

機関番号：35413

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790170

研究課題名（和文） 周産・新生児期における薬物代謝酵素活性の特性変動を考慮した適切な医薬品投与設計

研究課題名（英文） Dose adjustment based on the developmental changes of drug metabolic enzyme activity

研究代表者

田山 剛崇 (TAYAMA YOSHITAKA)

広島国際大学・薬学部・講師

研究者番号：80389121

研究成果の概要（和文）：ラット新生仔肝において、薬物代謝酵素である xanthine oxidase と aldehyde oxidase 活性変動が観察された。また、ラット胎盤においてはタンパクあたりの活性変動は認められなかったが、妊娠後期には胎盤が増加することを考慮すると、胎盤重量を考慮した医薬品投与設計が必要である。

研究成果の概要（英文）：In the present study, we observed the developmental changes of drug metabolic enzyme, xanthine oxidase (XO) and aldehyde oxidase (AO) activity in postnatal rat liver. On the other hands, there were no developmental changes of rat placenta XO and AO activity during gestational period. Account for the change of placenta weight, their activity in whole body may change during gestational period. Therefore, we should make dose adjustment based on the developmental changes of drug metabolic enzyme activity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

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：小児、胎児、新生児、薬物代謝、医薬品適正使用

### 1. 研究開始当初の背景

現在、小児に対し、用法・用量が未承認である医薬品が多く汎用されている。しかし、小児適応を目的とした臨床試験はほとんど行われておらず、わずかに、医師主導型の臨床試験にて、その適応が認可されようとしている。また、医療技術の進歩により、周産期における胎児への薬物治療は増加しつつある。HIVの母子感染予防および不整脈治療など胎児への薬物治療は、母体を通して、投与

される場合が多い。投与された医薬品の多くは、胎盤中の薬物代謝酵素やトランスポーターによって異化・排泄されると考えられる。しかし、受胎週齢と医薬品の投与量に関しても十分検討されていない。

### 2. 研究の目的

胎盤および新生仔の成長に伴う薬物代謝酵素活性の変動を明らかにする目的で、報告の

少ない xanthine oxidase (XO) と aldehyde oxidase (AO) を中心に、以下の検討を行った。  
 (i) ラット新生仔における薬物代謝酵素(AO, XO)活性変動とタンパク発現変動の検討を行った。  
 (ii) ラット胎仔(胎盤)における薬物代謝酵素(AO, XO)活性変動の検討を行った。加えて、ヒト胎盤における薬物代謝酵素(AO, XO)活性を検討した。

### 3. 研究の方法

#### (I) 動物

Jcl:SD 系ラットを交配後、妊娠 12,14,20 日齢に屠殺した。その後、胎盤を摘出し、cytosol 画分を作成した。同様に、新生仔は出生 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 日齢に屠殺し、肝 cytosol 画分を作成した。一方、ヒト胎盤はベリタス(株)より購入後、cytosol 画分を作成し、使用した。  
 なお、購入したヒト胎盤の被験者の背景を Table 1 に示す。

Table 1 被験者背景

Case #	Year of Birthday	Sex	Ethnicity (Race)	Type of Procurement	Pregnancy length, weeks
714	1980	Female	Caucasian (White)	normal childbirth	38
717	1979	Female	Caucasian (White)	normal childbirth	38
718	1977	Female	Caucasian (White)	normal childbirth	38
719	1984	Female	Caucasian (White)	normal childbirth	38
722	1986	Female	Caucasian (White)	normal childbirth	38

#### (II) 薬物代謝酵素活性の測定

##### (i) XO 活性測定

XO 活性は、基質である 1-methylxanthine を cytosol 画分に添加後、インキュベーションし、その酸化代謝物である 1-methyluric acid の生成量により評価した。なお、1-methyluric acid は高速液体クロマトグラフ(HPLC)にて測定した。

##### (ii) AO 活性測定

AO 活性は、基質である  $N^1$ -methyl nicotinamide を上記で作成した cytosol 画分に添加後、インキュベーションし、その酸化代謝物である  $N^1$ -methyl-4-pyridone-3-carboxamide 及び  $N^1$ -methyl-2-pyridone-5-carboxamide の酸化活性にて評価した。なお、 $N^1$ -methyl-4-pyridone-3-carboxamide 及び  $N^1$ -methyl-2-pyridone-5-carboxamide は HPLC にて測定した。

#### (III) 薬物代謝酵素タンパク発現の測定

XO および AO タンパク変動は、SDS/PAGE 後、Western blotting 法により、検討を行った。

## 4. 研究成果

### ラット肝 XO 活性に及ぼす日齢の影響

ラット新生仔における XO 活性変動および XO タンパク発現変動を示す。生後 28 日目に急激な活性上昇が観察された。また、タンパク発現も新生仔の発育に伴って上昇した。

