するには少なくとも28日間の試験期間が必要であり、ヒト経口吸収性の評価と同様にBCFの評価にも手間と時間を要する。本論文では、ヒトにおける化学物質の経口吸収性および生物濃縮性を予測するためにparallel artificial membrane permeation assay (PAMPA) 法を用いて検討を行った。PAMPAとは疎水性フィルターにレチシンを吸着させて人工脂質膜の透過性および蓄積性を評価するアッセイシステムである。このアッセイシステムの特徴は、非生物系であるため培養が不要であり、迅速に再現性よく評価ができることである。主な研究内容は以下のとおりである。

- (1) 多様な構造をもつ医薬品などの化学物質の見かけの人工脂質膜透過係数を測定し、この透過係数の対数値と化合物のさまざまな物理化学的パラメーターとの関係を重回帰分析して、定量的構造活性相関式を導いた。すなわち、人工脂質膜透過係数は化合物の疎水性 ($\log P_{\text{oct}} : 1\text{-オクタノール/水分分配係数の対数値}$)、解離度および水素結合能に支配されることを明らかにした。しかし、数個の高疎水性薬物は、得られた相関式から予測されるより低い透過性を示した。
- (2) 高疎水性化合物も含む多様な構造をもつ化合物の人工脂質膜透過性を予測するために、農薬などの高疎水性化合物の人工脂質膜透過係数の測定を追加し、検討した。高疎水性化合物については、膜近傍に存在する非攪拌水層および人工脂質膜への蓄積のため膜透過性が制限されたが、二直線モデルを用いて高疎水性化合物を含む多様な化合物の人工脂質膜透過性を予測する構造活性相関式を得ることができた。
- (3) 測定に用いた化合物のうち、主に受動拡散によって透過する化合物のCaco-2細胞透過係数の対数値と人工脂質膜透過係数の対数値の相関式を求めたところ、ほぼ1 : 1に対応することがわかった。この結果およびCaco-2細胞透過性と経口吸収率との関係式を用いて、殺虫剤chlorpyrifosおよび内分泌かく乱物質として疑われているdi(2-ethylhexyl) phthalateのヒト経口吸収率を予測したところ、これらの経口吸収率は文献に記載された実測吸収率とほぼ同程度で、PAMPA透過係数からヒト経口吸収率を予測することが可能となった。
- (4) 有機りん系農薬の例において、人工脂質膜への蓄積性の指標として、今回、新たに定義した P_M (buffer中化合物量に

対する人工脂質膜内に蓄積した化合物量の比) の対数を用い、生物濃縮係数BCFの予測に応用できるかどうかについて検討した。まず、 $\log P_{\text{oct}}$ と $\log P_M$ とを比較したところ、用いた化合物の内、EDDPとIBP以外の化合物においては $\log P_{\text{oct}}$ が大きくなるにしたがって $\log P_M$ が大きくなる傾向が認められた。次に雄グッピーなど5種の魚の平均BCF値の対数値である $\log BCF_{\text{ave}}$ と $\log P_{\text{oct}}$ あるいは $\log P_M$ との相関を検討したところ、 $\log BCF_{\text{ave}}$ と $\log P_{\text{oct}}$ との相関より、 $\log BCF_{\text{ave}}$ と $\log P_M$ との相関の方が高かった。また、5種それぞれの魚の $\log BCF$ と $\log P_{\text{oct}}$ あるいは $\log P_M$ との相関についても検討を行った。もっとも良い相関を示したのは雄グッピーに対する $\log BCF$ と $\log P_M$ との関係であった。雄グッピーのEDDPおよびIBPの $\log BCF$ 値については $\log P_{\text{oct}}$ との相関式から予測されるより低い値を示したが、 $\log P_M$ から予測される $\log BCF$ 値は実測値と良く対応した。従って、人工脂質膜への蓄積性の指標である $\log P_M$ を用いれば、従来から用いられている $\log P_{\text{oct}}$ より、有機りん系農薬の $\log BCF$ を正しく予測できると考えられた。

論文審査の結果の要旨

環境中に存在する化学物質のヒトおよび生態系の生物に対するリスク評価について、近年、関心が非常に高まっている。本研究において用いられたPAMPA法は、元来、医薬のヒトに対する吸収予測のために開発された方法であり、この方法を化学物質のリスク評価(曝露量評価)に対して初めて応用したという点で、本研究は注目に値する。本論文の評価すべき主な点は以下の通りである。

(1) PAMPA法により測定された、多様な構造をもつ医薬などの化学物質の見かけの人工脂質膜透過係数が、化合物のどのような物理化学的性質により支配されるかを明らかにし、初めて、人工脂質膜透過係数を予測し得る定量的構造活性相関式を導いた。

(2) 以前から、高疎水性化合物の人工脂質膜透過係数は、その疎水性から期待されるより低くなることが指摘されていたが、その理由については解明されていなかった。本研究において、膜近傍に存在する非攪拌水層および人工脂質膜への蓄積のため高疎水性化合物の膜透過性が制限されることを実験的に明らかにした。また、二直線モデルを用いて、高疎水性化合物を含む多様な構造を持つ化合物の人工脂質膜透過性を予測する構造活性相関式を得ることができた。

(3) 人工脂質膜透過係数と、主に受動拡散によって透過する化合物のCaco-2細胞透過係数との相関関係を明らかにした。Caco-2細胞透過係数とヒト経口吸収率との関係はすでに報告されているため、これらの関係を用いることにより、化合物の人工脂質膜透過係数からヒト経口吸収率を予測することが可能となった。細胞膜表面にはさまざまなトランスポーターが存在するが、ある程度の疎水性を持つ化合物では、受動拡散による吸収が主たる細胞透過機構であるため、本予測法により、多数の化合物のヒト吸収率を、その構造から予測することが可能となる。

(4) 化合物の人工脂質膜内への蓄積性の指標を新たに定義した。この新規の蓄積性指標が生物濃縮係数BCFの予測に応用できるかどうかについて、有機りん系農薬の例において検討を行った。BCFの予測に対し、従来、1-オクタノール/水分配係数の対数、 $\log P_{\text{oct}}$ がよく用いられているが、新規の蓄積性指標は、 $\log P_{\text{oct}}$ より有機りん系農薬の $\log BCF$ を正しく予測できることがわかった。

以上のように、本論文は、PAMPA法という簡便な方法を用いて、環境中に存在する多様な化合物の人工脂質膜透過係数を測定するとともに、人工脂質膜透過係数を化合物の構造から予測する定量的構造活性相関式を導き、さらには、人工脂質膜透過係数からヒトへの吸収率を予測する方法論を確立した。また、PAMPA法を用いて得られた人工脂質膜内への蓄積性の指標により、生物濃縮係数を予測することも可能にした。このような成果は、環境化学、環境毒性学および農薬科学の分野に対し、寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士(農学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成20年1月17日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士(農学)の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。