The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | 薬物代謝酵素CYP3A発現の個体差に影響を及ぼす因子に関する研究 : CYP3A5遺伝子多型および核内受容体hPXR遺伝子発現 |
| Author(s) | 福圓, 修一 |
| Citation | 大阪大学, 2003, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/44805 |
| 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">大阪大学の博士論文について</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

【1】

| | |
|---|---|
| 氏　　名 | 福　圓　修　一（ふく　えん　しゅう　いち） |
| 博士の専攻分野の名称 | 博　士（薬　学） |
| 学　位　記　番　号 | 第　18072　号 |
| 学位授与年月日 | 平成 15 年 7 月 24 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第４条第１項該当<br>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 CYP3A 発現の個体差に影響を及ぼす因子に関する研究<br>－CYP3A5 遺伝子多型および核内受容体 hPXR 遺伝子発現－** |
| 論　文　審　査　委　員 | （主査）<br>教　授　東　　純一<br>（副査）<br>教　授　馬場　明道　　教　授　松田　敏夫　　教　授　西原　　力 |

## 論　文　内　容　の　要　旨

本研究における薬物代謝酵素 CYP3A は成人肝臓に発現する総 CYP 含量のうち最も多くを占め、現在使用される医薬品の半数以上の代謝に関与するため、重要な CYP 分子種の一つである。CYP3A で代謝を受ける医薬品の中には免疫抑制剤などがあり、血中濃度を厳密に管理する必要があることより、この酵素活性の個体差は臨床上非常に重要な問題である。CYP3A の発現量・活性には大きな個体差が存在し、この個体差は医薬品に対する生体の応答性の個体差の一つの原因になると考えられる。すなわち、CYP3A の個体差を解明することは医薬品の適正使用を考える上での最も重要な課題であると考えられる。しかし、これまでこの発現量・活性の個体差の原因については十分な検討がなされていない。

CYP の発現量・活性には遺伝子多型に代表される遺伝的要因に加えて、酵素誘導・酵素阻害などで見られる環境的要因により大きな個体差を生じることが知られる。酵素誘導において、核内受容体群は CYP などの薬物動態関連遺伝子の発現を調節することにより、薬効および副作用に影響を及ぼす因子となり得ると推察される。

近年、*CYP3A5* において、蛋白発現を規定する遺伝子多型が同定され、*in vitro* において CYP3A 活性の著しい個体差を説明する上で意味のある遺伝的要因になり得ることが示唆された。これまで知られていた CYP3A4 により主に代謝される薬物の血中濃度の個体差を解明する上でも、*CYP3A5* 遺伝子型は重要な意義をもつ可能性があると考えられた。そこで、*CYP3A5* 遺伝子多型の臨床的重要性を明らかにするため、まず、*CYP3A5* 遺伝子多型の判定法を確立し、日本人における頻度解析を試みた。その結果、CYP3A5 欠損の原因遺伝子多型とされる *CYP3A5*3* および **6* の allele 頻度は、それぞれ 77 および０％であり、野生型 allele のホモあるいはヘテロ接合体は約 40％存在することを明らかにした。少なくとも１つの野生型 allele 保有者では、CYP3A5 蛋白が発現すると報告されることより、約 40％の日本人は CYP3A5 蛋白を有し、その代謝活性を示すと考えられた。さらに、日本人の *CYP3A5*1/*3* および *CYP3A5*3/*3* の遺伝子型を有する各８名を対象に、*CYP3A5* 遺伝子型と CYP3A で代謝される典型的な基質薬物とされる nifedipine の薬物動態との関連性について検討した結果、*CYP3A5* 遺伝子多型は nifedipine 血中薬物動態の個体差の主な要因にはならないことが推察された。この原因として、CYP3A4 の発現量の大きな個体差が CYP3A5 の遺伝子多型による影響を相殺した可能性があると考えられた。

CYP3A4 の発現量は環境的要因により影響される。これまでに、ヒト肝臓試料において CYP3A4 の mRNA 量と代

謝活性との間に有意な正の相関があることを明らかにしており、CYP3A4 発現には主に mRNA レベル、すなわち転写レベルで調節されると考えられる。以上のことより、CYP3A4 発現量の個体差に影響を及ぼす因子として、この主転写調節因子である核内受容体の hPXR は重要な役割を果たす可能性があると考えられる。そこでまず、hPXR 遺伝子産物の多様性と CYP3A4 発現量との関連性を明らかにするため、新規な hPXR splicing variants（SV）の検索を行ったところ、ヒト肝臓における 7 種類の新規 hPXR SVs の同定に成功した。このことより、ヒト肝臓の *hPXR* 遺伝子は splicing により複数の転写産物として発現されると考えられた。次に、hPXR SVs の転写活性化能に及ぼす影響を HepG2 細胞を用いた強制発現系により評価したところ、その中にはドミナントネガティブ体が存在することを見い出した。さらに、*hPXR* 遺伝子発現量の個体差と CYP3A4 発現量との関連性を明らかにするため、野生型の表現型を有する WT/SV1 hPXR およびすべての転写産物を含む Total hPXR における mRNA 定量法をそれぞれ確立し、ヒト肝臓の 16 試料を用いて解析したところ、Total hPXR の mRNA 発現量には 16 倍の個体差があり、WT/SV1 hPXR の mRNA 発現量には 29 倍の個体差が存在することが明らかになった。また、ヒト肝臓試料での hPXR と CYP3A4 との mRNA 発現量での相関性について検討したところ、野生型の表現型を有する hPXR と CYP3A4 との間に強い正の相関が認められた。

以上の検討は、CYP3A 発現量の個体差には CYP3A5 発現量より CYP3A4 発現量の変動が主な要因となり、hPXR の遺伝子産物の多様性および遺伝子発現量の個体差が *CYR3A4* 発現量に影響を及ぼす可能性があることを示すものであった。

今後、hPXR の遺伝子発現量に影響を及ぼす遺伝的および環境的要因が探索され、CYP3A 発現量の個体差との関係が検討されることが期待される。

## 論文審査の結果の要旨

薬物代謝酵素 CYP3A は現在使用されている医薬品の半数以上の代謝に関与している。また、CYP3A の発現量には大きな個体差が存在し、この個体差は医薬品に対する生体の応答性の個体差の一つの原因になると考えられる。すなわち、CYP3A 発現量の個体差を解明することは医薬品の適正使用を考える上での最も重要な課題である。そこで、CYP3A 発現量の個体差に影響を及ぼす可能性がある因子として、*CYP3A5* 遺伝子多型と *hPXR* 遺伝子発現に着目した。

本研究では、*CYP3A5*3* が日本人で高頻度に存在することを明らかにした。しかし、*CYP3A5*3* が CYP3A で代謝される nifedipine の血中薬物動態の個体差の主な要因にはならないことが示された。また、ヒト肝臓で新規 *hPXR* splicing variants の同定に成功し、*hPXR* 転写産物の中にはドミナントネガティブ体が存在することを見いだした。さらに、ヒト肝臓試料で、野生型の表現型を有する *hPXR* と *CYP3A4* との遺伝子発現量において正の相関があることを明らかにした。つまり、CYP3A 発現量の個体差には CYP3A5 発現量よりも CYP3A4 発現量の変動の方が主な要因となり、hPXR の遺伝子産物の多様性および遺伝子発現量の個体差が *CYP3A4* 発現量に影響を及ぼす可能性を示すものであった。

以上、本研究は、CYP3A 発現量における個体差の原因候補遺伝子を同定し、今後の pharmacogenomic 研究での展開の可能性を期待させるもので、博士（薬学）の学位を授与するに相応しいものと考える。