

# 学 位 論 文 の 要 旨

論文題目 水生生物における化学物質の濃縮性への代謝要因の影響に関する研究

氏 名 宮 本 貢

第1章の緒論では、環境汚染・生物濃縮性懸念化学物質規制の国際動向、生物濃縮性とその主な支配・影響要因と予測手法、生物多様性と関連した生物濃縮性の多様性などを通じて、各種生物濃縮性評価の簡便法や補足技法の蓄積の必要性を説明し、本論文の目的を明らかにした。

すなわち、過去の生物濃縮性に関連した大規模環境汚染を端緒に環境保護、持続的・安定な地球環境との共生に向けて世界各地において化学物質の危険性を優先して是非判断がなされる時代となってきており、事前の様々な安全性関連項目の調査が求められ、その中で生物濃縮性は重要な評価項目の1つである。特にEUでは微量不純物や環境代謝物までも評価が要求されている。他方、生物濃縮性の支配要因としては化学物質の脂溶性や分子サイズなどあり、様々な予測手法が作成されているものの、その他の生物側の大きな影響要因である化学物質代謝分解能の予測手法への組み込みは不十分である。有機化学物質の多様性などから適用性の幅広い手法の実現には色々な困難・制約があると予想される。更に標準試験生物としては魚が用いられているものの、実環境では種数や多様性から節足動物の評価も重要と考えられる一方で生物多様性に関連し生物濃縮性の予測性や標準試験法作成に多くの課題があり、現状、節足動物での標準試験法確立に向けての明確な取り組みは殆ど見られない。国際的な第一標準である魚の生物濃縮性試験が複雑、高額である点や近年の動物愛護、更に評価対象化学物質が多いことなど踏まえると、代謝要因を踏まえた微量成分・分解物等の類剤の評価や節足動物の多様性も踏まえた簡便評価などの補足技法の充実が望まれる。

本論文ではそれを踏まえて生物濃縮性に影響を及ぼし得る主な課題の1つと考えられている代謝要因に関連した簡便手法の構築について検討した。

第2章、「生物・代謝多様性を踏まえ、体内致死濃度を活用した節足動物の簡便濃縮性評価手法の検討（殺虫剤ピリダリルのセスジユスリカ、ヨコエビの一種 *H. azteca* の体内致死濃度を用いた BCF 推算の検討）」では、先ず、殺虫剤ピリダリルのセスジユスリカ幼虫およびヨコエビの一種 *H. azteca* 成体に対する急性毒性および代謝ならびに体内致死濃度 LBR について  $^{14}\text{C}$  標識化合物を用いて調べた。その結果、平均実測水中濃度に基づく急性  $\text{LC}_{50}$  値はそれぞれ 1.1 mg/L (48 時間), 0.015 (96 時間) mg/L であり、いずれの生物種においても主な代謝様式はジクロロアルキルオキシ基のエーテル結合の脱アルキル化および抱合化であった。より高い代謝能がセスジユスリカでは認められ、ピリダリルの生物中濃度に基づく LBR は両生物種で同レベルであったことから毒性ポテンシャルに顕著な違いはなく見かけの毒性は主に代謝能に影響されているものと考えられた。このラボでの急性毒性・代謝試験において得られた毒性値  $\text{LC}_{50}$  と体内致死濃度 LBR から生物濃縮係数  $\text{BCF}=\text{LBR}/\text{LC}_{50}$  の関係式に基づいて推算されたセスジユスリカおよび *H. azteca* の BCF はそれぞれ 72、1200 であり 17 倍の違いが認められた。他方、既存のピリダリル野外池試験における水中および各種水生生物中のピリダリル濃度推移データから推算された BCF のうち、水生昆虫のヤゴ、甲殻類のミジンコの値はそれぞれ  $180 \pm 120$ 、3100

±2300 であり、ラボでの毒性試験データからの昆虫類と甲殻類での推算値は野外の類似分類生物の値と良く類似した。このことから、生物間の比較などにおいて毒性値と体内致死濃度からの BCF 推算の活用性が示唆された。また、ラボ標準種、野外生物の何れにおいても BCF の低い生物群では代謝物量の割合が高く、各種無脊椎動物においても代謝が BCF に及ぼす影響の大きいことが示唆された。

