

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06758

研究課題名(和文) CYP2Cs及びOATPsを介した薬物-飲食物間相互作用とその個人差の定量的解明

研究課題名(英文) Analysis of the inter-individual variations of food-drug interactions via CYP2Cs and OATPs

研究代表者

大谷 壽一 (Ohtani, Hisakazu)

慶應義塾大学・薬学部(芝共立)・教授

研究者番号：70262029

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：薬物-飲食物相互作用の重要な機構として、飲食物成分による薬物代謝酵素や薬物輸送担体の阻害がある。一方で代謝酵素や輸送担体には遺伝的変異の存在が知られている。本研究では、代謝酵素や輸送担体の遺伝子変異が、飲食物成分による阻害の受けやすさに差異をもたらし、このことが薬物-飲食物間相互作用のリスクの個人差要因となっているとの仮説に基づいて検討を進めた。代謝酵素としてはCYP2C9, CYP2C19, 輸送担体としてはOATP1A2, OATP2B1を対象に検討を進めた結果、いずれも遺伝子変異により飲食物成分に対する感受性が異なっていることを明らかにした。また、新規の阻害成分の同定にも成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬物相互作用(いわゆる「薬の飲み合わせ」)のリスクが高い患者と低い患者が存在する原因について、代表的な薬物相互作用の機構に関係する「代謝酵素」と「輸送担体」の遺伝的な違いに着目してアプローチを試みた研究である。

代謝酵素や輸送担体の遺伝的な違いが、飲食物成分に対する感受性の差をもたらしていることを定量的に明らかにするとともに、果汁中より新たな相互作用原因成分を同定することにも成功しており、薬物相互作用の予測と回避に重要な情報を提供する研究である。

研究成果の概要(英文)：The mechanism of food-drug interactions includes the inhibition of metabolic enzymes or drug transporters, which have genetic variations. The aim of this study is to clarify whether the genetic variations of metabolic enzymes and transporters lead to the altered inhibitory kinetics of respective inhibitors contained in a variety of fruit juices. We focused upon two metabolic enzymes (CYP2C9 and CYP2C19) and two transporters (OATP1A2 and OATP2B1). Detailed analysis revealed that the inhibitory kinetics of various inhibitors highly differ among genetic variants. Therefore, the genetic variants of metabolic enzymes and drug transporters are considered to be one of the important factors to confer inter-individual variation in the extent of food-drug interactions. We also succeeded in identifying a novel OATP inhibitor, narirutin, from grape fruit juice.

研究分野：薬物動態学

キーワード：薬物相互作用 遺伝子多形 cytochrome P450 個人差 代謝酵素 トランスポーター 飲食物成分 グレブフルーツ

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。

1. 研究開始当初の背景

薬物間相互作用の予測と回避は、薬物治療における重要な課題である。しかし臨床的には、同じ薬剤の組み合わせを同じ用法用量で使用しても、薬物間相互作用が顕在化・問題化する患者と、ほとんど問題とならない患者がいることも知られている。これは、薬物治療の患者個別化という観点からすれば、薬効や副作用と同様、薬物間相互作用のリスクにも個人差があることを意味している。薬物治療の患者個別化の重要性が唱えられ、一方でポリファーマシーに伴う薬物間相互作用がますます問題とされる昨今、薬物間相互作用の個人差を予測し回避できれば、すなわち眼前の患者の薬物間相互作用のリスクを投与前に推定でき、薬物治療の適正化に大きく貢献できる。

申請者は本研究の着手前までに、代謝酵素の阻害を介した薬物間相互作用に個人差をもたらす要因に着目して研究を展開してきた。これには、代謝阻害剤の血中濃度に影響を及ぼす要因や、代謝酵素の阻害強度に対する遺伝的変異の影響に関する研究なども含まれる。とくに cytochrome P450 (CYP) 3A4 については、最も多くの薬物の代謝に関係している分子種であること、消化管において量的に最も多く発現している分子種であることなどから、消化管における薬物間相互作用の観点から注目を集めてきた。そして、CYP3A4、CYP2D6 の遺伝的バリエーションにおける代謝阻害剤の阻害特性などについて研究を行った結果、代謝阻害剤の阻害強度 (K_i 値) が、酵素の遺伝子型の影響を著しく受けることを明らかにする、などの研究成果を報告してきた。

