

令和元年5月31日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07753

研究課題名(和文)健康食品を安全に使用するための研究～医薬品との併用による有害作用を明らかにする～

研究課題名(英文) Research for safe use of herbal supplements - investigation of the adverse effects of combined use with medicines

研究代表者

西村 有希 (NISHIMURA, Yuki)

昭和大学・医学部・講師

研究者番号：40276572

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：健康食品と医薬品併用の安全性を明らかにするため、近年普及している健康食品が、代表的な薬物代謝酵素であるチトクロームP450 3A(CYP3A)の阻害を介する薬物相互作用をおこすかについて検討した。基礎的検討の結果、シダ、ブラックジンジャー(BG)エキスによるCYP3A阻害が示唆された。一方、臨床試験の結果、ヒトにおいてはBGの反復使用によりCYP3A阻害を介する薬物相互作用をおこす可能性は低いことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、多くの健康食品が流通しているが、医薬品との併用の安全性については十分に検討されていない。健康食品は安全であると認識される傾向にあるが、CYP3A阻害により併用した医薬品の予期せぬ有害作用をまねくことも考えられる。本研究により、近年、わが国で普及している健康食品14品目について、医薬品との相互作用が生じる可能性について検討した。これらの結果は、より安全で効果的な薬物療法、あるいはセルフメディケーションを行う上での有用な情報となると考える。

研究成果の概要(英文)：In order to clarify the safety use of dietary supplements with medicines, it was examined whether the supplements which have been popularized in recent years causes drug interaction via inhibition of cytochrome P450 (CYP3A), a typical drug-metabolizing enzyme. As a result of in vitro experiments, and in vivo experiments using rats, the inhibition of CYP3A by Polypodium leucotomos and black ginger (BG) extract were suggested. Whereas, clinical study showed that 1 week administration of BG was unlikely to cause drug interaction via CYP3A inhibition.

研究分野：薬物相互作用

キーワード：チトクロームP450 薬物相互作用 健康食品 CYP3A herb-drug interaction food-drug interaction

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

健康食品は、健康の保持・増進や、美容などを目的に広く用いられている。近年、わが国においてはセルフメディケーションの意識が高まっており、また平成 27 年 4 月より機能性表示食品制度が開始したことから、その市場は今後、さらに拡大するものと推察される。なかでもハーブ由来の健康食品は世界で広く使用されており、日本では食品として分類されているものであっても、海外では医薬品(西洋ハーブ)として使用されるものがある。わが国でも 2007 年に西洋ハーブの承認審査規制が示され、2011 年には西洋ハーブ医薬品である赤ブドウ葉乾燥エキス混合物配合の医薬品がダイレクト OTC 医薬品として、日本で初めて承認された。今後、このような西洋ハーブを用いた医薬品の需要はますます高まり、それに伴って多くの製品が普及すると推察される。

一方、医薬品を安全に使用するうえで、薬物相互作用に留意することは非常に重要である。特に薬物代謝酵素であるチトクローム P450 3A(CYP3A)の阻害を介する薬物相互作用は、併用した医薬品の有害作用発現を引き起こす重要な要因として知られている。これまで、医薬品併用による薬物相互作用については数多くの報告があり、注意喚起されている。一方、薬物相互作用は、医薬品間のみならず、食品との間にも生じることが報告されている。代表的な例として、グレープフルーツジュースは小腸 CYP3A の阻害により、同酵素で代謝されるフェロジピン、トリアゾラム、タクロリムスなど併用医薬品の血中濃度を上昇させ、有害作用を引き起こすことが示されている。しかし、このような医薬品と食品の相互作用に関する報告はほとんどなく、多くは安全に併用できるかについては不明である。一般的に「健康食品は安心、安全である」と考えられる傾向が強く、医師や薬剤師などの医療従事者も医薬品との併用に留意することは少ないのが現状であると考えられるため、予期せぬ有害作用をまねくことも予測される。健康食品による薬物相互作用に関する情報を蓄積し、医療者側および患者側に提供できるようにすることは、セルフメディケーションが浸透しつつあるわが国の現状から、非常に重要である。