第3章、「一次代謝物に着目した速度論的解析や *in vitro* 試験活用の類縁体 BCF 簡易評価手法の検討 (*in vivo* および *in vitro* の魚濃縮性/代謝試験によるピレスロイド系殺虫剤テトラメトリンのトランスおよびシス異性体の生物濃縮性の検討)」では、殺虫剤テトラメトリンの構成成分であるシス、トランス異性体のうち、主成分であるトランス異性体についてブルーギル稚魚における濃縮および代謝、排泄挙動を2種類の <sup>14</sup>C 標識化合物を用いて、連続流水試験系(設定濃度 1 ppb、28 日曝露/14 日排泄)において評価した。トランステトラメトリンは魚体内でまずエステル開裂を受け、その後、アルコール側、酸側部位とも引き続いて各種代謝を受けた (*N* 脱アルキル化、二重結合の還元、イミノ環開裂、オメガトランスメチル基の酸化、エポキシを經由した水酸化、酸側代謝物のグルクロン酸やタウリン抱合化)。生物濃縮係数 BCF および魚体からの消失半減期はそれぞれ 180-310、0.54-0.72 日であった。加えて、代謝経路を踏まえて濃縮平衡時および排泄期間の一次代謝物の動態に着目し、その生成、消失挙動の速度論的解析から、トランステトラメトリンの代謝、排泄速度をそれぞれ 0.41、0.55 /day と算出し代謝の寄与の大きさを定量的に明らかにした。更に、エステラーゼ活性に着目し、魚全身ホモジネートを用いて *in vitro* 分解速度のシス、トランス異性体の比較を行い、それぞれ 1.8、3.7 /day とトランス異性体のより速やかな分解が確認された。トランス異性体の *in vivo* の BCF 値ならびにシスおよびトランス異性体の *in vitro* 分解速度を用いてシス異性体の BCF 値の推算を行い 230-400 と算出された。

第4章、「混合物微量分析や代謝阻害剤を活用した濃縮性への代謝要因の明確化簡便法の検討 (シス、トランス幾何異性体混合物であるピレスロイド系殺虫剤 *d*-フェノトリンの各異性体の魚濃縮性に及ぼす代謝影響の分別定量分析及び代謝阻害剤を用いた検討)」では、コイ当歳魚をトランス、シス異性体の混合物(4:1)である殺虫剤 *d*-フェノトリンに連続流水下で暴露し各異性体の生物濃縮係数 BCF を検討したところ、トランス体よりもシス体の BCF は 1.1-2.2 倍有意に高値であった。異性体間の物理化学的性質の類似性からこの BCF 値の違いは各異性体の魚における代謝能の違いによると考えられた。更に酸化酵素阻害剤であるピペロニルブトキサイド共存下で各異性体の BCF を評価したところ、トランス体では阻害剤の有無による顕著な変化は無かったものの、シス体では BCF 値の顕著な上昇が認められ、これは代謝分解要因の排除によると考えられシス異性体の酸化代謝が大きいことがうかがえた。また、この BCF 値の違いから代謝速度と排泄速度の比は最大 2.3-11 倍と見積もられ、代謝分解要因が *d*-フェノトリン幾何異性体の生物濃縮性に大きく寄与していることが示された。加えて、魚体重に基づく取込み速度推算式と代謝阻害時のシス体 BCF から算出された *d*-フェノトリンの取込み、排泄速度はそれぞれ 200 L/kg/day、0.064 /day 推算され、更に、BCF 値からシス体、トランス体の代謝速度はそれぞれ 0.33、0.49 /day と推算された。

第5章の「総合考察」では、本研究において検討・構築した代謝要因を考慮した生物濃縮性に関連する以下の評価・解析手法について、生物濃縮性の予測や評価の更なる改良、精緻化や既存手法校正、より正確なパラメータ取得への活用、或いは実際の化合物の評価、特に類縁化合物群の効率的・簡便評価への活用性について考察した。

1. 毒性値および体内致死濃度からの BCF 推算と生物間の簡便比較
2. 代謝様式を踏まえた1次代謝物動態からの速度論的解析による代謝速度評価
3. *in vivo* 試験とブリッジング *in vitro* 代謝試験を組み合わせた類縁体の BCF 推測
4. 代謝阻害剤を用いた代謝寄与度検証や速度パラメータ推算

以上