

京都大学	博士（薬学）	氏名	清水 伸治
論文題目	反応性代謝物による肝障害誘発のインビボ評価系の確立とそれによる チェノピリジン系薬の肝障害機序の解明に関する研究		
（論文内容の要旨） 薬物の中には、代謝により反応性に富む中間体（反応性代謝物）が生成し、これが生体高分子と不可逆的に結合することで、ガン原性、アレルギー、肝障害などの種々の毒性が誘発されることがある。中でも、特異体質性薬物毒性 (IDT: Idiosyncratic Drug Toxicity) は、通常の動物実験では発見が難しく、臨床において毒性が顕在化することから、有効な動物モデルの作製と、それを用いた薬物の IDT 様肝障害発現の評価法の確立が強く求められている。 第 1 章 反応性代謝物による特異体質性薬物毒性様肝障害発現のインビボ評価系としてのグルタチオン枯渇動物の有効性 反応性代謝物は通常、その大部分は内因性の Glutathione (GSH) により解毒されることから、GSH を枯渇した動物は反応性代謝物毒性評価モデルとして有効であると考えられる。そこで、マウスに GSH 合成阻害剤である L-buthionine-(S, R)-sulphoximine (BSO) を投与することで肝 GSH を著明に低下させることが出来るとの報告に着目して、BSO 投与動物の反応性代謝物毒性評価モデルとしての有効性を検討することを計画した。まず、マウスへ BSO を投与し、肝 GSH 量を測定したところ、肝 GSH 量はコントロール群に比較して著しく低下することが認められた。また、反応性代謝物を生成して IDT 様の肝障害を誘発することが報告されている Amodiaquine (AQ) を BSO とともに投与することにより、小葉中心性の著しい細胞壊死が認められた。さらに、この肝障害は P450 代謝阻害剤を前投与することで完全に抑制され、今回生じた肝障害は P450 代謝依存的な毒性であることが示された。また ¹⁴C-AQ を用いた検討から、BSO 処置群では AQ の肝臓中タンパク質への共有結合量が増加したことが認められた。以上の結果から、BSO と AQ を投与した場合、GSH が枯渇したことで P450 により生成した AQ の反応性代謝物の GSH 解毒が不十分となって肝臓中のタンパク質と共有結合する量が増加し、その結果肝障害が発現することが示唆された。これらのことから、BSO 投与による GSH 枯渇動物は、反応性代謝物による IDT 様の肝障害を評価するために有用であると考えられた。 第 2 章 グルタチオン枯渇動物を用いたチェノピリジン系薬の肝障害機序の解析 チェノピリジン系薬である塩酸チクロピジン (TIC) は、抗血小板薬として広く使用されているが、稀に重篤な肝障害を引き起こすことが報告されている。この原因として、チェノピリジン骨格中のチオフェン部は肝臓中の P450 により反応性代謝物である S-oxide 体を生成する可能性があることから、肝臓中で生成した S-oxide 体がタンパク質と結合することで IDT 様の肝障害を発現する機序を考えた。 そこで TIC をラットに投与して代謝物について検討したところ、胆汁中より			

S-oxide体がGSHに結合した化合物が単離同定され、生体内で反応性の高いS-oxide体が生成していることが示された。さらに¹⁴C-TICを用いた検討から、TICの代謝物は肝ミクロソームタンパク質へ共有結合することが認められた。また、BSOによるGSH枯渇モデル動物にTICを投与した結果、TICの代謝物が肝臓中のタンパク質と共有結合した量が正常なラットに比べ有意に増加し、肝臓に著しい細胞壊死が誘発された。またこの結合量および肝障害はP450代謝阻害剤により抑制されたことから、GSH枯渇動物ではP450により生成したTICの反応性代謝物(S-oxide体)のGSH解毒が不十分となって、肝臓中でのタンパク質との結合量が増加し、その結果として肝障害が発現したことが示唆された。さらにこの結果から、TICのS-oxide体よりも下流代謝物であり抗血小板作用を有する2-oxo体を投与した場合には、反応性代謝物を生成しないために肝障害を発現することなく薬効を示すのではないかと考え、2-oxo体をGSH枯渇動物に投与して肝障害性を評価した結果、予想通り2-oxo体は肝障害性を示さず、TIC以上に安全性の高い抗血小板薬となり得ることを見出した。

以上、本研究は、反応性代謝物による肝障害誘発のインビボ評価に有効なモデル動物を作製し、チエノピリジン系薬について、肝障害機序の解明とその結果の抗血小板薬設計への還元に基づいた成果をおさめたものであり、今後の医薬品開発に有益な情報を提供するものと考えられる。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

薬物の中には、肝臓での代謝により生成する反応性代謝物によって特異体質性薬物毒性(IDT)様肝障害を引き起こすものがあるが、通常の動物実験ではこの薬物によるIDT様肝障害を見出すことは難しく、臨床において初めて顕在化する場合がほとんどである。そこで、動物実験においてIDT様肝障害発現をインビボ評価できる系を確立することは医薬品開発の分野において解決すべき課題の一つとなっている。本論文は、このIDT様肝障害の評価に有効な動物モデルを作製するとともに、それを用いてチエノピリジン系抗血小板薬の肝障害機序を解析し、さらにその結果をもとにIDT様肝障害を回避した新規血小板薬を開発することを計画したものである。

著者は、まず、反応性代謝物は通常、その大部分が内因性の Glutathione (GSH) により解毒されることから、GSHを枯渇した動物が反応性代謝物IDT様肝障害評価モデルとして有効であると考え、GSH合成阻害剤L-buthionine-(S,R)-sulphoximine (BSO)を投与したマウスを作製し、これに臨床でIDT様肝障害が誘発されることが報告されているAmodiaquineを投与して肝障害が発現することを認めた。これより、BSO投与によるGSH枯渇動物は、反応性代謝物によって引き起こされるIDT様肝障害を評価するために有用であることを見出した。

次に、臨床的に重篤な肝障害を引き起こすことが報告されている抗血小板薬、塩酸チクロピジン(TIC)を、開発したGSH枯渇動物に投与した結果、肝臓中のP450によりTIC中のチオフェン部のSH基が酸化されてS-oxide体が生成し、これがタンパク質と共有結合することでIDT様肝障害が発現することを見出した。さらにこの結果から、TICのS-oxide体よりも下流代謝物であり抗血小板作用を有する2-oxo体を投与した場合には反応性代謝物を生成しないために、肝障害を発現することなく薬効を示すのではないかと考え、2-oxo体をGSH枯渇動物に投与して肝障害性を評価した結果、予想通り2-oxo体は肝障害性を示さず、TIC以上に安全性の高い抗血小板薬となり得ることを見出した。

以上、本研究は、反応性代謝物による肝障害誘発のインビボ評価に有効なモデル動物を作製し、チエノピリジン系薬について、肝障害機序の解明とその結果の抗血小板薬設計への還元に基礎的な成果をおさめたものであり、今後の医薬品開発に有益な情報を提供するものと評価される。

よって本論文は博士(薬学)の学位論文として価値あるものと認める。
さらに、平成23年8月5日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 平成 年 月 日以降