HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	化学物質に対する生体防御機構としての鳥類の異物代謝酵素シトクロムP450［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	渡邉, 研右
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第11288号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56311
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Kensuke_Watanabe_review.pdf, 審査の要旨

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：渡邉研右

審査委員	主査　教授	石塚真由美
	副査　教授	坪田敏男
	副査　准教授	乙黒兼一
	副査　准教授	池中良徳
	副査　教授	岩田久人（愛媛大学）

学位論文題名
化学物質に対する生体防御機構としての
鳥類の異物代謝酵素シトクロムP450

DDTやワルファリンなどの農薬をはじめとする化学物質により様々な鳥類種で被害が起こり、時には鳥類の生態系を脅かしてきた。現在でも鳥類における化学物質の影響評価や、その種差に関する予測は未だに正確になされていない。この原因の一つとして、毒性学的研究ではGalloanseraeに属するニワトリなど家禽種が用いられてきたことがある。鳥類はPaleognathae-Neognathaeの2群に分類され、Neognathaeはさらに Galloanserae-Neoavesに分類される。鳥類の95%以上はNeoavesに属し、Galloanseraeはわずか500種程度しか含まない。つまり、Galloanserae種に関する毒性試験が中心的に行われてきており、実際に被害が生じるNeoaves種に関してはほとんど知見が蓄積されていない。

そこで渡邉研右氏は外来化学物質全般の代謝を担い、化学物質感受性決定要因として重要なシトクロムP450 (CYP)に着目した。哺乳類ではCYP 1-3ファミリー分子種が異物代謝を担っており、哺乳類種間での化学物質感受性の種差の原因になっていることが知られている。一方、鳥類でもCYPが化学物質感受性に影響し、種差をもたらしていることが予想されるが、鳥類のCYPに関しては知見が十分に蓄積されていない。渡邉氏は、鳥類のCYPによる異物代謝機構とその種差を明らかにし、さらに、鳥類種間での化学物質感受性の種差について、異物代謝能という観点から *in vitro* で評価することが可能か検討することを目的として研究を実施した。

まず、渡邉氏は、ニワトリ(Galloanserae)、シチメンチョウ(Galloanserae)、キンカチョウ(Neoaves)という鳥類3種の公開ゲノム情報を用いて網羅的にCYP 1-3遺伝子の同定と分類を行った。その結果、鳥類も哺乳類のCYP 1-3遺伝子とほぼ相同な遺伝子を持ち、サブファミリーレベルでの遺伝子欠損はなかったが、CYP2JやCYP2AB、CYP2ACなど哺乳類でほとんど注目されてこなかった分子種が複数存在し、かつ、それらが鳥類種間で明確に保存されていることが明らかになった。

また、哺乳類ではタンパク質発現量の多い分子種ほど異物代謝への寄与が大きく、タンパク質発現量は mRNA と相関することが知られている。そこでニワトリの異物代謝上重要な分子種を同定するために、ニワトリ肝臓での mRNA 発現量を CYP 分子種間で比較した。その結果、ニワトリ肝臓では CYP2C45 が最も多く発現しており、CYP1A5、CYP2D49、CYP2C23a、CYP3A37 がこれに続いた。

次に渡邉氏は、肝臓ミクロソームや発現 CYP2Cs を用いて、CYP 依存性ワルファリン代謝活性と、ワルファリンによるビタミン K エポキシド還元酵素阻害について種間比較を行ったところ、感受性の低いニワトリではワルファリン代謝活性が高く(ラットの 5 倍程度)、被害が多く報告されるフクロウ目ではワルファリン代謝活性がニワトリの 2%程度しかないことが明らかになった。これらは、ニワトリで感受性が低い一方で、猛禽類など他の鳥類では被害が起こっている現状を説明する結果だった。

本研究により、鳥類の異物代謝 CYP の遺伝子構成とその種差に関する基盤的知見が得られた。また、ワルファリンをモデル化合物として CYP 代謝を比較した場合、鳥類種間で異物代謝能に数十倍といった種差がありうることを実証した。代謝能の種差は個体としての化学物質感受性の種差の原因となりうる。野生鳥類種では *in vivo* アッセイが困難であることから、今回用いたような *in vitro* アッセイ系が鳥類種内での化学物質リスクの相対的評価に有用であると考えられた。

よって，審査委員一同は，上記学位論文提出者渡邉研右氏の学位論文は，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。