

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 Tulayakul Phitsanu

アフラトキシン B1 (AFB1) は *Aspergillus flavus* と *A. paraciticus* により産生される二次代謝物であり、熱帯・亜熱帯地域で生産される穀物を広範囲に汚染する。現在でもこのカビ毒による人の致死例を含む集団急性中毒事例が散発し、家畜においてもこうした中毒が発生している。

これまでげっ歯類動物を中心として、AFB1 の動物体内における代謝に関し、毒性と発がん性との関連において多数の研究が行われてきた。その結果、AFB1 は、主に肝臓のチトクローム p 4 5 0 酵素によって毒性が比較的弱い AFM1、AFP1、AFQ1 などの脂溶性代謝物に代謝されるとともに、活性型の AFB1-エポキシドに変換されることが判っている。AFB1-エポキシドは、細胞内 DNA その他高分子化合物と結合し、その結合が毒性や発がん性に必須の過程であると考えられている。一方、AFB1-エポキシドは、グルタチオン S トランスフェラーゼ (GST) により AFB1-グルタチオン抱合体に変換されるとともに、酵素的または非酵素的に AFB1-ジアルデヒドを経て AFB1-ジハイドロディオールに変換され、さらにアルデヒドリダクターゼ (AR) により AFB1-ジアルコールへと変換される。AFB1-ジハイドロディオールは、細胞内たんぱく質と結合し、毒性発現に関与するものと考えられている。げっ歯類動物においては、とくに GST と AR の両酵素が AFB1 の体内解毒代謝に大きな役割を果たすものと考えられているが、家畜を含め他の動物種については不明である。本研究では、AFB1 の毒性に対して比較的感受性が高いブタにおける AFB1 の代謝に関し、in vitro の反応系を用いて解毒過程を中心に一連の研究を行なった。

第 1 章では、ブタの肝臓組織における AFB1 に対する GST と AR の各活性を、ラット、ゴールデンハムスター、ニジマス、マウスとの比較の下に明らかにするために、各動物の肝臓のサイトゾール分画を AFB1-エポキシドまたは AFB1-ジハイドロディオールと反応させ、反応生成物である AFB1-グルタチオン抱合体または AFB1-ジアルコールを定量することによって、各酵素活性を測定した。

その結果、いずれの動物種も GST 活性を持ち、ハムスター、マウス、ラット、ブタ、マスの順に高いことが認められた。この順序は、すでに報告されている AFB1 の毒性に対する感受性の低い順に合致していることから、AFB1 に対する GST 活性が、AFB1 の毒性に対する感受性の動物種差を決定する重要な因子であることが示唆された。AR 活性と AFB1 の毒性に対する感受性との間には一定の関係が認められなかった。

第 2 章では、AFB1 に対する臓器間の感受性の差異との関連における AFB1 の各臓器における代謝様式を究明するために、ブタの肝臓、腎臓、小腸、肺、脳を採取し、それら臓器のミクロゾーム分画の AFB1-DNA 付加体生成活性および AFB1 から各脂溶性代謝物

への変換活性を調べた。GST と AR の各活性も測定した。

その結果、AFB1-DNA 付加体生成活性は、AFB1 の主要な標的臓器である肝臓において他の臓器に比して生成量が顕著に高いことが認められた。AFB1 から脂溶性の代謝物への変換活性および GST と AR の各活性は、臓器間の感受性と関連が認められなかったことから、AFB1 の毒性に対する臓器間の感受性の差異は、AFB1-エポキシド生成に関わる p450 酵素活性の差異によることが判明した。

第3章では、ブタへの抗酸化剤等の化学物質の給与が、ブタ組織における AFB1 の代謝酵素の活性に及ぼす影響を究明するために、一ヶ月齢のブタに緑茶抽出物（サンフェノン）またはクマリンを含有する飼料を3週間給餌した後に、肝臓と小腸を採取し、両組織による AFB1 代謝を調べ、無処置対照ブタと比較した。その結果、クマリン給与により、肝臓と小腸における AFB1-DNA 付加体生成活性の低下、肝臓における AFB1 の AFM1 と AFQ1 への代謝変換活性の低下および AFB1 のアフラトキシコールへの代謝変換活性の上昇、小腸の AFB1 に対する GST 活性の上昇が認められた。また、サンフェノン給与も、小腸の AFB1 に対する GST 活性の上昇、肝臓における AFB1 のアフラトキシコールへの代謝変換活性の僅かな上昇を招来した。以上より、これら化学物質投与によって AFB1 の解毒代謝が亢進することが示唆された。

以上、本研究により、AFB1 の毒性に対する感受性との関連において、ブタにおける AFB1 の代謝について重要な側面が明らかにされた。よって、審査委員一同は本論文が博士（獣医学）の学位を授与するに値するものと認めた。