



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Investigation for the mechanism of quinolone antibacterial agent ofloxacin-induced chondrotoxicity in juvenile rats [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	後藤, 浩一
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	乙第6906号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/56208
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Koichi_Goto_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：後 藤 浩 一

審査委員	主査	教授	稲 葉 睦
	副査	教授	奥 村 正 裕
	副査	教授	石 塚 真由美
	副査	准教授	乙 黒 兼 一

学位論文題名

Investigation for the mechanism of quinolone antibacterial agent ofloxacin-induced chondrotoxicity in juvenile rats

（キノロン系抗菌薬オフロキサシンの幼若ラットにおける関節毒性発症機序に関する研究）

キノロン系抗菌薬（キノロン薬）は幼若動物に関節毒性を引き起こすことが知られるが、その発症機序は不明である。そこで本研究では関節毒性発症に関与する因子を見出すため、3 週齢雄性幼若ラットの大腿骨遠位関節軟骨を用いて、1) キノロン薬 ofloxacin (OFLX) を投与した際の遺伝子発現変動を解析、2) 関節毒性を示さないキノロン薬と OFLX との軟骨内薬物濃度と遺伝子発現変動を比較し、さらに 3) 軟骨に対する荷重負荷が病変形成と遺伝子発現変動に及ぼす影響を調べることで関節毒性発症機序を考察した。

第 1 章では、OFLX を 900 mg/kg の用量で単回経口投与した幼若ラットから、投与後 24 時間まで経時的に大腿骨遠位関節軟骨を採取して GeneChip を用いた遺伝子発現解析を実施するとともに、定量 RT-PCR により GeneChip 解析で変動が認められた遺伝子の発現を調べた。その結果、9 つの遺伝子で用量依存的な発現増加あるいは減少を見出した。それらのうち、Tnfrsf12a、Ptgs2、Plaur、及び Mmp3 遺伝子の発現を *in situ* hybridization で調べ、遺伝子の発現増加が軟骨病変部位周辺で生じることを明らかにした。これらの結果から、OFLX の関節毒性発現にサイトカイン、ケモカイン、あるいはプロテアーゼの作用が関与することを考察している。

次いで第 2 章では、まず、同じくキノロン薬である DC-159a と DX-619 を幼若ラットに単回、あるいは 7 日間反復で投与して組織病変の有無を調べ、300 mg/kg/day 以上の OFLX 投与で生じる上腕骨、ならびに大腿骨遠位関節軟骨の組織病変が、これらのキノロン薬では認められないことを示した。これを受けて、DC-159a、あるいは DX-619 を単回経口投与した幼若ラットの大腿骨遠位軟骨内の薬物濃度を測定し、また、第 1 章で OFLX 投与時に発現変動がみられた 9 つの遺伝子の発現を定量 RT-PCR により解析して、OFLX との比較を試み

た。その結果、軟骨内薬物濃度測定では、900 mg/kg で投与した DC-159a、あるいは DX-619 の軟骨内最高薬物濃度（軟骨内 C_{max} ）は 300 mg/kg で用いた OFLX の軟骨内 C_{max} とほぼ同等、あるいはやや低かったが、DC-159a、DX-619（900 mg/kg）の軟骨内薬物濃度時間曲線下面積（軟骨内 AUC_{0-24h} ）は OFLX（300 mg/kg）の軟骨内 AUC_{0-24h} より高いことを示した。さらに、DC-159a、あるいは DX-619 を投与した幼若ラット関節軟骨では、OFLX 投与の際に発現が増加した *Tnfrsf12a*、*Ptgs2*、*Plaur*、及び *Mmp3* 遺伝子に明らかな変化がみられないことを示した。これらの結果から、OFLX の関節毒性発現には特定遺伝子の発現誘導が関与することを示唆している。

第3章では、キノロン薬の関節毒性に荷重の関与が示唆されていることを踏まえて、OFLX を単回経口投与した後、2～8 時間の尾懸垂処置を施し、投与 8 時間後に組織学的検査を実施するとともに、*Tnfrsf12a*、*Ptgs2*、*Plaur*、及び *Mmp3* 遺伝子の発現量を定量 RT-PCR で調べた。その結果、尾懸垂時間が長くなるのに伴い関節軟骨の組織学的変化と遺伝子発現は低下する傾向が認められ、8 時間の尾懸垂処置を施すと、これらの変化が認められなくなること示した。

以上のように、本研究は、OFLX による関節病変形成と特定遺伝子の発現増加が関連することを明らかにし、さらに、これら遺伝子発現の変動と病変形成に、軟骨への荷重負荷が重要な役割を果たしていることを明確に示したものである。本研究の成果は、キノロン薬の関節毒性発現機序解明の端緒となるものであり、毒性のない薬剤の開発にも大きく貢献するものである。よって、審査員一同は、上記学位論文提出者後藤浩一氏が博士（獣医学）の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。