

理化学研究所 ニュース

March.—1979

No. 56

麦赤かび病菌代謝毒性産物の研究

殊にトリコテセントキシコージスの研究

研究の発端

理化学研究所に農薬研究部門が設立された昭和38年10月に農薬第2研究室（現農薬合成第1研究室）が当時私が奉職していた東京理科大学薬学部微生物化学教室内に開設されることになった。丁度その年の5月から6月にかけて我が国は全国的に低温かつ多雨で、その結果その年の産麦の8割が赤かびの汚染を受け、或る地域では一粒の健全な麦も収穫出来ない程の大被害を受けた年であった。そして汚染の軽度な麦を“むぎこがし”にして食べた人や、汚染の進んだものが家畜の飼料にまわされたために、家畜にも強い中毒症が出現した。

中毒の症状は、めまい、頭痛、悪心、おう吐、下痢を特徴とした。

農林省食糧庁は急ぎよ、菌学、化学、薬理学、病理学の分野の研究者を選定し、研究班を組織しその問題の解明にあたることになった。

故三宅市郎、浦口健二、平田義正の三先生によって昭和16年以来行われた在来黄変米研究、又浦口健二、三宅仁、角田広の三先生を中心として行われた戦後のタイ黄変米、イスランジア黄変米の

研究によって、“米（穀物）↔かび↔かび毒”の概念が確立され、マイコトキシンと言う言葉がようやく研究者の間で認識されはじめていた。従って、この麦赤かび病による中毒も、麦を汚染した赤かびの生産する毒素によって、人畜に引き起こされたものであろうことが理解されるようになっていた。

昭和38年11月当時には、麦赤かび病の主要原因菌が *Fusarium nivale* 及び *Fusarium graminearum* を主体とする *Fusarium* sp の糸状菌であり、その中で *F. nivale* Fn-2B 株が、米に接種培養したとき、最も強い毒性を示し、その毒性の強さも安定していることがわかったばかりであった。

この菌の代謝産物の中から毒性の本体となる化合物を解明することを分担することになった東京理科大学の私達の研究室は食糧研究所の角田博士によって調製、供給された Fn-2B 株接種培養の人工かび米を原料とし化学的分画に着手した。生物試験はこの人工かび米であらかじめマウスを飼育し、マウスに特徴的に表われる病理学的変化、すなわち増殖性の著しい細胞をもつ臓器、小腸、大腸、胸腺、骨髄等に現われる放射線障害様病変が得られた分画を逐一動物実験にかけた際に、ど

この分画に認められるかによって、毒性の本体を追及した。丸ごとの動物試験と並行して、協力研究者上野芳夫君によって見いだされた家兎網様赤血球を使ったたんぱく合成阻害テスト（後述）を併用することによって、分画ごとの生理試験の速度を早め毒性本体の解明が出来るようになり、nivalenol と命名した主成分を単離することが出来た。その後、研究班の1員として協力された国立予防衛生研究所の諸岡博士（現香川大学教授）によって、nivalenol の同族体である非結晶性物質 fusarenon が単離された。

昭和38年以来東京理科大学薬学部ではかび毒の研究、理研では農薬の合成研究と研究分野を分けて来たが、昭和42年、理研の専任として勤務することになった折に、農薬合成第1研究室の研究主題のひとつとして取りあげることにした。と言うのは、後述するような *Fusarium* sp の代謝産物の化学的、生物学的な性質が明らかになるにつれて、1)trichothecene のもつ細胞毒性を活用して殺虫性、あるいは除草性農薬への応用の可能性が認められるようになったこと、2)農業生産の増進の意図で用いられた農薬による食糧の汚染と共に、非意図的ではあるが、菌が食糧を汚染することによって必然的に食糧中に入りこんで来るのかび毒の性質をきわめ、防除の方策を探ることは、農薬研究の一環として取りあげてよい問題で

