

令和 6 年 5 月 2 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K07175

研究課題名（和文）周産期における肝取り込みトランスポーターの活性評価による甲状腺ホルモンの挙動解析

研究課題名（英文）Kinetic analyses of thyroid hormone based on hepatic uptake transporter activity during the perinatal period

研究代表者

内藤 隆文（Naito, Takafumi）

信州大学・学術研究院医学系（医学部附属病院）・教授

研究者番号：80422749

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1Bは、一部の薬物の肝消失に関与するとともに内因性物質のサイロキシン（T4）の肝取り込みによる活性化において重要な役割を果たす。周産期女性では、妊娠初期から後期にかけて、甲状腺ホルモンの需要量が徐々に増大し、その不足により、流産、早産及び妊娠高血圧症候群などに至りやすい。本研究ではOATP1Bの輸送活性を反映する複数の血清マーカーを指標に周産期におけるOATP1Bの輸送活性を定量的に評価する。さらに、周産期における甲状腺ホルモンの体内挙動に着目し、OATP1Bの輸送活性との関係解析を行うとともに血清マーカーを用いた予測性を評価する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義として、OATP1Bの輸送活性を指標とした妊娠期の女性における甲状腺ホルモンの体内挙動の予測に基づく適正な投与量及びタイミングでのレボチロキシン製剤の補充療法の確立に繋がる。本研究の社会的意義として、妊娠中の甲状腺ホルモンの血中濃度の維持が可能となり、妊娠を希望する女性における不妊の治療、母体における妊娠の維持及び胎児の発育環境の向上に繋がり、それらは出生率の上昇とともに少子化問題の改善に寄与する。

研究成果の概要（英文）：Organic anion transporting polypeptide (OATP) 1B, a transporter mediating hepatic excretion of various anionic drugs, plays an important role of thyroxine activation after its hepatic uptake. The pregnant women gradually require the thyroid hormones from early stage to late stage of pregnancy. Lack of the thyroid hormones leads to the development of miscarriage, premature delivery, and pregnancy-induced hypertension. This study evaluated the OATP1B1 transporting activity using its endogenous markers during the perinatal period. The predictivity of the serum thyroid hormones using OATP1B1 transporting activity was also investigated in pregnant women.

研究分野：医療薬学、臨床薬理学、薬物動態学

キーワード：甲状腺ホルモン 妊娠 サイロキシン 肝取り込みトランスポーター OATP1B バイオマーカー 周産期

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 肝取り込みトランスポーターである有機アニオン輸送ポリペプチド (OATP)1B は、一部の薬物の肝消失に関与するとともに内因性物質のサイロキシン(T4)の肝取り込みによる活性化において重要な役割を果たす。内因性物質の甲状腺ホルモンに関して、肝臓での T4 からトリヨードサイロニン(T3)への変換において、OATP1B を介した血液から肝臓への取り込みが関わり、そのトランスポーターによる輸送が生体の恒常性維持に重要な役割を果たしている。最近、妊娠時において、妊娠関連ホルモンがチトクロム P450 (CYP) 3A4 や P 糖タンパク質を含む一部の薬物代謝酵素や薬物輸送担体の活性に影響を与えることが報告されている[1,2]。

(1) 周産期の女性では、妊娠初期から後期にかけて、甲状腺ホルモンの需要量が徐々に増大し、甲状腺機能が低下しやすい。妊婦における甲状腺ホルモンの不足は流産や早産に至りやすく、さらには妊娠高血圧症候群などを発症しやすい。最近、妊娠期におけるヨードトランスポーターの機能低下が習慣性流産の発症に寄与する可能性が示されている[3]。そのため、周産期には甲状腺ホルモン(甲状腺刺激ホルモン(TSH)、遊離 T3 (FT3)、遊離 T4 (FT4))の定期的なモニタリングや一部の患者では甲状腺ホルモン製剤(レボチロキシン)の補充が必要となる。しかし、周産期における OATP1B の輸送活性の推移やその基質である甲状腺ホルモンの体内挙動との関係については、ほとんど情報はない(図1)。

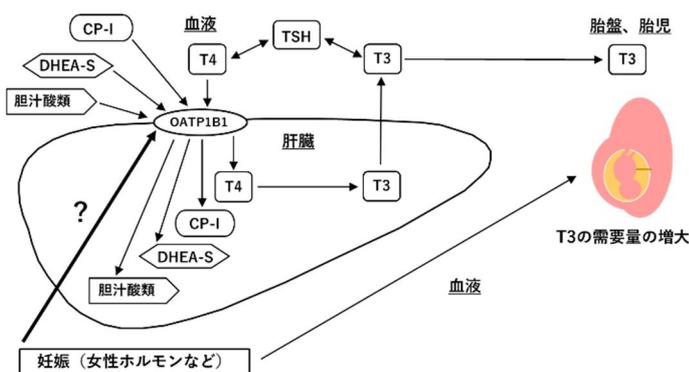


図1 妊娠時におけるOATP1Bおよび甲状腺ホルモンとの関係

図1 妊娠時におけるOATP1Bおよび甲状腺ホルモンの関係

2. 研究の目的

本研究では、ヒトの OATP1B の輸送活性を反映する複数の血清マーカーとその候補を用いて、周産期における OATP1B の輸送活性とその推移を多角的かつ定量的に評価する。さらに、周産期における甲状腺ホルモンの体内挙動について、OATP1B の輸送活性との関係を予測性とともに解析する。

