

氏 名	榊 原 有季子
国 籍 ・ 本 籍	愛知県
学 位 の 種 別	博士（薬学）
学 位 の 番 号	甲第260号
学位授与の日付	平成28年 3 月18日
学位授与の要件	名城大学学位規程第 3 条第 3 項該当
学位論文題目	肝外臓器における UDP-glucuronosyltransferase の速度論的解析ならびに発現変動に関する 研究
論文審査委員	主 査 加 藤 美 紀
	副 査 岡 本 浩 一
	副 査 灘 井 雅 行
	副 査 湯 川 和 典

論文内容の要旨

外来異物および内因性物質の代謝は、第Ⅰ相反応と第Ⅱ相反応から成る。第Ⅰ相反応では、チトクロム P450 (CYP)、アルデヒド還元酵素、エステラーゼなどにより、酸化反応や還元反応、加水分解が行われる。また、第Ⅱ相反応では、UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT)、硫酸転移酵素などにより抱合反応が行われる。これらの反応により極性基が導入され、水溶性が向上し、体外へと排泄されやすくなる。

第Ⅱ相反応における最も重要な薬物代謝酵素は UGT であり、生体内物質や薬物などの生体外異物の代謝に広く関与することが知られている。グルクロン酸抱合反応は主に肝で行われるが、肝外臓器においても UGT の発現が認められている。そのため、肝外臓器での UGT の機能を明らかにすることは、UGT の基質である生体内物質や薬物の動態を理解する上で有用である。また、UGT の発現変動が基質の作用部位で生じた場合、作用の発現に影響を与える可能性があるため、肝外臓器における UGT の発現変動を明らかにすることは重要であると考えられる。本研究では、肝外臓器におけるグルクロン酸抱合反応を速度論的に解析し、さらに、外来異物が脳 UGT 発現に与える影響について明らかにすることを目的とした。

第 1 章では、UGT の内因性基質であるセロトニンを用い、肝外臓器におけるセロト

ニングルクロン酸抱合反応の速度論的解析を行った。その結果、セロトニングルクロン酸抱合反応の K_m には臓器差が存在し、その傾向はヒトやラット、マウスでそれぞれ異なる結果を示した。各臓器におけるセロトニングルクロン酸抱合反応の速度論的パラメータは、UGT 分子種のセロトニンに対する親和性および UGT の発現量により決定される。従って、セロトニングルクロン酸抱合反応を触媒する UGT 分子種の発現量が部位ごとに異なると考えられる。各臓器における UGT 分子種のタンパク質量の定量に関しては、ラットおよびマウスにおいて、抗体の特異性が十分に得られず、定量が困難であった。そのため、各臓器における UGT 分子種の発現量とその生理的意義については、さらなる検討が必要である。以上の結果から、局所的なグルクロン酸抱合反応について検討を行う際には、UGT 分子種の発現量の臓器差を考慮する必要があると示唆された。

第 2 章では、薬物治療の標的となる肝外臓器の一つとして、脳に着目し、脳 UGT の発現が誘導される可能性を明らかにすることを目的とした。代表的な薬物代謝酵素誘導薬である β -ナフトフラボン (BNF) をラットに投与し、ラット脳 Ugt1a6 および Ugt1a7 mRNA ならびにグルクロン酸抱合活性が誘導されることを明らかにした。また、併せて CYP 分子種の誘導についても検討を行った。

Ugt1a6 および Ugt1a7 mRNA は小脳、海馬、延髄の 3 部位で有意に増加したが、他の部位では増加が認められなかった。一方、CYP1A1 および CYP1A2、CYP1B1 の mRNA は脳 9 部位全てで増加した。これらの結果から、BNF による Ugt1a6 および Ugt1a7 の転写活性化の分子制御機構が、CYP1A1 や CYP1A2、CYP1B1 と異なる可能性を明らかにした。脳における Ugt1a6 および Ugt1a7 の誘導により、脳内での UGT 基質の濃度が変動し、薬理作用が変化する可能性が示唆された。

