

令和 3 年 6 月 28 日現在

機関番号：94506

研究種目：奨励研究

研究期間：2020～2020

課題番号：20H01082

研究課題名 ポセタンによる薬剤性肝機能障害関連遺伝子CHSTが肝臓組織に与える影響の検討

研究代表者

依藤 健之介 (Kennosuke, Yorifuji)

社会医療法人神鋼記念会（総合医学研究センター）・総合医学研究センター・薬剤師

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 480,000円

研究成果の概要：薬剤性肝機能障害は、急性肝機能障害の原因の50%を占める。一旦肝機能障害が起こると、必要な薬物療法も中止・中断を余儀なくされるため、臨床で高頻度に遭遇する重要な副作用の一つである。肺動脈性肺高血圧症治療は、近年飛躍的に進歩しており、早期に適切な薬物療法を行うと高率で長期生存が期待できる。一方で、肝機能障害などで有効な治療が遅れると、その後の生命予後にも影響することが分かっています。本研究では、肺動脈性肺高血圧症治療薬の一つであるボセタンは、高率で肝機能障害を起こしますが、その原因となる遺伝子や肝機能障害発生メカニズムを調べる事で、将来の創薬や臨床で副作用を回避する方法を検討しています。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、ボセタンによる薬剤性肝機能障害と関係がある遺伝子が、実際に肝臓どのように働いており、生体防御においてどのような役割を担っているのかを検討しています。これにより、実際にお薬を使用する前に、高感度に薬剤性肝機能障害を予測することが可能となるかもしれません。この予測が可能となれば、薬剤性肝機能障害が起こりやすいと考えられる方には、最初から他の薬剤を選択するなどして、より早期に適切な治療が可能となります。さらに薬剤性肝機能障害の発生メカニズムの新たな一面を明らかにすることができれば、新たな肝機能障害の少ない創薬へ結びつくかもしれません。本研究では、これら2点を目指しています。

研究分野：臨床薬学

キーワード：ボセタン 薬剤性肝機能障害 副作用予測

1. 研究の目的

薬剤性肝機能障害は、急性肝機能障害の原因の 50%を占める。一旦肝機能障害が起こると、必要な薬物療法も中止・中断を余儀なくされるため、臨床で高頻度に遭遇する重要な副作用の一つである。肺高血圧症治療薬であるボセンタンは約 10%と高率で肝機能障害が発生し、それが高頻度で治療の妨げとなる。肺高血圧症は未治療の 5 年生存率 34.5%と予後不良な難病疾患であるが、肺高血圧患者を対象とした SUPER2 試験では 12 週間治療導入の遅れが生命予後を悪化させることも証明している。そのため、肝機能障害による治療強化の遅れは患者の生命予後に多大な影響を与える。そこで我々は 66 名の肺高血圧症患者の遺伝子からマイクロアレーを用いて、225 遺伝子 1,936 変異を探索し、ボセンタンによる肝機能障害関連リスク遺伝子として CHST3 および CHST13 を同定した。これらの遺伝子は、コンドロイチン硫酸の硫酸転移酵素として知られており、薬物の副作用との関連が指摘される遺伝子ではなかった。しかし、コンドロイチン硫酸などグリコサミノグリカンは、肝機能障害に伴って肝臓での発現が増加することが知られており、薬剤性肝機能障害とも機能的に関連があるのではないかと考えた。他の PGx 研究でも CHST3 がサリドマイドの有効性と関連があるとの報告もあり、何らかの形で薬物の有効性や副作用と CHST3 は関連があると考えた。本研究では、CHST3 および CHST13 の機能および遺伝子多型が肝臓組織に与える影響を評価する。これにより、肝機能障害と CHST3 および CHST13 の関連性を明らかにする。そのために、臨床研究と基礎研究の両面からアプローチを試みた。