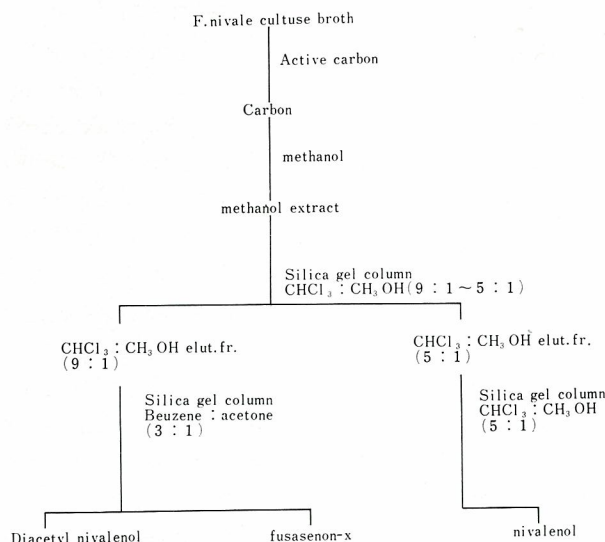
あると判断して、この研究主題を農薬合成第1研究室の研究対象のひとつとすることにした。

毒性代謝産物の単離、化学構造の決定

F. nivale Fn-2B を peptone を添加した Czapek 培地中で25°C、2週間培養を行った培養液から第1図に示す経路に従って分画を行い、先に述べた nivalenol の外、諸岡博士が報告された fusarenon と UV, IR, NMR で良く一致する化合物を結晶性に得、fusarenon-X と命名した化合物と、後に nivalenol のジアセタートであることが判明した化合物の3種を単離することに成功した。この3種の化合物の物理化学的性質を第1表に示した。

これらの化合物の機器データ、化学的誘導体の機器データから、それぞれの化合物の化学構造を第2図に示すごとく、3 α , 4 β , 7, 15-tetrahydroxy-12, 13-epoxytrichothec-9-en-8-one (ニバレノール) 及びその 4 β -acetate (フザレノン-X), 4 β , 15-diacetate と決定することが出来た。

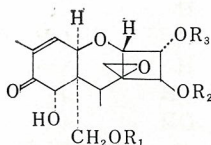
我々がこれらの化合物の構造を明らかにしてみると、1935年に *Trichothecium roseum* 菌より生産される抗糸状菌性抗生物質として報告された trichothecin の化学構造が、1964年になって Godtfredson によって正しい構造式に改められたものや、サンド社（スイス）の研究者によって、同じく抗糸状菌性抗生物質として解明された Myro-



第1図

第1表 Physicochemical Properties of Three Toxins Isolated from *F. nivale*

Property	Nivalenol	Fusarenon-X	Nivalenol-diacetate
mp.	222~223°	144°	136°
Rf (CHCl ₃ : CH ₃ OH) 5 : 1	0.42	0.77	0.89
m/e	312	354	396
Molecule formation	C ₁₅ H ₂₀ O ₇	C ₁₇ H ₂₂ O ₈	C ₁₉ H ₂₄ O ₉
Elemental analysis	Found. Calc.	Found. Calc.	Found. Calc.
C :	56.29 57.68	56.42 57.62	57.91 54.57
H :	6.01 6.49	6.06 6.26	6.21 6.10
O :	37.70 35.86	37.52 36.12	35.88 36.33
UV _{max}	220 (CH ₃ OH)	220 (CH ₃ OH)	220 (CH ₃ OH)
IR ν _{c=0} cm ⁻¹	1680	1720	1735
[α] _D ²⁰	+21.5° (C ₂ H ₅ OH)	+56.1° (C ₂ H ₅ OH)	+64.3° (C ₂ H ₅ OH)



第2図

Nivalenol R₁=R₂=R₃=H
 Fusarenon-X R₁=R₃=H, R₂=Ac
 Diacetylnivalenol R₁=R₂=Ac, R₃=H

theicum verrucaria, Myrothecium roridum の代謝産物, verrucarol や roridine 類の共通の母核である verrucarol, Trichoderma viride の代謝抗生物質 trichodermin, あるいは *F. scirpi* の生産する植物毒成分 diacetoxyscirpenol が, いずれも共通の母核をもち, “trichothecene” と総称されることになった化合物の一種であることが判明した。その後, 我々の研究グループによって行われた組織的な *Fusarium* sp. の代謝産物の検討で得られたもの及び諸外国で報告された “trichothecene” 類の化合物は, 30種以上にも達し, 我々は, 置換基の種類と数によって4つのグループに分類している。それらの分類を第3図から第6図に示す。

