



Title	Studies on xenobiotic metabolism as a defense system in Carnivora [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	近藤, 充希
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第15242号
Issue Date	2022-12-26
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/88094">https://hdl.handle.net/2115/88094</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Mitsuki_Kondo_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨  
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名： 近藤 充希

Name

学位論文題名  
The title of the doctoral dissertation

Studies on xenobiotic metabolism as a defense system in Carnivora

（食肉目動物における生体防御機構としての  
異物代謝に関する研究）

**第1章：序論**

農薬、残留性有機汚染物質、医薬品などを含む化学物質は時に環境汚染物質として環境中に放出され、野生動物の個体、および生態系に対して継続的な影響を与えている。化学物質代謝酵素はそれら環境化学物質の化学的性質を変化させ、「解毒」する酵素として知られており、第 I 相反応から第 III 相反応に大別される。第 I 相反応は酸化、還元、加水分解などの反応で、第 II 相反応は抱合反応、第 III 相反応は代謝後の細胞外排出反応である。これら反応を通し化学物質は多くの場合毒性が弱い形に変換され、体外へ排泄されやすくなる。これら代謝酵素群が関与する化学物質代謝能は動物種差が大きいため化学物質の感受性を動物種間で大きく左右する大きな要因である。そのため、環境汚染物質に継続的に暴露されている野生哺乳類において化学物質代謝酵素の評価は急務となる。

哺乳類の中における「食肉目」動物はネコ科、イヌ科、クマ科、イタチ科、アザラシ科などを含むグループである。これらは生態系の高次に位置し、残留性の高い環境汚染物質の生物学的濃縮の影響を受けやすい。さらに、アンブレラ種として、生態系の保全の鍵となる種群であり、環境汚染物質に対する影響評価が重要な種である。そこで本研究では、これら食肉目動物における、化学物質代謝酵素の性状を、*in vitro* 解析と *in silico* 解析の双方を用いて、進化的、遺伝的、酵素的な側面から包括的に解明を試みた。

**第2章：Cytochrome P450 1-3 ファミリーの動物種特異的な重複と欠損**

本章では Cytochrome P450 (CYP) に関する解析を詳細に述べている。CYP は第 I 相反応に関わる化学物質代謝酵素であり、最も重要な化学物質代謝酵素として医薬品を含む外因性物質や、ステロイド、脂肪酸、コレステロールなどの内因性物質など多岐にわたる化学物質代謝に関与している。特にその中でも 1-3 ファミリーが主な外因性物質代謝に関与している分子種群といわれている。

る。これら CYP をコードしている遺伝子は特徴的な重複と欠損を繰り返してその遺伝子の多様性を増やしており、進化の観点から動物種間の化学物質代謝を比較するうえで、この遺伝子重複・欠損は必須な情報である。そこで本章ではゲノムデータベースにおける食肉目動物の CYP1-3 の遺伝子情報を網羅的に比較、解析することで進化的な背景を明らかにした。

その結果、雑食性の動物であるクマ（ヒグマ、アメリカクロクマ）、アナグマ、イヌにおいて異物代謝に重要なサブファミリーである CYP2C と 3A において特徴的な遺伝子重複が確認され、これは恒常的に暴露される植物二次代謝産物に対応するために遺伝的に進化してきた可能性が示唆された。また、系統樹解析を行った結果 CYP2C は食肉目種では CYP2C21, 2C41, 2C23 のグループに分けられることが明らかとなった。さらに 3A ではネコ亜目とイヌ亜目では全く異なった遺伝子進化を遂げていることが明らかとなった。これらの結果から、同じ食肉目内でも CYP 分子種の進化に大きな差があり、これらの進化的背景の情報は、より適切な野生動物での化学物質代謝の推定に必須であると考えられる。

