

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 江寄 英剛

穀物汚染カビにより産生されるアフラトキシン B1 (以下 AFB1) は、強力な毒性及び発がん性を現すことが知られている。AFB1 は動物体内で、主に肝臓において代謝を受け、肝臓ミクロソームのシトクローム P-450 の働きにより AFM1、AFP1、AFQ1 等の比較的毒性の低い化合物に変換される。一方、AFB1 エポキシドも同様に P-450 の働きにより AFB1 より生成され、DNA やたんぱく質などの細胞内高分子化合物に結合し、その結果毒性や発がん性を引き起こす。AFB1 エポキシドは肝臓サイトゾルに存在するグルタチオントランスフェラーゼ (GST) によりグルタチオン抱合体に変換され体外に排泄される。

AFB1 の毒性や発癌性に対する感受性には動物種差が存在し、ラットは感受性動物であるのに対し、ハムスター及びマウスは耐性動物であることが認められている。マストミスも、AFB1 の毒性に対し著しく高い耐性を示すことが見出されている。

本研究は、ラット、ハムスター、マウス、マストミスの肝臓およびその他の臓器における GST による AFB1 のグルタチオン抱合化による解毒を中心に、AFB1 の代謝様式を比較究明することを目的とし、以下の知見を得た。

1. 上記動物の肝臓ミクロソームとサイトゾルを用い、AFB1 のエポキシ化及び AFB1-エポキシドのグルタチオン抱合化等の代謝活性を測定した。その結果、肝臓ミクロソームによる AFB1 の AFM1 等への酸化的代謝及びエポキシ化の活性の動物種差は、AFB1 の毒性と発癌性の動物種差と対応していなかったが、肝臓サイトゾルによる AFB1-エポキシドのグルタチオン抱合化の活性の動物種差は、AFB1 の毒性と発癌性の動物種差と対応していた。即ち、耐性動物であるマストミス、ハムスター、マウスにおいては、ラットに比して、肝臓サイトゾルの AFB1 に対する GST 活性が高かった。一方、AFB1 エポキシ化活性については、マストミスとハムスターにおいて比較的高いこと、AFM1 等への酸化的代謝活性については、ハムスターにおいて他動物種より高いことがそれぞれ認められた。これらの成績が

ら、ハムスター、マウス、マストミスは、エポキシ化によって活性化された AFB1 を、比較的効率よくグルタチオンに抱合し排泄することによって、AFB1 の毒性や発癌性に対して比較的高い耐性を現すものと考えられた。

2. 肝臓以外の臓器におけるミクロソームによる AFB1 エポキシ化活性及びサイトゾルの AFB1 に対する GST 活性をそれぞれ測定した。その結果、全動物種においてこれらの代謝活性は、肝臓の代謝活性よりも低い傾向が認められた。これら臓器の中では、AFB1 エポキシ化活性はいずれの動物種においても、肺と副腎において比較的高いことが認められた。一方、GST 活性は、マストミスとマウスにおいては、小腸、腎臓、肺、精巣において比較的高いことが認められたことから、マストミスとマウスのこれら臓器においては、GST による AFB1 エポキシドのグルタチオン抱合化が比較的効率よく行われるものと考えられた。

3. 肝臓 GST の生化学的性質を究明するために、AFB1 エポキシド以外の基質に対する GST 活性を測定するとともに、マストミスとマウスについては GST たんぱくを精製し、その電気泳動パターン、抗 GST 抗体との反応性、アミノ酸配列を調べた。その結果、マストミスのサイトゾルは、 π クラス GST と高い反応性を示す基質であるエタクリン酸に対して、他動物種に比して高い活性を示した。マストミスとマウスの GST たんぱくはいずれも、SDS-PAGE 上で分子量 24,000–26,000 の位置に 3 本のバンドを出現した。それらバンドは、マウスについては抗 α -、抗 μ -、抗 π - ヒト GST 抗体のいずれとも反応しなかったのに対し、マストミスについては抗 α - または抗 π - ヒト GST 抗体と反応することが認められた。しかし、それらマストミスのバンドには、 μ または π クラス GST の既知 N 末アミノ酸配列と一致する配列が見出されたが、 α クラス GST と一致する配列は認められなかった。以上の結果から、マストミスについては、従来より認められていたげっ歯類動物の α クラス GST とは異なる性質を持つ GST が AFB1 に対する高いグルタチオン抱合化活性を担うものと推定された。

以上、本研究により、げっ歯類動物の動物種差に着目した GST による AFB1 の解毒の特徴が明らかにされたことから、審査委員一同は、この論文が学位論文（獣医学）として価値があるものとした。