トリコテセン類による障害の病理組織学的特徴

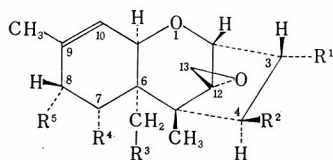
病理組織学的検索は東京大学医科学研究所斎藤

守教授, 榎本真助教授, 日本獣医畜産大学大久保薫教授の2つのグループで行われた。急性毒性の示標となる LD₅₀ 値については後述するが, nivalenol の LD₅₀ 値の倍量を投与すると, 36~48時間, 約5倍量の投与では12~24時間後にマウスをへい死させる。へい死例について剖検すると, 腸管の肥大が肉眼的に認められ, 更に顕微鏡検査によって, 腸の粘膜上皮, 胸腺, 心臓, リンパ組織, 骨髄などの細胞の核崩壊及び壊死を認め, こう丸の幼若細胞, 卵巣の顆粒細胞の変性及び核崩壊や心筋繊維の出血も観察された。障害が高度の場合には, 小腸粘膜のかいよう化及びはく離出血をはじめ, 骨髄リンパ装置の荒廃化, 出血もおこることが認められた。これらの病変は動物の放射線障害の際に明りょうに現われる, いわゆる放射線障害様 (radiomimetic) 病変を示す。

トリコテセン類の中毒学的検索

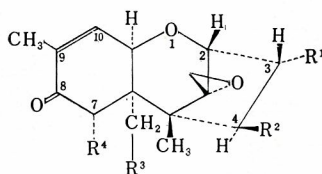
Trichothecene 類と総称されるこれらの化合物の示す特徴的な毒性を, LD₅₀ 値 (第2表) 催おう吐性 (第3表) 皮膚刺激性 (第4表) たんぱく合成阻害 (第5表) 神経障害 (第6表) としてまとめた。

先に trichothecene の単離の過程で, この系統の化合物が家兎網様赤血球におけるたんぱく合成を阻害することを示標としたと述べたが, trichothecene は家兎網様赤血球において ¹⁴C-アミノ酸のたんぱくへの取り込みを著しく阻害するが,



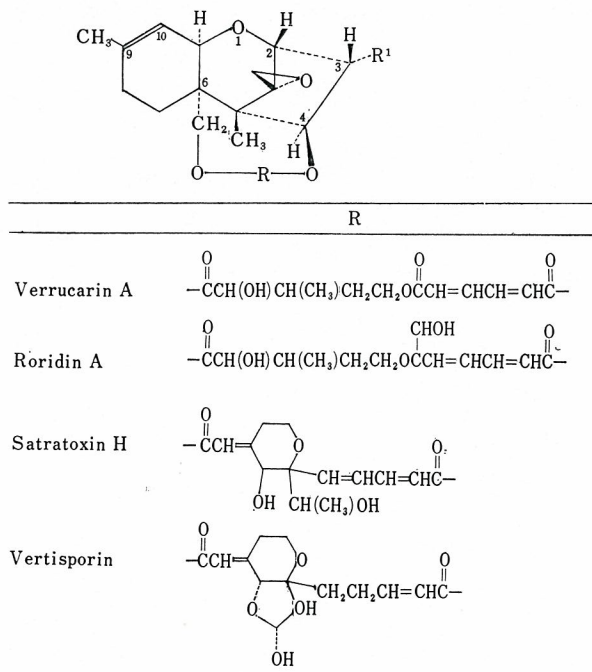
	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
Trichothecene	H	H	H	H	H
Dihydrotrichothecene	H	OH	H	H	OH
Trichodermol (Roridin C)	H	OH	H	H	H
Trichodermin	H	OAc	H	H	H
Dihydroxytrichothecene	H	OH	H	H	OH
Verrucarol	H	OH	OH	H	H
Scirpentriol	OH	OH	OH	H	H
T-2 tetraol	OH	OH	OH	H	OH
Monoacetoxyscirpenol	OH	OH	OAc	H	H
Diacetoxyscirpenol	OH	OAc	OAc	H	H
Neosolaniol	OH	OAc	OAc	H	OH
Monoacetylneosolaniol	OH	OAc	OAc	H	OAc
7-Hydroxydiacetoxyscirpenol	OH	OAc	OAc	OH	H
7, 8-Dihydroxydiacetoxyscirpenol	OH	OAc	OAc	OH	OH
HT-2 toxin	OH	OH	OAc	H	OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂
T-2 toxin	OH	OAc	OAc	H	OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂
Acetyl T-2 toxin	OAc	OAc	OAc	H	OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂
Calonectrin	OAc	H	OAc	H	H
Deacetylcalonectrin	OAc	H	OH	H	H