### 第3章：グルクロン酸転移酵素の遺伝的重複および欠損

本章では第1章では評価していない第II相反応にかかわる酵素のうち、主要な解毒酵素であるグルクロン酸転移酵素（UGT）に着目した。第1章でも明らかになったように食肉目でも解毒酵素には大きな種差があり、特に食性との関連が先行研究から示唆されている。UGT は第II相反応として CYP などの酸化、水酸化反応の後にグルクロン酸を化学物質に付加する反応であるが、CYP の代謝の後に、多くの化学物質が代謝的活性化を示すため「解毒」の意味では特に重要となる。UGT は 1A,2A,2B サブファミリーに大別され、特に 1A と 2B が肝臓で高発現し、異物代謝に関与しているといわれている。特に食肉目では先行研究よりネコ科動物、鯨類において一分子種である UGT1A6 の遺伝的な欠損、および *in vitro* における活性低下が明らかとなっている。そのため、これらに近い食肉目動物での遺伝的な種網羅的な比較評価はより正確な野生食肉目での UGT の性状解析につながる。本章では第1章同様に、データベースを用いた UGT 遺伝子の網羅的解析を行った。

その結果イヌ科、ヒグマ、アメリカクロクマにおいて UGT1A の遺伝的拡大（遺伝子数の増加）が確認された。同様に UGT2B ファミリーにおいてもイヌ科とヒグマ、アメリカクロクマでは遺伝的拡大が確認され、一部のイタチ科でも同様の可能性が示唆された。さらに UGT1A7-12 分子種群において鯨類、ネコ科、一部のイタチ科では完全な欠損、または遺伝的縮小が確認された。この結果より一部 CYP と同様の動物で UGT も遺伝的に拡張していることが明らかとなり、これらクマ科、イヌ科の動物では化学物質に対しての強い代謝能が示唆された。一方、ネコ科や鯨類などでは先行研究で報告されていた UGT1A6 の欠損以外にもより広範にわたる遺伝子の縮小が明らかとなり、化学物質に対する弱い代謝能が示唆される結果となる。

### 第4章：硫酸転移酵素の遺伝的、および酵素学的な性状の特徴

本章では第3章で評価した UGT と同様に第二相反応に重要な硫酸転移酵素 (SULT) に着目した。SULT は UGT と基質特異性を共有することが多く、より包括的な化学物質代謝の評価には UGT 同様に重要である。UGT と同様に種々の外因性物質代謝に関与すると同時に、ステロイドホルモン、ドパミンなどの神経伝達物質、甲状腺ホルモンなどの内因性物質代謝に重要な酵素である。そこで本章では前章同様の遺伝的解析を行うと同時に、野生動物の肝臓を用いた *In vitro* 解析により酵素学的な評価を行った。

その結果、遺伝的解析により **SULT1E1** といわれるエストロン代謝に重要な分子種、および **SULT1D1** 分子種が鰭脚類では遺伝的に欠損していることが明らかとなった。さらに *in vitro* 解析にて **SULT1E1** が主に代謝するエストラジオールを用いた代謝活性試験を行い、その結果 **SULT1E1** の活性が鰭脚類では著しく低いことが示唆された。この結果から鰭脚類ではエストロゲンや種々の医薬品、環境汚染物質に対して硫酸抱合能が弱い可能性が示唆された。また、**SULT1E1** は内因性物質代謝にも大きく関与しているため、食肉目動物間でもエストロゲン代謝に対する種差が大きい可能性が示唆された。

## 第5章 総括

本研究より食肉目動物で「解毒」に重要な化学物質代謝酵素における包括的な性状を明らかにした。その結果、進化的に近い食肉目内でも非常に多岐にわたる化学物質代謝酵素の進化を経ていることが明らかとなった。特にヒグマやアメリカクロクマ、アナグマでの **CYP** の特徴的重複、ヒグマ、クロクマ、イヌ科での **UGT** の遺伝的拡張、**UGT** の鰭脚類、ネコ科における遺伝的収縮、更には **SULT1E1** の鰭脚類での欠損などが明らかとなった。本研究での知見は、化学物質代謝酵素の性状をより正確に評価することを可能とし、実験動物で得られた化学物質代謝酵素の知見を的確に外挿することへの一助となる。さらに、化学物質に対する生体防御機構として重要なこれら酵素を評価することで環境化学物質に対して感受性の高い動物を推定する上でも重要な研究であったと考えている。