

機関番号：3 2 6 8 0

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：2 0 5 9 0 1 6 0

研究課題名(和文) 糖尿病・肥満モデルマウスにおける薬物動態変動に関する研究

研究課題名(英文) Alteration in the drug disposition in the mouse model of diabetes/obesity.

研究代表者

伊藤 清美 (ITO KIYOMI)

武蔵野大学・薬学研究所・教授

研究者番号：6 0 2 3 2 4 3 5

研究成果の概要(和文): 1型と2型糖尿病患者において薬物動態が異なる原因を検討する目的で、各々のモデルマウスにおける薬物代謝酵素の発現を比較した結果、血中インスリン濃度の相違に伴う小腸 CYP3A 発現の差異が一因である可能性が示された。また、糖尿病治療薬 repaglinide の血中濃度が劇的に上昇する薬物間相互作用について、肝取り込みおよび代謝の阻害により説明できることを生理学的薬物速度論モデル解析により明らかにした。

研究成果の概要(英文): The investigation of the expression levels of drug metabolizing enzymes in diabetic mouse models suggested that the differential expression of intestinal CYP3A, due to the difference in insulin levels, is one of the mechanisms for the differences in drug disposition between type 1 and 2 diabetic patients. Furthermore, a drug interaction with a great increase in the level of repaglinide, an antidiabetic, was found to be explained by the inhibition of its hepatic uptake and metabolism based on a physiologically-based pharmacokinetic modeling analysis.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：薬物動態学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：糖尿病、薬物動態変動、薬物代謝酵素、薬物トランスポーター

1. 研究開始当初の背景

(1) 臨床において、薬物の体内動態が肥満や糖尿病により変化することが知られている。病態モデル動物でもその種類によって薬物代謝酵素であるチトクロム P450 (CYP) の発現が異なることが知られているが、これらの変動は必ずしも臨床とは一致しない。

(2) 糖尿病患者において報告されている薬物

の体内動態変動は、1型糖尿病患者と2型糖尿病患者では異なり、薬物治療を行う上で問題になる可能性がある。

(3) 糖尿病治療薬である repaglinide の血中濃度は、itraconazole あるいは gemfibrozil の併用により上昇することが報告されており、この相互作用には肝取り込みトランスポーターである organic anion transporting

polypeptide (OATP) 1B1、薬物代謝酵素である CYP2C8 および CYP3A4 の阻害が関与すると考えられている。

2. 研究の目的

(1) 新規肥満型糖尿病モデル動物である TSOD マウスの肝臓における主要なシトクロム P450 (CYP) 分子種の発現を正常動物と比較し、さらに薬物の体内動態について検討することにより、それらの変動と病態との関連について明らかにするとともに、モデル動物としての使用上の注意を喚起する。

(2) 1 型糖尿病患者と 2 型糖尿病患者において薬物の体内動態が異なる理由を解明する目的で、streptozotocin (STZ) 誘発 1 型糖尿病モデルと 2 型糖尿病モデル TSOD マウスを用い、主要な薬物代謝酵素である Cyp3a の発現および活性とその変動メカニズムを比較検討する。

(3) 糖尿病治療薬 repaglinide と itraconazole および gemfibrozil を併用したときの血中 repaglinide 濃度の劇的な上昇が、併用薬による OATP1B1, CYP2C8 および CYP3A4 の阻害により説明可能か否かを検討する目的で、それらを組み込んだ生理学的薬物速度論モデルを構築し薬物動態解析を実施する。

3. 研究の方法

(1) 種々の週齢の雄性 TSOD マウスについて、体重、脂肪重量、血漿中グルコース濃度、インスリン濃度などの肥満・糖尿病に関連する病態の程度を確認した。また、肝臓を摘出し、ヒト肝臓における主要な CYP 分子種に対応する Cyp1a1, Cyp1a2, Cyp2c29, Cyp2d9, Cyp2d22, Cyp2e1, Cyp3a11, Cyp3a13 等の mRNA 発現量を real-time RT-PCR により測定した。また、肝ミクロソーム画分を調製し、上記 CYP 分子種のタンパク質発現量を Western blotting により定量するとともに、triazolam の α 位および 4 位水酸化活性を測定することにより Cyp3a 活性を評価した。なお、病態を発症しないコントロールマウスとして、同じ週齢の雄性 TSNO マウスを使用した。

