

機関番号：18001

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20590150

研究課題名（和文）簡易な CYP2C19 遺伝子多型検査による H. pylori 除菌率への効果

研究課題名（英文）The prediction of Helicobacter Pylori eradication using CYP2C19 activity determined by limited plasma concentration of omeprazole enantiomers

研究代表者

宇野 司 (UNO TSUKASA)

琉球大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：30400138

研究成果の概要（和文）：オメプラゾールはラセミ体であり、(R)-体と(S)-体で代謝が異なることが知られている。しかしながら、*in vivo*系による報告はなされていないことから、私は新規 HPLC 法を確立し、それらを用いてラセミ体オメプラゾール投与後の(R)-、(S)-オメプラゾールと主代謝物、(R)-、(S)-5OH-オメプラゾール、オメプラゾールスルフォンの挙動を CYP2C19 多型別に調べ、明らかに区別化された。*H. pylori* の除菌療法では、CYP2C19 欠損タイプで除菌効果が高く、その予測は臨床上意義深い。

成果の概要（英文）：Until now, no studies investigating the *in vivo* metabolic behaviour of omeprazole enantiomers have been reported. The three major metabolites of omeprazole, known as (R)-, (S)-5-hydroxyomeprazole and omeprazole sulfone, are mainly metabolised by cytochrome P450 (CYP) 2C19 and CYP3A4, respectively. The clinical efficacy of Helicobacter Pylori eradication is closely related to the CYP2C19 phenotypes, as evidenced by studies in patients receiving omeprazole. In the present study, we constructed a simple and sensitive high-performance liquid chromatography (HPLC) UV method and it used in pharmacokinetic studies of (R)- and (S)-omeprazole and their chiral metabolites in relation to the CYP2C19 genotypes. Consequently, CYP2C19 genotypes were clarified and the prediction of CYP2C19 genotypes by using limited plasma concentration of omeprazole enantiomers may be a important tool in clinical situation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：薬物動態・代謝学

1. 研究開始当初の背景

現在、*H. pylori*の標準的除菌治療には、プロトンポンプ阻害薬 (PPIs; オメプラゾール, ランソプラゾール, ラベプラゾール) と抗菌剤のクラリスロマイシンとアモキシシリンを併せた3剤併用療法が用いられている。しかしながら、PPIsに関与する薬物代謝酵素分子種 (CYP2C19) にはDNAのSNPs (一塩基変異) がみられ、日本人では約20%が完全欠損している。しかしながら、*H. pylori* の除菌率を代謝の速い正常群 (hmEMs), 代謝の遅い完全欠損群 (PMs) と両者の中間群 (htEMs) で比較すると、PMs群ではほとんどが除菌され、日本人の30-40%を示すhmEMsで明らかに除菌率の低下がみられている。この第一理由としては、PPIsの血中濃度の個人差を反映し、hmEMsで明らかに血中濃度が低く、そして体内から速く消失することに関連している。

CYP2C19遺伝子多型の検出は、血液よりDNAを抽出し、RT-PCR法によって被験者を区別化できるが、いまだコスト的に高く受託解析では1検体当たり15万以上 (遺伝子多型解析キットAmpliChips® CYP450) と超高額である。そこで、遺伝子解析なしに簡易な方法でhmEMsを発見することは、臨床上極めて有用である。さらに最近、研究者らは1点解析 (PPI経口投与3-4時間後) のCYP2C19活性からAUC (血中濃度下面積) を予測することも可能としている。

さらに最近、本研究者らは約200人の医学部学生実習でCYP2C19遺伝子多型と4時間後の血中濃度測定によるCYP2C19活性 (オメプラゾール血中濃度/代謝物血中濃度) を調べ遺伝子型と表現型を比較したが (*Br J Clin Pharmacol*, 2007 in press), PMs以外のhmEMsと中間型のhtEMsを、明確に区別化することは出来なかった。しかし、Kanazawaら (*J Pharm Biomed Anal*, 30: 1817-24, 2003) によれば、オメプラゾールはラセミ医薬品で、(R)-体と(S)-体を持ち、これらでCYP2C19活性を調べたときより区別化するとの報告している。

2. 研究の目的

本申請課題は高コストな DNA 抽出による

CYP2C19 遺伝子多型検出の代替法として、HPLCによってCYP2C19活性を調べる。その後、*H. pylori* 除菌率の低い hmEMs または AUC の低い htEMs を検出し相関関係を調べ、臨床効果と比較することを目的とする。

これまで、PPI の効果で CYP2C19 遺伝子多型によって臨床効果が異なることとその臨床上的有用性は数多く報告されている。しかし、上記した様に高コストでかつ、用いる装置は通常の病院では設置不可能である。一方、そこで本申請課題は極めて臨床に即した研究であるといえる。