第 3 図 Naturally-occurring Trichothecenes (A)

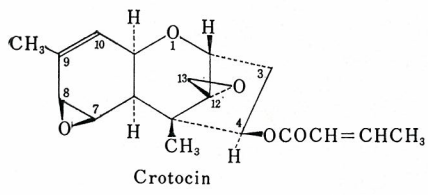


	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
Nivalenol	OH	OH	OH	OH
Monoacetylnivalenol (Fusarenon-X)	OH	OAc	OH	OH
Diacetylnivalenol	OH	OAc	OAc	OH
Deoxynivalenol	OH	H	OH	OH
Monoacetyldeoxynivalenol	OAc	H	OH	OH
Trichothecin	H	OCO=CHCH ₃	H	H

第 4 図 Naturally-occurring Trichothecenes (B)



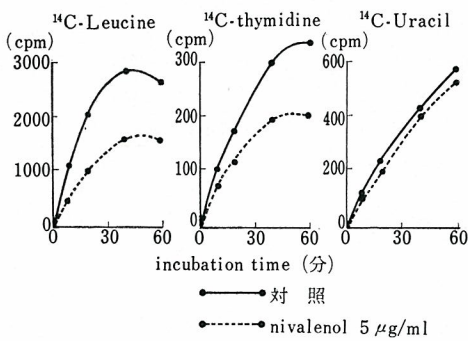
第5図 Naturally-occurring Trichothecenes (C)



第6図 Naturally-occurring Trichothecenes (D)

その後上野, 大坪等の協力研究者によって, 家兔網様赤血球のみでなく, HeLa-細胞, 4N型

Ehrlich 腹水ガン細胞を用いた生体高分子, DNA, RNA 及びたんぱくの合成系に対する trichothecene の作用が調べられ, 第7図に示すごとくたんぱくの合成を強く, そして DNA を相当に強く阻害するのが, RNA の合成は弱くしか阻害しないことを明かにした。更にたんぱく合成阻害の作用機作を調べてみると, trichothecene 処理細胞において, polysome が崩壊して低分子化するこ



第7図 ガン細胞中にラベルされた前駆の取込みの time course

第2表 LD₅₀ values (mg/kg) of trichothecene mycotoxins¹⁾

Type	Trichothecenes	Mice				Rats				Guinea pigs		
		i.v.	i.p.	s.c.	p.o.	i.v.	i.p.	s.c.	p.o.	i.p.	s.c.	p.o.
A	T-2 toxin		5.2		10.5				5.2			ca. 2
	HT-2 toxin		9.0									
	Diacetoxyscirpenol	12	23.0			1.3	0.75		7.3			
	Neosolaniol		14.5									
	Monoacetoxyscirpenol							0.725				
	Scirpenol					0.81						
B	Nivalenol		4.1									
	Fusarenon-X	3.4	3.4	4.2	4.5				4.4	<0.5	<0.1	
	Diacetylnivalenol		9.6									
	Rd toxin		70		46							
	Rc toxin		49		34							
	Trichothecin	~300						<250				
C	Roridin A	1.0										
	Verrucarins A	1.5	0.5-0.75			0.87						
	Verrucarins B	7.0										
	Verrucarins J		0.5-0.75									

