

論文題目 The fate and the effects on drug metabolizing enzymes of T-2 toxin
in piglets

(仔豚における T-2 トキシンの生体内運命と薬物代謝酵素に及ぼす影響の研究)

氏名 董 克蘇

T-2 トキシンはフザリウム属のカビにより産生されるカビ毒であり、収穫時の穀物を汚染することが多く、その結果、食品や飼料を含め農産物を広く汚染することが認められている。T2-トキシンは類似化学構造をもつ A 型トリコテセン化合物の中では最強の毒性を有し、家畜や人に対して免疫能低下、出血、下痢、食欲低下、皮膚炎等を招来する。とくに細胞分裂の盛んな骨髄、脾臓、胸腺等の造血組織はこの毒素に感受性が高く、第一の標的臓器となる。飼料原料である穀物の T-2 トキシンの汚染はそれ自体が動物や人の健康を障害するだけでなく、人が摂取する動物由来の食品への残留による問題も引き起こす。摂取された T-2 トキシンは肝臓で代謝されるとともに、反芻動物の第一胃を含め、消化管においても代謝されることが認められている。動物体内において見出されるそれらの代謝物の大部分は、無毒性または T2-トキシンの比して低毒性であることが認められている。以上、T-2 トキシンの動物体内代謝と毒性に関する知見は多数得られているが、ブタの体内における T-2 トキシンの代謝運命とブタの肝臓の薬物代謝酵素に及ぼす T-2 トキシンの影響についての知見は少ない。著者は、著者は、カビ毒によるブタの被害が大きいこと、また、ヒトのモデル動物としてのブタの有用性を考慮し、ブタを用いて以下の一連の研究を行った。

第一章では、1 ヶ月齢ブタにおける T-2 トキシンの体内動態を明らかにするために同毒素 (0.3mg/kg) を皮下投与し、24 および 48 時間後に、血清、尿、糞、胆汁を採取し、各試料中の同毒素とその代謝物をガスクロマトグラフ質量分析計で分析した。その結果、代謝物として、T-2 トキシンと同等の毒性を持つことが知られている HT-2 トキシンの血清、尿、糞に見出された。毒性が極めて低いことが知られている T-2Triol とネオソラニオールは、48 時間目にのみ尿と糞に認められた。胆汁中にはいずれの時間にも T-2 トキシンもその代謝物も認められなかった。

第二章では、第一章において血清中に認められた T-2 トキシンと HT-2 トキシンについて、投与後の血中濃度変化の推移を明らかにするために、1 ヶ月齢ブタに T-2 トキシン (0.3mg/kg) を皮下投与した後に、頸静脈に挿着したカニューレより経時的に投与 48 時間後まで採血し、血漿中の T-2 トキシンと HT-2 トキシンを液体クロマトグラフ質量分析計で分析した。その結果、血漿中 T-2 トキシン濃度の最高値は投与 30 分後に、HT-2 トキシン濃度の最高値は 90 分後に、それぞれ認められ、その後 24 時間以内に両毒素とも速やかに

減少するが、その減少は HT-2 トキシンの方が T-2 トキシンのよりも遅れることが見出された。

以上、第一章と第二章の結果から、仔豚における T-2 トキシンの体内運命の重要な側面を明らかにすることができた。すなわちこれまでの知見と合わせ、本研究の結果より、T-2 トキシンは速やかに投与部位から吸収され、肝臓において HT-2 トキシンの代謝されること、両毒素は一部、24 時間以内に胆汁を介して、または血液循環より直接に、腸管腔内に排泄され、腸管腔内で低毒性代謝物であるネオソラニオール等に代謝変換され、一部は再吸収されてから尿中に、残余は糞中に排泄されることが明らかにされた。

第三章では、T-2 トキシンの肝薬物代謝機能に及ぼす影響を究明するために、ブタ（1-1.5 ヶ月齢）に T-2 トキシンの（0.3mg/kg）を皮下投与し、24 および 48 時間後に肝臓を摘出し、マイクロゾームとサイトゾール画分を得た。マイクロゾーム画分については、3-cyano-7-ethoxycoumarin、7-methoxy-4-trifluoromethylcoumarin、dibenzylfluorescein 等を基質としてチトクローム P450 (CYP) 活性を、サイトゾール画分については、cumene hydroperoxide 等を基質としてグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) 活性を、それぞれ *in vitro* 試験系を用いて測定した。その結果、CYP1A2 と CYP2E1 活性は 24 および 48 時間後に若干増加すること、CYP3A4 活性は 24 時間後に増加し、48 時間後に減少することが認められた。また、GST 活性については cumene hydroperoxide に対する活性が 24 時間後に増加し、48 時間後に減少することが見出された。また、各酵素たんぱく質の発現をウェスタンブロット法により測定した結果、CYP1A2、CYP2E1、CYP3A4、GST α 、GSTM1-1 は 24 時間後に増加すること、CYP2E1 は 48 時間後にも増加することが認められた。代謝運命の結果とあわせ以上の結果から、T-2 トキシンはブタにおいて、解毒代謝される前の投与 24 時間以内に肝薬物代謝機能に顕著な影響を招来すること、これにより種々の化学物質の生体影響を修飾するであろうことが示唆された。

以上、本研究により、仔豚における T-2 トキシンの生体内運命および肝薬物代謝機能に及ぼす影響について今まで不明であった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）の学位を授与するのに値するものと認めた。