

平成 30 年 6 月 18 日現在

機関番号：23803

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K12360

研究課題名(和文)食品由来成分の相互作用予測の可能性に関する研究

研究課題名(英文)Predictability of interaction between food components and drugs

研究代表者

石井 康子 (ISHII, YASUKO)

静岡県立大学・薬学部・講師

研究者番号：00106436

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：バルプロ酸服用患者を対象に、日常の食事から摂取される大豆イソフラボンとバルプロ酸との相互作用の可能性を検討した。バルプロ酸の代謝を担うUDP-グルクロン酸転移酵素(UGT1A6)遺伝子に変異があるとバルプロ酸の血漿中濃度が有意に低く、変異の無い患者群で大豆イソフラボンの影響を解析したところ、大豆イソフラボンがバルプロ酸の体内動態に影響を及ぼす可能性が見出された。

研究成果の概要(英文)：The interaction between valproic acid and soy isoflavone which is routinely ingested, was investigated in patients under maintenance with valproic acid monotherapy. Dose-adjusted plasma concentrations (C/D) of valproic acid were significantly lower in hetero and homozygous carriers of the GT1A6 variant allele than non-carriers. And it was found that there was a significant positive correlation between C/D of 2-en-valproic acid and plasma concentration of unconjugated isoflavone, in addition to C/D of valproic acid and plasma concentration of total isoflavone, in non-carriers. These results present that soy isoflavone may affect the pharmacokinetics of valproic acid.

研究分野：臨床薬剤学

キーワード：相互作用 大豆イソフラボン 血中濃度 代謝酵素 遺伝的背景 個人差要因 バルプロ酸 体内動態

## 1. 研究開始当初の背景

近年、健康食品市場の拡大、加工食品の普及、高齢化や生活習慣病の増加から薬の使用量の増加など、食を取り巻く環境は複雑になっている。その状況の中で、グレイプフルーツの医薬品に及ぼす影響が明らかにされ、食品(成分)と医薬品との相互作用の可能性がクローズアップされるようになった。食品成分は、組み合わせによる相互作用の可能性も秘め、代謝に関わる酵素の遺伝的背景の個人差から、特定の集団において相互作用の影響が大きく現れることも危惧される。個々の食品成分の代謝は、ヒト肝や小腸のマイクロゾームを用いて予測が可能であるが、複雑な生体の代謝系を再現する *in vitro* 評価方法は確立されていない。最近、薬物間相互作用の程度を、体内動態パラメーターの情報に基づき、生理学的モデルを用いたシミュレーションで予測するソフトウェアも開発されているが、食品と医薬品の相互作用を予測することは困難である。

これまで相互作用の研究の多くは動物実験で行われているが、代謝における種差の観点から、ヒトへの外挿には問題も多い。また、健常者を対象とする方法も、被験者の負担が大きく、経費や安全性の確保の点からも多くの成分を対象とするには現実的では無い。

最近、身近な食品である大豆の成分であるイソフラボンが PXR の活性化 (J Nutr., 139, 898(2009)他) を介して UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT) 等を誘導し、バルプロ酸のラット血中濃度を低下させるとの報告 (Sci Rep., 4, 4362(2014)) があった。また、大豆イソフラボンの中でもダイゼインの腸内代謝物であるエクオールがヒトの PXR を強力に活性化し、そのヒトでの腸内生成量に大きな個人差があることも報告されていることから、ヒトにおける大豆と医薬品との相互作用の可能性を明らかにすることが望まれる。研究代表者はこれまでに、アロマトーゼ阻害剤 (AI) を服用している閉経後乳がん患者を対象に、AI とエストロゲンの血中濃度 (日本薬学会第 135 年会にて発表) に大豆成分が影響を及ぼしているかを明らかにするために、大豆摂取量のアンケート調査を実施した。しかし、摂取量の正確な把握が困難であったことから、解析には大豆成分の血中濃度の測定が必要と考えられた。

現在、血液中の微量な成分を高感度に容易に測定する測定技術の普及に加え、医薬品の体内動態に影響を及ぼす代謝酵素やトランスポーターが解明され、その遺伝子多型の解析が急速に進んでいる。

そこで、日常的に摂取される食品成分を評価対象とし、代謝系を共有し動態に関わる遺伝的背景の解析研究が進んでいる医薬品を

代謝モデルとすることで、モデルを服用する患者を被験者として食品(成分)を負荷することなく、医薬品と食品成分の血中動態から遺伝的背景や摂食状況等の個人差要因を考慮して解析を行うことによって、食品成分による相互作用の評価が可能になるのではと考えた。

