

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 26 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390140

研究課題名(和文)MRP4遺伝子多型による利尿薬の副作用予測に関するゲノム薬理学的研究

研究課題名(英文)The relationship between trichlormethiazide-induced hyperuricemia and the genotypes of uric acid transporters

研究代表者

笹栗 俊之(Toshiyuki, Sasaguri)

九州大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：30261209

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,000,000円

研究成果の概要(和文)：利尿薬による高尿酸血症の発症機序を解明するため、尿酸トランスポーター(MRP4、BCRP、NPT4、URAT1、GLUT9)の遺伝子多型と、トリクロルメチアジド(TCM)投与後の血清尿酸値(SUA)・尿中尿酸排泄(UUE)との関連を健常人で調査した。MRP4のE757K多型間では、TCM投与開始初期に野生型でUUEが一過性に低下したが、SUAに有意差はなかった。一方、BCRPのQ126X多型間では、野生型に比べてヘテロ型でSUA増加が有意に大きかったが、UUEには差がなかった。これらより、TCMによる高尿酸血症の主な機序は、BCRPを介した糞便中への尿酸排泄の阻害であると推察された。

研究成果の概要(英文)：Diuretics often cause hyperuricemia. Suppression of the function of urate transporter may be a mechanism of diuretics-induced hyperuricemia. In the present study, we examined whether genetic mutation of MRP4, BCRP, NPT4, URAT1 and GLUT9 influence serum uric acid (SUA) level and urinary urate excretion (UUE) after administration of trichlormethiazide (TCM).

MRP4 E757K polymorphism did not influence the increase of SUA after TCM treatment, although UUE was transiently reduced in subjects with EE genotype. The increase in SUA in subjects with QX genotype in BCRP Q126X polymorphism was larger than in those with QQ genotype. However, there was no difference in UUE between QQ and QX genotypes, indicating that TCM inhibited uric acid excretion into feces in subjects with QX genotype.

Our results suggest that the predominant mechanism of TCM-induced hyperuricemia may be the inhibition of intestinal BCRP.

研究分野：臨床薬理学

キーワード：チアジド 利尿薬 尿酸 遺伝子多型 MRP4 ABCC4 BCRP ABCG2

## 1. 研究開始当初の背景

サイアザイド系利尿薬やループ利用薬は高血圧症の治療などに広く使用されているが、しばしば高尿酸血症や痛風を引き起こすことが知られており、その使用に制限を加えている。しかしながら、利尿薬が引き起こす高尿酸血症の発症メカニズムはまだ解明されていない。

近年、利尿薬はABCトランスポーターの1つである multidrug resistance-associated protein 4 (MRP4) / ABCC4 の機能を阻害することが報告されている。MRP4 は、尿酸を含む様々な内因性物質や薬物を基質とすることが知られている。MRP4 は腎臓や肝臓、小腸など様々な器官に発現しており、尿中への尿酸排泄に関与する。そのため、利尿薬が MRP4 の機能を抑制することは、利尿薬による高尿酸血症の原因の1つである可能性がある。

MRP4 の遺伝子多型のうち E757K (rs3765534) 多型は、その機能を著しく低下させることが知られている。興味深いことに、この遺伝子多型の頻度は、白人や中国人、韓国人と比較して、日本人で非常に高い(アレル頻度 14~23%)。

一方、尿酸の吸収や排泄は、MRP4 以外にも複数のトランスポーターによりコントロールされている。尿酸の約 2/3 は尿中へ排泄されるが、約 1/3 は糞便中へ排泄される。糸球体で濾過された尿酸は、90%以上が尿細管で再吸収されるが、その再吸収には urate transporter 1 (URAT1/ SLC22A12) や glucose transporter 9 (GLUT9/SLC2A9) が関与する。尿細管からの排泄には、breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) や sodium-phosphate transporter 4 (NPT4/SLC17A3)、MRP4 が関与する。そして、これらのトランスポーターの遺伝子変異が、血清尿酸値や痛風のリスクに影響を及ぼすことが報告されている。