第 3 章では、ラット脳における薬物相互作用についてさらなる検討を行った。臨床で使用されている薬物代謝酵素誘導薬として、抗てんかん薬であるフェノバルビタール (PB) をラットに投与し、ラット脳 Ugt1a6 および Ugt1a7 の変動について検討を行った。その結果、ラット脳 Ugt1a6 および Ugt1a7 mRNA ならびにアセトアミノフェングルクロン酸抱合活性が増加し、その誘導率には部位差が認められることが示された。PB は一般的に、核内受容体である CAR を介して薬物代謝酵素を誘導する。しかし、ラット脳では、PB による CAR の活性化が認められず、CAR を介した機構以外が誘導作用に関与していると考えられた。PB はラット脳で酸化ストレスを惹起することが報告されているため、酸化ストレスマーカーの定量を行った。その結果、Ugt1a6 および Ugt1a7 mRNA が増加した脳部位において、PB による酸化ストレスの増加が認められた。Nrf2 は酸化ストレスにより活性化される核内受容体であるが、Nrf2 の標的遺伝子の HO-1 mRNA が PB により増加し、HO-1 mRNA の誘導率は Ugt1a6 および Ugt1a7 mRNA の誘導率と相関した。これより、PB によるラット脳 Ugt1a6 および Ugt1a7 の誘導には、Nrf2

を介した機序が関与すると考えられた。

第2章ならびに第3章の結果から、薬物代謝酵素の誘導作用を有する薬物の曝露により、脳 UGT の発現が変動することを明らかにした。脳 UGT の発現変動は、UGT 基質であるセロトニンやドーパミンのなどの神経伝達物質や、解熱鎮痛薬のアセトアミノフェンをはじめ、抗てんかん薬のバルプロ酸や抗精神病薬のハロペリドールなどの脳内薬物濃度に影響を与え、その薬理作用を変化させる可能性が示唆された。

本研究は、肝外臓器における UGT の生理学的役割の理解ならびに、局所的な UGT 発現変動が生じる機序とその影響に関して有用な情報を提供すると考えられる。

論文審査の結果の要旨

申請者の学位論文は、審査の結果、肝外臓器におけるグルクロン酸抱合反応を速度論的に解析し、さらに、外来異物が肝外臓器の一つである脳における UDP-glucuronosyltransferase (UGT) の発現に与える影響について検討している。第 1 章では、肝外臓器におけるセロトニングルクロン酸抱合反応の速度論的解析を行い、速度論的パラメーターには臓器差が存在することを明らかにした。従って、セロトニングルクロン酸抱合反応を触媒する UGT 分子種の発現量が臓器により異なると考えられ、局所的なグルクロン酸抱合反応を評価する際は、UGT 分子種の発現量の臓器差を考慮する必要があることを示唆した。第 2 章では、薬物代謝酵素誘導薬である β -ナフトフラボンをラットに投与することで、ラット脳 UGT1A6 および UGT1A7 が誘導されることを明らかにした。また、これら UGT 分子種は、 β -ナフトフラボン投与により誘導されるシトクロム P450 1A1 や 1B1 とは異なる転写活性化機構により誘導されている可能性を示した。第 3 章では、抗てんかん薬であるフェノバルビタールの投与により、ラット脳 UGT1A6 および UGT1A7 が誘導されることを明らかにした。フェノバルビタールにより脳内のグルタチオン量やチオバルビツール酸反応性物質が増加し、さらに酸化ストレスにより発現制御されるヘムオキシゲナーゼ-1 と脳 UGT1A6 および UGT1A7 の発現変動に相関が認められた。酵素誘導に関わる核内受容体の検討から、フェノバルビタールによるラット脳 UGT1A6 および UGT1A7 の誘導は Constitutive androstane receptor でなく、NF-E2-related factor 2 を介した機序が関与することを示唆した。以上より、脳 UGT は外来異物により誘導されることを明らかにし、UGT の基質である神経伝達物質や、脳内で薬理作用を発現する薬物の脳内薬物濃度に影響を与える可能性が示唆された。これらの検討は肝外臓器における UGT の生理学的、薬物動態学的意義の理解、ならびに局所的な Ugt 発現変動が生じる機序に関して有用な情報を提供するものと考えられる。また、本学位論文は国内外の英文学術雑誌に掲載された 3 編の学術論文をまとめたものであり、学位論文としての条件を備えていると評価できる。従って、学位を授与することを妥当なものと判断する。