2. 研究の目的

わが国で普及しているハーブ由来の健康食品が、医薬品の重篤な有害作用発現の一因となっている CYP3A 阻害を介する薬物相互作用を引き起こすかを明らかにすることを目的とした。本研究では *in vitro* 実験系で各健康食品の CYP3A に対する阻害の強さおよびメカニズムを明らかにした後、実際に生体内で起こり得る相互作用を予測するためラットを用いた *in vivo* 実験を行い、さらに相互作用が予測される健康食品についてはヒトを対象とした臨床試験を実施する。これら検討の結果から、これまで情報が少ない医薬品と健康食品の薬物相互作用を明らかにし、より安全で効果的な薬物療法およびセルフメディケーションを行う上での有用な情報を提供する。

3. 研究の方法

(1) 汎用される健康食品の検索

わが国において使用頻度の高い健康食品を複数の健康食品販売サイトおよびインターネットによるアンケート調査などを検索し、平成 28 年~29 年の間で使用頻度、販売数あるいは注目度が高いものを検索した。

その結果、これまで医薬品との相互作用が明確にされていない下記健康食品抽出液を検討対象とした：赤ブドウ葉、アサイー、ギムネマ、クワの葉、ゴボウ茶、シダ、シロインゲンマメ、チアシード、ナタメ茶、ブラックジンジャー、ブルーベリー、プルーン、マカ、メリロート

(2) *in vitro* 実験系における検討

direct inhibition study

各健康食品は、通常摂取量を基準として水で溶解または抽出し、使用した。CYP3A 活性は、midazolam 1'-hydroxylation を指標として測定した。

CYP3A の酵素源であるプールドヒト肝ミクロソーム画分(HLM)、CYP3A の指標薬物である midazolam(MDZ)を含む反応系に各健康食品抽出液を加え、補酵素である NADPH で反応を開始した。5 分間インキュベーションを行った後、反応を停止し、生成した 1'-hydroxymidazolam を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて測定し、CYP3A 活性を求めた。コントロール活性として健康食品抽出液の代わりに水を添加して同様に検討した。また、対象として CYP3A を阻害することが報告されているグレープフルーツジュースを用いた。

スクリーニング試験により濃度依存的な阻害が示された健康食品について、Lineweaver-Burk plot により阻害様式および阻害定数(K_i)を算出した。

CYP3A は肝臓のみならず小腸でも多く発現している。また、健康食品中の成分が血中および肝臓に到達する濃度を明らかにすることは難しいが、小腸内には高濃度で存在することが考えられるため、これら健康食品の小腸 CYP3A 阻害を介する薬物相互作用について、医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン(厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課)を基に予測した。代替 R 値は $R=1+[I]_0/K_i$ により算出し、カットオフ値は 11 とした。 $[I]_0$ (消化管内最高濃度)は推奨される 1 日摂取量/250 mL で計算した。

preincubation study

CYP3A の阻害様式として、グレープフルーツジュースのように mechanism-based inhibition (MBI) が報告されている。この場合、CYP3A を不可逆的に阻害するため、阻害効果は長時間継続し、より重篤な薬物相互作用をまねく。このような阻害を生じるかを明らかにするため、各健康食品を HLM を含む反応系で preincubation した後に MDZ を加えて同様に CYP3A 活性を測定し、時間依存的に阻害が増強するかについて検討した。

スクリーニング試験の結果、時間依存的阻害が示された健康食品について、最大不活性化速度の 50% の速度をもたらす阻害薬の濃度 (K_i) および最大不活性化速度定数 (k_{inact}) を算出した。

また、小腸 CYP3A 阻害を介する薬物相互作用について、上記ガイドラインに従って同様に予測を行った。代替 $R = (k_{obs} + k_{deg}) / k_{deg}$ 、カットオフ値は 1.25 とした。みかけの不活性化定数 (k_{obs}) は、 $k_{obs} = k_{inact} \times 0.1 \times [I]_g / (K_i + 0.1 \times [I]_g)$ 、酵素分解速度定数 (k_{deg}) は報告されている値を用いた (Obach RS et al. Drug Metab Dispos., 35, 246-255, 2007)。

