Osaka University Knowledge Archive

Title	薬物代謝酵素CYP3A4発現量の個体差に影響を及ぼす因子に関する研究 : タウリン、胆汁酸を中心に
Author(s)	松田, 秀康
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44155
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【2】

氏　　名	松　田　秀　康（まつ だ ひで やす）
博士の専攻分野の名称	博　士（臨床薬学）
学 位 記 番 号	第　17787　号
学位授与年月日	平成15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	**薬物代謝酵素CYP3A4発現量の個体差に影響を及ぼす因子に関する研究 ータウリン、胆汁酸を中心にー**
論 文 審 査 委 員	（主査） 教 授 東　純一 （副査） 教 授 馬場 明道　教 授 松田 敏夫　教 授 西原　力

論 文 内 容 の 要 旨

高齢化社会の到来、多数の医薬品開発にともない、薬剤の併用機会が増え、薬物相互作用は大きな関心事である。また、健康食品等と医薬品との相互作用も報告されており、これら相互作用は医薬品の適正使用を考える際の重要なテーマの一つである。一方、薬物に対する反応には個体差が存在し、効果や副作用が大きくばらつくことが知られている。これらの原因には、薬力学（Pharmacodynamics）と薬物動態学（Pharmacokinetics）が関与するものに分類されるが、医薬品の薬物動態の代謝過程での相互作用や個体差が多く報告され、特に薬物代謝酵素であるCytochrome P450（CYP）が注目されている。主要な代謝酵素であるCYP3A4は、本酵素は肝臓および小腸に多く存在し、薬物の初回通過効果に大きな影響を与え、医薬品の50%以上が代謝を受けるため、酵素の活性変動は臨床上極めて重要な問題である。しかしながら、CYP3A4活性には非常に大きな個体差が知られている。

我々は、ヒト肝臓試料にてCYP3A4 mRNA量とその代謝活性に良好な相関を明らかにしており、CYP3A4 mRNA量の定量にて本酵素活性を予測できると考えている。また、ヒト肝癌由来細胞株HepG2を用いたin vitro実験系で、CYP3A4誘導の評価系構築を行ってきた。そこで私は、CYP3A4の個体差に影響を与える可能性のある因子として、ステロイドホルモン、食餌由来成分や健康食品由来物質に着目し誘導評価を行った。また、RFP（rifampicin）によるCYP3A4 mRNA誘導増強作用が確認されたtaurineについて詳細に検討を行い、taurineがその組成に影響を与える胆汁酸についてもCYP3A4 mRNA発現への影響について検討を行った。

まず、各種ステロイドホルモンや健康食品由来物質等がCYP3A4 mRNA発現に与える影響についての検討を行った。その結果、taurineおよびCa^{2+}にRFPのCYP3A4誘導を増強する作用がみられた。Taurineは非必須含硫アミノ酸で、臨床的にうっ血性心不全および肝機能異常に対する治療薬として処方される他、魚介類や健康ドリンク剤にも多く含まれており、他の薬物服用時において肝薬物代謝酵素の量的変動に影響を与える問題が懸念される。Taurineの肝臓での生理作用は、胆汁酸と結びつき抱合胆汁酸となり、胆汁中に排泄され、腸肝循環することである。その中で、Taurineは肝臓中に速やかに取り込まれることから、経口摂取時に肝臓中でのtaurine濃度上昇が予測される。したがって、このtaurine濃度の上昇がヒトCYP3A4の個体差の原因になっている可能性が考えられた。一方、Ca^{2+}にもtaurineと同様にRFPの誘導増強作用がみられた。しかし、Ca^{2+}の場合、その血中濃度は9-10 mg/dl程度に保たれており個体差は少ないため個体差の原因になっている可能性は少ないと考えた。

次に、この taurine の影響について、濃度依存性、時間依存性、RFP 以外の CYP3A4 mRNA 誘導剤への影響等について検討し、その機序の解明を試みた。その結果 CYP3A4 mRNA 誘導増強作用は濃度依存的にみられた。また、時間依存性の検討では、taurine 処置により RFP 単独では誘導が認められなかった添加 6 時間後より誘導が観察された。しかし、taurine は誘導剤である RFP の細胞内濃度には影響を与えなかったが、RFP が taurine の細胞内濃度に影響を与えることが示された。一方、細胞内 Ca^{2+} 濃度に対する RFP および taurine の作用については、RFP により細胞内遊離 Ca^{2+} 濃度が低下することが示され、taurine 処置により回復することが観察された。これまで、マウスの初代肝細胞での検討で、細胞内 Ca^{2+} 濃度が Phenobarbital（PB）の CYP3A の誘導発現に関与しているとの報告もあり、Ca^{2+} 添加により RFP の CYP3A4 mRNA 誘導が増強されていることから、taurine による誘導増強作用の機序として、細胞内 Ca^{2+} 濃度が考えられた。次に、他の誘導剤による検討では、taurine の効果は転写因子である PXR（pregnane X receptor）を介する誘導剤に対して強くみられたが、転写因子である CAR（constitutively activated receptor）を介する PB では明らかではなかったことことから、PXR を介した転写段階での関与が示唆された。

