



Title	白内障の毒性評価におけるメタボノミクスの応用研究
Author(s)	宮園, 優子
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58574">https://hdl.handle.net/11094/58574</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	みやの 園 優 子
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第 24522 号
学位授与年月日	平成23年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 薬学研究科応用医療薬科学専攻
学位論文名	白内障の毒性評価におけるメタボノミクスの応用研究
論文審査委員	(主査) 教授 平田 收正 (副査) 教授 那須 正夫 教授 高木 達也 教授 堤 康央

## 論文内容の要旨

医薬品開発は、極めて長い開発期間と莫大な研究開発費を特徴としており、開発の成功確率向上は製薬企業にとっての急務の課題である。医薬品開発の中断には非臨床・臨床試験段階における安全性上の懸念が大きな割合を占めていることから、適切なバイオマーカーの活用やメカニズム検討による動物を用いた毒性評価により開発のより早い段階で有望な化合物を選抜することが重要と考えられる。オミクスは生体成分を網羅的に解析する手法であり、非臨床段階の動物を用いた毒性評価への応用が期待されている。その中でも低分子代謝物をターゲットとするメタボノミクスは、ヒトへの外挿性の高いバイオマーカー探索が可能であることや測定のスループットの良さから有望視されている。そこで本研究では、二種の白内障モデルラットを用いて白内障のマーカー探索ならびにメカニズム検討を行い、メタボノミクス解析が動物を用いた毒性評価に有用か否かを考察した。

*N*-メチル-*N*-ニトロソウレア (MNU) 誘発白内障ラットを用いたメタボノミクス解析により、水晶体において白内障の発症・進行に関連して $\alpha$ -アミノ酸、グルタチオン、タウリン等の多くの代謝物の変動することが明らかとなった。水晶体の栄養成分である $\alpha$ -アミノ酸の多くは、MNUによる全身性の細胞毒性を示唆する一般症状の悪化や体重変動の認められた白内障の発症前後に減少を示し、一般症状や体重の回復と合わせて、白内障の進行に伴い回復する傾向にあった。このことから、MNUによる毒性からの回復過程が白内障の発症に関連する可能性が考えられた。グルタチオンは水晶体における重要な酸化ストレス防御系であり、白内障発症との関連が知られている。白内障の発症及び進行時に減少が認められたことから、MNUによる白内障の発症に酸化的ストレスが重要な役割を果たしていることが明らかとなった。また、グルタチオンの減少と同時期に、成長因子の一つであるFibroblast growth factor-2 (FGF-2) の増加が認められた。成長因子は水晶体上皮細胞の分化・増殖に関わり、その異常が白内障発症のメカニズムの一つとして考えられている。グルタチオンの減少は活性酸素種の産生を示唆するが、活性酸素種は重要なシグナル伝達物質の一つであり、成長因子との関連も知られている。以上のことから、酸化的ストレスとそれに関連した成長因子の異常が、MNU投与による白内障に何らかの役割を果たすと考えられた。タウリンは水晶体における浸透圧調節成分であり、白内障発症時に減少す

ることが知られている。本研究では白内障の進行した時点でのみ減少していたことから、MNU白内障においてタウリンの減少は白内障発症の原因ではなく結果として起こる事象と考えられた。これら水晶体で変動のあった代謝物の経時変化から、MNU誘発白内障のメカニズムとして、MNUによる全身性の細胞毒性により、水晶体の栄養成分であるアミノ酸供給が障害され、グルタチオンの合成を阻害、酸化的ストレスが惹起されたと考えられた。酸化的ストレスによりクリスタリン等の水晶体タンパク質に異常を来たすとともに、傷害からの回復過程でFGF-2等の成長因子を増加させ水晶体上皮細胞の分化・増殖に異常を起こし、白内障の発症に至ったものと考えられた。また、これら変動のあった代謝物は白内障のマーカー候補となる可能性が考えられた。