一方で、他の分子種、すなわち CYP2C9 や CYP2C19 も少なからず消化管に発現し、飲食物と薬物の相互作用の要因となること、organic anion transporting polypeptides (OATP) 1A2 や OATP2B1 などの薬物輸送担体もまた消化管に発現し、飲食物と薬物の相互作用の要因となることなどが、徐々に知られるようになっていた。これらの代謝酵素や薬物輸送担体にも、研究着手当時においてすでに複数の遺伝的バリエーションが知られており、バリエーション間の機能の差異や阻害剤に対する感受性の差異が、薬物相互作用に個人差をもたらす要因になっていることは十分に想定された。しかしながら、これらのバリエーション間の機能的特性の差異、とくに阻害剤に対する感受性の差異についてはほとんど明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

薬物の消化管吸収において重要な役割を果たしていると考えられている機能タンパク質として、CYP2C9、CYP2C19、OATP1A2、OATP2B1 に着目し、まずはその遺伝的バリエーションの機能特性と阻害剤に対する感受性を *in vitro* 試験において評価することで、薬物飲食物間相互作用とその個人差に関するデータ (酵素学的/輸送のパラメータ) を集積することを第一の目的とした。次に、得られた情報をもとに、*in silico* における仮想被験者集団を用いた母集団薬物速度論に基づく IVIVE (*in vitro*-to-*in vivo* extrapolation) を実施し、その臨床的重要性を明確化することを副次的目的とした。

3. 研究の方法

(1) CYP2C9、CYP2C19 に対する飲食物成分の阻害特性の解析

CYP2C9 の遺伝的バリエーションについては、市販の発現膜画分を購入して用いた。CYP2C19 については、CYP2C19 野生型および変異型 (*1B, *8, *10, *23, *23-91R) 遺伝子を大腸菌に導入することで、安定発現細胞を構築し、そこから常法に従って膜画分を精製して実験に供した。CYP2C19 については warfarin 7-位水酸化、CYP2C19 については omeprazole 5-位水酸化を指標に、各種阻害剤の時間依存性、濃度依存性、阻害様式を評価した。

(2) OATP1A2、OATP2B1 に対する飲食物成分の阻害特性の解析

OATP1A2 については c.38 T>C [I13T], c.382 A>T [N128Y], c.559 G>A [A187T], c.2003 C>G [T668S] を、OATP2B1 については c.43 C>T [P15S], c.601 G>A [V201M], c.644 A>T [D215V], c.935 G>A [R312G], c.1457 C>T [S486F] を対象とし、まずは情報に従い HEK293 細胞を親細胞として安定発現系を構築した。続けて、それぞれの遺伝的バリエーションにおける輸送キネティクス (濃度依存性、pH 依存性などを含む) を、estrone 3-sulfate の輸送を指標として詳細に解析した。また、両 OATPs に対する天然果汁の阻害活性を評価し、既知の阻害成分だけでその阻害活性が説明できない場合は、果汁から成分を分離分画、同定することも試みた。最後に、変異型 OATP の基質輸送能に対する天然果汁成分の阻害強度を比較検討した。

4. 研究成果

(1) CYP2C9, CYP2C19 に対する飲食物成分の阻害特性の解析

CYP2C9 については CYP2C9.1, .2, .3 の 3 種のバリエーションにおいて、代謝活性に対する飲食物成分(レスベラトロール[RSV]及びセサミン)の阻害特性を比較検討した。その結果、セサミンはいずれのバリエーションに対しても時間依存的阻害 (MBI) を示したが、その MBI 阻害強度 (k_{inact}/K_I として評価) はバリエーション間で大きく異なった。一方、興味深いことに RSV は CYP2C9.2 に対してのみ時間依存的阻害を示した。

CYP2C19 については、CYP2C19.1A, .1B, .8, .10, .23 の 5 種のバリエーションの酵素活性に対する飲食物成分(RSV、ベルガモチン[BG]、ジヒドロキシベルガモチン[DHB])の阻害特性を比較検討した。その結果、RSV, BG, DHB はいずれも各 CYP2C19 variants の活性を preincubation 時間依存的に阻害し、不活性化速度は阻害剤濃度依存的に上昇したことから、阻害様式は MBI であると同定された。さらに、RSV, BG, DHB の MBI 阻害強度 (k_{inact}/K_I) は、variants 間でそれぞれ最大で 134 倍、7.84 倍、10.4 倍の差異がみられた。

以上のことから、CYP2C9 および CYP2C19 のいずれにおいても、その遺伝子多型は、薬物-飲食物間相互作用のリスクに個人差をもたらす一因になりうることを示唆された。