3. 研究の方法

(1) 本研究は、浜松医科大学臨床研究倫理委員会の承認を受け実施した(承認番号: 19-249)。患者には、本研究について口頭および文書で説明した後、自由意思に基づく参加への同意を文書で得た。

(2) 対象は浜松医科大学医学部附属病院において、外来・入院診療または定期妊婦健診を受けている周産期(妊娠期、産褥期)の女性を対象とした。被験者について、研究協力者である産婦人科の医師とともに対象の可否を協議し、同意の得られた妊婦を登録した。58名の被験者・患者から同意を得られ、172検体を収集した。

(3) OATP1B の輸送活性の血清マーカーについて、ヘム生合成過程の代謝中間産物であるコプロポルフィリン(CP)-I及び男性ホルモンの中間代謝産物であるデヒドロエピアンドロステロン硫酸(DHEA-S)の血中濃度について、LC-MS/MS法またはELISA法を用いて定量する。

(4) 新規 OATP1B の輸送活性の血清マーカーである胆汁酸類(グリコリトコール酸硫酸(GLCA-S)およびグリコケノデオキシコール酸硫酸(GCDCA-S))[4]の血中濃度の定量について、分析カラムとして、メタルフリー-PEEKカラム(InterSustain AQ-C18)を用いたLC-MS/MS法を確立する。

(5) 甲状腺ホルモンとして、TSH、遊離 T3 (FT3)及び遊離 T4 (FT4)の血清中濃度については、臨床化学自動分析装置を用いて化学発光免疫測定法(CLIA法)により定量する。

(6) 各妊娠期(中期、後期)および産褥期の甲状腺ホルモンの血中濃度および OATP1B の輸送活性の血清マーカーを評価する。OATP1B の輸送活性の血清マーカーと甲状腺ホルモンの血中濃度

との関係性を評価する。

4. 研究成果

(1) 移動相には 37%アセトニトリルおよび 0.1%ギ酸を含む水溶液を用い、流速 0.3 mL/min、カラム温度 60 の測定条件下で LC 分離を行った。メタルフリー-PEEK カラムの使用により、血漿試料に含まれる異性体を含む他の内因性物質との GLCA-S、GCDCA-S および内部標準物質のピーク分離は良好であり、全ての物質が 10 分以内に検出可能であった (図 2)。検量線においては、いずれの測定物質も、2.5-1500 ng/mL の濃度範囲において $r > 0.99$ の良好な直線性が得られた。また、健常成人男女 8 人における血中 GLCA-S 濃度および血中 GCDCA-S 濃度は、それぞれ、8.9-320 ng/mL、56-437 ng/mL であり、検量線の濃度範囲はヒト血漿試料へ適用する際に妥当であると考えられた。

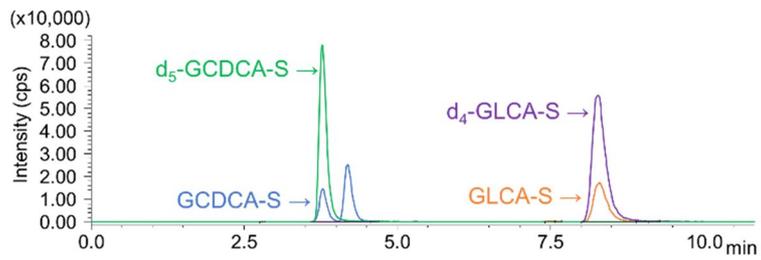


図2 GLCA-SおよびGCDCA-Sのクロマトグラム

(2) 血中 TSH 濃度については、妊娠期および出産前後での変化が認められた (中期 vs 後期 ($P = 0.006$), 中期 vs 産褥期 ($P = 0.009$), 後期 vs 産褥期 ($P = 0.362$)). 一方、血中 FT3 濃度についても、出産前後での変化が認められた (中期 vs 後期 ($P = 0.840$), 中期 vs 産褥期 ($P < 0.001$), 後期 vs 産褥期 ($P < 0.001$)) (図 3)。血中 FT4 濃度についても、出産前後での変化が認められた (中期 vs 後期 ($P = 0.891$), 中期 vs 産褥期 ($P = 0.003$), 後期 vs 産褥期 ($P = 0.027$)). これらの結果から、甲状腺ホルモンは妊娠期および出産前後において変化することが示された。