Type	Trichothecenes	Chicks	Trouts	Cats	Dogs		Ducklings	Rabbits
		p.o.	p.o.	s.c.	i.v.	s.c.	s.c.	i.v.
A	T-2 toxin	3.6	6.1	<0.5				
	HT-2 toxin							
	Diacetoxyscirpenol				ca. 1.1			1.0
	Neosolaniol							
	Monoacetoxyscirpenol							
	Scirpenol							
B	Nivalenol							
	Fusarenon-X			<5.0			ca. 2.0	
	Diacetylnivalenol							
	Rd toxin					>3.8	27	
	Rc toxin					>1.0	37	
	Trichothecin							
C	Roridin A							
	Verrucarins A							0.54
	Verrucarins B							
	Verrucarins J							

1) Brian et al. (1961), Freeman (1955), Guarino et al. (1968), Harri et al. (1962), Marasas et al. (1967), Rusch et al. (1965), Sato et al. (1975 & 1976), Stahelin et al. (1968), Ueno et al. (1971), and Yoshizawa et al. (1974).

第3表 Induction of vomiting by trichothecene mycotoxins in ducklings and cats.

Type	Trichothecenes	MED ¹⁾ (mg/kg s.c.)	
		Ducklings	Cats
A	T-2 toxin	0.1	0.1-0.2
	HT-2 toxin	0.1	
	Diacetoxyscirpenol	0.2	
	Neosolaniol	0.1	
	Nivalenol	1.0	
B	Fusarenon-X	0.4	1-2
	Diacetylnivalenol	0.4	
	Rd toxin	13.5 ²⁾	
	Rc toxin	13.5 ²⁾	

1) Minimum effective dose. 2) Yoshizawa et al. (1974).

第4表 Skin-necrotization induced by trichothecene mycotoxins on the back of guinea pigs, mice, and rabbits (Ueno et al. 1970a).

Type	Trichothecenes	MED ¹⁾ ($\mu\text{g}/\text{spot}$)		
		Guinea pigs	Mice	Rabbits
A	T-2 toxin	0.2	1	
	HT-2 toxin	0.2	1	
	Diacetoxyscirpenol	0.2	10	1
	Neosolaniol	1	10	
B	Nivalenol	10	100	10
	Fusarenon-X	1	10	10
	Diacetylnivalenol	1	10	

1) Minimum effective dose.

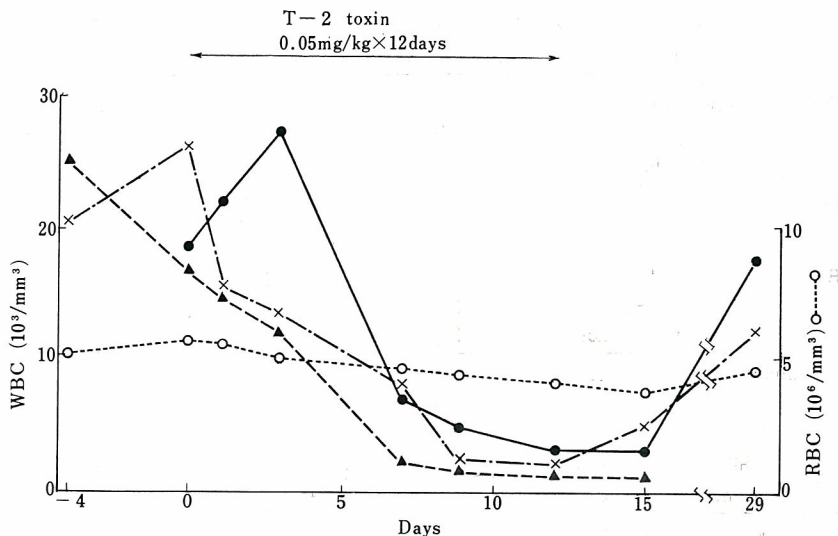
第5表 Inhibition of protein synthesis in rabbit reticulocytes by trichothecene mycotoxins (Ueno et al. 1973 & 1974).

Type	Trichothecenes	ID ₅₀ ¹⁾ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
A	T-2 toxin	0.03
	HT-2 toxin	0.03
	Diacetoxyscirpenol (DS)	0.03
	Neosolaniol	0.25
	7-Hydroxy-DS	0.4
	7,8-Dihydroxy-DS	0.6
B	Nivalenol	3.0
	Fusarenon-X	0.25
	Diacetylnivalenol	0.10
	Tetraacetylnivalenol	10
	Rd toxin	2.0
	Rc toxin	10
	Trichothecin	0.15
	Trichothecolon	20
	Dihydrornivalenol	3
	C	Verrucaric acid
Roridin A		0.01

1) 50% inhibition dose in the "whole cell" assay system.

