マイコトキシンの代謝

上 野 芳 夫*¹

Y. UENO*¹: Metabolism of mycotoxins

マイコトキシンは、生体にさまざまな障害をもたらすが、その際、(1)体内移行の動態や体外排泄への経路、(2)体内にとりこまれてからの代謝様式と代謝産物の生物活性、さらに(3)臓器親和性や細胞局在性の有無などは障害発現の機構と毒作用の特長を理解するのに有力な情報を与える。

本文においては、過去数年間にわたり当研究室、並びに関連研究室で行なわれたマイコトキシンの代謝に関する知見に諸外国の成果を交えて、マイコトキシンの代謝を要約したい。

1. 吸収・排泄と臓器内分布

Penicillium マイコトキシン (luteoskyrin, rugulosin, chlorine-containing peptide, citreoviridin), *Aspergillus* マイコトキシン (aflatoxin B₁, sterigmatocystin), *Fusarium* マイコトキシン (T-2 toxin, fusarenon-X, zearalenone) について吸収・排泄の相対速度と排泄物を Table 1 に示す。

標識 luteoskyrin や rugulosin を経口または皮下投与すると、体内への吸収はゆるやかに行なわれ、吸収率も悪い。Sterigmatocystin では、投与化合物の大半はそのままの形で糞へ排泄される。ただし、これらの吸収率の低さや速度の遅さは、投与量や投与回数によって異り、一般に投与量が少い程回収率は悪く、分割して投与した方が一回大量投与に比して、吸収率が高まり、従って毒性

Table 1. Absorption and excretion of mycotoxins

Mycotoxins	Animals	Routes	Absorption	Excretion			Ref.
					feces	urine	
luteoskyrin	mice	p.o.; s.c.	slow	slow	luteo. (19%)	luteo. (1%)	1)
rugulosin	mice	p.o.	slow	slow	rugul.		2)
Cl-peptide	mice	p.o.; s.c.	rapid	rapid	peptide (70%)		3)
citreoviridin	rats	s.c.	rapid	rapid	citreo. (4.4%)	citreo. (0%)	4)
aflatoxin B ₁	monkey	i.p.	rapid	rapid		P ₁ (22%) M ₁ (2.3%)	5)
sterigmatocystin	rats	p.o.	slow	slow	sterigma. (55%)	st. (0.3%)	6)
T-2 toxin	rats	p.o.	rapid	rapid	HT-2 toxin (7.5%)	HT-2 toxin (2%)	7)
fusarenon-X	mice	s.c.	rapid	rapid		nivalenol (25%)	8)
zearalenone	rats	p.o.	rapid	rapid	Z (56%) ZM-1 (6%)	Z-glu; ZM-II	9)

*¹ 東京理科大学薬学部 (東京都新宿区市谷船河原町12)

Tokyo University of Science (12 Funakawara-machi, Ichigaya, Shinjuku-ku, Tokyo 162)

Table 2. Selective accumulation of hepatotoxic mycotoxins into liver

Mycotoxins	Toxicity	Accumulation into liver (% of dose)		Ref.
luteoskyrin	hepatotoxic	0.6 (p.o.)	16 (i.v.)	10)
rugulosin	hepatotoxic	11 (s.c.)		2)
peptide	hepatotoxic	25-30 (s.c.)		3)
sterigmatocystin	hepatotoxic	0.04 (p.o.)		6)

も増加する。このことは吸収率の悪さや低毒性がそのまま慢性毒性の弱さにつながらないことを表わす。なお O-acetylsterigmatocystin は sterigmatocystin より毒性・発ガン性が強いが、これはアチル化によって吸収が増加することからも裏付けされている（山崎私信）。

他のマイコトキシンの吸収・排泄は比較的すみやかに行なわれる。T-2 toxin や fusarenon-X ではその脱アセチル体である HT-2 toxin や nivalenol が検出され、aflatoxin B₁ や zearalenone では水酸化体が得られる。

