

氏名	上口 英則		
学位の種類	博士(生物科学)		
学位記番号	博甲 第 8566 号		
学位授与年月日	平成 30年 3月 23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Investigation of Phenylacetyl-glycine and Hippuric Acid in Plasma as Potential Biomarkers for Drug-induced Phospholipidosis (薬剤誘発性リン脂質症のバイオマーカーとしての血漿中馬尿酸とフェニルアセチルグリシンに関する研究)		
主査	筑波大学教授	理学博士	沼田 治
副査	筑波大学教授	博士(医学)	千葉 智樹
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	丹羽 隆介
副査	筑波大学准教授	博士(理学)	桑山 秀一

論 文 の 要 旨

薬物誘発性リン脂質症 (drug induced phospholipidosis, PLD) は、薬物投与によって細胞質内にリン脂質が過剰に蓄積する組織学的な変化である。その発症メカニズムは明らかになっていない。リン脂質が長期にわたり過剰蓄積することにより臓器不全に至る可能性があるため、障害が現れて改善が見込めない場合には、薬剤の開発中止となる注意すべき毒性徴候の一つである。臨床現場においても多くの PLD 誘発薬剤が用いられており、例えば抗不整脈であるアミオダロンの投与により、肺や肝臓にリン脂質が蓄積し、間質性肺炎、肺胞出血や肝炎などの致死性の副作用を引き起こすことが知られている。PLD の現時点での診断手段は病理組織学的検査のみであるが、本検査は組織を採取する侵襲的な評価法である。また PLD が発現する臓器も多岐にわたるため、経時的な検討には不向きであり、定量性にも問題がある。したがって、PLD 副作用を早期、正確に検出、予見できるサロゲートマーカーの発見が待望されていた。

PLD 発症のメカニズムは、リン脂質代謝阻害だけではなく、リン脂質の生合成、脂質代謝など多岐にわたる代謝異常によるものであると考えられている。本論文で著者は、蓄積リン脂質の代謝分解と生合成変動も含めた評価を目的として、メタボロミクスによる PLD の新たなバイオマーカー探索を実施した。さらに、著者は、血液や尿のように非侵襲的で、経時的に採取できる検体を対象にして感度よく検出可能

なサロゲートマーカーを探索し、その利用可能性について評価した。

第1章では、PLDのバイオマーカー探索について述べられている。代表的なPLD惹起物質としてアミオダロン(抗不整脈薬)、クロロキン(抗マラリア薬)、タモキシフェン(抗癌薬)、キナクリン(抗マラリア薬)、フルオキセチン(抗うつ薬)を投与したラットの尿と血漿を試料として、著者は薬剤投与によって変動する物質を核磁気共鳴法で検索した。その結果、馬尿酸(HA)とフェニルアセチルグリシン(PAG)を見出し、質量分析法でもその変動を確認した。これらの量的な変動は、既存のPLDの指標である病理組織像の変化と一致し、特にPAG/HA比はPLD惹起物質の投与量や経時変化と相関していた。HAとPAGはいずれもフェニルアラニン異化過程の中間代謝物であり、特にHAはβ酸化により生成される物質であることから、PLD惹起化合物によるHAの低下は、脂質β酸化による代謝の障害を示唆するものであると考えられた。

第2章では、PLDのバイオマーカー候補であるHAとPAGの定量法について述べられている。著者は、見出されたバイオマーカー候補であるHA、PAGの測定の簡便性や処理能力を向上させるため、高速液体クロマトグラフィーと質量分析装置を用いた定量法を構築した。生体試料中内因性成分であるHA、PAGの正確な定量法の構築のため、重水標識したHAとPAGを標準物質として用い、post-column infusion法によるイオン化抑制の確認、夾雑物の影響を抑えるための試料の希釈方法の最適化を行うことにより、定量感度、定量直線性、分析精度、真度の高い評価法を構築した。

著者は本定量法を用い、代表的なPLD惹起化合物であるアミオダロンをラットに投与したときの経時的な血漿中HA、PAG濃度変動評価を実施した。その結果、血漿中HA、PAG濃度変動は薬剤投与量、投与中断後の回復期、および採血時間との関連性を示した。したがって、HAとPAGはLD診断のための非侵襲的バイオマーカーとして利用できることが明らかになった。

審 査 の 要 旨

著者はメタボロミクスによって、PLD惹起物質を摂取させたラットの尿中および血中からPLDサロゲートマーカーとして、HAおよびPAGを発見した。さらに、HAおよびPAGの定量評価系を確立した。これらの研究成果は、薬剤誘発性PLDの病態を非侵襲的かつ経時的に評価できる指標を提供するもので、PLD由来の重篤な副作用の回避による患者QOLの向上実現につながる。また、本研究成果は、創薬研究においてPLD毒性の少ない候補化合物の選択に道を開くものであり、応用面において多大な貢献をすると期待される。

平成30年1月31日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士(生物科学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。