

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
辻 洋 志	主 査 教 授 林 秀 行 副 査 教 授 花 房 俊 昭 副 査 教 授 朝 日 通 雄 副 査 教 授 田 窪 孝 行
主論文題名 Effects of sodium monofluoroacetate on glucose, amino-acid, and fatty-acid metabolism and risk assessment of glucose supplementation (モノフルオロ酢酸ナトリウムの糖、アミノ酸、脂肪酸代謝への影響及びグルコース補充に対するリスク評価)	
学位論文内容の要旨	
《研究背景と目的》 モノフルオロ酢酸ナトリウム (SMFA) は世界中で殺鼠剤として使用されており、極めて毒性が強く、製造使用に伴う暴露やテロ使用への懸念等不適切な使用が指摘され問題となっている。SMFA は生体では TCA サイクル内の酵素アコニターゼを阻害し、クエン酸、ピルビン酸、乳酸の蓄積によるアシドーシスにより極めて高い致死毒性を示すと報告されているが、詳細な SMFA の生体影響を分析した報告はない。今回我々はそれらの蓄積が SMFA の主な中毒機序であるのか、また生体内において糖、アミノ酸、脂肪酸代謝にどのような影響を及ぼすかを調べた。 《方 法》 まず LD ₅₀ を求めるため、ラット 36 匹を各群 6 匹の 6 群に分け、1.0-6.0 mg/kg body weight の SMFA を皮下投与し生存率を検討した。 SMFA の暴露急性期における糖、アミノ酸、脂肪酸代謝への影響を分析するため、	

36匹のラットを3群に分け、LD₅₀のSMFAを皮下投与後、SMFA + saline群は生食、SMFA + glucose群は10%グルコース溶液を2 ml/hで持続静注し3 h後に採血を行った。Control群は生食皮下投与後に生食を同様に持続静注した。

SMFAの解糖系及びTCAサイクルへの経時的影響を分析するため、26匹のラットにて、前項と同様にSMFA投与を行いSMFA + saline、SMFA + glucoseの各群を作成した。SMFA投与後10 h生食もしくはグルコースを持続静注し、1 h毎に計10 h微量採血を行い、血中乳酸と血糖を測定した。生存率は14日間の観察で評価した。

3 h後採血における3グループ間の差はone-way ANOVA法、血中乳酸および血糖の経時変化の各値の差の検定はMann-Whitney test、生存率の差の検定はKaplan-Meier法で行い $p < 0.05$ を有意とした。

《結果と考察》

SMFA + saline群では血中クエン酸、乳酸、ピルビン酸濃度は増加し、血液pHは7.29と軽度低下を認めた。しかしSMFA + glucose群ではそれらの値はさらに有意に増加したが、血液pHは7.32と同じく軽度低下するのみであり、生存率はSMFA投与各群において変化が認められなかった。以上よりSMFA暴露による毒性が血中クエン酸、乳酸、ピルビン酸濃度の増加のみによって説明できないと考えられた。

SMFA暴露ではクエン酸の上昇に伴うホスホフルクトキナーゼ（PFK）阻害によって高血糖、もしくはTCAサイクル阻害に伴う糖新生の障害による低血糖の両方が報告されていたが、当実験ではSMFA暴露により軽度の低血糖を認めた。実験ではSMFA投与前に9 hの絶食を行っており、空腹時に血糖を供給しうるグリコーゲンが枯渇していたことがPFK阻害下であるにもかかわらず低血糖を認めた原因であると考えられた。以上よりSMFAの血糖への作用は暴露時の空腹状態によると考えられ、暴露時に空腹が長ければより低血糖が進行すると推測された。

当実験では SMFA 暴露後、血中遊離脂肪酸、ケトン体濃度は Control 群に比べ SMFA + saline 群において共に上昇、SMFA + glucose 群において低下した。このことから SMFA は脂肪酸代謝において長期空腹時に似た状況を作り出すと考えられた。また血中遊離脂肪酸、ケトン体濃度の上昇は治療を行う上で注意しなければいけない項目であると考えられた。

SMFA+ saline 群では分枝アミノ酸、フェニルアラニン、リシンの血中濃度が増加し、これらはアコニターゼ阻害によって起こる α -ケトグルタル酸の低下によってもたらされたと考えられた。以上より SMFA 暴露は特定のアミノ酸の代謝に大きな変化を及ぼすことが明らかとなった。

血中 Urea、NH₃、Cr、BUN、Ca 濃度は SMFA 投与各群において著明に上昇した。血中 BUN、Cr 値の結果から SMFA 暴露により腎障害が引き起こされると考えられ、治療を行う上で注意するべき点であると考えられた。

《結 論》

グルコース補充による生存率への影響は認められず、以前の報告から推測された結果とは異なり、SMFA 暴露による死因は血中クエン酸、乳酸、ピルビン酸濃度の上昇のみによっては説明できないと考えられた。SMFA 暴露によって糖、アミノ酸、脂肪酸代謝が大きく障害されることが判明した。他に、SMFA 暴露では血中 Ca、NH₃濃度が上昇し、また腎障害をきたす。SMFA 暴露に対する治療法の検討の際は、クエン酸、乳酸、ピルビン酸の蓄積だけでなく、以上の変化を総合して考える必要があると考えられた。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲第号	氏名	辻洋志
論文審査担当者		主査教授 林 秀行	
		副査教授 花房 俊昭	
		副査教授 朝日 通雄	
		副査教授 田窪 孝行	
主論文題名			
Effects of sodium monofluoroacetate on glucose, amino-acid, and fatty-acid metabolism and risk assessment of glucose supplementation			
(モノフルオロ酢酸ナトリウムの糖、アミノ酸、脂肪酸代謝への影響及びグルコース補充に対するリスク評価)			
論文審査結果の要旨			
<p>モノフルオロ酢酸ナトリウム (SMFA) は極めて毒性が強く、製造使用に伴う暴露や適正な用途以外での使用が問題となっている。SMFA は TCA サイクルにおけるアコニターゼを阻害し、乳酸、クエン酸、ピルビン酸の蓄積によるアシドーシスをきたすことが報告されているが、中毒機序は未だ不明な点が多い。本研究は、それらの蓄積が SMFA の主な中毒機序であるのか、また生体内において糖、アミノ酸、脂肪酸代謝にどのような影響を及ぼすか分析した。</p> <p>申請者はラットを 3 グループに分け SMFA + 生食群, SMFA + ブドウ糖群, コントロール群 (生食のみ) とし SMFA の影響を検討した。その結果、SMFA + 生食群にて血清クエン酸、ピルビン酸、血中乳酸値は増加した。一方 SMFA + ブドウ糖群ではこれらの値が更に著明に上昇したが、SMFA + 生食群に対して pH や生存率は変化がみられなかった。また SMFA は同時に血清遊離脂肪酸、分枝アミノ酸、アンモニア、尿素、カルシウムイオンを上昇させた。</p> <p>申請者は、以上の結果から SMFA 暴露による死因は血中クエン酸、乳酸、ピルビ</p>			

ン酸濃度の上昇のみによっては説明できないという事を確認し、SMFA 暴露によって糖、アミノ酸、脂肪酸代謝が大きく障害されることを明らかにした。本研究は SMFA 暴露に対する治療法の検討に際し、クエン酸、乳酸、ピルビン酸の蓄積だけでなく、糖、アミノ酸、脂肪酸代謝の不均衡の是正が必要であるとし、今後の研究の方向性を導く重要な意義を持つものである。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Drug and Chemical Toxicology 32(4): 353-361, 2009