## 2. 研究の目的

利尿薬の副作用(高尿酸血症)の発現を遺伝子多型から予測できるかどうかを検討するため、MRP4 や BCRP、NPT4、URAT1、GLUT9 の遺伝子多型が、利尿薬による血清尿酸値・尿中尿酸排泄の変化に与える影響を調査する。

## 3. 研究の方法

### (1) 単回投与試験

日本人健康成人男性 8 名を対象とした。チアジド系利尿薬としてトリクロルメチアジド(フルイトラン錠) 2 mg、4 mg、8 mg を単回投与し、2、4、8、12 時間後の血清尿酸値の測定を行い、投与前と比較した。また、-2~0、0~2、2~4、4~8、8~12 時間の蓄尿を行い、尿中尿酸排泄を測定した。統計解析には、一元配置分散分析を用いた。

### (2) 反復投与試験

日本人健康成人男女 62 名(男性 30 名、女性 32 名)を対象とした。以下の項目を除外基準とした。治療を要する疾患を有する者、薬物治療中の者、循環器疾患の既往を有する者、肝障害を有する者(AST>40 または ALT>40)、腎障害を有する者(血清クレアチニン>1.2 mg/dL)、血清尿酸値>7.5 mg/dL、血清電解質(Na または K)に異常のある者、ヘマトクリット>55%、チアジド系利尿薬および類似薬による過敏症の既往のある者、妊婦あるいは授乳中の女性、収縮期血圧(坐位)<90 mmHg、>140 mmHg、体重<40 kg または >90 kg、研究責任者が不適当と判断した者。

MRP4 G2269A(rs3765534)遺伝子多型を RFLP 法と TaqMan 法で解析した。トリクロルメチアジド(フルイトラン錠) 4 mg/日を、14 日間経口投与した。Day -1 と 0、Day 6 と 7、Day 13 と 14 に採血を行い、血清尿酸値とクレアチニン値を測定した。Day -1 と 0、Day 6 と 7、Day 13 と 14 の血清尿酸値の平均を、それぞれ Day -1-0、Day 6-7、Day 13-14 の血清尿酸値とした。Day -1~0、Day 6~7、Day 13~14 に 24 時間蓄尿を行い、尿中尿酸値とクレアチニン値を測定し、尿酸クリアランスを算出した。統計解析には、一元配置分散分析または二乗検定を用いた。

### (3) 倫理的事項

単回投与試験、反復投与試験とも、各実施機関(九州大学、大分大学)の倫理審査委員会の承諾を得て実施した。また、すべての試験参加者から文書によりインフォームド・コンセントを得た。

## 4. 研究成果

### (1) 単回投与試験

トリクロルメチアジドを投与した後、血清尿酸値と尿酸排泄量がどのように変化するか詳細な検討を行った臨床試験は、過去の報告からは見当たらなかった。そこで、まず、トリクロルメチアジドを 2 mg、4 mg、8 mg 単回投与した後の血清尿酸値と尿酸排泄量の変化について、少数の健康成人を対象としてパイロット試験(デザインは「研究の方法」を参照)を行った。

その結果、トリクロルメチアジド 8mg 投与後 12 時間において、投与前と比較した時の血清尿酸値の変化は、対照群では  $-0.18 \pm 0.16$  mg/dL、トリクロルメチアジド投与群では  $0.21 \pm 0.25$  mg/dL であり、トリクロルメチアジド投与群で血清尿酸値が有意に増加した ( $p=0.04$ )。しかしながら、尿中尿酸排泄量の変化は、対照群とトリクロルメチアジド投与群とで有意差を認めなかった。

