

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医薬学 ）	氏名	佐藤 公也
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 ① 2 項該当		
論文題目			
<i>In vitro</i> 代謝試験系およびヒト肝細胞キメラマウスを用いたフェルバメートの反応性代謝物生成メカニズムの解析			
論文審査担当者			
主 査	教授	高野 幹久	印
審査委員	教授	森岡 徳光	
審査委員	准教授	河合 秀彦	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>抗てんかん薬であるフェルバメート（FBM）は，実験動物を用いた非臨床試験及びヒトにおける臨床試験では顕著な毒性を示さなかった一方，市販後に，重篤な肝毒性及び骨髄毒性が発生し，黒枠警告（black box warning）が発せられることになった薬剤である。これまでの研究により，FBM は第一段階目の代謝として，酸化あるいは加水分解を受けることが報告されている。また，加水分解を介して，反応性代謝物とよばれる，反応性に富んだ代謝物 2-phenylpropenal（2-PP）が生成し，それにより肝毒性を発症することが示唆されている。しかしながら，FBM の代謝に関与する薬物代謝酵素を含め，肝毒性の発現に至るメカニズムについては，これまでのところ十分な検討がなされていない。</p> <p>著者らは，FBM の反応性代謝物生成メカニズムの解明及び，より安全な FBM の臨床使用への貢献を目的として <i>in vitro</i> 試験及び <i>in vivo</i> 試験を実施した。</p> <p><i>In vitro</i> 試験においては，ヒトの cytochrome P450（CYP）及び carboxylesterase（CES）の各分子種を発現させた発現系ミクロソームを用いて，FBM の酸化及び加水分解に関与する薬物代謝酵素について検討した。また，<i>in vivo</i> 試験においては，マウス肝細胞の大部分がヒト肝細胞に置換されたヒト化動物モデルであるヒト肝細胞キメラマウス（PXB マウス；株式会社フェニックスバイオ）を用いて，FBM の代謝物プロファイルを評価するとともに，反応性代謝物の解毒に重要な役割を担うと考えられるグルタチオン（GSH）の変動について解析した。</p> <p>FBM を CYP 発現系ミクロソームとインキュベーションしたところ，残存する FBM の量は CYP2C8，CYP2C9 及び CYP2E1 発現ミクロソームで有意に低下した。また，FBM を CES 発現系ミクロソームとインキュベーションしたところ，残存する FBM の量は CES1c 発現ミクロソームで有意に低下した。これらの結果より，FBM の酸化代謝には CYP2C8，CYP2C9 及び CYP2E1 が関与し，加水分解代謝には CES1c が関与することが示唆された。</p> <p>FBM を投与後の血漿を UV 検出器付き液体クロマトグラフィータンデム質量分析装置（LC-UV/MS）にて分析したところ，未変化体及び 10 種類の代謝物が検出された。また，FBM を投与後の肝臓より，未変化体及び 7 種類の代謝物が検出された。これら検出された代謝物には，FBM の酸化及び加水分解で生成する代謝物に加え，2-PP が GSH 抱合を受けて生成する代謝物が複数含まれていた。これらの結果より，FBM を PXB マウスに投与後，2-PP が生成し，2-PP は GSH 抱合による解毒代謝を受けることが示唆された。</p> <p>PXB マウスより採取した肝臓を質量分析イメージング法（MSI）により分析し，内因性 GSH の変動を解析したところ，FBM の投与により GSH が減少傾向を示すことが確認された。この結果より，2-PP を解毒代謝する過程で内因性 GSH が減少し，そのことが FBM による肝毒性に関与している可能性が示唆された。</p> <p>上記の結果を著者らは以下の結論を得た。</p> <p><i>In vitro</i> 試験において，FBM の酸化代謝に CYP2C8，CYP2C9 及び CYP2E1 が関与し，加水分解代謝に CES1c が関与することが示唆されたことから，CYP2C8，CYP2C9 及び CYP2E1 による酸化代謝が 2-PP の生成を回避し，CES1c による加水分解代謝が 2-PP</p>			

の生成につながる代謝経路となるものと考えられた。従って、CYP2C8, CYP2C9 及び CYP2E1 を介した薬物間相互や、CYP2C9 の遺伝子多型は、FBM による肝毒性のリスク要因となる可能性が示唆された。

また、*In vivo* 試験において、2-PP が GSH 抱合を受けて生成する代謝物が複数検出されるとともに、FBM の投与により、肝臓で内因性 GSH が減少することが確認された。これらの結果より、2-PP を解毒代謝する過程で GSH が減少し、そのことが FBM による肝毒性に関与している可能性が示唆された。

また、本研究を通して、PXB マウスは、ヒトの代謝物プロファイルに加え、GSH のような内因性物質の変動を評価可能なヒト化動物モデルであると考えられた。こうした点を踏まえると、PXB マウスは反応性代謝物による肝毒性のメカニズム解明やリスク評価を行う上で有用なヒト化動物モデルになるものと考えられた。

以上の結果から、本論文は、FBM の反応性代謝物生成メカニズムの解明及び臨床において、FBM をより安全に使用する上で有用な基礎的知見になるものと考えられる。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医薬学）の学位を授与するに十分な価値あるものとした。