

氏名	山口 尊史
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第6071号
学位授与の日付	2019年 9月25日
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	ラットを用いた化学物質曝露による生体内ホルモンレベルの変動要因解析
論文審査委員	教授 西野直樹 教授 舟橋弘晃 准教授 若井拓哉 教授 木村康二
<b>学位論文内容の概要</b>	
<p>本論文では、化学物質曝露による肝臓影響と生体内ホルモンレベル変動の関係性に着目し、ホルモン変動の要因解析に取り組んだ。既知見情報が豊富な phenobarbital (PB) および di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) を肝毒性物質として選択した。</p> <p>ラットに PB (100 mg/kg/日) および DEHP (500 mg/kg/日) を幼若期 (生後 23 日齢) から 31 日間経口投与し、内分泌組織を中心として生体影響を検討した。PB および DEHP 群ともに肝臓影響 (重量増加およびシトクロム P450 (CYP) などの薬物代謝酵素誘導) の他、甲状腺影響 (甲状腺刺激ホルモン高値, 甲状腺ホルモン低値, 病理組織学的変化) が認められた。さらに PB 群では、血中テストステロンおよび肛門挙筋+球海綿体筋重量の低値とともに、テストステロン代謝に関与する CYP2B, CYP3A の誘導が認められた。肝臓の S9 画分に[4-<sup>14</sup>C]テストステロンを添加したところ、PB 群でテストステロンの消失速度亢進が認められた。精巣中では、17β-HSD 活性に変動はなく、形態学的変化も認められなかった。したがって、テストステロン低値の作用機序は、肝臓中のテストステロン代謝を担う CYP による代謝亢進であると示唆された。一方、副生殖腺重量の変動ならびに性成熟の遅延は検出されなかった。DEHP 群では、肝臓影響は顕著であったものの、血中テストステロン変動、性成熟の遅延および生殖器の病理変化は認められなかった。甲状腺影響の想定作用機序も肝臓影響を介したものと考えられた。PB および DEHP は甲状腺ホルモンをグルクロン酸抱合化して胆汁排泄を促進する UGT を誘導し、続いて甲状腺ホルモン低値および TSH 高値が誘発され、甲状腺の病理変化が発現したと考えられる。さらに、DEHP は肝臓中 Type 1, 2, 3 の Iodothyronine deiodinase の mRNA 発現量、血中トランスサイレチン、甲状腺ペルオキシターゼ、ヨウ化ナトリウム共輸送体の遺伝子/タンパク発現量を抑制することも報告されていることから、甲状腺ホルモンの代謝、合成、輸送、生体内変換に対する影響が複合的に発現している可能性が考えられた。</p> <p>本研究の手法は、ホルモンレベル変動要因解析の一助として適用されることが期待され、ホルモンレベルの軽微な変動を含め、肝臓影響を介した二次的変化の可能性を精度高く予測できると考えている。肝臓は化学物質曝露における毒性好発組織である。化学物質曝露影響を評価する際には、肝毒性の有無、各毒性所見が肝臓を介した影響であるかどうか判断することも重要であり、ホルモンレベル変動の毒性学的意義を追究するような研究が今後とも継続される重要性は高いと思われる。</p>	

## 論文審査結果の要旨

本論文では、化学物質曝露のラット生体のホルモンレベルへの影響およびその要因解析について検討している。既知見情報が豊富な phenobarbital (PB) および di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) を肝毒性物質として選択し、幼若期ラット（生後 23 日齢）に 31 日間経口投与した際、PB および DEHP 群ともに肝臓影響（重量増加およびシトクロム P450 (CYP) などの薬物代謝酵素誘導）の他、甲状腺への影響（甲状腺刺激ホルモン高値、甲状腺ホルモン低値、病理組織学的変化）が確認された。さらに PB 群では、血中テストステロンおよび肛門挙筋+球海綿体筋重量の低値とともに、テストステロン代謝に関与する CYP2B, CYP3A の誘導が認められ、肝臓の S9 画分に[4-<sup>14</sup>C]テストステロンを添加したところ、PB 群でテストステロンの消失速度が亢進された。しかし 17β-HSD 活性に変動はなく、精巣の形態学的変化も認められないことから、テストステロン低値の作用機序は、肝臓中のテストステロン代謝を担う CYP による代謝亢進であると結論づけている。DEHP 群では、肝臓影響は顕著であったものの、血中テストステロン変動、性成熟の遅延および生殖器の病理変化は認められず、甲状腺影響の想定作用機序も肝臓影響を介したものと考えられる。両者において甲状腺ホルモンの胆汁排泄を促進する UGT が誘導されており、続いて甲状腺ホルモン低値および TSH 高値が誘発され、その結果甲状腺の病理変化が発現した。さらに、DEHP は肝臓中 Type 1, 2, 3 の Iodothyronine deiodinase の mRNA 発現量、血中トランスサイレチン、甲状腺ペルオキシターゼ、ヨウ化ナトリウム共輸送体の遺伝子/タンパク発現量を抑制することも報告されていることから、甲状腺ホルモンの代謝、合成、輸送、生体内変換に対する影響が複合的に発現している可能性があると考えられており、同じ甲状腺への影響でもこの 2 つの化学物質で作用機序が異なることを示唆している。

本論文の結果から、本手法がホルモンレベル変動要因解析の一助となることが期待され、ホルモンレベルの軽微な変動を含め、肝臓影響を介した二次的変化の可能性を精度高く予測できると推察できる。肝臓は化学物質曝露における毒性好発組織である。化学物質曝露影響を評価する際には、肝毒性の有無、各毒性所見が肝臓を介した影響であるかどうか判断することも重要であり、ホルモンレベル変動の毒性学的意義を追究するような研究の今後の展開に有意義な情報を与える重要な研究であると評価できる。