たしかに、高用量(8 mg)のトリクロルメチアジドを投与すれば血清尿酸値は有意に増加したが、その増加は小さく、また尿酸排泄量に有意差を認めることはできなかった。

ため、遺伝子多型が血清尿酸値や尿酸排泄量へ与える影響を、単回投与試験によって確認することは難しいと判断し、次の反復投与試験を行うこととした。

## (2) 反復投与試験

反復投与試験に先立ち、597 人の健康成人ボランティアを募集し、MRP4 E757K 遺伝子多型を調査した結果、九州大学において 432 人が活性型ホモ (EE 型)、155 人がヘテロ (EK 型)、10 人が低活性型ホモ (KK 型)であった。これらのうち、62 人 (EE 型 29 人、EK 型 26 人、KK 型 7 人)を組み合わせ、試験を実施した (デザインは「研究の方法」を参照)。2 人 (EK 型 2 人)が薬剤投与とは関連のない有害事象により脱落したため、最終的に 60 人のデータを解析した。

ベースラインでは、血清尿酸値を含む被験者背景に MRP4 の各多型間で差を認めなかった。トリクロルメチアジド (4mg/日)を反復投与した後の血清尿酸値は、投与前と比較して、1 週間後、2 週間後ともに MRP4 多型のいずれの群においても上昇し、多型間において差を認めなかった。しかし、1 週間後の尿酸クリアランスと尿中尿酸排泄は野生型で低下したが、ホモ変異型においては変化せず、尿中尿酸排泄はむしろ増加した。ただし、この差異は 2 週間後には認められなかった。

トリクロルメチアジドによる血清尿酸値の上昇の原因を MRP4 遺伝子多型の差だけで説明するのは難しいと考えたため、尿酸の輸送に関わると報告されている MRP4 以外のトランスポーター (BCRP、NPT4、URAT1、GLUT9)の活性に影響を与える多型の影響について、サブ解析を行うことにした。

BCRP の Q126X 多型について解析した結果、野生型ホモ (QQ 型)が 57 人、ヘテロ (QX 型)が 3 人で、変異型ホモ (XX 型)は含まれていなかった。ベースラインの血清尿酸値は QQ 型に比べて QX 型では優位に高かった。また、QQ 型に比べると、QX 型では 1 週間後および 2 週間後の血清尿酸値が有意に増加していた。しかしながら、尿酸クリアランスと尿中尿酸排泄は QQ 型と QX 型の間で有意差を認めなかった。

## (3) 考察

トリクロルメチアジド投与後の血清尿酸値の変動は、MRP4 の E757K 多型には影響を受けなかった。この結果は、当初の予想とは異なっていた。一方、BCRP の Q126X 多型においては、活性が低下する QX 型では、QQ 型 (野生型)と比較してトリクロルメチアジド反復投与後の血清尿酸値の増加が有意に増大した。しかしながら、尿中への尿酸排泄は Q126X 多型間で差を認めなかった。

BCRP は小腸や腎臓に発現し、尿酸排泄に関与することが知られている。BCRP の遺伝子変異による機能低下は血清尿酸値の増加を招くが、この時、小腸から糞便中への尿酸排泄

が大きく減少し、尿中への尿酸排泄はむしろ増加すると考えられている。最近、トリクロルメチアジドは、MRP4 だけでなく BCRP の機能も抑制することが報告されている。このことから、トリクロルメチアジド投与後、QQ 型に比べて QX 型において血清尿酸値が著明に増加するにもかかわらず尿中尿酸排泄は変化しないという今回の結果は、トリクロルメチアジドが BCRP による糞便中への尿酸排泄を強く阻害したためではないかと考えられた。QX 型においては、もともとトランスポーター機能が約 1/2 に低下しているが、トリクロルメチアジドによる抑制が加わって、糞便中排泄機能の著しい低下が起こったと推察される。フロセミドも MRP4 だけでなく BCRP の機能を抑制すると報告されており、利尿薬の誘導する高尿酸血症の発生には BCRP の機能抑制が深く関与する可能性がある。