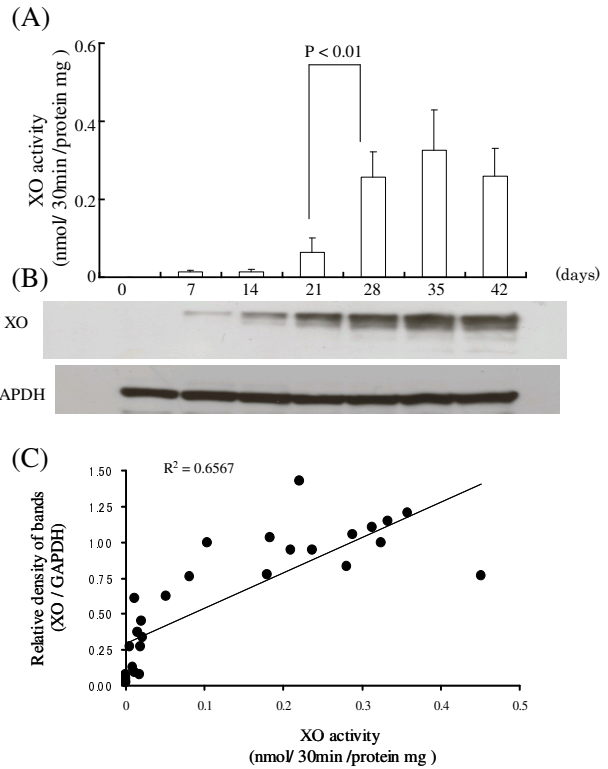
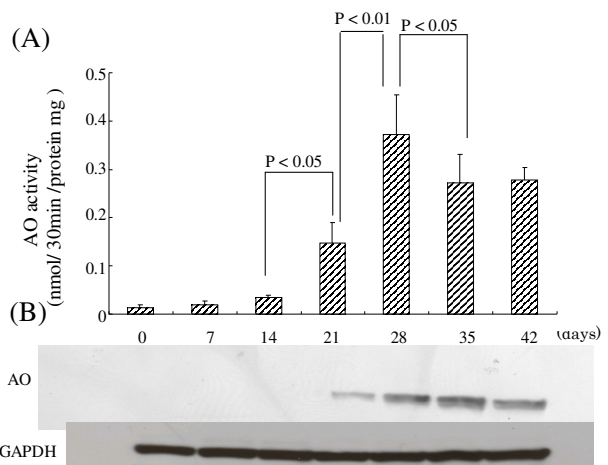


Fig. 1 ラット肝 XO に及ぼす日齢の影響

(A) タンパクあたりの XO 活性変動 (B) XO タンパクの発現変動 (C) XO 活性と発現量の相関

### ラット肝 AO 活性に及ぼす日齢の影響

ラット新生仔における AO 活性変動および AO タンパク発現変動を示す。生後 21 日目に急激な活性上昇が観察された。また、AO タンパク質は生後 21 日より観察され、新生仔の成育に伴ってその発現量は増加した。



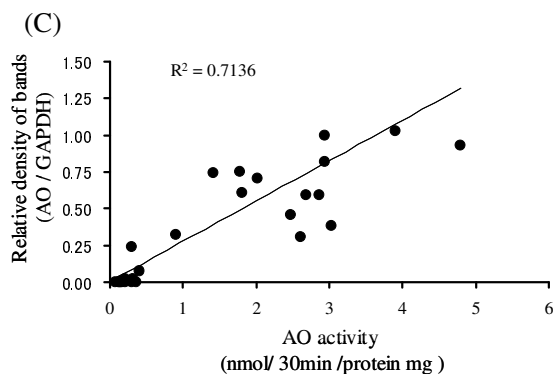


Fig. 2 ラット肝 AO 活性に及ぼす日齢の影響 (タンパクあたりの活性変動) (A) タンパクあたりの AO 活性変動 (B) AO タンパクの発現変動 (C) AO 活性と発現量の相関

#### ラット胎盤 XO 活性に及ぼす妊娠日齢の影響

妊娠 14, 16, 20 日間において、XO 活性に差は認められなかった。(Fig. 3 A)。一方、胎盤重量にタンパクあたりの XO 活性を乗じた胎盤あたりの XO 活性は、胎盤の発育に伴い増加した(Fig. 3 B)。

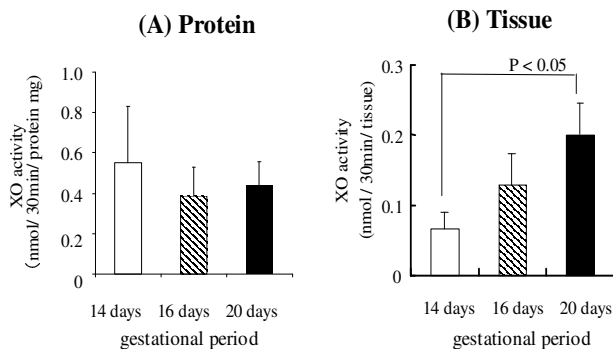


Fig. 3 妊娠日齢に伴うラット胎盤における XO 活性の変動 (A) タンパクあたりの変動 (B) 胎盤組織あたりの変動

#### ラット胎盤 AO 活性に及ぼす妊娠日齢の影響

妊娠 14, 16, 20 日間において、AO 活性に差は認められなかった(Fig. 4A)。一方、胎盤重量にタンパクあたりの AO 活性を乗じた胎盤あたりの AO 活性は、胎盤の発育に伴い増加した(Fig. 4B)。

