

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 田中 宏治

新薬開発のために実施される毒性試験において、投与期間の初期に惹起された障害が、同投与量の投与を継続すると軽減し、障害が検出されなくなることがある。これは、その化学物質の毒性に対して生体あるいは標的器官の反応性が減少したことを示す。本研究では、このような化学物質の連続的な曝露により、毒性発現の反応性が減少する「耐性」について検討した。第 1 章では、ブロモベンゼン (BB) の毒性量をラットに反復投与して、BB の肝障害に対する耐性の発現について検討している。第 2 章では、HMG-CoA 還元酵素阻害活性を有する 8-オキシムデカリン誘導体 (8-ODD) により惹起される骨格筋障害に対する耐性の発現について検討している。

第 1 章 BB 誘発肝障害に対する耐性発現

F344 ラットに BB を 150 mg/kg で単回投与した。投与 20 時間後に aspartate aminotransferase (AST) を測定し、AST の上昇が認められた動物 (I 群)、および AST に著変が認められなかった動物 (II 群) に群分けし、さらに同用量の投与を合計 9 日間行った。その結果、群分け時に対照群比約 3 倍の高値であった I 群の AST は低下し、投与 9 日目では AST は正常レベルであった。このことから、肝障害が惹起された I 群は BB の反復投与により肝障害に対して耐性を発現したと考えた。次に II 群のラットが反復投与により耐性を発現しているかを検討するため、上記の実験条件を施したラットに続けて、300 mg/kg の BB を単回腹腔内投与した。その結果、対照群 (溶媒 + 300 mg/kg の BB) と比較して、I 群および II 群における肝障害は明らかに抑制された。この結果から、初期障害の発現の有無に関わらず、その後の反復投与により耐性が発現すると考えた。

次に耐性の機序について検討した。マイクロアレイ解析では、第一相反応である CYP の抑制、および第 II 相反応であるグルタチオン抱合、エポキシドヒドラーゼおよび NAD(P)H:quinone oxidoreductase を介した加水分解の亢進、さらに Mrp3 (abcc3) の mRNA レベルの増加が検出された。これは第 I 相 (CYP)、第 II 相 (抱合) および第 III 相 (排泄) 反応が耐性に関与していることを示唆する。

以上のことから、BB の肝障害に対する耐性は、BB の肝毒性を無毒化する方向に肝臓の機能が変化した能動的な耐性であり、BB の肝毒性に対して発現した特異的な耐性と考えた。

第 2 章 8-ODD 誘発骨格筋障害に対する耐性発現

スタチンの副作用の一つとして筋障害が稀な頻度で発生する。第 2 章では、8-ODD 誘発骨格筋障害に対して耐性が認められるかを検討した。

8-ODD を 0.12% の濃度で混じた餌 (約 100 mg/kg に相当) をラットに 56 日間自由に摂取させた。筋障害の指標となるクレアチン・キナーゼ (CK) の経時的な測定において、著明な CK の上昇が投与 10 日目から観察された。しかしながら、同投与を継続したところ、投与 12 日以降 CK 値は減少し、投与 19 日以降 CK 値は正常値に復帰した。したがって、8-ODD の反復投与により骨格筋障害に対して耐性を発現したと考えた。障害前と耐性発現期の 8-ODD の曝露量に著しい差はなかった。以上のことから、骨格筋障害に対する耐性は、障害に対して何らかの抵抗因子に起因した能動的な耐性と考えた。

次に耐性の因子を明らかにするため、骨格筋のマイクロアレイ解析を実施した。耐性を発現した投与 42 日および 56 日目ともに、inhibitor for nuclear factor- κ B (I κ B) の mRNA レベルが有意に増加した。さらに投与 56 日目においては CCAAT/enhancer-binding protein delta の発現増加および cAMP-response element-binding protein /p300 の低下が観察され、これらは NF- κ B 依存性転写活性の抑制を示唆する。以上のことから、8-ODD の骨格筋障害に対する耐性は、NF- κ B 依存性転写活性の抑制に起因した能動的な耐性と考えた。しかしながら、この転写活性の抑制は、別の骨格筋障害でも防護的な作用を示すことから、8-ODD 誘発骨格筋障害に対する特異的な耐性かどうかは断定できない。

以上、本論文は化学物質に誘発される毒性がその投与を継続しても軽減するという耐性の存在とその機序を明らかにしたものであり、これらの知見は、学術上の重要性はいうに及ばず、今後の医薬品開発の安全性試験にとっても有用な知見と考えられる。よって、審査委員一同は本論文が博士 (獣医学) の論文として価値あるものと認めた。