

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 古 川 忠 司

多くの薬物の効力や毒性には日周リズムが認められ、そのリズムを規定する要因の一つとして肝臓の薬物代謝酵素活性の日周リズムが重要な役割を果たすと考えられている。肝臓における種々の薬物の代謝に中心的な役割を果たしているのはチトクロームP450（以下、P450）による酸化反応であり、このP450活性における日周リズムの存在を明確にすることは極めて重要である。これまでも、P450の基質となるいくつかの薬物の酸化活性に日周リズムが認められることが報告されているが、P450には非常に多くの分子種が存在するため、P450 活性の日周リズムに関する情報はまだ充分とは言えない。加えて、P450活性の日周リズムの成立要因に関しては、いまだ不明のままである。本論文は、P450の幅広い基質となりえる7-alkoxycoumarinのO-脱アルキル化（ACD）活性を指標としたP450活性における日周リズムの検討を行い、さらにACD活性を指標にP450活性の日周リズムの成立要因を追求しようとしたものであり、6章から構成される。

第1章では、本論文の背景となる薬効や毒性の日周リズムに関する知見およびその日周リズムを規定する要因に関する過去の研究成果が概観され、また本研究でP450活性の指標としてACD活性を採択しP450活性の日周リズムに関する検討を行うに至った経緯が述べられている。

第2章では、代謝酵素活性を調べる実験で繁用されているラットの雄を用いて、ACD活性の日周リズムが調べられた。その結果、飽食条件下の雄ラットでは、ACD活性は暗期に高く明期に低い明瞭な日周リズムを示し、他の基質を用いて調べられた肝P450活性の結果と一致した。このことから、P450の多くの分子種に日周リズムが存在する可能性が示唆された。また、ACD活性は非給餌条件下においても明瞭な日周リズムを維持し、このリズムは給餌といった外的要因の影響を受けないことが明らかとなった。

第3章では、肝ACD活性における日周リズムの存在が確認された雄ラットを用いて、その日周リズムを成立させる生体内因子が調べられている。概日リズムの発振源である視交叉上核（SCN）を破壊したラットおよび副腎を摘出したラットにおいてACD活性の日周リズムが調べられた結果、SCN破壊ラットではACD活性の日周リズムは消失していたが、副腎摘出ラットではその日周リズムは存続していた。これらの結果は、ACD活性の日周リズムがSCNの制御下にあることを示すと同時に、この日周リズムが副腎由来ホルモン、特に血漿中のコルチコステロン濃度推移の影響を受けないことを示唆するものと考察されている。

第4章では、肝ACD活性の日周リズムにおける性差の有無に着目して雌ラットにおける肝ACD活性の日周リズムが調べられ、第2章で明らかにされた雄ラットの結果と比較されている。その結果、雌ラットの肝ACD活性には雄ラットで認められたような明瞭な日周リズムは認められず、この活性値の経時的

変化に雌雄差の存在することが明らかとなった。また本章では、肝代謝酵素活性の雌雄差の成立に関与することが示唆されている成長ホルモン分泌パターンが、ACD活性の日周リズムにみられる雌雄差にどのように関与するかが調べられた。その結果、成長ホルモンの雄型投与（明期に2回皮下投与）を施した下垂体摘出ラットにおける肝ACD活性は明瞭な明暗差を示し、雄の擬手術ラットの結果と類似していたのに対して、成長ホルモンの雌型投与（持続注入）を施した下垂体摘出ラットにおける肝ACD活性では明暗差は全く認められず雌の擬手術ラットの結果と類似していたことから、ラットの肝ACD活性の日周リズムに認められる性差には、成長ホルモンの分泌パターンにおける性差が強く関与していることが示唆されている。

第5章においては本研究で得られた結果を中心に既知の様々な知見を援用しながら肝臓のP450活性における日周リズムの成立機序に関する考察が展開されており、終章の第6章は総括に充てられている。

以上要するに、本研究はP450の幅広い基質となりうるACD活性を指標として雄性ラットのP450活性に日周リズムが認められることを明らかにし、そのP450活性の日周リズムの成立要因を生理学的観点から検討した結果、SCNの発振する時間情報が成長ホルモンの日周変動を伴うパルス状分泌を經由して肝臓へと伝えられP450活性の日周リズムを形成するという新たな概念を提唱するに至っており、学術上貢献することが少なくない。よって審査委員一同は申請者に対して博士（獣医学）の学位を授与してしめるべきものと判定した。