3. 研究の方法

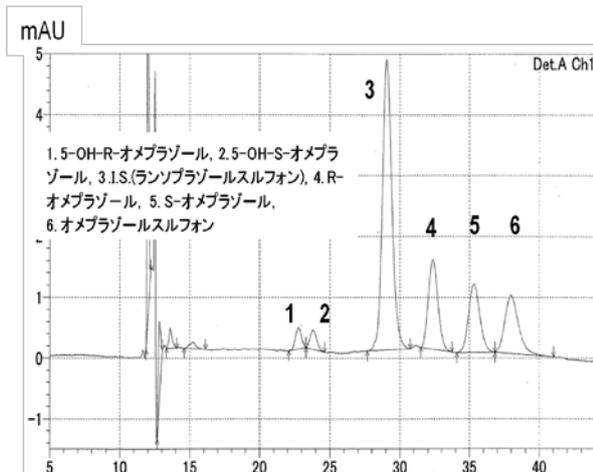
1) R/S-オメプラゾールの HPLC による血中濃度測定法の確立と CYP2C19 遺伝子多型の検討

2) R/S-オメプラゾール血中濃度測定による AUC の予測と *H. pylori* 除菌率との関係

4. 研究成果

1) R/S オメプラゾール血中濃度を測定し、AUCを予測するためにはR/S-オメプラゾールと代謝物の特異的 HPLC による血中濃度測定法の確立は必要不可欠である。HPLC 条件の最低感度として、オメプラゾールの S-体と R-体はともに 5ng/mL、また今回の AUC 予測に重要な意味を持ち CYP2C19 で代謝され生成する 5-OH-ヒドロキシオメプラゾールの R-体と S-体ともに 5ng/mL、さらに CYP3A で代謝されるオメプラゾールスルフォンについても同様の 5ng/mL であった。今回の測定法は HPLC で再現される同一チャート上に内部標準 (I.S.) であるランソプラゾールスルフォンを含めて6つのピークを有する極めて特異的なキラルカラムを用いた測定法であり、さらにカラムスイッチング法によって、血漿妨害物の前処理と除タンパク処理を行う方法で、過去に報告のない新規で、かつ臨床で有用とされる方法である。(Journal of Chromatography B, in revising)

図 1. オメプラゾールと代謝物のクロマトチャート

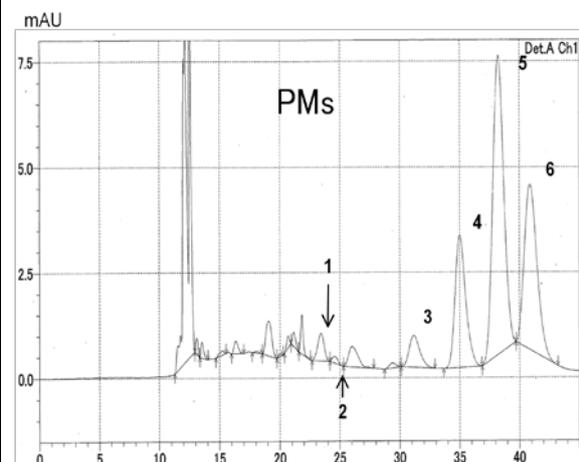
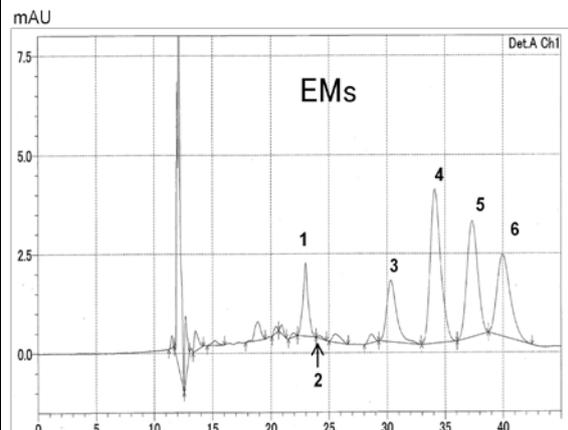


2)平成 22 年度においては、確立した HPLC にて CYP2C19 遺伝子多型別にみた健常人 20 名を homozygous extensive metabolizer (hmEMs), heterozygous EMs(htEMs), poor metabolizer(PMs)に分け、経口投与後に定量を行ったとき R-オメプラゾールの AUC 比は hmEMs: htEMs: PMs = 1: 4: 11, S-オメプラゾールでは 1: 3: 4 となった。さらに R/S オメプラゾールではエナンチオマー/エナンチオマー 相互作用により、R-体は阻害剤として作用し、S-体血中濃度の増加によって、EM と PM の血中濃度差を低下させていることが示唆された。これらの結果は、現在まで報告されていない。