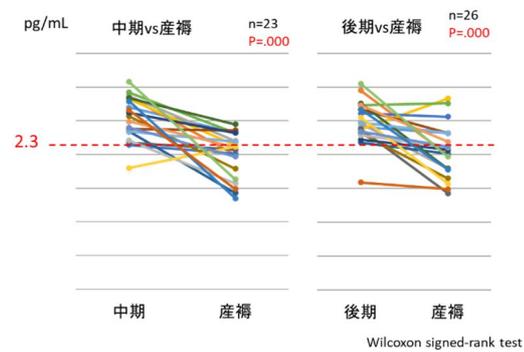


図3 周産期における血中FT3値の変化

(3) 血中 GLCA-S 濃度は妊娠の経過とともに減少した ($P = 0.042$)). 一方、血中 GCDCA-S 濃度では、妊娠期との関係は認められなかった ($P = 0.368$)). 血中 DHEA-S 濃度についても、妊娠期および出産前後での変化が認められなかった (中期 vs 後期 ($P = 0.407$), 中期 vs 産褥期 ($P = 0.211$), 後期 vs 産褥期 ($P = 0.314$)). これらの結果から、胆汁酸類の血中 GLCA-S が妊娠期および出産前後における母体の状態を反映するマーカー候補になることが示された。

(4) OATP1B1 活性の代表的な内因性マーカーである CP-1 の血中濃度について、妊婦における検出感度の問題から、質量分析計での定量を断念した。

(5) 血中 GLCA-S 濃度および血中 GCDCA-S 濃度については、甲状腺ホルモン (TSH、FT3、FT4) の血中濃度との関係は認められなかった。血中胆汁酸類である GLCA-S および GCDCA-S については、妊娠期および出産前後において甲状腺ホルモンを予測するマーカー候補にはならないことが示された。

(6) 血中 DHEA-S 濃度については、血中 FT3 濃度との相関性が認められた ($r_s = 0.195$, $P = 0.044$) (図 4)。しかしながら、OATP1B の基質となる FT4 については、血中 DHEA-S 濃度との相関性は認められなかった ($r_s = -0.080$, $P = 0.413$)。また、血中 TSH 濃度と血中 DHEA-S 濃度との間にも相関性は認められなかった ($r_s = 0.002$, $P = 0.985$)。血中 DHEA-S は弱いながらも、血中 FT3 濃度を予測するマーカーとなることが示された。しかしながら、そのスピアマンの順位相関係数が正であり、OATP1B の輸送を介さない甲状腺ホルモンの血中濃度との関係が示唆され、そのほかの関連因子の探索の必要性が示された。

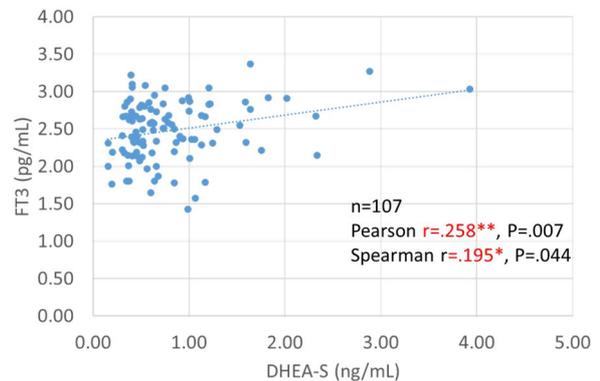


図4 周産期における血中DHEA-S値とFT3値との関係

<引用文献>

- [1] Taguchi R, Naito T, Kubono N, Ogawa N, Itoh H, Kawakami J. Relationships between endogenous CYP3A markers and plasma amlodipine exposure and metabolism in early postpartum and non-peripartum women with hypertension. *Pregnancy Hypertens.* 2019;17:209-215.
- [2] Ma Z, Lu S, Sun D, Bai M, Jiang T, Lin N, Zhou H, Zeng S, Jiang H. Roles of organic anion transporter 2 and equilibrative nucleoside transporter 1 in hepatic disposition and antiviral activity of entecavir during non-pregnancy and pregnancy. *Br J Pharmacol.* 2019;176(17):3236-3249
- [3] Bilal MY, Dambaeva S, Brownstein D, Kwak-Kim J, Gilman-Sachs A, Beaman KD. Iodide transporters in the endometrium: a potential diagnostic marker for women with recurrent pregnancy failures. *Med Princ Pract.* 2020;29(5):412-421.
- [4] Mori D, Ishida H, Mizuno T, Kusumoto S, Kondo Y, Izumi S, Nakata G, Nozaki Y, Maeda K, Sasaki Y, Fujita KI, Kusuhara H. Alteration in the plasma concentrations of endogenous organic anion-transporting polypeptide 1B biomarkers in patients with non-small cell lung cancer treated with paclitaxel. *Drug Metab Dispos.* 2020;48(5):387-394.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 黒澤優子, 内藤隆文, 前川真人, 伊東宏晃, 川上純一
2. 発表標題 メタルフリー-PEEKカラムを用いたOATP1B基質胆汁酸硫酸抱合体のLC-MS/MS同時定量法の開発
3. 学会等名 第42回日本臨床薬理学会学術総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	川上 純一 (Kawakami Junichi) (50272539)	浜松医科大学・医学部附属病院・教授 (13802)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	黒澤 優子 (Kurosawa Yuko)	浜松医科大学・医学部附属病院・薬剤師 (13802)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------