

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月31日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23790604

 研究課題名（和文） プロドラッグを代謝する薬物代謝酵素の遺伝的多型の臨床的意義について
 研究課題名（英文）

The effect of carboxylesterase 1 (CES1) polymorphisms on the pharmacokinetics of prodrugs in humans.

研究代表者

須崎 友紀 (SUZAKI YUKI)

大阪大学・医学部附属病院・特任講師（常勤）

研究者番号：50527645

研究成果の概要（和文）：

カルボキシルエステラーゼ（CES）の遺伝子多型によって、CES1で代謝される薬物の薬物動態に影響が認められるかを検討した。*CES1A*遺伝子多型及び*CES1*機能遺伝子数の違いでオセルタミビル（未変化体）及びオセルタミビルカルボキシル体（活性代謝物）の薬物動態に有意な差は認められなかったが、オセルタミビル血漿中濃度が著しく高値（約10倍）を示す被験者1例の存在を確認したため、CES1の個人差についてはさらなる検討が必要であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

This study was designed to examine whether the pharmacokinetics of prodrug is affected by carboxylesterase (CES) 1A genetic polymorphisms. The individual differences in the metabolism of oseltamivir are not explained by the *CES1A* genetic polymorphisms. However, one subject, out of a total number of 30, was an outlier with about a 10-fold higher AUC for oseltamivir. Further studies are required to reveal the cause of the individual differences in CES1 metabolism.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：薬物代謝酵素、CES1、プロドラッグ、遺伝子多型

1. 研究開始当初の背景

高い薬理活性をもつ化合物であったとしても、投与後に消化管内や肝臓で分解され、効果が減弱してしまう場合が少なからず起こる。このような場合には消化管吸収性、組織移行性、組織選択性、化学的安定性を向上させる

ために、目標部位に到達してから薬効を発揮（活性化）するように化学的修飾を加えた薬（プロドラッグ）が用いられる。

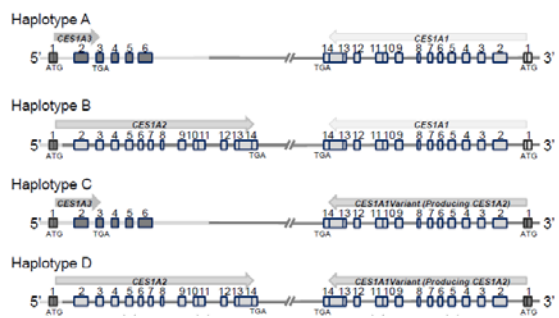
カルボン酸をエステル化したプロドラッグは、経口投与されると、腸管壁から吸収され、肝のカルボキシルエステラーゼ（CES）によ

り加水分解される。加水分解されたプロドラッグは、代謝により活性化され、薬効を発揮する。近年、CES1 酵素には5'上流領域および exon1 の配列が異なる2つの遺伝子 *CES1A1* および *CES1A2*、また *CES1A1* と exon1 の配列が異なる *CES1A1 variant*、蛋白発現につながらない exon6 までの *CES1A3* (機能遺伝子としては働かない偽遺伝子) が存在し、これらの遺伝子は第16番染色体上で *inverted duplication* の状態で存在していることが報告されている。これらの組み合わせで4つのハプロタイプ (Haplotype A: *CES1A3/CES1A1*、Haplotype B: *CES1A2/CES1A1*、Haplotype C: *CES1A3/CES1A1 variant*、Haplotype D: *CES1A2/CES1A1 variant*) の存在が確認されている (図1)。これらの多型は、遺伝子構造や発現を大きく変化させることから、薬物動態は大きく影響を受けると考えられる。

CES 活性は個体差が大きいことが知られているため CES 酵素で代謝される薬物の薬効発現は CES 活性の個体差に大きく影響を受けると考えられる。また、肝臓は薬物代謝において重要な臓器であり、肝機能の著しい低下はプロドラッグ活性化の遅延や肝臓で代謝される薬物の血中濃度の上昇を起こす可能性がある。そのため、肝 CES1 酵素によって代謝される薬物の薬物動態と薬効が、遺伝子多型による影響を受けるかということは、薬の安全な使用において非常に重要な情報となり得る。

プロドラッグの活性を予測し、効果的な薬理作用発現と副作用回避を考えるためには、*CES1* 遺伝子の詳細な遺伝多型解析が不可欠である。

図1. *CES1* 遺伝子とハプロタイプ



2. 研究の目的

CES は、プロドラッグの代謝活性化過程で重要な役割を果たしている薬物代謝酵素であるが、本酵素の個人差の原因については、ほとんど検討が行われていない。そこで本研究は、オセルタミビル代謝における薬物血中濃度の差及び副作用が *CES1A* 遺伝多型及び *CES1* 機能遺伝子数の違いに起因するかを検討する。