(3) ラット *in vivo* 実験系における検討

in vitro 実験の結果、CYP3A 活性を強く阻害した赤ブドウ葉、シダ、ブラックジンジャーについて、生体内で CYP3A 阻害を介する薬物相互作用を生じるかを明らかにするため、ラットを用いて *in vivo* 実験を行った。

実験動物として Sprague-Dawley 系雄性ラット (7-8 週齢) を用いた。赤ブドウ葉エキス (200 mg/kg)、シダエキス (30 mg/kg) またはブラックジンジャーエキス (135 mg/kg) を経口投与後、CYP3A の指標薬物として MDZ (15 mg/kg) を経口投与した。その後、頸静脈より経時的に採血し、遠心分離により血清を得た。MDZ の血中濃度は HPLC を用いて測定し、薬物動態学的パラメータ (C_{max} , AUC_{0-} , $t_{1/2}$) を算出し、水を投与したコントロール群と比較した。

検定は Kruskal-Wallis test または Mann-Whitney U-test を行い、 $p < 0.05$ のときに有意差ありとした。

(4) 臨床試験

in vitro 実験およびラットを用いた *in vivo* 実験の結果より、CYP3A 阻害を介する薬物相互作用の可能性が示唆されたブラックジンジャーについて、臨床試験を行った。試験は、昭和大学臨床研究審査委員会の審査・承認を受けた後、昭和大学臨床薬理研究所にて実施した。

被験者として文書で同意を得た健康成人男性 6 名を対象とし、非無作為化・非盲検単群比較試験を行った。1 期のブラックジンジャー非内服期は、対象試験として MDZ (6 mg) 単回経口投与した。2 期はブラックジンジャー内服期とし、ブラックジンジャー含有サプリメント (450 mg) を 1 日 1 回 7 日間反復経口投与した後に、対象試験時と同様に MDZ を経口投与した。1 期と 2 期の間には 1 週間の wash-out 期間を設けた。

MDZ 経口投与後、経時的に採血を行い、遠心分離により血清を得た。MDZ の血中濃度は HPLC を用いて測定し、薬物動態学的パラメータを算出し、1 期と 2 期で比較した。

また、MDZ による鎮静作用の評価には VAS (Bond and Lader Scale) を用いて行い、投与前値からの最大変化量 (E_{max}) および曲線化面積 (AUEC : area under the effect curve) を算出し、1 期と 2 期で比較した。

統計解析は Shapiro-Wilk 検定にて正規性の検定を行い、正規分布に従う場合には paired t-test を、従わない場合には Wilcoxon 符号付順位検定を使用し、 $p < 0.05$ にて有意差ありと判定した。

4. 研究成果

(1) *in vitro* 実験系における検討

direct inhibition study

各健康食品の CYP3A 活性に対する阻害効果を *in vitro* 実験系で検討した結果、赤ブドウ葉、シダ、ブラックジンジャーは CYP3A 活性を濃度依存的に阻害した。赤ブドウ葉とブラックジンジャーについて CYP3A 活性に対する阻害様式および K_i 値を算出した結果、いずれも競合阻害を示し、 K_i 値はそれぞれ 95.80、14.97 $\mu\text{g/mL}$ であった (Fig.1)。また、シダは水に不要なため懸濁した上清を使用したことから、 K_i 値の算出はできなかったが、競合阻害が示された。