さらに CYP2C19 で代謝される R-5OH-オメプラゾール血中濃度は hmEMs>htEMs>PMs で血中濃度を推移させるが、S-5OH-オメプラゾールではすべての群で検出されないか、もしくは微量であった。これらの報告も現在までなく、この結果もまた非常に有意義な知見である。この理由としては、R-オメプラゾールと S-オメプラゾールが CYP2C19 によって、異なる生成物を形成している可能性が示唆される。これらの結果は、オメプラゾールの AUC 予測は R-オメプラゾールでなされるべきであることが示唆される (in submitting)。

さらに血中濃度 1 点解析による AUC 予測については現在解析中であり、さらに *H. pylori* 除菌率との関係も検討中である。

図 2. 静脈注 3 時間後の EMs と PMs のクロマトチャート



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)

[雑誌論文] (計 9 件)

①Sunagawa S, Fujita J, Higa F, Tateyama M, Haranaga S, Nakasone I, Yamane N, Uno T. Comparison of drug sensitivity and genotypes of clinically isolated strains of levofloxacin-resistant *Streptococcus pneumoniae* obtained from Okinawa Island, the Japanese main island and Hong Kong. *J Antibiot* (Tokyo), 査読有, 2011 in press.

②Suzuki T, Mihara K, Nakamura A, Nagai G, Kagawa S, Nemoto K, Ohta I, Arakaki H, Uno T, Kondo T. Effects of the CYP2D6*10 allele on the steady-state plasma concentrations of aripiprazole and

its active metabolite, dehydroaripiprazole, in Japanese patients with schizophrenia. Ther Drug Monit, 査読有, 33, 2011, 21-4.

③Goto T, Miura M, Murata A, Terata K, Uno T, Yamamoto K, Abe Y. Standard warfarin dose in a patient with the CYP2C9*3/*3 genotype leads to hematuria. Clin Chim Acta, 査読有, 6, 2010, 1375-7.

④Akamine Y, Yasui-Furukori N, Kojima M, Inoue Y, Uno T. A sensitive column-switching HPLC method for aripiprazole and dehydroaripiprazole and its application to human pharmacokinetic studies. J Sep Sci, 査読有, 33, 2010, 3292-8.

⑤ Akamine Y, Miura M, Sunagawa S, Kagaya H, Yasui-Furukori N, Uno T. Influence of drug-transporter polymorphisms on the pharmacokinetics of fexofenadine enantiomers. Xenobiotica, 査読有, 40, 2010, 782-9.

⑥ Miura M, Uno T. Clinical pharmacokinetics of fexofenadine enantiomers. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 査読有, 6, 2010, 69-74.

⑦Yamada S, Yasui-Furukori N, Akamine Y, Kaneko S, Uno T. Effects of the P-glycoprotein Inducer Carbamazepine on Fexofenadine Pharmacokinetics. Ther Drug Monit, 査読有, 31, 2009, 764-768.

⑧ Sakugawa T, Miura M, Hokama N, Suzuki T, Tateishi T, Uno T. Enantioselective disposition of fexofenadine with the P-glycoprotein inhibitor verapamil. Br J Clin Pharmacol, 査読有, 67, 2009, 535-40.

⑨Tateishi T, Miura M, Suzuki T, Uno T. The different effects of itraconazole on the pharmacokinetics of fexofenadine enantiomers. Br J Clin Pharmacol, 査読有, 65, 2008, 693-700

〔学会発表〕（計 3 件）

①潮平英郎, Omprazole およびキラル代謝物の同時測定法の開発と CYP2C19 遺伝子多型の体内動態への関与, 日本薬学会九州支部大会, 2010 年 12 月 11 日,

長崎大学文教キャンパス

②赤嶺由美子, PGP-MEDIATED EFFECTS OF ITRACONAZOLE AND CARBAMAZEPINE ON FEXOFENADINE ENANTIOMERS PHARMACOKINETICS, 日本薬物動態学会, 2009 年 11 月 27 日, 国立京都国際会館

③外間惟夫, ラベプラゾールとその主代謝物の高感度定量による CYP2C19 遺伝子型に関連した CYP3A または P-gp 阻害剤との *in vivo* 併用効果, 日本 TDM 学会, 2008 年 6 月 21 日, 東京都江戸川区

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宇野 司 (UNO TSUKASA)

琉球大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：30400138