## 2. 研究の目的

食品成分と医薬品の体内動態に加え代謝酵素の遺伝的背景等の個人差要因を考慮することで、相互作用の評価が可能かを明らかにすることを目的に、大豆イソフラボンと UGT による代謝系を共有し、動態に関わる遺伝的背景の解析研究が進んでいるバルプロ酸を服用する患者を被験者として、日常的に摂取されている大豆イソフラボンがバルプロ酸の体内動態に影響を及ぼすかを明らかにする。この解析が可能であれば、食品あるいは代謝系ごとのデータ集積・解析により、医薬品と食品(成分)との相互作用予測による食情報の発信が期待される。

## 3. 研究の方法

ダイゼインからエクオールへの腸内産生の個人差の確認と尿中大豆イソフラボン量から食情報の発信に必要な大豆摂取量の推定が可能かも明らかにするために、健常人を対象に (1) を、バルプロ酸の体内動態に及ぼす大豆イソフラボンの影響を確認するために、焼津市立総合病院の神経内科および脳神経外科にてバルプロ酸単剤で治療を受けている外来患者を対象に (2) の研究方法をそれぞれ確立した。

### (1) 健常人を対象とした試験

静岡県立大学研究倫理委員会の承認を得た後、健常者に文書による説明を行い、文書による同意を得られた被験者を対象とした。早朝尿の採取と、アンケートを用いて、基本情報や生活習慣に加え、大豆類の食習慣と採尿前日の大豆および大豆加工食品の摂取状況等を調査した。なお、試験は大豆の摂取が普段通りの日に加え、通常より多く摂取した際の 2 回実施した。尿中大豆イソフラボンの測定は、尿を脱抱合処理後に生成したアグリコンであるダイゼイン、ゲニステイン、グリシテイン、エクオールを対象として、LC-MS-MS 法により行った。測定したアグリコンの総和を大豆イソフラボン量とし、その尿中濃度をクレアチニンで補正した。

### (2) バルプロ酸服用患者を対象とした試験

焼津市立総合病院臨床研究倫理委員会および静岡県立大学研究倫理委員会の承認を得た後、バルプロ酸服用患者に文書による説

明を行い、文書による同意を得られた患者を対象とした。

採血・採尿に加え、血中動態の個人差要因となる可能性がある患者情報および臨床検査値はカルテから得るとともに、アンケートを用いて生活習慣や日常の大豆食品の摂取状況等も調査した。

バルプロ酸の血中動態に影響を及ぼす可能性がある遺伝子多型の解析

解析対象とした遺伝子多型は、UGT1A6 (19T>G, 541A>G, 552A>C)、CYP2C9 \*3、CYP2A6 \*4、CYP2B6 \*6、UGT2B7 (161C>T, 802C>T)、UGT1A4 \*3b とし、解析は PCR-RFLP ないし AS-PCR 法により行った。

バルプロ酸およびその代謝物の血漿中濃度測定

測定対象はバルプロ酸とその活性代謝物である 2-en 体 (2-en-VPA) と 4-en 体とし、固相抽出後に LC-MS-MS 法により測定を行った。

バルプロ酸服用患者における大豆イソフラボンの血漿と尿中濃度の測定

測定対象と測定方法は(1)と同様とした。尿は(1)と同様に脱抱合後に測定を行ったが、血漿については液々抽出した非抱合体であるアグリコン(血漿遊離濃度)に加え、尿と同様に脱抱合処理して非抱合体と抱合体の和も測定した(血漿中総濃度)。

#### 4. 研究成果

##### (1) 健常人におけるエクオール産生能

健常人を対象に尿中に排泄されたエクオールを測定した(定量限界 0.5ng/mL)結果、定量が可能だった被験者は 67 名中 16 人(23.9%)にとどまり、その濃度に 2800 倍以上の差が認められた。この結果はエクオールが相互作用の個人差の要因となる可能性を示している。大豆の摂取が通常より多い場合でも 20 人(29.9%)と 3 割を超えず、産生者は必ずしも一致していなかった。

##### (2) バルプロ酸の血中動態に及ぼす遺伝子多型の影響

バルプロ酸服用患者の遺伝子多型解析を行い、Hardy-Weinberg 平衡からの逸脱がなかった UGT1A6 (19T>G, 541A>G, 552A>C)、CYP2C9 \*3、CYP2B6 \*6、UGT2B7 (161C>T, 802C>T)を対象に、野生群と変異群(ヘテロ+ホモ)の 2 群間で、バルプロ酸の血漿中濃度/投与量比(C/D 比)との関係を検討した。その結果、UGT1A6 (19T>G, 541A>G, 552A>C)に変異があるとバルプロ酸の C/D 比が有意に低く ( $p < 0.009$ )、Hung らの報告 (Pharmacogenomics, 12, 1107-17(2011))と同じ傾向を示した。しかし、他の多型では 2 群間に差は認められなかった。なお、UGT1A6