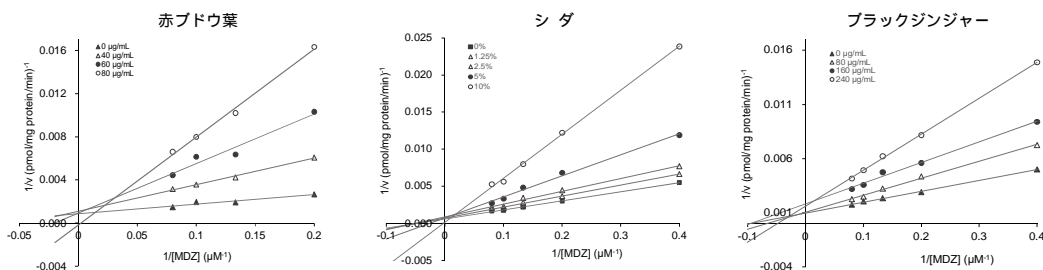


Fig. 1 赤ブドウ葉、シダ、ブラックジンジャー抽出エキスの CYP3A 活性に対する阻害効果

赤ブドウ葉およびブラックジンジャーの小腸における CYP3A 阻害を介する薬物相互作用を予測するため、推奨 1 日摂取量（赤ブドウ葉：360 mg、ブラックジンジャー：250 mg）および K_i 値より R 値を算出した。その結果、R 値は赤ブドウ葉は 13.10、ブラックジンジャーは 13.82 となり、いずれも消化管における可逆的阻害を示すカットオフ値、11 より高値を示した。このことから、赤ブドウ葉およびブラックジンジャーは、通常の摂取量で小腸 CYP3A 阻害を介する薬物相互作用をおこす可能性が示された。シダについては K_i 値を算出できなかったため、予測は不可能であった。

preincubation study

各健康食品について CYP3A 活性に対する時間依存的阻害を明らかにするため、preincubation 過程を加えたスクリーニング試験を行った。その結果、赤ブドウ葉およびブラックジンジャーによる時間依存的な阻害が示唆された。そこで、これら健康食品についてさらに詳細に検討した結果、ブラックジンジャーにより著明な NADPH および時間依存的阻害が示された (Fig. 2A, 2B)。

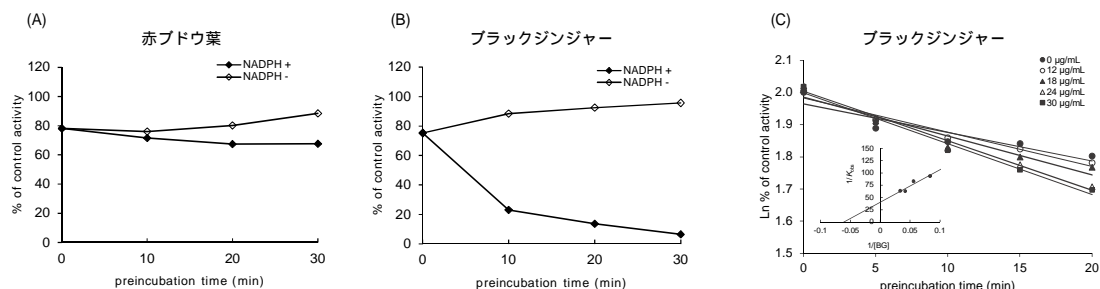


Fig. 2 赤ブドウ葉、ブラックジンジャーの CYP3A 活性に対する時間依存的阻害効果

ブラックジンジャーの CYP3A に対する時間依存的阻害についてさらに詳細な検討を行った結果、CYP3A に対する $K_i=16.41 \mu\text{g/mL}$, $k_{inact}=0.025 \text{ min}^{-1}$ であった (Fig. 2C)。これら値より小腸における alternative R 値を算出した結果、32.86 となり、カットオフ値である 1.25 と比較し、高値を示した。このことから、BG は小腸 CYP3A において時間依存的阻害を介する薬物相互作用を生じる可能性が示された。

(2) ラット *in vivo* 実験系における検討

In vitro 実験の結果、CYP3A 阻害を介する薬物相互作用が示唆された赤ブドウ葉、シダ、ブラックジンジャーについてラットを用いた *in vivo* 実験を行った。