本研究により、トリクロルメチアジドの誘導する高尿酸血症の発症メカニズムに MRP4 は強く関与しないことがわかったが、BCRP の機能抑制がそのメカニズムである可能性を見出すことができた。しかし、本研究の計画当初は MRP4 に焦点を合わせていたため、BCRP が QX 型の被験者は 3 人だけであり、XX 型は皆無であった。さらに、ヒドロクロロチアジドは BCRP の機能低下を招かないとも報告されているため、利尿薬により尿酸値が増加するメカニズムは薬種によって異なる可能性もある。利尿薬による高尿酸血症と BCRP の関係を明らかにするため、さらなる研究調査が必要である。

## 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 0 件、執筆中)

〔学会発表〕(計 6 件)

Yoshihara T, Imai H, Shiraishi F, Sasaguri T. The relationship between trichlormethiazide-induced hyperuricemia and the genotypes of uric acid transporters. 第 88 回日本薬理学会年会, 2015 年 3 月 18 日, 名古屋市.

吉原達也, 今井浩光, 白石富美恵, 有馬久富, 高橋富美, 池松秀之, 小手川勤, 笹栗俊之. MRP4 の遺伝子多型がトリクロルメチアジド投与後の血清尿酸値と尿酸クリアランスに及ぼす影響. 第 35 回日本臨床薬理学会学術総会, 2014 年 12 月 5 日, 松山市.

吉原達也, 有馬久富, 笹栗俊之. MRP4 の遺伝子多型がトリクロルメチアジド投与後の血清尿酸値および尿酸クリアランスに及ぼす影響に関する臨床試験. 第 37 回日本高血圧学会総会, 2014 年 10 月 17 日,

横浜市.

Yoshihara T, Imai H, Shiraishi F, Arima H, Takahashi-Yanaga F, Ikematsu H, Kotegawa T, Sasaguri T. Influence of a loss-of-function polymorphism of MRP4 on serum uric acid concentration and uric acid clearance after the administration of trichlormethiazide. 17th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, 16 July 2014, Cape Town.

Yoshihara T, Hayamizu K, Nagano A, Arioka M, Kitamura Y, Takahashi F, Ikematsu H, Arima H, Sasaguri T. Effects of MRP4 polymorphism on serum uric acid level and uric acid clearance after single administration of trichlormethiazide -a pilot study-. 第86回日本薬理学会年会, 2013年3月21日, 福岡市.

吉原達也, 早水憲吾, 永野晃弘, 有岡将基, 北村悠, 高橋富美, 池松秀之, 有馬久富, 笹栗俊之. MRP4 遺伝子多型がトリクロルメチアジド単回投与後の血清尿酸値および尿酸クリアランスに及ぼす影響 -パイロットスタディ-. 第33回日本臨床薬理学会年会, 2012年11月30日, 宜野湾市.

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計0件)

名称：  
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：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等 特になし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

笹栗 俊之 (SASAGURI, Toshiyuki)  
九州大学・医学研究院・教授  
研究者番号：30261209

### (2) 研究分担者

松村 潔 (MATSUMURA, Kiyoshi)  
九州大学・医学研究院・准教授  
研究者番号：70285409

高橋 富美 (TAKAHASHI, Fumi)  
九州大学・医学研究院・講師  
研究者番号：50274436

吉原達也 (YOSHIHARA, Tatsuya)  
九州大学・医学研究院・助教  
研究者番号：80419613

### (3) 連携研究者

池松 秀之 (IKEMATSU, Hideyuki)  
久留米臨床薬理クリニック

大坪 俊夫 (OHTSUBO, Toshio)  
九州大学・病院・講師  
研究者番号：30423974

白石 富美恵 (SHIRAISHI, Fumie)  
九州大学・医学研究院・技術専門員

### (4) 研究協力者

有馬 久富 (ARIMA, Hisatomi)  
滋賀医科大学・アジア疫学研究センター・  
特任教授  
研究者番号：20437784