

博士学位論文

学位論文内容の要旨および審査結果の要旨

氏 名 家子 貴裕

学位の種類 博士（獣医学）

学位授与の条件 酪農学園大学学位規程第3条第3項に該当

学位論文の題目 内因性および外因性化学物質の抱合代謝産物の生体内運命とその役割

審査委員

主査 教授 岩野 英知（獣医生化学）

副査 教授 翁長 武紀（獣医栄養生理学）

副査 教授 寺岡 宏樹（獣医薬理学）

学位論文要旨

内因性および外因性化学物質の抱合代謝産物の生体内運命とその役割

酪農学園大学大学院獣医学研究科

獣医学専攻博士課程

獣医生化学 家子 貴裕

薬物代謝とは、薬物代謝酵素によって生体内で不要になった化学物質である内因性化学物質や、薬および毒物などの外因性化学物質を分解・解毒し、生体外へと排出するための代謝反応である。薬物代謝の第 2 相反応である抱合反応は、内因性および外因性化学物質を生体外へと排泄する上で、非常に重要な役割を担っている。しかし、近年ステロイドなどの内因性化学物質の抱合体が、体外へと排泄するためだけでなく、各種臓器へと輸送され、局所的に利用されることが明らかとなってきた。このことから、内因性化学物質と同様の薬物代謝機構によって本来排除されるはずの外因性化学物質の抱合体が、排泄されずに局所器官へと運搬される可能性が危惧される。そこで、本研究では内因性化学物質として唾液腺におけるステロイド、一方、外因性化学物質としてカビ毒ゼアラレノン (ZON) に注目して、内因性および外因性化学物質の抱合体の運命とその役割について検討した。

第□章では、ラット唾液腺ホモジネートを用いて、唾液腺におけるステロイド合成の可能性を明らかにした。唾液腺ホモジネートを用いたステロイド合成酵素の活性試験より、唾液腺においてプレグネノロンからコルチコステロン、およびアンドロステジオンからテストステロンまでを合成する酵素活性が確認された。また、コルチコステロンの合成酵素の発現も認められた。さらに、プレグネノロン硫酸抱合体をプレグネノロンに脱抱合する酵素の活性と発現があることを示した。以上の結果から、唾液腺ではプレグネノロン硫酸抱合体を利用して局所的なステロイド合成ができることが明らかになった。

第 章では、ラット反転腸管を用いて、ZON の腸管における代謝動態を明らかにした。腸管で吸収された ZON は、その大半が腸管でグルクロン酸抱合を受け、ゼアラレノングルクロン酸抱合体 (ZON-GA) および α -ゼアラレノールグルクロン酸抱合体 (α -ZOL-GA) となることが示された。ZON-GA および α -ZOL-GA は、近位腸管では主に粘膜側へと排泄されるが、遠位腸管では半分以上が漿膜側へと輸送された。以上の結果から、ZON 抱合体は腸管に

において血液側へと吸収される可能性があることが明らかとなった。

第 章では、ラット肝臓灌流試験により、ZON の肝臓における代謝動態を明らかにした。肝臓へ流入した ZON は、肝臓で主に ZON-GA あるいは α -ZOL-GA と代謝されることが示された。ZON-GA および α -ZOL-GA は、雌雄ラットでは主に胆汁中へと排泄されたが、妊娠ラットでは静脈側へと排泄されやすいことが明らかとなった。以上の結果より、肝臓で抱合された ZON 並びに ZOL は、血中へと放出された後に、血流を介して標的器官へ輸送される可能性が示唆された。

本研究より、唾液腺において、プレグネノロン硫酸抱合体を基質としたステロイド局所合成の可能性を世界で初めて明らかにした。また、経口暴露された ZON は腸管および肝臓でそのほとんどがグルクロン酸抱合代謝を受けるが、一部の ZON 抱合体が血中へと放出され、血液と共に全身循環することで、標的器官へと輸送される可能性があることを明らかにした。内因性および外因性化学物質の抱合体が、標的となる局所組織への化学物質の運搬の役割を担っている可能性を見出した点は、内分泌および毒性学の分野に大きく貢献できると考えられる。

論文審査の要旨および結果

1 論文審査の要旨および結果

論文の概要について

生体には、低分子化学物質を代謝するシステムとして2相からなる薬物代謝システムが存在している。その第I相は、加水分解や酸化還元反応を行う酵素群であり、また第II相は、グルクロン酸抱合、硫酸抱合、グルタチオン抱合などの抱合反応であり、化学物質の水溶性を高めて排泄されやすくする酵素群よりなる。このような薬物代謝システムは、生体内で不要となった内因性の化学物質や、外部環境から進入してくる外因性化学物質のどちらに対しても代謝できる多様性を持つことは知られてきたが、特に第II相の抱合反応の種類による役割の違いに言及した報告は少ない。本研究では、内因性化学物質であるステロイドの抱合体の局所臓器における利用とその役割について検討し、また、外因性化学物質であり、エストロゲン活性をもつカビ毒のゼアラレノン(ZON)の生体内代謝動態についても検討し、両者を比較することで抱合体反応の違い、そしてその意義を考察する目的で研究を行った。その結果、ステロイドの硫酸抱合体は、ステロイド前駆体の輸送フォームとして機能し、局所におけるステロイド合成に役立っていることを示す結果を得た。一方でZONは、腸管、肝臓で効率的にグルクロン酸抱合を受け、生体外へ排泄されることが明らかとなった。これらの結果から薬物代謝システムの第II相の抱合反応は、それぞれに役割を持っており、代謝後の運命が異なることが明らかとなった。