その結果、水を投与したコントロール群に比べ、赤ブドウ葉エキス投与による MDZ の薬物動態学的パラメータの著明な変化は認められなかった (Fig. 3A)。

一方、MDZ の AUC_0 はシダエキス投与により 1.6 倍、ブラックジンジャーエキス投与により 2.3 倍有意に増加した ($p<0.05$) (Fig. 3B, 3C)。これらの結果より、シダおよびブラックジンジャーエキスは CYP3A 活性の阻害を通して MDZ の血中濃度を上昇させることが示唆された。

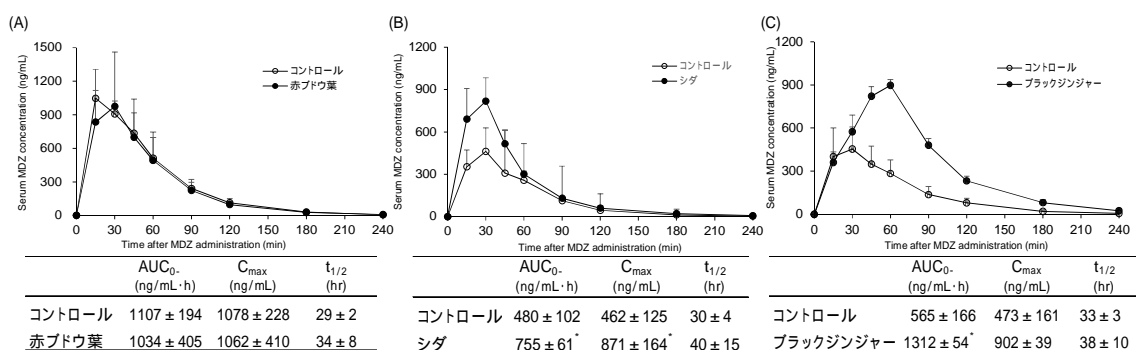


Fig. 3 赤ブドウ葉、シダ、ブラックジンジャー投与のラット MDZ 血中濃度におよぼす影響

(3) 臨床試験

In vitro 実験およびラットを用いた *in vivo* 実験の結果、CYP3A 阻害を介する薬物相互作用が示唆されたブラックジンジャーについて臨床試験を行った。

健康成人にブラックジンジャーエキスを含むサプリメントを 1 週間反復投与した結果、投与前に比較して MDZ の血中濃度および AUC_0 、 C_{max} 、 $t_{1/2}$ の著明な変化は認められなかった (Fig. 4A)。

また、VAS についても E_{max} および AUEC はブラックジンジャー投与前後で同様の値を示しており、鎮静作用の変化は示されなかった (Fig. 4B)。これらのことから、ヒトにおいてはブラックジンジャー 1 週間内服により CYP3A 阻害を介する薬物相互作用を引き起こす可能性は低いことが示された。

