HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Characterization and interspecies diversity of xenobiotic metabolism : a study of phase I oxidation and phase II conjugation reactions [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Saengtienchai, Aksorn
Citation	北海道大学. 博士(獣医学) 甲第11070号
Issue Date	2013-09-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/53828
Rights(URL)	http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Aksorn_Saengtienchai_review.pdf (「審査の要旨」)

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：アクソルン　サエンティエンチャイ

審査委員	主査　教授	石塚　真由美
	副査　教授	伊藤　茂男
	副査　講師	池中　良徳
	副査　准教授	Amnart Poapolathep（カセサート大学）

学位論文題名

Characterization and interspecies diversity of xenobiotic metabolism: a study of phase I oxidation and phase II conjugation reactions

（異物代謝酵素の酵素学的特徴と多様性: 第 I 相反応と第 II 相抱合反応）

化学物質の毒性には動物種差が存在することが報告されており、実験動物以外の野生動物や家畜等における化学物質のリスク評価を難しくしている。化学物質の感受性を決定する重要な因子として薬物代謝の第 I 相反応と第 II 相反応が挙げられる。しかし、実験動物以外の第 I 相反応と第 II 相反応の酵素学的特徴については殆ど報告されていない。本研究では warfarin と pyrene をモデル化合物として、第 I 相反応で重要なシトクロム P450、第 II 相反応で重要なグルクロン酸抱合酵素および硫酸抱合酵素に関して、そのスクリーニング方法の確立と動物種差の同定を行うことを目的とした。

第 I 章では、鳥類で二次的被害が報告されている殺鼠剤 warfarin の代謝について動物種差を明らかにした。第 I 相反応では、warfarin は肝臓で水酸化体（4 位、6 位、7 位、8 位、10 位）とアルコール体に代謝変換されるが、その活性に鳥類であるニワトリと実験動物のラットで大きな種差が認められ、ニワトリはミクロソームおよびサイトソルともに warfarin の代謝活性が高いことが明らかとなった。サイトソル画分では warfarin の代謝活性はニワトリはラットの 32 倍であった。

第 II 章では第 II 相反応の動物種差に着目した。まず多環芳香族の pyrene を用いて、水酸化 pyrene の抱合体を尿から検出する方法を確立した。Wistar ラットに pyrene を投与した結果、複数の抱合体が検出された。硫酸抱合体として、pyrenediol-disulfate、pyrenediol-sulfate、pyrene-1-sulfate、グルクロン酸抱合体として pyrene-1-glucuronide が検出された。次に、尿中の pyrene 代謝産物の生成および濃縮法を確立するため、Oasis WAX を用いた固相抽出を行った。3 種の溶出溶媒を用いた結果、1st fraction に OH-pyrene が、2nd fraction にグルクロン

酸抱合体が、3rd fraction には硫酸抱合体が溶出された。本方法の回収率は 90%以上であり、良好であった。

pyrene をモデル化合物としたスクリーニング方法を確立したため、次に様々な哺乳類の尿を採集し、グルクロン酸抱合体と硫酸抱合体の比について明らかにした。ウシ、シカ、ヒト、ウマではグルクロン酸抱合体が主代謝産物として検出され、フェレット、タヌキ、ラット、モルモットでは硫酸抱合体が主代謝産物として検出された。

一方、硫酸抱合活性を欠損するとされるブタでも硫酸抱合体が尿から検出されたため、ブタの肝臓を用いて kinetic parameter を算出したところ、ブタはラットに比較して Vmax、Km ともに低い値を示した。酵素効率を示す Vmax/Km はブタではラットよりも高い値を示すことが明らかとなった。その一方、SULT1A1 の mRNA 発現レベルはブタで顕著に低く、ブタの硫酸抱合酵素は基質への親和性は高いが、発現量が低いことが明らかとなった。さらにブタでは硫酸抱合の補酵素である活性硫酸（PAPS）の肝臓における含有量も低く、これらのことから酵素自体の基質親和性は高いが、ブタでは pyrene に対する実際の代謝活性が低い原因となっていることが明らかとなった。

本研究は、これまで明らかにされてこなかった非実験動物における第Ⅰ相反応および第 II 相反応の動物種差を明らかにするものであり、化学物質の感受性の動物種差の解明に大きく寄与するものと考えられる。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者アクソルン・サエンティエンチャイの学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。