(2) STZ マウスおよび 7 ヶ月齢 TSOD マウスに Cyp3a の基質である triazolam (1 mg/kg) を経口投与した後、60 分まで経時的に採血し、血漿中 triazolam 濃度を HPLC-UV によ

り測定した。全身クリアランス、分布容積等の薬物動態パラメータを算出し、各々のコントロールマウスと比較した。また、これらのマウスの肝臓および小腸を摘出し、Cyp3a の発現量を Western blotting により定量するとともに、triazolam の代謝活性を測定することにより Cyp3a 活性を評価した。さらに、TSOD マウスの小腸における Cyp3a の発現低下が高インスリン血症に起因する可能性について検討する目的で、血漿中インスリン濃度がほぼ同等の 1 ヶ月齢の TSNO マウス (コントロール) と TSOD マウスの小腸における Cyp3a 発現量を比較検討するとともに、インスリン投与による Cyp3a 発現量変化を測定した。

(3) repaglinide 単独投与時、itraconazole 併用時、gemfibrozil 併用時、itraconazole・gemfibrozil 両者併用時のそれぞれの条件下における repaglinide の血中濃度 - 時間曲線下面積 (AUC) の報告値から、固有クリアランスを算出し、itraconazole および gemfibrozil (とその抱合代謝物) による OATP1B1, CYP2C8 および CYP3A4 の阻害率を見積もった。また、それらの値を生理学的薬物速度論モデルに組み込むことにより、臨床で報告された各条件での血中 repaglinide 濃度推移を再現することを試みた。

4. 研究成果

(1) 体重、脂肪重量および血漿中グルコース濃度、インスリン濃度などの測定結果より、TSOD マウスの 7 ヶ月齢において、肥満や糖尿病に関連する病態が十分に進行しているものと考えられた。肝臓における主要な CYP 分子種の発現を real-time RT-PCR および Western blotting により検討した結果、TSOD マウスの肝臓では TSNO マウスと比較して Cyp1a、2e、4a が mRNA レベルおよびタンパク質レベルで低い値を示し、Cyp2c および 3a は高い値を示した。また、肝臓ミクロソーム画分における triazolam の α 位および 4 位水酸化活性はともに TSOD マウスの方が高く、Cyp3a 活性が上昇していることが明らかになった。TSOD マウスにおいて、特異な CYP 発現変動が見られたことから、これらの CYP 分子種で代謝される薬物の体内動態が正常動物とは異なる可能性がある。医薬品開発において TSOD マウスを使用する際に、このような CYP の発現変動を考慮する必要があると考えられる。

(2) STZ マウスおよび TSOD マウスに Cyp3a の基質である triazolam を投与した際の体内動態を比較した結果、1 型糖尿病患者に CYP3A 基質を経口投与した場合、健常人と比較してクリアランスが高くなるが、2 型糖尿病患者では差が無いという臨床報告と一致する結果が得られた。これらのマウスの肝臓および小腸における Cyp3a の発現量および代謝活性を測定した結果、STZ マウスの肝臓における Cyp3a 発現量および代謝活性は、コントロールマウスと比較して有意に高い値を示したのに対し、小腸ではほぼ同じ値を示した。一方、TSOD マウスの肝臓における Cyp3a 発現量および代謝活性は、TSNO マウス（コントロール）と比較して有意に高い値を示したのに対し、小腸ではいずれも極めて低い値を示した。Cyp3a の発現変動メカニズムを検討した結果、TSOD では高インスリン血症によって小腸における Cyp3a の発現量が選択的に低下することが示唆された。以上の結果より、1 型糖尿病患者と 2 型糖尿病患者において薬物の体内動態が異なる一因として、血中インスリン濃度の相違に伴う小腸 CYP3A の発現および活性の差異が関与する可能性が示唆された。これらの知見は、糖尿病患者における薬物動態変動を考慮した適切な薬物療法を行うために有用な情報を提供するものと考えられる。