第6表 Nervous Disturbances Attributed to Trichothecenes

Bean-hull poisoning	horse	cyclic movement staggering	(Konishi et al. 1970)
Alimentary Toxic Aleukia	man	emesis, vomiting	(Forgacs, 1972)
	farm animals	impaired reflex, meningism, dermatographism, neuropsychosis, encephalomyelitis	
T-2 toxin	chick	impaired righting reflex, hysteroid seizures, abnormal wing posture	(Wyatt et al., 1972)
T-2 toxin	cat	emesis, vomiting, visual disturbance, meningeal hemorrhage	(Sato et al., 1975)



第8図 Hematological effects of T-2 toxin in Cats (Sato et al., 1975)
○赤血球数, ●, ▲, ×は白血球数 (No. 1, 2および3動物)

とが明らかとなった。

標識化したトリコセシンが polysome や ribosome に結合すること, 更にこの結合やたんぱく合成阻害は細菌細胞を材料とした場合には認められないことから判断して, trichothecene 系化合物は動物細胞の 80s ribosome に結合し, たんぱく合成反応の初期段階を阻害するものと推定した。

Trichothecene の生体に及ぼす急性, 悪急性の障害の中で, 特に注目すべきものは血液障害である。第8図 trichothecene の一種である T₂-toxin を猫に 0.05mg/kg ずつ, 継続的に皮下投与すると, 末梢血液では, 最初の一過性の白血球数の増加が認められた後, 次第に減少し, 時には死亡する。白血球数と血小板の著しい減少が認められた。これらの変化は T₂-toxin だけでなく, 強弱の差こそあれ, 共通に trichothecene 系化合物の投与で見られる。

この血液障害を中心とする trichothecene の中毒症が解明されてみると, 第2次大戦末期から戦後にかけて, ソビエト連邦のアムール地区で越冬した麦類を中心とする Fusarium 系かび汚染穀物による, ひとの死亡を含む広範な中毒事件, 食中毒性無白血球症 (alimentary toxic aleukia—ATA 症) の諸症状と極めて良く一致し, 最近では, ソ連邦の研究者も ATA 症を trichothecene toxicosis と見ると言う考えを認めている。

昭和51年以来の科技庁特調費による総合研究の成果

昭和38年以来の菌学, 化学, 薬理学, 病理学を貫く協力研究によって, 上記の如き麦赤かび病菌の中毒症が追々明確となって来たが trichothecene 自体が生体内で, どのように代謝され, どのように排せつされるか, すなわち生体内の動態がどのようなものであるかが全く解明されなかった。一般に trichothecene 類の LD₅₀ 値が小さい強毒性化合物であり, 生合成的に合成しうる ¹⁴C- 標識-trichothecene の比放射能では, 生体内の動態を探究出来ず, 又, ³H- 標識化-trichothecene は不安定で, in vitro での実験以外には使用出来なかった。そこで合成化学的に, 比放射能の高い trichothecene をつくり出すことにした。藤本康雄研究員の努力で, 新しい trichothecene の合成経路が見出され, 0.5mCi/mMol 程度の比放射能をもつ trichothecene が合成された。

昭和51年以来, ¹⁴C-trichothecene や各種培養 trichothecene 類の供与を前提とする“麦赤かび病菌による血液障害に関する研究”が従来のかび毒研究グループ, 厚生省国立衛生試験所及び抗生物質による再生不良性貧血研究グループが合体した総合研究が発足し, 今年の3月でその総決算の年をむかえることになった。その結果農業生産の

面に関しては、麦赤かび病の発生予察のための基礎資料がほぼ完全に得られ、又食品衛生の面では、地方衛生研究所をキーステーションとするフザリウム毒の食品汚染に対するモニタリングシステムが確立出来た。