2. 研究成果

肝機能障害と CHST3 および CHST13 の関連性を明らかにするために、臨床研究と基礎研究の両面からのアプローチを試みた。

臨床研究においては、マイクロアレーを用いて構築した予測モデルの検証系を計画した。マイクロアレーから構築した予測モデルは、AUC0.89、感度 82.61%、特異度 86.05%と高感度であると見積もられた。しかし、本モデルはあくまでも後ろ向きに候補遺伝子を検証したものであり、他の集団に適用した時の予測性能を保証するものではない。そのため、本モデルを臨床で適用するには他の集団による検証を行う必要がある。今回の研究では、予測モデル構築でエントリーしていない患者群を対象に予測モデルを適用し、1 年以内の肝機能障害を予測するかを検証した。本研究系は、必要症例数が 18 名と見積もられたが、5 例時点でのデータを論文にまとめ、報告は行ったものの、期限内に必要な症例数は集まっていないため、最終的な報告はまだ行っておらず、現在も症例集積中である。この理由として、肺動脈性肺高血圧症は希少疾病で患者数が少ないことや薬品開発の進展により、選択肢が増えていることなどが挙げられる。本邦においては、肺動脈性肺高血圧症にボセンタンを選択する頻度は減少してきているが、ボセンタンが保険適用を有している「全身性強皮症における手指潰瘍の発症抑制」に対しては現在でも数少ない有用な治療薬であり、臨床上有用な薬剤であることに変わりない。安全な薬物療法推進のために、引き続き、ボセンタン関連肝機能障害を事前に予測する手法について、症例を集積して検証を行う。

次に、基礎研究における成果を報告する。まず、胆管結紮マウスを用いて肝障害時の CHST3 および CHST13 の発現量の変化を観察した。胆管結紮マウスを用いた理由は、ボセンタン投与による肝機能障害は、げっ歯類では再現しないことが明らかになっており、ボセンタン投与時に起こる胆汁うっ滞の肝臓を再現するために、このモデルを用いた。胆管結紮を行ったマウスでは、シャムオペレーションを行ったマウスに比べて CHST3 および CHST13 の mRNA レベルは有意に上昇することを確認した。さらに、肝臓切片をアルシアンブルー染色で確認したところ、コンドロイチン硫酸を含むグリコサミノグリカンが増加していた。これらの現象は、細胞を使った研究系でも再現可能だったことを確認した。LPS で処理した Hep3B 細胞では、エンドセリン受容体拮抗薬で処理すると、炎症および線維化が増強することを確認した。これまでの研究では、エンドセリン受容体拮抗薬は他の細胞タイプにおいて、抗炎症作用や抗線維化作用を示す可能性があると報告されてきたため、今回の結果は興味深い知見を含んでいる。さらに、幹細胞において、エンドセリン受容体拮抗薬で処理すると STAT3 経路が活性化することが明らかとなった。また、Chondroitinase ABC を用いて過剰なコンドロイチン硫酸を抑制することで、炎症性や線維化を抑制することが確認できた。これらの結果は、CHST3 および CHST13 によるコンドロイチン硫酸の産生は、ボセンタン関連肝機能障害を媒介することが示唆され、ボセンタン関連肝機能障害の治療や副作用を回避した肺高血圧症治療薬の創薬に繋がる可能性が示された。

今後、さらなる研究を重ね、臨床での肝機能障害を回避した安全かつ効果の高い薬物療法を検討するとともに、肝臓における CHST3 および CHST13、コンドロイチン硫酸、エンドセリンの関与を検証し、薬剤性肝機能障害を回避した薬物療法の可能性について、検証を重ねていきたい。

主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kennosuke Yorifuji, Yuko Uemura, Shinji Horibata, Goh Tsuji, Yoko Suzuki, Kazuhiko Nakayama, Takashi Hatae, Shunichi Kumagai, Noriaki Emoto	4. 巻 98
2. 論文標題 Predictive model of bosentan-induced liver toxicity in Japanese patients with pulmonary arterial hypertension	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Can J Physiol Pharmacol	6. 最初と最後の頁 625-628
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1139/cjpp-2019-0656	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Gusty Rizky Teguh Ryanto, Kennosuke Yorifuji, Koji Ikeda, Noriaki Emoto	4. 巻 98
2. 論文標題 Chondroitin sulfate mediates liver responses to injury induced by dual endothelin receptor inhibition	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Can J Physiol Pharmacol	6. 最初と最後の頁 618-624
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1139/cjpp-2019-0649	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

研究組織（研究協力者）

氏名	ローマ字氏名
----	--------