(2) OATP1A2, OATP2B1 に対する飲食物成分の阻害特性の解析

OATPs に関しては、詳細なキネティクス解析の結果、まず野生型では、その輸送が低親和性成分と高親和性成分の二つからなる (二相性) こと、それぞれの輸送活性に pH 依存性があることが明らかとなった。また阻害剤については、阻害剤ごとにそれぞれに対する選択性が異なること、その選択性もまた pH の影響をうけることなどが明らかとなった。さらに、それぞれのバリエーションにおける輸送特性を評価し、キネティクスパラメータを算出することができた。

天然果汁との相互作用に関しては、まずグレープフルーツ中より、OATP1A2 阻害成分として新たにナリルチンを見出した。そこで、グレープフルーツ中の既知阻害剤ナリンギン、ナリンゲニンおよび新規阻害剤ナリルチンに関して、OATP1A2 および OATP2B1 に対する阻害特性を定量的に解析した。その結果、いずれも阻害様式は競合阻害であること、ナリルチン ($IC_{50} = 22.6 \mu M$) はナリンギン ($33.9 \mu M$) よりも強い阻害剤であることを見出した。さらに柑橘の一種であり花粉症などに対して健康食品として用いられる「ジャバラ」(*Citrus jabara*) には、ナリルチンが高濃度に含まれること、ジャバラ果汁が OATP1A2 および OATP2B1 を阻害することを確認した。これは、花粉症などでフェキソフェナジン (OATPs 基質) を服用している患者がジャバラ含有サプリメントを摂取すると、フェキソフェナジンの作用が減弱する可能性を示唆する結果であり、あらたな薬物-飲食物間相互作用の可能性を提示した成果であると言える。続けて、グレープフルーツ以外にも、クランベリージュースにおいても強い OATPs 阻害活性がみられたため、分画・精製を行った結果、阻害成分としてアピクラリンを同定した (OATP1A2 と OATP2B1 に対する IC_{50} ; 9.0, 37 μM)。

最後に、変異型 OATP1A2 のフェキソフェナジン (FEX) 輸送活性に対するナリンゲニン、ナリルチンおよびナリンギンの阻害強度を比較検討した。その結果、OATP1A2 各バリエーションの FEX 輸送活性は、ナリンギンおよびナリルチンにより濃度依存的に阻害されたが、 IC_{50} はそれぞれ 71.7-291、97.5-748 μM と、バリエーション間で異なっていた。とくに、A187T 変異型に対する IC_{50} は wt の 3.41、7.67 倍と阻害活性が弱く、さらにナリンゲニンは A187T 変異型に対してのみ阻害活性を示さなかった。したがって、OATP1A2 の阻害を介した飲食物と薬物の相互作用もまた、OATP1A2 の遺伝的な影響を受ける可能性が示唆された。

現在、同様の検討を OATP2B1 についても実施中である (未発表)。また、また、得られた成果をもとに、薬物-飲食物間相互作用の臨床的インパクトを評価するための IVIVE (*in vitro-to-in vivo extrapolation*) についても実施中である (未発表)。