3. 研究の方法

①日本人健康成人におけるオセルタミビル薬物動態解析

文書による同意を得られた健康成人30名を対象とし、オープン試験で実施した。全血サンプルよりゲノムDNAを抽出し、*CES1A* 遺伝子多型解析を行った。*CES1A1* と *CES1A1 variant*、*CES1A2* と *CES1A3* の違いは、PCR-RFLP法及びダイレクトシーケンス法で解析した。

オセルタミビル75mgを単回経口投与し、オセルタミビル投与前及び投与後経時的に血漿中オセルタミビル(未変化体)及びオセルタミビルカルボキシル体(活性代謝物)濃度測定のための採血を行い、*CES1* 遺伝子多型による薬物動態パラメーターの違いを評価した。

② *CES1* 遺伝子多型の SNP 解析

文書による同意が得られた健康成人全血サンプルよりゲノム DNA を抽出した。Gly143Glu(9486G>A)多型、12785T>del 変異(p.Asp260fs)は、リアルタイム PCR を用いて解析した。

4. 研究成果

① 日本人健康成人におけるオセルタミビル薬物動態解析

健康成人 30 名のうち *CES1A* 遺伝子型では、30 名中 18 名が *CES1A1/1A1*、7 名が *1A1/1A1variant*、4 名が

1A1variant/1A1variant であった。*CES1* 機能遺伝子数で比較したところ機能遺伝子数 3 (CES1 diplotype: A/B、A/D 又は B/C、及び C/D) が 24 名、機能遺伝子数 4 (CES1 diplotype: B/B、B/D 及び D/D) が 6 名であった。*CES1A1* と *CES1A1 variant* の発現頻度はそれぞれ 0.733 と 0.267 であった。一方、*CES1A2* と *CES1A3* の発現頻度はそれぞれ 0.600 と 0.400 であった。機能遺伝子数 2、3、4 の発現頻度は、それぞれ 0.000、0.800、0.200 であった。

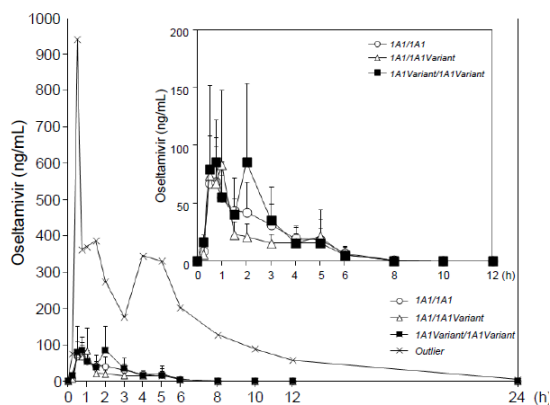


図 2 : オセルタミビル投与後 24 時間の *CES1A1* 遺伝子型に対する血漿中オセルタミビル (未変化体) の変化

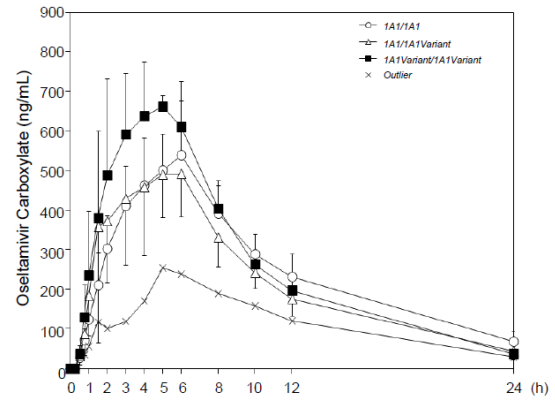


図 3 : オセルタミビル投与後 24 時間の *CES1A1* 遺伝子型に対する血漿中オセルタミビルカルボキシル体 (活性代謝物) の変化

オセルタミビル 75mg を単回経口投与した際の血漿中オセルタミビル (未変化体) の薬物動態パラメーター (AUC_(0,∞)、T_{1/2}、CL/F) は *CES1A* 遺伝子型及び *CES1* 機能遺伝子数で比較した場合、ともに著しい違いは認められなかった (図 2)。また、血漿中オセルタミビルカルボキシル体 (活性代謝物) の薬物動態パラメーター (AUC_(0,∞)、T_{1/2}、CL/F) を *CES1A* 遺伝子型および、*CES1* 機能遺伝子数で比較した場合も、共に著しい違いは認められなかった (図 3)。