次にマイコトキシンの体内分布から臓器特異性を調べると、最も著明な結果は Table 2 に示したように、肝障害性マイコトキシンでは全て、肝臓に最も多く分布することである。投与後の時間経過において最も多くの分布を示した時間での存在量を全投与量との比であらわすと、peptide は投与量の25～30%が肝に集まる。また、比較的吸収の悪い sterigmatocystin でも、肝が最も多く分布している。一方、trichothecene (T-2 toxin と fusarenon-X), zearalenone や citreoviridin は、特定の臓器に多いということはない。このことは、全ての異物は肝に集り、そして代謝されて排泄されるとしても、肝障害性化合物は何らかの過程で肝の組織成分と特異的な親和性を示す。この肝親和性の由来については、化学的に不明なことが多い。P. islandicum の luteoskyrin に関していえば、肝のミトコンドリア分画に局在性を示し、この局在性は雌性より雄性マウスに著しく、毒性や病理変化の強弱と平行している¹⁰⁾。このことは、脂溶性の luteoskyrin が何らかの機構で肝ミトコンドリアに集約し、構成因子と特異的に結合して毒性を発現すると理解される。

2. 代謝産物と代謝系路

キノン系マイコトキシンである luteoskyrin や rugulosin の場合、排泄物や肝からは投与したマイコトキシン以外には、代謝産物が著明には検出されていない¹¹⁾。さらに、前者の場合には、ミトコンドリア以外に核分画からも luteoskyrin そのものが検出されており¹²⁾、代謝を受けずに毒作用を示すと思われる。

Sterigmatocystin については、サルにおいて aflatoxin B₁ とは異り脱メチル化を受けることなくグルクロナイド抱合体として尿に排泄されるが¹³⁾、それ以外の代謝は不明である。

Aflatoxin B₁ については、Fig. 1 にまとめたように、水酸化体 (M₁, Q₁, H₁)^{14),15)}、還元体 (aflatoxicol)¹⁶⁾、脱メチル化体 (P₁) とその抱合体 (glucuronide と硫酸エステル)⁵⁾、オキサイド¹⁷⁾ とその GSH-抱合体が明らかにされ、それぞれ反応にあずかる酵素と補酵素が判明してきた。なお、サルにおいては、投与法によって生成物の割合が異り、経口投与では、M₁(22%), P₁(5%), Q₁(2%) であり、腹腔内投与では、M₁(2.3%), P₁(22%), Q₁(0) である。さらに、サルの肝マイクロソームを用いた *in vitro* 系においては生成物の55%を Q₁ が占め、M₁ は5%にすぎない。これは *in vitro* における成果がそのまま *in vivo* の反応へ平行するものではない可能性を示す。

Fusarium 及びのマイコトキシンである、T-2 toxin や fusarenon-X については、マウスやラットに投与した場合、4位の脱アセチル化体を得ているが⁷⁾、*in vitro* の追試によっても、それらは肝マイクロソームのエステラーゼにより、たやすく4位の脱アセチル化が起ることが判明した¹⁸⁾。Zearalenone は肝可溶性分画の reductase によって NADH・NADPH の存在化、水酸化されると推定される⁹⁾。

この分野で話題を供しているのは、やはり aflatoxin B₁ であって、Fig. 2 には Patterson¹⁹⁾ の

Fig. 2. Schematic representation of the fate and toxicological feature of aflatoxin B₁ in a liver cell (Patterson's model (19) modified by Ueno)

