

〔別紙 2〕

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 堀 江 亮

本論文はカイコを薬物の評価系としての利用における有効性に関する論文である。申請者はカイコにおける薬物動態の研究を行い、本論文でカイコが薬物の評価系として薬物動態を反映した系であることについて述べている。

第 1 章の序論では研究の背景が述べられている。これまでの医薬品開発において試験管内における活性の評価では多くの候補化合物がマウスほどの哺乳類のモデル動物において治療効果を示さないという問題が提示されている。この解決には個体を用いた探索が重要であると考えられるが、多数の哺乳類の使用が困難である。そこで、より簡便に使用できるモデル動物をしてカイコが提案されている。堀江のこれまでの研究として、カイコにおける抗生物質の濃度推移から分布容積がカイコと哺乳類で一致することや、ヒトにおいて見られる抱合反応と呼ばれる代謝反応がカイコにも存在することを明らかにしたことが示されている。また、本論文においては代謝に大きな影響を与えるシトクローム P450 による代謝反応を研究の対象とすることが示されている。

第 2 章で申請者は、カイコとヒトにおけるシトクローム P450 の代謝反応の共通性を検証している。その結果、ヒトにおけるシトクローム P450 の基質のうちカフェインを除く 13 の基質がカイコ腸管において代謝を受けることを明らかにした。さらにこれらの基質はカイコ腸管ミクロソーム画分を用いた *in vitro* 反応系においても代謝を受けることを明らかにした。以上の結果から、カイコにも哺乳類と同様に多様なシトクローム P450 による薬物の代謝系が存在することが示されている。

第 3 章で申請者はトランスジェニックカイコの作出によりカイコとヒトの代謝能の差を埋めることが可能であるかを検証している。堀江はカイコ体内で代謝を受けないカフェインの代謝を担うヒトのシトクローム P450 1A2 の遺伝子を導入したトランスジェニックカイコを作出した。このカイコでは、ヒトシトクローム P450 1A2 タンパク質の発現が確認され、血中からのカフェインの消失も観察された。さらに、野生型カイコで観察されるカフェイン投与によって引き起こされる体重増加の抑制が、ヒトシトクローム P450 1A2 打ち消された。以上の結果は、ヒトシトクローム P450 1A2 トランスジェニックカイコにおいて、ヒトシトクローム P450 1A2 タンパク質が発現し、カフェインが代謝されるようになったことを示唆している。

第 4 章では、申請者はカイコにおいてどのようなシトクローム P450 遺伝子が発現しているかについて検証を行っている。その結果、複数のシトクローム P450 遺伝子が発現していることが示されている。相同性の検討から、特定のファミリーに属する遺伝子だけでなく複数のファミリーに属する遺伝子が発現していた。

以上の結果から、カイコにおいてもヒトと同様に多様な分子種のシトクローム P450 が代謝に関わっていることが推測されている。

第5章で申請者はこれまでの研究からカイコと哺乳類の化合物の体内動態には共通する部分を見いだした。よって、カイコの血液内で安定な化合物は哺乳類の血液内においても安定であると予想した。そこで、カイコにおいて血液内に安定する化合物を探索することで、哺乳類の血液中において安定な化合物を探索できるのではないかと考え、この仮説を検証するために化合物の探索を試みた。堀江はセイヒ由来のカイコ血液内に安定に存在する3種類の化合物（ノビレチン、ヘプタメトキシフラボン、タンジェレチン）を同定した。これらの化合物は哺乳類の体内でも安定であることがすでに報告されていた。以上の結果から、カイコ体内での安定性を指標にして哺乳類の体内においても安定な化合物を探索できることが示されている。

以上の結果から申請者はカイコにおいてはヒトと同様の代謝ヒトと同様の機構の代謝反応を有すること、カイコを用いたモデルが薬物の治療効果を評価する系として有用であることを示している。また、本研究で確立したカイコ血液中における安定性を指標とした化合物の探索方法により、哺乳類血液中で安定な化合物のライブラリーを構築することが可能であることが提案されている。さらに、本研究で初めて作出したヒト代謝酵素のトランスジェニックカイコは、哺乳類とカイコの薬物代謝能の差異を埋める手段として有効であることを示している。よって申請者は、博士（薬学）の学位を受けるに十分な資格を有すると判定した。