

[別紙2]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 平尾 潤

薬物療法における治療的反応と毒性発現の間のバランスを規定する全身曝露量は、吸収、分布、代謝、及び排泄という四つの薬物動態学的な過程によって制御されているが、その中で肝臓における薬物代謝は最も変動寄与率の高い過程である。本研究は、サーカディアンリズム、摂食パターン、成長ホルモン (GH) 分泌のウルトラディアンリズム、及び生物学的性差といった主要な変動因子が肝臓の代謝機能に及ぼす影響を明らかにすることを目的に行われた。第1章は総合緒言であり、以下に説明する第2章から第4章が実験の説明、そして第5章は総合考察である。

第2章では、まず肝臓の機能に対する摂食パターンの影響が調べられた。雄ラットの肝臓において、第I相系薬物代謝酵素活性は、暗期に高く明期に低い明瞭な日周リズムを示す。サーカディアンリズムの駆動振動体としては視床下部の視交叉上核 (SCN) がよく知られているが、近年、概日振動体は、SCN のみならず肝臓などの末梢臓器にも存在することが報告されている。そこで末梢と中枢の計時機構を脱共役するために雄ラットに対して明期8時間 [給餌時間: zeitgeber time (ZT) 2~ZT10] の周期的な制限給餌処置が施された。その結果、肝臓における第I相系薬物代謝酵素活性や主要な機能の日周リズムは、SCN の駆動振動体による直接的支配というよりも、むしろ摂食行動リズムを介した末梢臓器の計時機構によって、より優位に調律されていることが明らかとなった。

第3章では、肝臓の機能に対する GH 分泌のウルトラディアン (超日) リズムの影響が調べられた。GH 分泌プロファイルは性的二型性を示し、雄ラットの GH 分泌がおおよそ 3.5 時間間隔で高振幅の間欠的バーストで特徴づけられるのに対し、雌ラットの GH 分泌は不規則かつ高頻度な低振幅の分泌で特徴づけられる。一方、ヒト型成長ホルモン (hGH) を構成的に発現する雄のトランスジェニック (TG) ラットでは、hGH 及び内因性 GH の分泌レベルが平坦化しており、雄型のパルス状分泌が認められない。そこで雄 TG ラットと雄の野生型 (WT) ラットにおける肝臓の遺伝子発現を明暗サイクルの 2 時点 (ZT6 及び ZT18) で比較したところ、TG ラットでは明暗条件に関わらず、主に外因性物質、脂肪酸、ステロイドホルモン、ピルビン酸、及び多くのアミノ酸の代謝に関わる遺伝子群の発現レベルが上方又は下方制御されており、また WT ラットと比較して TG ラットでは、雌で優位な代表的遺伝子 (*Cyp2c12* 及び *alpha-1-B glycoprotein*) の発現

が上方制御され、逆に、雄で優位な代表的遺伝子 (*Cyp2a2*、*Cyp2c13* 及び *Cyp3a2*) の発現が下方制御されるなど、遺伝子発現プロファイルが機能的に雌型化されていることが分かった。したがって、生物学的な性ではなく、性的二型な GH 分泌プロファイルが肝臓の遺伝子発現に対する性決定因子であることが示された。

第4章では、肝臓の機能に対する生物学的性差の影響が調べられた。雌雄ラットを用いて肝臓の遺伝子発現が明暗サイクルの各時期について4時間間隔 (ZT2、ZT6、ZT10、ZT14、ZT18、及び ZT22) で調べられた結果、雌雄間の時系列データの比較により同定された性的二型な遺伝子には、雄又は雌で優位なシトクロム P450 サブファミリー (*Cyp2c11*、*Cyp2c12*、*Cyp2c13*、及び *Cyp3a2*)、硫酸転移酵素 (*Estsul* 及び *Sult1c1*)、及び GST Yc2 といった代表的な性依存的遺伝子が含まれていた。生物学的パスウェイ解析の結果、性的二型な遺伝子はレチノール、外因性物質、リノール酸、又はアンドロジェン及びエストロジェンの代謝や胆汁酸の生合成に関与するものであることが示された。一方、時系列データの日周リズムを分析するためにフーリエ変換解析を用いて雌雄で普遍的に概日制御される遺伝子の抽出を行った結果、そのなかには主要な時計遺伝子や時計制御遺伝子が含まれていることが明らかとなった。興味深いことに、転写因子である SP1 及び HNF4-alpha は性的二型な遺伝子のみならず概日制御遺伝子をも統制していることが示唆され、こうしたことから性的二型性は重複する遺伝子制御ネットワークを介してサーカディアンリズムと相互連関しているものと推測された。

本研究により、肝臓における第I相系薬物代謝酵素活性や主要な代謝機能にはサーカディアンリズムが存在し、そのリズムは SCN の駆動振動体による直接的な支配よりもむしろ摂食行動リズムを介した末梢臓器の計時機構によってより優位に調律されていることが明らかとなった。こうした研究の成果は、医薬品の非臨床安全性評価における外挿性向上とともに薬物の効果を増大させながら副作用を軽減するような臨床処方デザイン設計の適正化に寄与するものと期待され学術上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は申請者に対し博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。