

平成 21 年 5 月 28 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
研究期間：2006-2009
課題番号：18590542
研究課題名 (和文) 尿中ステロイド代謝体の LC-MS 分析による薬物代謝酵素分子種活性検査法の開発
研究課題名 (英文) An attempt to develop a clinical test assessing hepatic CYP activity by urinary LC-MS assay of endogenous steroid metabolites

研究代表者
越前宏俊 (ECHIZEN HIROTOSHI)
明治薬科大学・薬学部・教授
研究者番号：00191924

研究分野：医歯薬学
科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学
キーワード：薬物代謝, LC-MS, ステロイド

1. 研究計画の概要

近年、薬物代謝酵素のゲノム解析が精力的になされ多くの SNP の存在が明らかとなったが、同時にゲノム情報の差異だけでは説明できない活性の個人差も明らかとなり、その原因については代謝酵素の基礎発現量に関わる環境あるいは発現調節機構の遺伝変異の存在が注目されているが、未だにその本体は不明である、このため、再び個別患者における代謝活性表現型評価法の必要性が注目されている。従来から、内因性コルチゾールの 6 β 位水酸化反応が CYP3A4 分子種により行われることに注目し、コルチゾールから 6 β 水酸化への部分代謝クリアランスを評価する方法が検討されているが、本研究では、この方法を他の内因性ステロイドホルモンの部位特異的な代謝物の測定に外挿し CYP3A4 意外の CYP 分子種の活性の個人差を評価する方法の開発を目的としている。

2. 研究の進捗状況

初年度には各種内因性ステロイドとその代表的代謝体のヒト肝ミクロゾーム試料による代謝実験を行い、各種代謝体生成反応に関係する CYP 分子種の同定を行った。第 2 年度には、尿中の CYP2C19 によるプロゲステロンの 2 位水酸化体とテストステロンの 17 位水酸化体測定法と、CYP1A2 によるエストラジオールの 2-,4, および 16 α 位の水酸化体測定法を LC-MS にて検討し測定法はほぼ確立した。第 3 年度にはヒト由来の尿試料における各種ステロイド代謝体の測定条件を検討した。

3. 現在までの達成度

現在までの計画達成度はほぼ当初の予測通

りである。その理由は、内因性ステロイド、特にコルチゾールの部位特異的な代謝機構については、薬物相互作用研究などで報告者に技術的な蓄積があったためである。また、従来はステロイド代謝に関わる CYP 活性の評価が尿中に排泄された代謝体と親ステロイドとの濃度比 (代謝比) に基づいて行われていたが、報告者は薬物体内動態の知識に基づき、代謝比は被験者の腎機能の個人差に影響を受けることを明かにし、腎機能の異なる対象者に対しては内因性部分代謝クリアランスの概念に基づく評価法がより適切な評価法であることも明らかにした。この方法論を用いて、従来の尿中ステロイド代謝体の代謝比の再評価も行う予定である。また、現時点ではコルチゾール以外の内因性ステロイド代謝の評価系の確立については、想定範囲ではあるものの、コルチゾールと比較して他の内因性ステロイドから生成される代謝体の絶対量が少ないこと、またそれらの代謝体が尿中に排泄される場合には各種の抱合反応を受けて排泄されるため、尿中試料での測定方法には脱抱合法の確立を含めて、たとえ LC-MS 法を用いても簡単ではなく、信頼できる測定法を確立する段階でやや進展が遅れている。

4. 今後の研究の推進方策

本助成事業の最終年度に向けて、現在鋭意研究が継続されている。特に、内因性コルチゾールの 6 β 水酸化体については、CYP3A4 の活性の個人差を内因性部分代謝クリアランスおよび尿中代謝比を用いた評価が相関するかの結論が得られるものと考えている。また、他のステロイド代謝経路については測定上の問題を解決して当初の目的を達成でき

るものと考えている。また、本研究から発展した試みとして、尿中の内因性カチオンおよびアニオン性代謝物の測定を利用した腎尿細管トランスポーター活性評価法にも着手している。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 件)

- ① Takahashi, H, Wilkinson, GR, Nutescu, EA, Morita, T, Ritchie, M, Scordo, MG, Pengo, V, Barban, M, Padriani, R, Ieiri I, Otsubo, K, Kashima T, Kimura S, Kijima S, Echizen H, Different contributions of polymorphisms in VKORC1 and CYP2C9 to intra- and inter-population differences in maintenance dose of warfarin in Japanese, Caucasians and African Americans.. *Pharmacogenetics & Genomics*, 査読有り, 16:101-110, 2006.
- ② Ogawa, R; Kishi, R; Mihara, K; Takahashi, H; Takagi, A; Matsumoto, N; Masuhara, K; Nakazawa, K; Miyake, F; Kobayashi, S; Echizen, H., Population Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Analysis of a Class IC Antiarrhythmic, Pilsicainide, in Patients with Cardiac Arrhythmias. *J Clin Pharmacol*, 査読有り, 46: 59-68, 2006.
- ③ Shibuya M, Okamoto H, Nozawa T, Utsumi J, Reddy VN, Echizen H, Tanaka Y, Iwata T., Proteomic & Transcriptomic Analyses of Retinal Pigment Epithelial Cells Exposed to REF-1/TFPI-2, a Growth Promoting Factor, *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 査読あり, 48:516-521, 2007.
- ④ Masunaga Y, Ohno K, Ogawa R, Hashiguchi M, Echizen H, Ogata H, A meta-analysis on the risk of developing malignancy associated with use of immunosuppressive agents in patients with inflammatory bowel disease, *Ann Pharmacother*, 査読あり, 41:21-28, 2007.
- ⑤ Abe Y, Nanri Y, Oto H, Kitabayashi T, Watanabe S, Odajima Y, Itabashi K, Takahashi H, Echizen H: Effect of low-dose macrolide antibiotics on theophylline disposition in pediatric patients: *日本小児呼吸器疾患学会誌*, 査読有り, 18:7-13, 2007.
- ⑥ Nakayama H, Echizen H, Tanaka M, Sato M, Orii T, Reduced vancomycin clearance despite unchanged

creatinine clearance in patients treated with vancomycin for longer than 4 weeks, *Ther Drug Monit*, 査読有り, 30:103-107, 2008.

- ⑦ Dochiguchi Y, Shiba S, Masuda Y, Kurihara Y, Hasegawa S, Echizen H: Bioequivalence studies between 0.5, 1, and 5 mg warfarin potassium tablets of new formula and those of standard formula. *Jpn Pharmacol Ther*, 査読有り, 36:401-409, 2008.
- ⑧ Nakayama H, Echizen H, Gomi T, Shibuya Y, Nakamura Y, Nakano K, Arashi H, Ohnishi S, Tanaka M, Orii T: Urinary Lipocalin Type Prostaglandin D Synthase: A Potential Marker for Early Gentamicin-Induced Renal Damage?, *Ther Drug Monit*, 査読あり, 32:126-130, 2009.

[学会発表] (計 2 件)

- ① 小川竜一、越前宏俊: 内因性M-メチルニコチンアミドの腎クリアランスによる腎有機カチオントランスポーター活性の評価、第28回日本臨床薬理学会年会、2007年11月12日、宇都宮。
- ② 小川竜一、越前宏俊: 内因性N-メチルニコチンアミドおよびL-カルニチンによる腎尿細管トランスポーター活性評価の試み、医療薬学フォーラム2008、2008年7月10日、東京

[図書] (計0件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)
- 取得状況 (計0件)

[その他]

研究室ホームページ

<http://www.my-pharm.ac.jp/~pharmaco/index.html>