最後に胆汁酸の CYP3A4 mRNA 発現に与える影響について検討を行った結果を述べる。胆汁酸は CYP3A 誘導作用に関与することが知られているステロイド骨格を持ち、生体内では腸肝循環を行っており、CYP3A4 発現部位である小腸および肝臓と存在部位が一致する。また、RFP には胆汁酸排泄蛋白 Bsep（bile salt export pump）を阻害し、胆汁酸の細胞内蓄積作用が報告されており、taurine および RFP 併用処置時には、細胞内胆汁酸中の taurine 抱合体量が上昇している可能性が示唆された。これらのことから CYP3A4 mRNA 発現量に最も大きく関与しているのは、taurine の胆汁酸への影響であると考えた。そこで胆汁酸の CYP3A4 mRNA 発現への影響について、HepG2 細胞を用いた誘導評価系にて検討を行った。

その結果、胆汁酸の taurine 抱合体である taurocholic acid（TCA）や taurodeoxycholic acid（TDCA）に taurine 同様の誘導増強作用がみられた。一方、taurochenodeoxycholic acid（TCDCA）には誘導減弱作用がみられた。HepG2 細胞内で合成される胆汁酸は 51%が cholic acid（CA）、14%が chenodeoxycholic acid（CDCA）であることから、taurine 添加時に増加する胆汁酸は、CYP3A4 発現抑制作用を持つ TCDCA と比較して、発現増強作用を持つ TCA が増加すると考えられる。したがって、taurine 添加時には HepG2 細胞内で TCA が増加し、CYP3A4 mRNA が増加すると考えられた。また、胆汁酸により CYP3A4 mRNA 誘導に影響がみられ、肝臓中の胆汁酸量には個体差があることから、これが CYP3A4 mRNA 発現の個体差の原因となっている可能性も考えられる。また、肝臓での胆汁酸量は肝疾患により大きく変化し、またある種の薬物投与により、肝臓内の胆汁酸量が上昇することが知られており、これらの患者における CYP3A4 活性と胆汁酸との関係については、今後の検討課題である。今回実施した HepG2 細胞を用いた実験系では、胆汁酸による CYP3A4 活性への影響を示唆する結果が得られており、今後さらに、in vivo でのヒト胆汁酸量と CYP3A4 活性との関連の検討により、我々の仮説が実証されると期待している。

以上、結論として、taurine が胆汁酸を介して RFP の CYP3A4 誘導発現に影響を与える可能性、また、胆汁酸が CYP3A4 発現誘導に極めて大きな役割を担っており taurine や胆汁酸が CYP3A4 酵素活性の個体差の原因となっている可能性が推察された。

論文審査の結果の要旨

薬物代謝酵素チトクロム P450 の中で主要な分子種である CYP3A4 は、肝臓および小腸に存在している。本分子種は 50%以上の医薬品代謝に関与しており、薬物の初回通過効果に大きな影響を与えるため、臨床上極めて重要な酵素である。しかし、その活性の個体差が大きく、ヒトにおける薬物動態のばらつきの原因となっており、その原因を明らかにすることは極めて意義のある研究課題である。

本研究では、CYP3A4 の個体差に影響を与える可能性のある因子として、ステロイドホルモン、食餌由来成分や健康食品由来物質に着目し、誘導評価を行った。その結果、taurine や Ca^{2+} が、rifampicin（RFP）による CYP3A4 mRNA 誘導作用を増強することを明らかにした。また、taurine によりその組成が影響を受ける胆汁酸についても、CYP3A4

mRNA 発現への影響についての検討を行った。その結果、胆汁酸の taurine 抱合体である taurocholic acid や taurodeoxycholic acid では taurine と同様の誘導増強作用が認められた。一方、taurochenodeoxycholic acid には誘導を減弱させる作用がみられることを明らかにした。

本研究では、taurine が胆汁酸を介して RFP の CYP3A4 誘導発現に影響を与える可能性を示した。生体内物質である胆汁酸が CYP3A4 発現誘導に一定の役割を担い、胆汁酸や taurine が CYP3A4 酵素活性の個体差の原因となっている可能性を示した。

以上、本研究は、臨床上極めて重要な薬物代謝酵素である CYP3A4 活性の個体差の原因として taurine や胆汁酸などの内因性物質の関与を示唆し、個別化適正投与の推進に有用な基盤を開拓したもので、博士（臨床薬学）の学位を授与するに相応しいものと考える。