そして学問的には、かび毒による免疫応答能低下による自発性感染症の問題や、従来不完全ハプテンと考えられたかび毒がたんぱく等と結合し、遅延性アレルギー等のかび毒や抗生物質の連用に

よる人や動物（畜産）の免疫性疾患の原因となると推定される貴重な成果がえられつつある。

この面の解明は、人畜の中毒症の問題としてはほとんど手のつけられていなかった分野であり、かび毒の研究に新しい面が拓かれ、益々今後のこの面の研究の拡充の必要性を痛感している。

農薬合成第1研究室
主任研究員 辰野 高

◆ 理研一般公開のお知らせ

昭和54年度科学技術週間行事の一環として、次のとおり一般公開いたしますので、どうぞお問い合わせの上、ご来所ください。

と き 4月19日（木） 10:00～16:30

◇研究施設の公開

（サイクロトロン、線型加速器、研究工作施設、外）

◇講演と映画

（レーザー棟会議室）

◇実験及び研究成果品の展示

発 明 ・ 考 案 リ ス ト

昭和53年12月に公開となったもの

公開番号	出願番号	発 明 ・ 考 案 の 名 称
(特許)		
53-142516	52- 49416	腸溶性制癌剤組成物（共願）
53-142949	52- 58508	活性ガスプラズマアークトーチ及びその操作方法
53-145476	52- 60131	電子線露光装置（共願）
53-145477	52- 60132	電子ビーム露光方法（共願）
53-148530	52- 61061	農園芸用殺菌剤（共願）
53-148980	52- 63873	荷電粒子ビーム投射方法
53-149913	52- 63874	糖誘導体の合成法
(実用新案)		
53-49478	51- 130584	連続分注装置の受器移動機構（共願）
53-49479	51- 130585	連続分注装置の試験管キャップ脱着機構（共願）



「対 話」

最近引っ越しをした。所帯を持ってから七回目で、平均すると二年余に一度移ったことになる。移動の激しい此頃では特に多いとも云えない。

しかしこの度の引っ越しは思わぬ体験をさせてくれた。同じ団地内の、数棟離れた同じ4 L Kの間での移動であった。ただ以前のは階段の右、今度のは左、で間取りは全く同一という。

目鼻の近さであったし間取りも同じなので、何も面倒なことは考えず筆筒からテレビ、紙袋までこのところそれらが占有していた相当場所に三、四時間でみな納まった。全く移転前通りである。壁と天井の色が多少違っている気がする程度であった。もう少し工夫をすれば良かったのであろうか。

双方の建物とも10年前に同じ仕様で、ただ建築業者だけが違って建ったもので、今になると新築時には全くわからなかったであろう建て屋の得手不得手が、一方は外廻りの弱点として、一方には内装ことに木工と水まわりの弱点として素人にも明らかに判別がつく程になっている。しかし触れようと思ったのはそのことではない。

トイレに入ろうと思って、と風呂場の戸を開け一足入ってしまう。今度とは思ってはまた風呂のスイッチの方をおしてしまっている。目では左右入れ違っていることなどすぐに分かっていたのだが。どうも私一人だけでないようで、引っ越して数時間経ない間に子供達や愚妻と鉢合せする度に、何となく互いに、ばつの悪いえもゆえぬ見合いをすることとなった。ことに家の中央の唯一つ

の通路のドア、蝶番の側を気が付くまでおしてしまふ。このドアが半開きになっていると数日間はずまず避けられなかった。

細かく見ると引出しの位置、テレビのスイッチの場所……当然のことながら見かけに差異はないが、手は空を切る。目を定めて円満な処理に努める。なんとなく身体の左右が内側から入れ違ったような感覚がぬぐえない。大きく環境の異なった外国への移転での文化的差異は緊張は伴ったろうが戸惑いにはならなかった。心身ともその差異に覚悟を決めていたためであろうか。それは別としても少し間取りが異なっていれば様子は違っていたことと思う。何の変化も予測しないところでの戸惑いであった。久し振りに私の中で心と身体の対話を感じることが出来た。

一カ月もたって、もうあの少し緊張感を伴った世界を身体はおぼえてはいない。

有機化学第一研究室
研究員 安 福 克 敏