上記代謝物の変動が白内障に関連したものであることを検証するため、MNUとは異なるメカニズムで白内障を発症するストレプトゾトシン（STZ）誘発糖尿病性白内障ラットにおける水晶体での代謝物変動を検討したところ、 $\alpha$ -アミノ酸、グルタチオン、タウリン等の多くの代謝物がMNU白内障と共通して変動することが明らかとなった。このことから、これら代謝物が発現機序に因らない一般的な白内障検出のマーカー候補となる可能性が考えられた。また多くの代謝物は、白内障の発症よりも早期に変動していたことから、白内障早期検出のマーカー候補として期待される。しかしながら、本検討で見出された白内障に関連する可能性のある代謝物は、二種の白内障モデルラットで変動の程度やタイミングが異なる場合もあった。例えば、MNU誘発白内障では多くの $\alpha$ -アミノ酸は白内障の進行した時点で回復していたのに対し、STZ誘発白内障においては、白内障の発症前後から白内障の進行時にかけて持続的に減少していた。またグルタチオンやタウリンは、MNU誘発白内障では白内障発症後に減少を示したのに対し、STZ誘発白内障では発症前から顕著に減少していた。したがって、白内障のバイオマーカーとして実際の毒性評価に応用するためには、既存の検査と比較した場合の感度や、白内障発症とマーカー変動のタイミング等に関する更なる特徴付けが必要と考えられた。

以上の検討から、メタボミクスを応用した毒性評価は、標的を限定しない網羅的な手法により、毒性メカニズムに関する新規知見を得られる可能性があるとともに、毒性評価に有用な新規バイオマーカー候補の探索が可能と考えられた。このことは、メタボミクスが毒性評価におけるバイオマーカー探索やメカニズム検討に有用な手法であることを示唆しており、医薬品開発の現場でこれまで通常行われてきた古典的な手法に基づく毒性評価にメタボミクスの手法を応用することで、早期検出バイオマーカーによる開発初期段階における化合物の効果的な選抜や、動物を用いた毒性試験の結果をヒトに外挿し真の毒性リスク評価を行う上で有用なメカニズム検討に寄与することが期待される。それにより、非臨床・臨床試験段階における開発中断を可能な限り回避し、費やした研究開発費を確実に上市へとつなげ、より有効でより安全な医薬品を短い開発期間で創出していく一助となることが望まれる。

## 論文審査の結果の要旨

博士論文「白内障の毒性評価におけるメタボミクスの応用研究」では、2種の白内障モデルラットを用いてメタボミクスマーカー探索及びメカニズム解析を行い、本手法が非臨床における動物を用いた毒性評価に有用な手法であるか否かを検討した。

まず、MNU誘発白内障モデルラットを用いた検討により、白内障の発症・進行に関連して $\alpha$ -アミノ酸、グルタチオン、タウリンに加え、複数の未同定イオンが変動することを明らかにした。変動のあった代謝物の経時変化から、MNU誘発白内障のメカニズムを、MNUによる全身性の細胞毒性により水晶体の栄養成分であるアミノ酸供給が障害され、これにより抗酸化機能を有するグルタチオンの合成阻害と酸化的ストレスの惹起が誘発され、この酸化的ストレスによってクリスタ

リン等の水晶体タンパク質が異常を起こした、と考察した。また、これら変動のあった代謝物は白内障のマーカー候補となることを示した。

次に、これら代謝物の変動が白内障に関連したものであるか否かを検証するため、STZ誘発糖尿病性白内障モデルラットにおける変動を検討し、 $\alpha$ -アミノ酸、グルタチオン、タウリンを含む多くの代謝物が共通して変動することを明らかにした。これにより、これら代謝物は発現機序に寄らない一般的な白内障検出のマーカー候補となる可能性を示した。また多くの代謝物は、白内障の発症よりも早期に変動していたことから、白内障早期検出のマーカー候補としても期待される。

これらの研究成果は、学術的にも高いレベルにあり、さらに今後の医薬品開発研究の進展に大きく貢献する有用な知見と言える。また、本成果の一部は、原著論文としてすでに英文学術雑誌に発表されている。

以上の研究内容の審査により、本論文は学術的な観点および今後広範な応用が期待できる実用的な応用研究という観点から、非常に優れた研究であることを確認し、大阪大学大学院薬学研究科博士後期課程の博士論文に値するものと判断するに至った。