モデルに Fig. 1 の成果をふまえて修正した著者のモデルを示す。すなわち、肝細胞に入った B₁ は上清酵素により、aflatoxicol となるがこの反応は平衡状態にあって一種の B₁ プールを形成している。小胞体（マイクロソーム）上の NADPH 依存オキシゲナーゼにより M₁, P₁, Q₁ となって排泄されるが、同酵素系で生成した 2,3-oxide は反応性に富み、DNA のグアニンと反応して変異原性や発ガン性の性状をおびる。一方、同オキサイドはマイクロソーム上の epoxide hydrase により、水解されるが、B_{2a} はフェノラートイオンとして蛋白質のアミノ基とシッフ塩基を形成して細胞毒性をあらわす。Aflatoxin B₁ ならびにその生成物の相対毒性は、アヒルヒナ致死毒性で B₁=M₁>G₁>B₂>M₂>B_{2a} であり、サルモネラ菌への変異性で B₁>aflatoxicol>M₁>G₁>H₁>Q₁ である。

Trichothecene 化合物は、マウスやラットにおいては 4 位の脱アセチル化が起ることにより、水溶性になることが判明したが、本反応がより高等な哺乳動物や鳥類でも進行するか否かは不明である。いづれにせよ、脱アセチル化体の毒性はもとの化合物と大きな差はない。

6 位が水酸化した zearalenone では、エストロゲン作用が強まり、また、*Bacillus subtilis* を用いた検定で、DNA をアタックする作用が強まる²⁰⁾。それゆえ、aflatoxin B₁ や zearalenone のようなマイコトキシンでは代謝によって、より作用の強い化合物へ転換する。すなわち、活性化される。また trichothecene には水酸基の数やそのアセチル化によって多数の構造類似体が存在しているが、それらの構造相関性を考えると、体内での代謝様式と代謝物の物性を十分に理解せねばならない。

4. 代謝からみたマイコトキシンの遅発効果

前述したように aflatoxin B₁ の水酸化体である M₁ は、B₁ と匹敵する毒性・発がん性を有しており²¹⁾、本代謝産物の加工食品への残留は、大きな問題をひきおこす。これは、trichothecene や zearalenone にもいえることであって、特にヒトとの関連を考慮するとき、これらマイコトキシンの家畜における運命・代謝が解析されねばならない。

Luteoskyrin, rugulosin はじめ、多くのマイコトキシンは生体成分と反応して結合体をつくる。

これらマイコトキシン結合蛋白質などは、アレルギーや delayed hypersensitivity の誘導をきたすことが考えられる。すでに、クマリン核を有するマイコトキシンについては二・三の知見が得られている²²⁾。また、patulin ではシステインとの複合体に催奇性がみとめられ、これら生体成分との反応が、遅発効果として予期せぬ毒作用を示す²³⁾。

Trichothecene も真核細胞のリボゾームと結合することが明らかにされているが²⁴⁾、これは蛋白質合成の阻害機構を説明するものとしても、今後これら複合体による生体の反応性の変化が問題となろう。この点、蛋白質との反応性に限って言えば、マイコトキシンの毒作用研究に免疫学的手法の導入が期待される。

Ochratoxin A は経口投与後すみやかに腎・肝・心にあられ、未変化の ochratoxin A と水解産物 ochratoxin α として排泄されるが²⁵⁾、一方 *in vitro* の実験でアルブミン等と結合することがわかっている²⁶⁾。この蛋白結合型の ochratoxin A をウサギに注射すると、ochratoxin A, C, T_e に対する抗体が産生され²⁷⁾この binding assay で 0.5~10 ng/0.5 ml の ochratoxin A が検出可能となったが、これは免疫手法の活用による分析への応用であるが、抗体産生機構とその基質特異性は毒作用として興味がある。

マイコトキシンを天然由来の環境汚染物質としてとらえるとき、他種の毒作用物質との相互作用は重視されねばならない。これを薬物代謝から見るとき、benzpyrene 等の発ガン剤は肝マイクロソームのオキシゲナーゼ系酵素を誘導する。しかも、このオキシゲナーゼは multi-enzyme system であって、誘導剤の種類によって誘導されるパターンが異なる。Aflatoxin B₁ の水酸化で、M₁ と Q₁ の K_m が異なる⁵⁾のはこの multi-enzyme system に由来すると同時に誘導剤によってはこの両者の比が異なることも予想される。Trichothecene においても肝マイクロソームのエステラーゼは数種存在しており、基質特異性と外的因子による質的变化は、trichothecene 代謝反応の流れを変え、ることもありうる。

