

論文審査の結果の要旨

薬剤性肝障害発症に関与する反応性代謝物の解明手法に関する研究

Studies for Identification of Reactive Metabolites Related to Drug-Induced Liver Injury

論文提出者 長 直樹 (Cho, Naoki)

ヒトにおける薬剤性肝障害 (DILI) の発症メカニズムとして重要な CYP を介した代謝物 (反応性代謝物) の解明手法は十分に確立しているとは言えない。一方、高尿酸血症治療薬 benzbromarone (BBR) は、DILI を誘発する薬物として知られている。近年、BBR の反応性代謝物の生成についていくつかの知見が報告されているが、ヒトにおける DILI の発症原因となる反応性代謝物は明らかとなっていない。そこで本研究では、BBR をモデル薬物として、ヒトにおける DILI の発症原因となる反応性代謝物の解析手法の確立を目的として、1) BBR の新規反応性代謝物の同定、2) BBR 中間代謝物から生成する反応性代謝物と肝障害発現との関連性の検討、3) ヒト肝キメラマウスを用いたヒトにおける BBR 肝障害発現に関与する反応性代謝物の解明、の三部からなる研究を遂行した。

第一部では、BBR の主要代謝物である 1'-hydroxy BBR から生成する反応性代謝物が細胞毒性の原因となる可能性を推定し、ヒト肝ミクロソームによる反応性代謝物の検出を試みた。その結果、1',6-dihydroxy BBR を同定

するとともに、本中間体から生成する 3 種類の反応性代謝物の化学構造と生成経路を検討し、ヒト肝ミクロソームにおいて 1'-hydroxy BBR から 1',6-dihydroxy BBR の生成を介し複数の反応性代謝物が生成することが示された。また、1'-hydroxy BBR から 1',6-dihydroxy BBR への代謝には CYP2C9 が、1',6-dihydroxy BBR から複数の反応性代謝物への変換には、CYP 及び非酵素的な反応が関与していることが示された。

第二章では、BBR の主要代謝酵素である CYP2C 及び CYP3A の発現を誘導する CYP 誘導剤を前処置したマウスへ BBR を投与することで、第一章で見出された反応性代謝物の生成とマウスにおける肝機能の関連性を明らかにすることを目的とした。その結果、薬物代謝酵素の誘導剤としてデキサメタゾンを用いたマウスに BBR を経口単回投与することで、肝機能の低下が認められた。また、肝機能マーカーと肝臓中 GSH 付加体の生成量に関する見出された。本知見より、BBR の 1' 位及び 6 位が水酸化された後に非酵素により生成する反応性代謝物がマウスにおいて肝障害を引き起こす可能性が示唆された。

第 3 章では、ヒト由来の肝細胞を有するヒト肝キメラマウスを用いることで、ヒト生体内で生成する反応性代謝物を予測することを目的とした。ヒト肝キメラマウスは、ヒトと同様の BBR 及び水酸化代謝物の血中曝露比を示したことから、ヒトに近似した BBR の動態特性を有することが示唆された。また、ヒト肝キメラマウスにおける 1' 位及び 6 位の水酸化並びにベンゾフラン環のエポキシ化を介し生成する反応性代謝物の付加体の生成量がコントロールマウスと比較し高かったことから、これら反応性代謝物はヒト肝キメラマウスに生着したヒト肝細胞において生成したと考えられた。従って、これら反応性代謝物がヒト生体内においても生成し、DILI 発症に関与する可能性が考えられた。

本研究では、BBR をモデル化合物として、新規反応性代謝物の存在を明らかとするとともに、肝機能低下への関与を示唆した。更に、ヒト肝キメラマウスを用いて、ヒト肝における BBR の反応性代謝物を明らかとした。これらの検討により、BBR の 1' 位及び 6 位の水酸化を介して生成する反応性代謝物が、BBR による DILI 発症に関与する可能性が示唆された。本研究で用いた一連の手法は、DILI 発症に繋がる反応性代謝物を生成し得る医薬品候補の選択回避に繋がると考えられる。以上の研究内容は学術的にも高く評価できることから、博士（薬学）の学位に相当するものであることを認める。

令和 5 年 3 月 2 日

主査	明治薬科大学	教授
	植沢 芳広	印
副査	明治薬科大学	教授
	花田 和彦	印
副査	明治薬科大学	教授
	山中 正道	印