以上より、CYP2C9, CYP2C19, OATP1A2, OATP2B1 のいずれに関しても、その遺伝的バリエーション間で機能特性が異なることはもちろん、阻害剤に対する感受性が大きく異なっており、このことが薬物飲食物間相互作用に個人差をもたらす一因となっていることを立証することができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 H. Seki, T. Akiyoshi, A. Imaoka, H. Ohtani	4. 巻 34
2. 論文標題 Inhibitory kinetics of fruit components on CYP2C19 activity.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Drug Metabolism and Pharmacokinetics	6. 最初と最後の頁 181-186
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.dmpk.2019.02.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 T. Morita, T Akiyoshi, R. Sato, K. Katayama, K. Yajima, H. Kataoka, A. Imaoka, Y. Sugimoto, H. Ohtani	4. 巻 35
2. 論文標題 pH-dependent transport kinetics of the human organic anion-transporting polypeptide 1A2	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Drug Metabolism and Pharmacokinetics	6. 最初と最後の頁 220-227
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.dmpk.2019.12.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Morita Tokio, Akiyoshi Takeshi, Sato Ryo, Uekusa Yoshinori, Katayama Kazuhiro, Yajima Kodai, Imaoka Ayuko, Sugimoto Yoshikazu, Kiuchi Fumiyuki, Ohtani Hisakazu	4. 巻 68
2. 論文標題 Citrus Fruit-Derived Flavanone Glycoside Narirutin is a Novel Potent Inhibitor of Organic Anion-Transporting Polypeptides	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Agricultural and Food Chemistry	6. 最初と最後の頁 14182 ~ 14191
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.jafc.0c06132	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Semba Yurika, Akiyoshi Takeshi, Hibino Hideyuki, Imaoka Ayuko, Ohtani Hisakazu	4. 巻 58
2. 論文標題 Profile of the inhibitory effects of gefitinib on CYP2D6 variants in vitro	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int. Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics	6. 最初と最後の頁 539 ~ 542
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5414/CP203698	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Yuki, Akiyoshi Takeshi, Kawamura Go, Imaoka Ayuko, Miyazaki Mitsue, Guengerich F. Peter, Nakamura Katsunori, Yamamoto Koujiro, Ohtani Hisakazu	4. 巻 38
2. 論文標題 Comparison of the inhibitory effects of azole antifungals on cytochrome P450 3A4 genetic variants	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Drug Metabolism and Pharmacokinetics	6. 最初と最後の頁 100384 ~ 100384
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.dmpk.2021.100384	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Daichi Watanabe, Miyuki Shimoji, Hiroyuki Seki, Takeshi Akiyoshi, Ayuko Imaoka, Akikazu Murakami, Hidehiro Kishimoto, Norie Murayama, Hiroshi Yamazaki, Katsunori Nakamura, Hisakazu Ohtani
2. 発表標題 Comparative analysis of human cytochrome P450 2C19 enzyme kinetics among six variants.
3. 学会等名 9th AASP Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryo Sato, Takeshi Akiyoshi, Ayuko Imaoka, Kazuhiro Katayama, Yoshikazu Sugimoto, Hisakazu Ohtani
2. 発表標題 High and low affinity kinetics of OATP2B1 - Inhibitory potency and pH-dependency of inhibitors -.
3. 学会等名 日本薬物動態学会第 34 回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲田 理乃, 秋好 健志, 今岡 鮎子, 大谷 壽一
2. 発表標題 CYP2C9 遺伝的変異型における resveratrol および sesamin の阻害特性の比較
3. 学会等名 日本薬学会第 140 年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森田 時生、秋好 健志、矢島 広大、今岡 鮎子、植草 義徳、木内 文之、片山 和浩、杉本 芳一、大谷 壽一
2. 発表標題 かんきつ果汁中の新規 OATP2B1 阻害成分の探索とその阻害活性の定量的評価
3. 学会等名 第13回 次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 肥沼佳菜, 土谷聡耀, 秋好 健志, 今岡 鮎子, 大谷 壽一
2. 発表標題 薬物相互作用臨床試験をもとにした代謝経路寄与率算出の妥当性の評価
3. 学会等名 第3回フレッシュャーズカンファランス
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森田時生、佐藤 稜、秋好健志、今岡鮎子、片山和浩、杉本芳一、大谷壽一
2. 発表標題 ヒト小腸有機アニオン輸送ポリペプチド OATP1A2 および 2B1 の輸送能の pH 依存性
3. 学会等名 日本医療薬学会 第2回フレッシュャーズ・カンファランス
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森田時生、佐藤 稜、秋好健志、今岡鮎子、片山和浩、杉本芳一、大谷壽一
2. 発表標題 ヒト小腸有機アニオン輸送ポリペプチド (OATP) 1A2, および OATP2B1 の pH sensitive な輸送特性の解析
3. 学会等名 第 62 回日本薬学会 関東支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森田時生、秋好健志、片岡 寛樹、矢島 広大、今岡 鮎子、片山 和浩、杉本 芳一、大谷 壽一
2. 発表標題 ヒト有機アニオン輸送ポリペプチド OATP1A2 の pH 依存的輸送特性
3. 学会等名 日本薬学会第 139 年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森田 時生、秋好 健志、矢島 広大、今岡 鮎子、植草 義徳、木内 文之、片山 和浩、大谷 壽一
2. 発表標題 ジャバラ (Citrus jabara) に含まれる narirutin の OATP1A2 阻害プロファイル
3. 学会等名 医療薬学フォーラム 2020
4. 発表年 2020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
研究協力者	秋好 健志 (Akiyoshi Takeshi)		
研究協力者	今岡 鮎子 (Imaoka Ayuko)		

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
---------	---------