(3) 4 条件 (repaglinide 単独投与時、itraconazole 併用時、gemfibrozil 併用時、itraconazole・gemfibrozil 両者併用時) における repaglinide の AUC の報告値から、itraconazole および gemfibrozil による代謝酵素およびトランスポーター阻害率を見積もった結果、itraconazole により CYP3A4 が約 80%阻害され、gemfibrozil (とその抱合代謝物) により OATP1B1 が約 50%、CYP2C8 が約 95%阻害されると設定することで、各条件における repaglinide の AUC 上昇を説明できることが明らかとなった。これらの阻害の程度は、各々の特異的基質との相互作用から考えて妥当であった。さらに、これらの値を生理学的薬物速度論モデルに組み込むことにより、各条件での血中 repaglinide 濃度推移をほぼ再現することができた。すなわち、itraconazole と gemfibrozil を併用した際の血中 repaglinide 濃度の劇的な上昇は、gemfibrozil (とその抱合代謝物) による肝取り込み阻害および itraconazole と gemfibrozil (とその抱合代謝物) による代謝阻害で理論的に説明できることが示された。薬物代謝酵素とトランスポーターの両者が

関与する薬物間相互作用の臨床例は他にも多く存在すると考えられ、本解析手法を応用することにより、それらのメカニズムの推定や危険な相互作用の回避が可能になると期待される。

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)

[雑誌論文](計 7 件)

Ito, K., Sugiyama, Y. Use of clearance concepts and modeling techniques in the prediction of metabolic drug-drug interactions. *Trends Pharmacol. Sci.*, **2010**, 31(8), 351-355. 査読有

Kudo, T., Toda, T., Ushiki, T., Ohi, K., Ikarashi, N., Ochiai, W., Sugiyama, K. Differences in the pharmacokinetics of Cyp3a substrates in TSOD and streptozotocin-induced diabetic mice. *Xenobiotica*, **2010**, 40(4), 282-290. 査読有

Kudo, T., Shimada, T., Toda, T., Igeta, S., Suzuki, W., Ikarashi, N., Ochiai, W., Ito, K., Aburada, M., Sugiyama, K. Altered expression of CYP in TSOD mice: a model of type 2 diabetes and obesity. *Xenobiotica*, **2009**, 39(12), 889-902. 査読有

[学会発表](計 13 件)

工藤敏之他: Itraconazole および gemfibrozil 併用時における血中 repaglinide 濃度上昇の薬物動態学的解析. 日本薬学会第 131 年会(2011 年 3 月 29 日、静岡)

Ito, K. et al.: Theoretical consideration for the repaglinide concentration increase by itraconazole and gemfibrozil. 第 25 回日本薬物動態学会年会(2010 年 10 月 7 日、大宮)

阿部里絵子他. 1 型糖尿病モデル STZ マウスおよび 2 型糖尿病モデル TSOD マウスの肝臓における Cyp3a の発現および活性の比較. 日本薬学会第 130 年会(2010 年 3 月 28 日、岡山)

Kudo, T. et al.: Altered expression of CYP enzymes in TSOD mice; a model of type 2 diabetes and obesity. 第 23 回日本薬物動態学会年会(2008 年 10 月 30 日、熊本)

工藤敏之他. 肥満型糖尿病モデル TSOD マウスの肝臓における薬物トランスポーターの発現変動. 第 18 回日本医療薬学会年会(2008 年 9 月 20 日、札幌)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

伊藤 清美 (ITO KIYOMI)

武蔵野大学・薬学研究所・教授

研究者番号：6 0 2 3 2 4 3 5

(2)研究分担者

杉山 清 (SUGIYAMA KIYOSHI)

星薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：8 0 1 4 5 7 1 3

(H21 - H22 : 連携研究者)

五十嵐 信智 (IKARASHI NOBUTOMO)

星薬科大学・薬学部・助手

研究者番号：4 0 4 0 9 3 6 3

(H21 - H22 : 連携研究者)

工藤 敏之 (KUDO TOSHIYUKI)

武蔵野大学・薬学研究所・助教

研究者番号：1 0 5 8 4 8 1 5