

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 江尻 紀子

生体内において非常に多くの内因性物質および外因性物質の第 I 相代謝に関わる Cytochrome P450 (CYP) 酵素は、主として肝で見い出されるが、肝以外の臓器、例えば胎盤などにも存在することが知られている。ラットは胚毒性や胎児毒性の研究に繁用されているが、妊娠中の全期間を通じて胎児と母体をつなぐ重要な器官で、内分泌機能や代謝機能を備えている胎盤における CYP の発現に関する報告はごく少なく、妊娠中の母体、胎盤および胎児のそれぞれの間での薬物代謝の流れを理解するためには、妊娠中の母体肝、胎盤および胎児肝での CYP の発現状況を明らかにすることが必要である。

本研究では、まず、ラット胎盤における CYP タンパクの発現状況を検索、その結果に基づいて CYP 誘導剤を用いた母体肝、胎盤および胎児肝における CYP タンパクの誘導実験を行った。さらに、CYP 誘導剤を用いた場合の母体肝、胎盤および胎児肝における薬物代謝酵素関連遺伝子の発現プロファイルについて検索を行い以下の結果を得た。

(1) 正常妊娠ラット胎盤を対象に、入手可能な 9 種類の CYP 抗体 (CYP1A1、CYP2B1、CYP2C6、CYP2C12、CYP2D1、CYP2D4、CYP2E1、CYP3A1 および CYP4A1) を用いて Western blot 解析および免疫組織化学的検索を行った。その結果、CYP3A1 タンパクのみが妊娠の全期間を通じて栄養膜細胞層に存在する巨細胞の細胞質に存在することが示された。

(2) CYP3A1 タンパクを誘導する薬剤、DEX および PCN を妊娠ラットに投与し、母体肝、胎盤および胎児肝について CYP3A1 抗体を用いて Western blot 解析および免疫組織化学的検索を行った。母体肝および胎児肝では、DEX および PCN 投与により、CYP3A1 タンパクの著しい誘導が認められた。胎盤では PCN の 4 回投与群でのみ対照群と比べて有意な CYP3A1 タンパクの誘導が認められた。

(3) 広範な薬物代謝酵素を誘導する薬剤として知られる PB を妊娠ラットに投与し、母体肝、胎盤および胎児肝について前述の 9 種類の CYP 抗体を用いた Western blot 解析と免疫組織化学的検索を行った。母体肝では PB 投与により CYP3A1 タンパクおよび CYP2B1 タンパク発現が増加した。胎盤では、9 種類のうち CYP3A1 タンパクの発現のみが観察されたが、有意な誘導は認められなかった。胎児肝では、Western blot 解析でのみ CYP3A1 および CYP2C6 の有意な誘導が観察されたが、その発現は弱かった。

(4) PCN および PB 投与を行った妊娠ラットの母体肝、胎盤および胎児肝を対象に、40 種類の CYP 遺伝子、16 種類の GST 遺伝子、11 種類の UDPGT 遺伝子および 2 種類の CYP 誘導

遺伝子 (orphan nuclear receptor 遺伝子) の発現について、DNA microarray 法を用いて検索を行った。40 種類の CYP 遺伝子のうち、いずれの群においても CYP3A subfamily および CYP2B subfamily に属する遺伝子を中心に有意な発現の増加が認められた。第 II 相代謝系の GST 酵素遺伝子および UDPGT 酵素遺伝子では、母体肝と胎児肝で誘導される遺伝子の種類が多く異なっており、胎盤では有意な変化が認められなかった。orphan nuclear receptor 遺伝子の発現は、Nr1i2 遺伝子が PCN 群の母体肝でのみ有意な発現の増加を示し、Nr1i3 遺伝子の発現はすべての群で変化がみられなかった。

以上の結果から、胎盤では CYP3A1 が栄養膜細胞層の巨細胞の細胞質に常在していることが明らかとなり、CYP3A1 が妊娠期間を通じて CYP による薬物代謝システムの主要な構成要素であると考えられた。胎盤で発現する CYP3A1 は、誘導剤の投与により若干の誘導を受けるが、母体肝および胎児肝で認められる程明らかではなく、また、広範な薬物代謝酵素誘導剤の投与によっても、胎盤では他の CYP 種が発現することはないことが明らかとなった。母体肝と胎児肝については、その薬物代謝能において、第 I 相および第 II 相ともに大きな差があることが明らかとなった。さらに、妊娠ラットにおける母体肝、胎盤および胎児肝における薬物代謝酵素関連遺伝子の発現プロファイルが明らかとなった。

本研究の成果は妊娠動物における薬物代謝の基礎資料として極めて重要で、胎児毒性や催奇形性等の発生毒性の研究の展開に大きく寄与するものと考えられる。よって審査委員一同は本論文が博士 (獣医学) の学位を授与するに値するものと認めた。