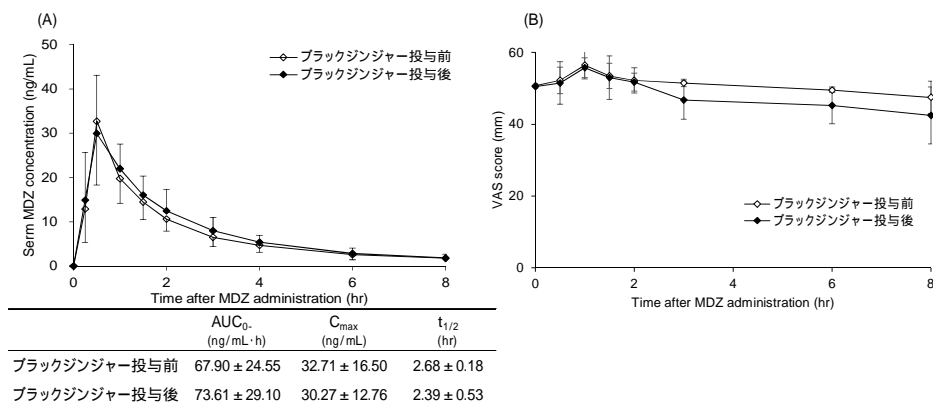


Fig. 4 健康成人におけるブラックジンジャー1週間投与のMDZ血中濃度および鎮静作用におよぼす影響

本研究では、近年普及している健康食品のうち、これまで CYP3A 阻害を介する薬物相互作用が明確にされていない 14 品目について検討を行った。その結果、*in vitro* 実験およびラットを用いた *in vivo* 実験により特に強い CYP3A 阻害を示したブラックジンジャーについて、ヒトにおいても同酵素で代謝される医薬品代謝に影響するかを明らかにするため臨床試験を行った。その結果、ブラックジンジャーを 1 週間投与してもヒトでは CYP3A の指標薬物である MDZ 代謝に影響しないことが示された。ブラックジンジャーは抗肥満作用や筋力増強作用を期待してサプリメントとして国内外で近年、注目されており、様々な状況で医薬品と併用する可能性が予測される。これまでブラックジンジャーを対象にこのような薬物相互作用に関する研究を *in vitro* 実験から臨床試験まで包括的に行った検討はなく、本研究の結果は医薬品との併用を安全に行う上での貴重な情報となり得ると考える。

一方、近年、飲む日焼け止めとして注目されているシダエキスは同様に *in vitro* 実験およびラットを用いた *in vivo* 実験により CYP3A 阻害を介する薬物相互作用を生じる可能性が示された。しかし、ブラックジンジャーのように *in vitro* 実験や動物を使用した検討のみでは、実際にヒトで起こり得る薬物相互作用を正確に予測することは難しい。より有用な情報を提供するためには、今後、臨床試験を行う必要があると考える。

本研究では最も多くの医薬品代謝に関与する CYP3A について検討を行ったが、医薬品代謝に重要な CYP2C9、CYP2D6 など他の CYP 分子種に関して薬物相互作用を検討することは重要である。健康食品を安心して医薬品と併用するためには今後、さらに同様の研究を重ね、患者および医療従事者に実用的な情報を提供することが必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Yurika Gomi, Yuki Nishimura, Norimitsu Kurata, Mariko Iwase, Koichiro Shinya and Yuji Kiuchi
Inhibitory effect of Polypodium Leucotomos extract on cytochrome P450 3A-mediated midazolam metabolism.
The Showa University Journal of Medical Science, 査読有, vol.31, 2019,

〔学会発表〕(計 3 件)

西村有希、倉田知光、岩瀬万里子、五味由梨香、木内祐二
健康食品抽出エキスの CYP3A を介する薬物相互作用の検討
日本薬学会第 138 年会、2018

Yuki Nishimura, Norimitsu Kurata, Mariko Iwase, Yurika Gomi, Yumika Kashiwabuchi and Yuji Kiuchi
Inhibitory effect of black ginger extract on CYP3A-mediated midazolam metabolism.
2018 International Meeting on 22nd MDO and 33rd JSSX, 2018

Yurika Gomi, Yuki Nishimura, Norimitsu Kurata, Mariko Iwase and Yuji Kiuchi
Inhibitory effect of Polypodium Leucotomos extract on CYP3A-mediated midazolam metabolism.
18th World Congress of Basic and Clinical Pharmacology, 2018

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：倉田 知光

ローマ字氏名：(KURATA, norimitsu)

所属研究機関名：昭和大学

部局名：教養部

職名：教授

研究者番号（8桁）：80231299

研究分担者氏名：岩瀬 万里子

ローマ字氏名：(IWASE, mariko)

所属研究機関名：昭和大学

部局名：医学部

職名：助教

研究者番号（8桁）：70424273

研究分担者氏名：鈴木 立紀

ローマ字氏名：(SUZUKI, Tatsunori)

所属研究機関名：昭和大学

部局名：大学共同利用機関等の部局等

職名：助教

研究者番号（8桁）：70406940

研究分担者氏名：内田 直樹

ローマ字氏名：(UCHIDA, naoki)

所属研究機関名：昭和大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号（8桁）：00286775

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、研究者個人に帰属されます。