九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

内分泌毒性の種差のメカニズム検討 ： 抗喘息薬SMP-028のステロイド合成阻害に起因する内分泌毒性の種差

西里，洋平

https://hdl.handle.net/2324/1500447

出版情報：九州大学，2014，博士（薬学），論文博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（3）

西里洋平

（様式９－３）

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では、抗喘息薬 SMP-028 の安全性試験において認められたラットとサルの内分泌毒性の種差を契機として、内分泌毒性の種差のメカニズムについてステロイド合成系に着目し検討した。また、ヒトにおいて内分泌毒性が惹起されるかについても検討が加えられており、以下の成績が得られている。

【第一章】

SMP-028 の安全性試験においてラットで認められた内分泌毒性と同様の毒性を惹起する化合物が知られており、それらの化合物は共にステロイド合成系を阻害することで内分泌毒性を惹起していると報告されている。そこで、SMP-028 の内分泌毒性についてもステロイド合成系が関与している可能性があることから、ラット副腎や精巣、卵巣の初代培養細胞を用いて SMP-028 のステロイド合成系への影響について検討を行っている。まず、SMP-028 のステロイド合成系に対する影響を検討する前に、細胞毒性の検討を行い 10 μM 以下では細胞毒性が起こらないことを確認している。その後、ステロイド合成系への影響を 10 μM 以下の濃度で検討している。その結果、SMP-028 は、雄副腎細胞および雌副腎細胞、精巣細胞、卵巣細胞において培養上清中の progesterone の量を減少させた。そして、精巣細胞では testosterone の量を、卵巣細胞では estradiol の量をそれぞれ減少させた。Progesterone はステロイド合成系において aldosterone および corticosterone、testosterone、estradiol 等のステロイドホルモンの前駆体であることから、SMP-028 はラットステロイド合成系を阻害すると考えられた。SMP-028 をラットに投与して内分泌毒性が認められた投与量における血中濃度と本検討で得られた IC_{50} を比較することで、ラット *in vivo* においても SMP-028 がステロイド合成系を阻害すると考察されていた。そして、内分泌毒性の原因に関しては、SMP-028 がラット *in vivo* においてステロイド合成系を阻害することにより、血中の aldosterone および corticosterone、testosterone、estradiol が低下し、これらのステロイドホルモンによる視床下部や下垂体におけるホルモン分泌に対する抑制機構が働かず、その結果として内分泌毒性が惹起されたと推察されていた。

【第二章】

SMP-028 と同様の内分泌毒性が認められた化合物は、ステロイド合成酵素を阻害することによりステロイド合成系を阻害することが知られている。そこで、第一章で認められた SMP-028 のステロイド合成系阻害の原因について、ステロイド合成酵素に着目し検討を行っている。SMP-028 のステロイド合成酵素への影響を確認する前に、12 種類のラットステロイド合成酵素阻害評価系を構築している。阻害評価系は、反応時間の直線性および濃度依存性を確認した速度論的に最適化されたものであった。構築した阻害評価系を用いて、SMP-028 のステロイド合成酵素への影響を検討し、neutral cholesterol esterase (CEase) を強く阻害していることを明らかにした。第一章と同様に、SMP-028 をラットに投与して内分泌毒性が認められた血中濃度と本検討で得られた neutral CEase に対する IC_{50} を比較し、ラット *in vivo* においても SMP-028 が neutral CEase を阻害すると考察された。第一章の結果およびラット内分泌毒性の所見については、ラットステロイド合成系への cholesterol の供給に着目することで、ラット *in vivo* における neutral CEase の阻害に起因すると考察されていた。

【第三章】

第二章の結果を元に、サルで内分泌毒性が惹起されない原因およびヒトにおいて内分泌毒性が惹起されるかを明らかにする目的で、cholesterol esters の加水分解酵素であるサルとヒトの acid CEase と neutral CEase に着目し検討を行っている。SMP-028 の当該酵素への影響を確認する前に、4 種類の阻害評価系を構築している。阻害評価系は、反応時間の直線性および濃度依存性を確認した速度論的に最適化されたものであった。構築した阻害評価系を用いて SMP-028 を評価し、サル neutral CEase をラット neutral CEase に比べ弱く阻害し、その IC_{50} は 31.1 μM であることを明らかにした。また、ヒト neutral CEase への阻害作用もラット neutral CEase に比べ弱く、その IC_{50} は 33.8 μM であることも明らかにした。一方、サルおよびヒトの acid CEase への阻害作用は 100 μM まで認められなかった。SMP-028 の neutral CEase に対する阻害能がサルで弱いことおよび SMP-028 をサルに投与した際の血中濃度が neutral CEase に対する IC_{50} より低いことから、SMP-028 はサル *in vivo* において neutral CEase を阻害しないと考えられた。また、サルステロイド合成系への cholesterol の供給に着目し、サルステロイド合成系で重要な acid CEase への阻害が認められていないことから、SMP-028 はサル *in vivo* ステロイド合成系を阻害せず、結果としてサル *in vivo* では内分泌毒性が惹起されないと考察されていた。また、ヒトにおいてもサルと同様に、SMP-028 のヒト neutral CEase への阻害作用がラット neutral CEase より弱いことおよびヒトステロイド合成系への cholesterol の供給に対する neutral CEase の寄与がサルと同等であること、ヒトステロイド合成系においても重要な acid CEase への阻害は認められていないことの 3 点から、サルと同様にヒト *in vivo* においても内分泌毒性が惹起されないと考察されていた。

本研究により、SMP-028 のラットおよびサルで認められた内分泌毒性の種差の主な原因は、SMP-028 の neutral CEase に対する阻害能の種差によることを明らかにした。そして、ラットで認められた内分泌毒性は、ラット・サル・ヒトの 3 種間では、ラット特有の毒性であることを明らかにしている。それに加えて、本研究は、ラットおよびサル、ヒトにおける内分泌毒性の種差に関する知見の集積に寄与し、生体内の内分泌系の種差に関する研究の進展に貢献することが期待され、博士（薬学）論文として十分に価値ある研究内容であると評価された。