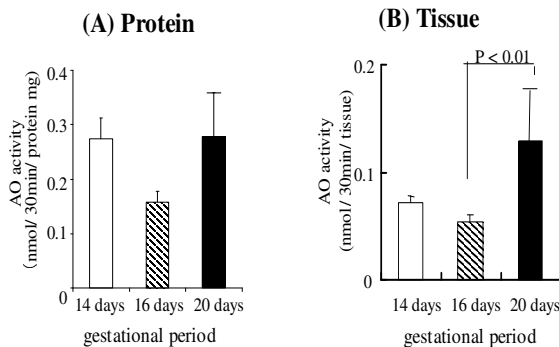


Fig. 4 妊娠日齢に伴うラット胎盤における AO 活性の変動 (A) タンパクあたりの変動 (B) 胎盤組織あたりの変動

#### D. ヒト胎盤における Aldehyde oxidase 活性

被験者は 5 名(Caucasian、妊娠 38 週齢)であった。いずれの被験者においても胎盤中に AO 活性を認めた。また、各被験者の胎盤中 AO 活性はほぼ同等の活性を示した(Fig. 5)。

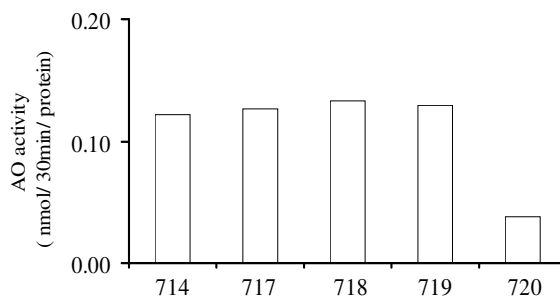


Fig. 5 ヒト胎盤におけるタンパクあたりの AO 活性

#### 考察

##### ラット新生仔における薬物代謝酵素(AO, XO)活性変動

XO および AO ともに、ラット発育に伴う活性変動およびタンパク発現変動が観察された。また、XO 活性とタンパク発現量の間には良好な相関を認めた(data not shown)。同様に、AO 活性も、そのタンパク発現量の間には良好な相関を認めた(data not shown)。これらのことより、発育に伴う XO および AO 活性変動は、タンパク発現により制御されている可能性が示唆された。発育に伴う活性変動が観察されたことから、これらの酵素によって代謝をうける医薬品を投与する際には年齢を考慮した投与設計が必要と考える。

## ラット胎盤における薬物代謝酵素(AO, XO)活性変動

①ラット胎盤において、XO 活性 (nmol/ 30 min/ mg protein) および AO 活性 (nmol/ 30 min/ mg protein)が認められた。それらタンパクあたりの活性は、各妊娠日齢において一定であった。②ラット妊娠日齢に伴い、胎盤重量は急激に増加した(data not shown)。以上のことから、組織(胎盤)あたりの XO 活性および AO 活性は上昇すると考えられる。また、AO には大きな種差が報告されていることから、ヒト胎盤においても AO 活性を検討した。その結果、胎盤中に AO 活性を認めた(Fig. 4)。しかし、今回、妊娠初・中期の胎盤について検討を行っていないため、妊娠週齢に伴うヒト AO 活性変動については不明である。今後、これらの時期における酵素活性を検討する必要がある。ヒト胎盤中 XO に関しては、その活性を認められなかった(data not shown)。しかし、胎盤中に XO タンパクが発現していた(data not shown)。ヒト胎盤組織が XO 活性を示さなかった要因について、今後、検討する必要があると考えられる。今回の検討により、妊娠後期のヒト胎盤中も AO 活性を示すことが明らかとなった。また、ラットのデータより、ヒト胎盤 AO 活性の変動は胎盤重量に影響をうける可能性が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

Tayama Y, Sugihara K, Sanoh S, Miyake K, Morita S, Kitamura S, Ohta S

Effect of Tea Beverages on Aldehyde Oxidase Activity.

*Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, **26**(1), 2011, pp. 94-101

査読 有

[学会発表] (計 1 件)

田山剛崇, 杉原数美, 三宅勝志, 北村繁幸, 太田 茂

ラット発育に伴う薬物代謝酵素 xanthine oxidase の活性変動

日本薬学会 第 131 年会

2011年3月・静岡

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

田山 剛崇 (TAYAMA YOSHITAKA)

広島国際大学・薬学部・講師

研究者番号：80389121