と UGT2B7 の変異アレルは解析したすべての部位が変異型であった。

##### (3) バルプロ酸およびその代謝物と大豆イソフラボンの血漿中濃度の関係

バルプロ酸服用患者の血漿中大豆イソフラボン濃度を測定し、バルプロ酸とその代謝物の C/D 比との関係を検討した。なお、本研究期間中にエクオール産生を確認できた患者がいなかったことから、ダイゼイン、ゲニステイン、グリシテインの 3 種の総和を大豆イソフラボン濃度とし、当初、大豆摂取量で群分けして解析する予定だったが、健常人ほど大豆を多食している患者はいなかったため、相関分析を行った。

その結果、バルプロ酸およびその代謝物と大豆イソフラボン濃度との間に、有意な関係は見出せなかった。なお、尿中大豆イソフラボン濃度に加え、患者基本情報および臨床検査値とバルプロ酸およびその代謝物濃度との間にも関係は認められなかった。

##### (4) 遺伝子多型を考慮した相互作用の解析

前項で、バルプロ酸の血漿中濃度が UGT1A6 の遺伝子多型の影響を強く受けることが明らかにされたことを考慮し、患者を UGT1A6 の遺伝子多型によって、野生群と変異群に分けて解析を行ったところ、野生群において、2-en-VPA C/D 比と血漿遊離大豆イソフラボン濃度間 ( $p < 0.025$ )に加え、バルプロ酸の C/D 比と血漿中総イソフラボン濃度間 ( $p < 0.042$ )にも強い正の相関が認められ、大豆イソフラボンがバルプロ酸の体内動態に影響を及ぼす可能性が示された。

しかし、大豆を多食している患者やエクオール産生者がいなかったためか、大豆イソフラボンとバルプロ酸との関係は予想されたものとは逆の関係であった。

なお、今回得られた結果に、大豆イソフラボンによるバルプロ酸から 4-en-VPA への代謝や 2-en-VPA から 3-OH-VPA への代謝を担う CYP2A6 の阻害 (Nakajima *et al.*, Clin. Pharmacol., 46, 337-344(2006))やゲニステインによるバルプロ酸から 2-en-VPA への酸化の亢進作用 (Palacios-González *et al.*, Biochim Biophys Acta., 1841(1), 132-40(2014))が関与している可能性もあるが、詳細は不明である。

また、バルプロ酸はグルクロン酸抱合競合作用により、併用したラモトリギンの血中濃度を上昇させることから、大豆イソフラボンの代謝に影響する可能性もあるが、バルプロ酸と大豆イソフラボンの血漿遊離濃度/血漿中総濃度比との間にも関係は見られなかった。

本研究で、大豆イソフラボンとバルプロ酸の相互作用の可能性が示されたが、UGT を介した相互作用の評価には至らなかった。これは症例数の不足により、対象患者にエクオール産生者がいなかったことに加え、バルプロ酸の代謝経路が複雑であったためと考えられる。今後は、モデルとして単純な経路で代謝される医薬品を選定し、症例数の確保のために多施設での実施が望まれる。現在、実施施設を追加して研究を継続するとともに、健康人で得られた大豆イソフラボンの測定結果を基に、重回帰分析により大豆摂取量の推定が可能かも検討を行っている。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[学会発表](計6件)

寺田桃子、石井康子、賀川義之：

UPLC-MS/MS 法による soyasaponin の定量、日本薬学会第 136 年会(横浜)、要旨集 2、p266、平成 28 年 3 月 28 日

飯塚美帆、石井康子、江川仁美、長江優吾、加藤純、酒井直樹、竹原誠也、池谷延房、中島重紀、賀川義之：バルプロ酸の体内動態に及ぼす個体間差要因に関する研究、日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会(鈴鹿市)、要旨集、p128、2017 年 11 月 26 日

柳田真実、石井康子、加藤有希、野毛一郎、木村正幸、賀川義之：日本人閉経後乳がん患者のアロマトータゼ阻害薬による筋肉痛の発現とエストロゲン濃度に関する研究、日本薬学会第 138 年会(金沢)、要旨集 4、p137、平成 30 年 3 月 28 日

石井康子、梅原薫、高橋忠伸、野口博司、鈴木隆、賀川義之：柿の非可食部の機能性評価方法に関する検討、US フォーラム 2015(静岡)、要旨集、p56、2015 年 9 月 29 日

石井康子、大場舞、安藤隆幸、梅原薫、高橋忠伸、野口博司、鈴木隆、賀川義之：柿の廃棄される部位の天然資源としての可能性に関する研究、US フォーラム(静岡)、要旨集 p76、2016 年 4 月 20 日

石井康子、池谷延房、酒井直樹、竹原誠也、加藤純、賀川義之：ラモトリギンの体内動態に影響を及ぼす要因について、US フォーラム(静岡)、要旨集 p75、2017 年 4 月 20 日

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

石井 康子 (ISHII YASUKO)

静岡県立大学・薬学部・講師

研究者番号：00106436

### (2) 研究協力者

加藤 純 (KATO JUN)

江川 仁美 (EGAWA HITOMI)

飯塚 美帆 (IIZUKA MIHO)

長江 優吾 (NAGAE YUGO)