研究の背景と目的

我々の体内、また生体外環境には、多くの低分子化学物質があふれている。生体内の化学物質は、細胞内、また空間的に遠く離れた細胞同士のシグナル分子として働き、体内で恒常性の維持に役立っている。この生体内の化学物質は、恒常性維持のために規律を持って分泌され、そしてある一定の役目を終えると代謝を受け排泄されるよう調節されている。この調節の1つを担っているのが薬物代謝酵素である。また、生体外環境由来の化学物質については、天然のものや、薬物、毒物といった化学物質もあり、我々は日頃より外界からの多くの化学物質にもさらされている。このような外界から進入する化学物質に対して防御的に働くのも前述の薬物代謝酵素である。これまで特に第II相の抱合代謝は、化学物質の排泄が主目的だと考えられてきたが、近年の報告では、内因性のステロイドの硫酸抱合は、体外排泄というよりは、血中を介したステロイドの移送のための抱合反応ということが報告されている。また、その他外因性化学物質は、グルクロン酸抱合反応を受けることが多く、その後、生体外へ排泄されることが知られている。

研究の成果

第 章では、ラット唾液腺のホモジネートを用いたステロイド合成に関する酵素の活性と発現を調査することで、唾液腺における局所的なステロイド合成能を検討した。その結果、唾液腺はプレグネロンからコルチコステロン、およびアンドロステンジオンからテストステロンを生

合成する能力を有することが明らかとなった。唾液腺では脱硫酸抱合酵素の活性と発現が示された。以上のことから、唾液腺は一部のステロイドホルモン合成能を有し、その基質は血中を介して唾液腺へと輸送されるプレグネノロン硫酸抱合体である可能性が示唆された。

第 3 章では、ラット反転腸管モデルを用いて、腸管内における ZON の代謝動態を解明した。ZON が近位腸管内で不活性代謝物である ZON-GA あるいは -ZOL-GA (-ゼアラレノールグルクロン酸抱合体) に代謝され、その後腸管腔に排出されることを明らかにした。これは、腸管が ZON の吸収に対して重要な防御的役割を果たしていることを裏付ける。しかし、ZON-GA および -ZOL-GA は主に遠位腸管である結腸で漿膜側へと輸送され血中に吸収されることで、局所標的臓器へ運搬される可能性が示唆された。

第 4 章では、ラット肝臓灌流試験を用いて、肝臓における ZON の代謝動態を解明した。肝臓に流入した ZON は、肝臓内で不活性代謝物である ZON-GA あるいは -ZOL-GA に代謝され、その後胆汁中あるいは静脈側へと排出されることが明らかになった。これは、肝臓が ZON に対して、そのほとんどをグルクロン酸抱合することで重要な防御的役割を果たしていることを裏付ける。しかし、妊娠雌ラットにおいては、静脈側へのグルクロン酸抱合体の排出が多かったことから、大量の ZON-GA および -ZOL-GA が全身循環する可能性が示され、そのことは、それら抱合体が胎盤に吸収され、その後脱抱合され再活性化することが示唆されると同時に、エストロゲン作用を発揮する化学物質として胎児に移行する危険性が示唆された。

研究の評価

本研究では、古くから研究されてきた薬物代謝機構について、特に、抱合体の役割と運命について解析し、検討した。これまでは薬物の排泄のための最終形態と考えられてきた薬物抱合体について、抱合体の種類によって、その後の動態や機能的役割が異なるということが示唆された。化学物質の生体影響、毒性発揮において、薬物の代謝動態の詳細なメカニズムを検討することがあらためて必要であることが本研究により示されることとなった。これらの結果は基礎研究的な価値が高く、さらに臨床薬理・毒性学的にも示唆に富む研究結果である。今後は、各種抱合体の薬物動態学的な詳細な比較検討により、薬物抱合反応の本来的な役割の理解に繋がることが期待される。

学位論文の一部を公表した論文

< 学位論文の内容を公表した論文 >

1. Analysis of Corticosterone and Testosterone Synthesis in Rat Salivary Gland Homogenates. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Jul 17;10:479.
Ieko T, Sasaki H, Maeda N, Fujiki J, Iwano H, Yokota H.
Impact Factor 3.634
2. Glucuronidation as a metabolic barrier against zearalenone in rat everted intestine. *J. Vet. Med. Sci.* 2019 Dec 16. (In press)
Ieko T, Inoue S, Inomata Y, Inoue H, Fujiki J, and Iwano H.
Impact Factor 0.910

参考論文

<その他の自身が共著者である論文>

3. Rapid prolactin induction in adult male rats after treatment with diethylstilbestrol. J Neuroendocrinol. 2019 Oct;31(10):e12769.
Maeda N, Okumura K, Yamaguchi K, Haeno S, Yasui Y, Kimura N, **Ieko T**, Miyasho T, Yokota H.
Impact Factor 3.040

受賞

1. **最優秀発表賞（学生発表部門）** 「ラット肝灌流によるビスフェノール類の代謝動態」
平成 29 年度内外環境応答・代謝酵素研究会 (2017 年 9 月 9, 10 日 福岡、九州大学)
2. **優秀発表賞** 「ラットにおけるビスフェノール類の代謝動態の解明」
第 20 回環境ホルモン学会研究発表会 (2017 年 12 月 11, 12 日 神戸、神戸大学)

以上のことから、家子 貴裕 氏は博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有すると審査員一同は認めた。

2 最終試験の結果

審査委員 3 名が最終試験を行った結果、合格と認める。

2020年 2月10日

審査委員

主査 教授 岩野 英知
副査 教授 翁長 武紀
副査 教授 寺岡 宏樹