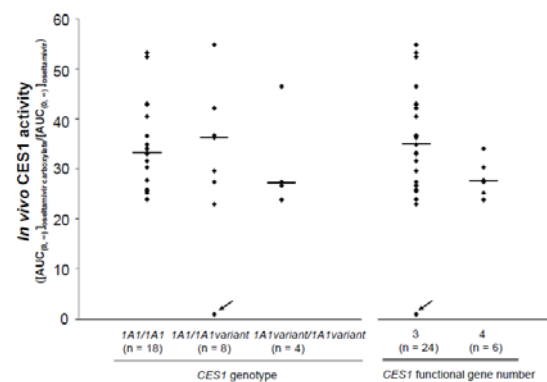


図 4 : *CES1A1* 遺伝子型及び *CES1A* 機能遺伝子数による *in vivo* CES1 活性の違い (各グループの平均値: — (外れ値を示した被験者のデータは除く)、外れ値を示した被験者のデータ: →)

さらに、*in vivo* CES1 活性 ([AUCoseltamivir carboxylate]/[AUCoseltamivir]) を評価した。機能遺伝子数 4 の平均 AUC 比は、機能遺伝子数 3 の平均 AUC 比より 1.26 倍高かったが *CES1* 遺伝子型では有意な差が認められなかった (図 4)。また、30 名中 1 名は、血漿中オセルタミビル (未変化体) の C_{max} 、AUC が、他の被験者の平均値より約 10 倍高かった。一方で、オセルタミビルカルボキシル体 (活性代謝物) の C_{max} 、AUC は、他の被験者の平均値より低かった (図 2、図 3)。

重篤な有害事象は認められなかった。今回解析した *CES1A* 遺伝子多型及び *CES1* 機能遺伝子数の違いでオセルタミビル (未変化体) 及びオセルタミビルカルボキシル体 (活性代謝物) の薬物動態に有意な差は認められなかった。

しかしながら、オセルタミビル血漿中濃度が著しく高値を示す被験者 1 例の存在を確認した。*CES1* 遺伝子多型によって有意な差は認められなかったが、CES の個人差についてはさらなる検討が必要であると考えられた。

② *CES1* 遺伝子多型の SNP 解析

Gly143Glu(9486G>A)、12785T>del 変異 (p.Asp260fs) は、これまでに CES1 の加水分解活性を低下させると報告されている。特に、Gly143Glu(9486G>A) 多型は、オセルタミビルの代謝を低下させることが報告されている。Gly143Glu(9486G>A) 多型は、アジア人では非常にまれな遺伝子多型である。480 名の日本人健康成人のゲノム DNA を調べたが、この遺伝子多型の発現は認められなかった。

また、12785T>del 変異 (p.Asp260fs) は、さらに稀な遺伝子変異である。492 名の日本人健康成人のゲノム DNA を調べたが、この遺伝子多型の発現も認められなかった。

オセルタミビル (未変化体) 血漿中濃度が

著しく高値を示す被験者 1 例は、Gly143Glu(9486G>A) 多型、12785T>del 変異 (p.Asp260fs)、どちらの変異も認められなかったため、オセルタミビル (未変化体) 血漿中濃度が著しく高値を示した原因については新たな *CES1* 遺伝子多型を含めたさらなる解析が必要である。

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 2 件)

① Suzaki Y, Uemura N, Takada M, Ohyama T, Itohda A, Morimoto T, Imai H, Hamasaki H, Inano A, Hosokawa M, Tateishi M, Ohashi K. The effect of carboxylesterase 1 (CES1) polymorphisms on the pharmacokinetics of oseltamivir in humans. *Eur J Clin Pharmacol*. 査読有 2013 Jan;69(1):21-30. doi: 10.1007/s00228-012-1315-5.

② Suzaki Y, Uemura N, Hosokawa M, Ohashi K. Gly143Glu polymorphism of the human carboxylesterase 1 gene in an Asian population. *Eur J Clin Pharmacol*. 査読有 2013 Mar;69(3):735-6. doi: 10.1007/s00228-012-1352-0.

[学会発表] (計 1 件)

① 須崎友紀、森本卓哉、伊藤田暎子、高田誠、今井浩光、大山哲司、濱崎一、廣田和仁、上村尚人、稲野彰洋、立石正登、大橋京一、オセルタミビル (タミフル®) の薬物動態に及ぼす *CES1A* 遺伝子多型の影響、第 32 回 日本臨床薬理学会年会、平成 23 年 12 月 1 日、浜松

〔図書〕（計 0 件）

研究者番号：

〔産業財産権〕

(3) 連携研究者

○出願状況（計 0 件）

なし（ ）

名称：

研究者番号：

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

須崎 友紀 (SUZAKI YUKI)

大阪大学・医学部附属病院・特任講師（常勤）

研究者番号：50527645

(2) 研究分担者

なし（ ）