

平成 1 0 年 度

厚生科学研究費補助金 (医薬安全総合研究事業)

酵素誘導による医薬品相互作用の発現予測試験法の開発研究

研 究 報 告 書

主任研究者 横 井 毅

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）  
総括研究報告書

酵素誘導による医薬品相互作用の発現予測試験法の開発研究

研究者 横井 毅 金沢大学薬学部教授

医薬品の代謝過程に起因する副作用発現の主原因である薬物代謝酵素チトクローム P4503A の活性には大きな個体差がある。個体差の原因は P4503A の発現が薬物等により誘導されることにある。P4503A の誘導により影響を受ける遺伝子を包括的に捉えることにより誘導機構を明らかにする事を目的とした。その結果、P4503A 誘導により発現量が増大および減少する多くの遺伝子を単離した。今後これらの遺伝子がコードする蛋白と P4503A 誘導現象との関係を明らかにする。

山崎浩史（金沢大学薬学部助教授）

中嶋美紀（金沢大学薬学部助手）

A. 研究目的

現在世の中で使用されている全医薬品の 50%以上の代謝に係わる P4503A というチトクローム P450 の分子種は、多くの医薬品によって誘導や阻害を受ける。阻害についてはメカニズムが解明されているが、誘導についてはほとんど不明のままである。ヒト P4503A 活性には 10 倍以上の個体差が存在するが、この原因を解明しない限りは、多くの医薬品の安全で適正な使用は望めないと考える。本研究は P4503A の誘導剤によって影響を受けるすべての事象を包括的に捉え、P4503A の誘導メカニズムを明らかにし、生体中の様々な代謝や発現調節の情報ネットワークにどのような影響を及ぼしているかを定量的に解明することを目指す。これは個体差の原因解明となるとともに、医薬品の安全使用に新しい見地を提供すると考える。

B. 研究方法

プローブ薬としてヒトにおいて多くの

薬物相互作用が報告されている P4503A 誘導薬であるリファンピシンを用いた。リファンピシン投与の有無により発現が影響を受ける遺伝子を包括的に捉えるためにディファレンシャルディスプレイ法を用いた。発現が影響を受ける遺伝子の断片をクローン化し、塩基配列を解析した。

C. 研究結果

(1) マウス肝および小腸 P4503A の誘導に最適なリファンピシン投与条件を設定した。リファンピシン 50 mg/kg を 4 日間投与で活性レベルが 3~5 倍、蛋白レベルが 10 倍程度の誘導を起こす事を確認した。(2) 肝 RNA を用いたディファレンシャルディスプレイ法による検討の結果、誘導の有無により、発現量が増加するクローンを 42 種、発現量が減少するクローンを 20 種単離した。(3) 全 62 クローン約 3 分の 1 の塩基配列の解析が終了した。これまでの結果より、発現が誘導されるものとして、P4504A10 分子種、cAMP 反応性エレメント結合蛋白、5HT3 セロトニンレセプター、カテプシン S、RNAse L、グリセロアルデヒド 3-リン酸脱水素酵素

などの多くの情報が得られた。発現が抑制されるものとして、ミトコンドリアのゲノム配列が多く見出された。

#### D. 考察

(1) 小腸由来ミクロソームの活性は非常に不安定で、再現性に乏しかったため、調製法および活性測定法を再検討する必要があると考えられた。(2) P4503A 誘導時に多くの遺伝子の発現が抑制されている事を新たに明らかにした。(3) 今後得られたクローン全部の配列の情報を得るとともに、実際にリファンピシン投与マウスでの、これらの蛋白質の用量依存的発現量の変化を確認すると共に、P4503A が誘導を受け、代謝活性が変化する事にどのように関わっているかを検討する必要がある。

#### E. 結論

初年度では P4503A を誘導する医薬品によって、P4503A のみならず他種類の遺伝子発現が増大していることを明らかにした。さらに同時に発現が抑制される遺

伝子も多くある事も見出した。これらの個々の遺伝子が P4503A 誘導にどのように係わるかは次年度の検討課題である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

2年計画の初年度であり、投稿中の物はあるが印刷になっているものは無い。

##### 2. 学会発表

組換えヒト CYP3A4 と P450 還元酵素共発現系におけるテストステロン水酸化の至適条件について 日本薬学会 119 年会 1999.3

ヒトにおけるアゼラスチンの薬物相互作用の予測 第13回日本薬物動態学会年会 1998. 11.

#### G. 知的所有権の取得状況

該当無し。