このように外的因子による代謝転換の変化と幼若動物や胎児への毒作用の解明は、マイコトキシンの遅発作用の一つとして今後の課題である。

引用文献

- 1) Uraguchi, K., Ueno, I., Ueno, Y., Komai, T.: Toxicol. Appl. Pharmacol., **21**, 335 (1972).
- 2) Sato, N.: Master Thesis (1972).
- 3) Ueno, Y., Ito, T.: Unpublished.
- 4) Ueno, Y., Ueno, I.: Japan. J. Exp. Med., **42**, 91 (1972).
- 5) Krieger, R. I., Salhar, A. S., Dalezios, J. I., Hsieh, D. P. H.: Fd. Cosmet. Toxicol., **13**, 211 (1975).
- 6) Kimura, H.: Master Thesis (1976).
- 7) Ueno, Y., Matsumoto, H., Ito, T., Ohta, M.: Proc. 96th Ann. Meet. Japan. Pharmaceut. Soc., **III**-240 (1976).
- 8) Ueno, Y., Ueno, I., Iitoi, Y., Tsunoda, H., Enomoto, M., Ohtsubo, K.: Japan. J. Exp. Med., **41**, 521 (1971).
- 9) Ueno, Y., Ayaki, S., Ito, T.: IUPAC Symposium on Mycotoxins (1976).
- 10) Ueno, I., Hayashi, T., Ueno, Y.: Japan. J. Pharmacol., **24**, 535 (1974).
- 11) Ueno, I.: Japan. J. Pharmacol., **25**, 171 (1975).
- 12) Ueno, I., Ueno, Y., Tashiro, F.: Unpublished.
- 13) Thiel, P. G., Steyn, M.: Biochem. Pharmacol., **22**, 3267 (1973).
- 14) Salhab, A. S., Hsieh, D. P. H.: Res. Comm. Chem. Path. Pharmacol., **10**, 419 (1975).
- 15) Masri, M. S., Haddon, W. F., Leudin, R. E., Hsieh, D. P. H.: J. Agr. Food Chem., **22**, 512 (1974).
- 16) Patterson, D. S. P., Roberts, B. A.: Fd. Cosmet. Toxicol., **9**, 829 (1971).

- 17) Swenson, D. H. M., Miller, J. A., Miller, E. C.: Biochem. Biophys. Res. Comm., **53**, 1260 (1973).
- 18) Ohta, M., Ueno, Y.: Proc. Jap. Assoc. Mycotoxicol., **2**, 34 (1976).
- 19) Patterson, D. S. P.: Fd. Cosmet. Toxicol., **11**, 287 (1973).
- 20) Ueno, Y., Kubota, K.: Cancer Res., **36**, 445 (1976).
- 21) Wogan, G. N., Paglialunga, S.: Fd. Cosmet. Toxicol., **12**, 381 (1974).
- 22) Chung, C. W., Giles, A. L. Jr., Carson, T. R.: J. Investg. Dermatol., **55**, 396 (1970).
- 23) Ciegler, A., Beckwith, A. C., Jackson, L. K.: Appl. Environ. Microbiol., **31**, 664 (1976).
- 24) Ueno, Y., Matsumoto, H.: Proc. 1st. Intersect. Congr. IAMS (Tokyo), **4**, 314 (1975).
- 25) Suzuki, S., Yamazaki, M.: Toxicol. Appl. Pharmacol., to be published.
- 26) Chu, F. S.: Biochem. Pharmacol., **23**, 1105 (1974).
- 27) Chu, F. S., Chang, F. C. C., Hinsdill, R. D.: Appl. Environ. Microbiol., **31**, 831 (1976).